DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM V

Tập 1

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

BỘ Y TẾ

DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM

Lần xuất bản thứ năm

TẬP 1

Kính biếu

NHÀ XUẤT BẢN Y HỌC
HÀ NỘI - 2017

Hội đồng Dược điển Việt Nam, Trung tâm Dược điển - Dược thư Việt Nam, Bộ Y tế giữ bản quyền Dược điển Việt Nam lần xuất bản thứ năm

Trung tâm Dược điển - Dược thư Việt Nam
48 Hai Bà Trưng, Hoàn Kiếm, Hà Nội
Điện thoại : (84-24) 38256905
Fax: : (84-24) 39343547
E-mail: hdddvn@hn.vnn.vn

PHARMACOPOEIA VIETNAMICA

EDITIO V

Tomus 1

BỘ Y TẾ Số: 5358/QĐ-BYT	CỘNG HOÀ XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM Độc lập - Tự do - Hạnh phúc

Hà Nội, ngày 28 tháng 11 năm 2017

QUYẾT ĐỊNH
Về việc ban hành Dược điển Việt Nam V

BỘ TRƯỞNG BỘ Y TẾ

Căn cứ Luật Dược số 105/2016/QH13 ngày 06 tháng 4 năm 2016;

Căn cứ Luật Tiêu chuẩn và Quy chuẩn kỹ thuật số 68/2006/QH11 ngày 29 tháng 6 năm 2006;

Căn cứ Luật Chất lượng sản phẩm, hàng hóa số 05/2007/QH12 ngày 21 tháng 11 năm 2007;

Căn cứ Nghị định số 75/2017/NĐ-CP ngày 20 tháng 6 năm 2017 của Chính phủ quy định chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và cơ cấu tổ chức của Bộ Y tế;

Căn cứ Nghị định số 127/2007/NĐ-CP ngày 01 tháng 8 năm 2007 Chính phủ quy định chi tiết thi hành một số điều của Luật Tiêu chuẩn và Quy chuẩn kỹ thuật;

Căn cứ Nghị định 132/2008/NĐ-CP ngày 31 tháng 12 năm 2008 của Chính phủ quy định chi tiết thi hành một số điều của Luật Chất lượng sản phẩm, hàng hóa;

Nghị định số 67/2009/NĐ-CP sửa đổi một số điều của Nghị định số 127/2007/NĐ-CP ngày 01 tháng 8 năm 2007 của Chính phủ quy định chi tiết thi hành một số điều của Luật Tiêu chuẩn và Quy chuẩn kỹ thuật và Nghị định số 132/2008/NĐ-CP ngày 31 tháng 12 năm 2008 của Chính phủ quy định chi tiết thi hành một số điều của Luật Chất lượng sản phẩm, hàng hoá;

Căn cứ Thông tư liên tịch số 11/2008/TTLT/BYT-BKHCN ngày 29 tháng 12 năm 2008 của liên Bộ Y tế và Bộ Khoa học và Công nghệ về hướng dẫn xây dựng, thẩm định, công bố bộ Tiêu chuẩn quốc gia về thuốc và ban hành, xuất bản Dược điển Việt Nam;

Căn cứ các Quyết định của Bộ trưởng Bộ Khoa học và Công nghệ số 2702/QĐ-BKHCN ngày 08 tháng 10 năm 2012 công bố bộ Tiêu chuẩn quốc gia về thuốc TCVN II:2012; số 759/QĐ-BKHCN ngày 22 tháng 4 năm 2014 công bố bộ Tiêu chuẩn quốc gia về thuốc TCVN III:2014; số 746/QĐ-BKHCN ngày 15 tháng 4 năm 2015 công bố bộ Tiêu chuẩn quốc gia về thuốc TCVN IV:2015; số 968/QĐ-BKHCN ngày 28 tháng 4 năm 2017 công bố bộ Tiêu chuẩn quốc gia về thuốc TCVN V:2017; số 2760/QĐ-BKHCN ngày 13 tháng 10 năm 2017 công bố bộ Tiêu chuẩn quốc gia về thuốc TCVN I:2017 và TCVN VI:2017;

Xét đề nghị của Chủ tịch Hội đồng Dược điển Việt Nam về việc ban hành Dược điển Việt Nam V;

Xét đề nghị của Cục trưởng Cục Quản lý Dược,

QUYẾT ĐỊNH:

Điều 1. Ban hành Dược điển Việt Nam V bao gồm 1519 Tiêu chuẩn quốc gia về thuốc:

485 tiêu chuẩn về nguyên liệu hóa dược;

385 tiêu chuẩn về thành phẩm hóa dược;

372 tiêu chuẩn về dược liệu và thuốc dược liệu;

41 tiêu chuẩn về vắc xin và sinh phẩm y tế;

8 tiêu chuẩn về bao bì và nguyên liệu làm bao bì;

228 tiêu chuẩn về phương pháp kiểm nghiệm chung cho thuốc và nguyên liệu làm thuốc dùng cho người.

Điều 2. Dược điển Việt Nam V có hiệu lực từ ngày 01/7/2018. Những quy định trước đây trái với quy định của Dược điển Việt Nam V đều bãi bỏ.

Điều 3. Các Ông/Bà Cục trưởng Cục Quản lý Dược, Cục trưởng Cục Khoa học Công nghệ và Đào tạo, Chủ tịch Hội đồng Dược điển Việt Nam, Giám đốc Trung tâm Dược điển - Dược thư Việt Nam có trách nhiệm hướng dẫn việc áp dụng Dược điển Việt Nam V.

Điều 4. Các Ông/Bà Chánh Văn phòng Bộ Y tế, Cục trưởng Cục Khoa học Công nghệ và Đào tạo, Cục trưởng Cục Quản lý Dược, Vụ trưởng Vụ Kế hoạch Tài chính, Thủ trưởng các Vụ/ Cục và các đơn vị trực thuộc Bộ Y tế, Giám đốc Sở Y tế các tỉnh, thành phố trực thuộc Trung ương, Viện trưởng Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương, Chủ tịch Hội đồng Dược điển Việt Nam, Giám đốc Trung tâm Dược điển - Dược thư Việt Nam chịu trách nhiệm thi hành quyết định này.

BỘ TRƯỞNG

Nguyễn Thị Kim Tiến

NỘI DUNG

Trang

TẬP 1

Lời nói đầu xi
Lịch sử Dược điển nước Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam xiii
Hội đồng Dược điển Việt Nam V xvii
Các cộng tác viên xix
Các cơ quan và đơn vị tham gia xây dựng Dược điển Việt Nam V xxi
Danh mục các chuyên luận xxiii
Danh mục chuyên luận mới so với DĐVN IV xxxvii
Danh mục các chuyên luận của DĐVN IV không đưa vào DĐVN V xliii
Qui định chung xlv
Ký hiệu các chữ viết tắt xlix
Các chuyên luận
Nguyên liệu hóa dược và thành phẩm hóa dược 1
Mục lục tra cứu theo tên Việt Nam ML-1
Mục lục tra cứu theo tên Latin ML-21

TẬP 2

Qui định chung xlv
Ký hiệu các chữ viết tắt xlix
Các chuyên luận
Huyết thanh, sinh phẩm và vắc xin 987
Dược liệu 1061
Cao dược liệu, dầu, tinh dầu 1385
Thuốc cổ truyền 1405
Phổ hấp thụ hồng ngoại P-1
Các phụ lục PL-1
Mục lục tra cứu theo tên Việt Nam ML-1
Mục lục tra cứu theo tên Latin ML-21

LỜI NÓI ĐẦU

Trải qua bốn lần xuất bản, Dược điển Việt Nam đã trở thành văn bản quy phạm kỹ thuật quan trọng về tiêu chuẩn hóa thuốc được áp dụng trong toàn ngành Dược phục vụ công tác quản lý, kiểm tra giám sát chất lượng thuốc sản xuất, xuất nhập khẩu và lưu thông trên thị trường Việt Nam.

Dược điển Việt Nam lần xuất bản thứ tư (Dược điển Việt Nam IV - DĐVN IV) đã được Bộ Y tế ban hành và có hiệu lực từ ngày 01/01/2010. Dược điển Việt Nam IV là một văn bản kỹ thuật chuẩn mực của Bộ Y tế và được tham chiếu trong mọi hoạt động đào tạo, nghiên cứu khoa học liên quan đến thuốc ở các đơn vị trong toàn ngành y tế. Dược điển Việt Nam IV đã góp phần tích cực vào việc phát triển, hiện đại hóa ngành Dược, đảm bảo và nâng cao chất lượng thuốc phục vụ sự nghiệp chăm sóc, bảo vệ và nâng cao sức khỏe nhân dân.

Ngay sau khi ban hành Dược điển Việt Nam IV, Bộ trưởng Bộ Y tế đã ra Quyết định số 3931/QĐ-BYT ngày 14/10/2009 và Quyết định số 5322/QĐ-BYT ngày 31/12/2010, về việc thành lập Ban Thường trực Hội đồng Dược điển Việt Nam V và giao cho Hội đồng việc xây dựng, biên soạn Dược điển Việt Nam V (DĐVN V), đồng thời hướng dẫn triển khai thực hiện DĐVN IV. Qua 7 năm triển khai thực hiện, đến nay Hội đồng đã hoàn thành việc xây dựng các Bộ tiêu chuẩn Quốc gia về thuốc và đã được Bộ trưởng Bộ Khoa học công nghệ công bố. Trên cơ sở đó, ngày 28 tháng 11 năm 2017, Bộ trưởng Bộ Y tế đã ký Quyết định số 5358/QĐ-BYT về việc ban hành Dược điển Việt nam V, Quyết định có hiệu lực thi hành từ ngày 01 tháng 7 năm 2018.

Ở lần xuất bản này, Dược điển Việt nam có một bước tiến mới cả về chất lượng và số lượng với 361 chuyên luận mới và 357 tiêu chuẩn DĐVN IV được sửa đổi, bổ sung, cập nhật. Các chuyên luận mới và các chuyên luận sửa đổi đã được xây dựng với các chỉ tiêu đánh giá toàn diện hơn về chất lượng thuốc như các chỉ tiêu về giải phóng dược chất, đánh giá tạp chất, độ an toàn.... Các phép thử có độ tin cậy cao hơn, các phương pháp phân tích hiện đại, hiệu quả hơn cũng được đưa vào nhiều hơn, nhưng vẫn đảm bảo tính thực thi áp dụng đối với các cơ sở sản xuất, kinh doanh trong nước, đồng thời phù hợp với thông lệ quốc tế và hài hòa với các Dược điển tiên tiến trên thế giới.

Dược điển Việt Nam V có số chuyên luận tăng vượt bậc với 1519 chuyên luận, trong đó có 485 nguyên liệu hóa dược, 385 thành phẩm hóa dược, 372 dược liệu và thuốc từ dược liệu, 41 vắc xin và sinh phẩm y tế, 8 bao bì và nguyên liệu sản xuất bao bì cấp 1, 138 phổ hồng ngoại chuẩn, 228 chuyên mục chung và trên 650 hóa chất, thuốc thử. Với nội dung tăng lên tương đương với khoảng 2200 trang sách, Dược điển Việt Nam V được in thành hai tập, tập 1 gồm nguyên liệu hóa dược và thành phẩm hóa dược, tập 2 gồm dược liệu, thuốc từ dược liệu, vắc xin, sinh phẩm và các phụ lục.

Dược điển Việt Nam V đã được xây dựng và biên soạn một cách khoa học, công phu, theo một quy trình thống nhất, có tham khảo những Dược điển nước ngoài mới nhất, đối chiếu với thực tế sản xuất và kiểm nghiệm thuốc ở Việt Nam hiện nay cũng như 5 năm tiếp theo. Nhằm đảm bảo khả năng triển khai áp dụng trong thực tế, phần lớn kỹ thuật kiểm nghiệm trong các chuyên luận đều đã được thẩm định tại các cơ sở kiểm nghiệm thuốc (Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương, Viện Kiểm nghiệm thuốc TP. Hồ Chí Minh, Viện Kiểm định quốc gia vắc xin và sinh phẩm y tế, các trường đại học Dược, một số Trung tâm Kiểm nghiệm dược phẩm - mỹ phẩm và một số doanh nghiệp Dược...).

Dược điển Việt Nam V là bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc đã được xác định tại Luật Dược và Luật Tiêu chuẩn và Quy chuẩn kỹ thuật. Điều này khẳng định tính quy phạm kỹ thuật của tiêu chuẩn dược điển. Vì vậy, việc triển khai áp dụng DĐVN V là yêu cầu cần thiết trong sản xuất kinh doanh và kiểm tra chất lượng dược phẩm nhằm góp phần vào việc đảm bảo chất lượng thuốc.

Nhân dịp hoàn thành và xuất bản Dược điển Việt Nam V, Hội đồng Dược điển Việt Nam xin trân trọng cảm ơn Lãnh đạo Bộ Y tế, Bộ Khoa học và Công nghệ, các Vụ, Cục chức năng đã chỉ đạo trực tiếp và có hiệu quả đối với công tác xây dựng Dược điển. Hội đồng đánh giá cao sự đóng góp trí tuệ, công sức của nhiều chuyên gia, cán bộ trong và ngoài ngành, các ủy viên, cộng tác viên của Hội đồng, các cơ quan, đơn vị, doanh nghiệp dược... đã góp phần vào công tác xây dựng Dược điển Việt Nam V, Nhà xuất bản Y học đã thực hiện việc ấn hành cuốn Dược điển Việt Nam V đúng về nội dung và đẹp về hình thức. Hội đồng Dược điển Việt Nam xin trân trọng cảm ơn sự cộng tác và đóng góp quý báu đó.

Mặc dù Dược điển Việt Nam V đã được xây dựng theo một quy trình chặt chẽ và khoa học nhưng chắc chắn không tránh khỏi còn có những thiếu sót. Hội đồng Dược điển Việt Nam mong nhận được những ý kiến đóng góp để tiếp tục chỉnh sửa nhằm làm cho Dược điển Việt Nam ngày càng hoàn thiện, đáp ứng yêu cầu thực tiễn góp phần đảm bảo và nâng cao chất lượng thuốc phục vụ sự nghiệp chăm sóc, bảo vệ và nâng cao sức khỏe nhân dân.

HỘI ĐỒNG DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM
CHỦ TỊCH
PGS.TS. Trịnh Văn Lẩu

LỊCH SỬ DƯỢC ĐIỂN NƯỚC CỘNG HOÀ XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

Nước Việt Nam Dân chủ Cộng hoà được thành lập từ ngày 02 tháng 9 năm 1945, nay là nước Cộng hoà Xã hội chủ nghĩa Việt Nam. Trong thời kỳ Pháp thuộc và thời kỳ kháng chiến chống Pháp, Ngành Dược Việt Nam dựa vào Dược điển Pháp để quản lý chất lượng thuốc. Năm 1954, sau khi hòa bình được lập lại ở Miền Bắc, việc xây dựng một bộ Dược điển Việt Nam phù hợp với tình hình sản xuất và sử dụng thuốc trở nên cần thiết; đặc biệt công tác tiêu chuẩn hóa thuốc là lĩnh vực được Chính phủ hết sức quan tâm. Ngày 28 tháng 3 năm 1963, Chính phủ đã ban hành Nghị định số 123/CP về công tác tiêu chuẩn hóa. Để thực hiện Nghị định 123/CP của Chính phủ, tại Thông tư số 19-BYT/TT ngày 19 tháng 7 năm 1963 Bộ Y tế giao cho Thứ trưởng, Dược sĩ Vũ Công Thuyết chịu trách nhiệm chỉ đạo việc tổ chức Hội đồng Dược điển Việt Nam (HĐDĐVN). DS. Vũ Công Thuyết đã đề nghị Bộ Y tế cử Giáo sư Tiến sĩ dược khoa Trương Công Quyền, một trong năm giáo sư đầu tiên của Ngành Y tế Việt Nam do Chủ tịch Hồ Chí Minh ký quyết định, trực tiếp tổ chức hoạt động của HĐDĐVN. Ngày 27/02/1964, Bộ trưởng Bộ Y tế, bác sĩ Phạm Ngọc Thạch, đã ký Quyết định số 183/BYT-QĐ về cơ cấu tổ chức HĐDĐVN I gồm có Chủ tịch Hội đồng do GS.TS. Trương Công Quyền đảm nhiệm; 4 Phó Chủ tịch là DS. Vũ Công Thuyết, DS. Trần Văn Luân, BS. Nguyễn Ngọc Doãn và BS. Nguyễn Văn Hưởng. Ban thư ký gồm có DS. Ngô Gia Trúc, Trưởng ban và DS. Nguyễn Hữu Bảy, Phó ban. Các uỷ viên của HĐDĐVN gồm 16 người, trong đó có 12 dược sĩ và 4 bác sĩ. Hội đồng Dược điển Việt Nam I thời kỳ 1963 - 1984 có 6 ban: Hóa dược, Bào chế, Dược liệu, Vắc xin - huyết thanh và Phương pháp kiểm nghiệm chung. Tổng số người tham gia xây dựng DĐVN I, tập 1 là 92 người, trong đó chỉ có 2 biên chế văn phòng, còn lại là các cán bộ kiêm nhiệm từ các đơn vị trong ngành.

Lần đầu tiên xây dựng Dược điển Việt Nam, Bộ Y tế đã đề ra các phương châm chỉ đạo trong quá trình soạn thảo là:

Phải xuất phát từ tình hình thực tế của Việt Nam;

Dược điển phải có tác dụng thúc đẩy, nâng cao trình độ kỹ thuật của ngành lên một bước;

Phải thể hiện được phương châm kết hợp đông tây y đúng mức.

Ban Thường trực HĐDĐVN đã tổ chức một số cuộc hội thảo tại Hà Nội để bàn về nguyên tắc lựa chọn, lập danh mục thuốc đưa vào DĐVN. Hội đồng Dược điển thống nhất sẽ đưa vào DĐVN các thuốc đang được dùng phổ biến trong nước, có giá trị phòng và chữa bệnh đã được xác định, có triển vọng được sử dụng trong khoảng thời gian từ 5 đến 10 năm tới. Đặc biệt chú ý đến các nguyên liệu và thành phẩm sản xuất trong nước, thuốc dược liệu và thuốc cổ truyền, sau đó là các thuốc nước ngoài có mặt tại Việt Nam.

Nguyên tắc lựa chọn và xây dựng các phương pháp kiểm nghiệm là phải phù hợp với khả năng trang thiết bị của các cơ quan kiểm nghiệm ở Trung ương, nhưng có chú ý đến tình hình trang thiết bị của các cơ quan kiểm nghiệm tuyến tỉnh. Phương pháp kiểm nghiệm trong Dược điển có tính pháp chế và là phương pháp trọng tài. Sau 6 năm soạn thảo DĐVN I trong điều kiện chiến tranh ác liệt ở Miền Bắc, ngày 20-11-1970, Bộ Y tế đã có Quyết định số 1008/BYT-QĐ ban hành Dược điển Việt Nam I, tập 1, bao gồm 572 chuyên luận về thuốc trong đó có 269 hóa dược, 120 dược liệu, 167 chế phẩm bào chế và 16 sản phẩm sinh học cùng với các phương pháp kiểm nghiệm, các chất chỉ thị, các chất đối chiếu, chất chuẩn và thuốc thử để áp dụng trong sản xuất, phân phối, kiểm nghiệm và sử dụng thuốc.

Tháng 3-1977 Bộ Y tế ký Quyết định ban hành Bản bổ sung DĐVN I, tập 1, gồm phần đính chính và bổ sung liên quan tới 136 tiêu chuẩn Việt Nam (TCVN) về phương pháp kiểm nghiệm thuốc và dạng thuốc, 7 chỉ tiêu về hóa chất, thuốc thử và 2 bảng liều thuốc độc A, B. Đồng thời đã ban hành thêm 44 tiêu chuẩn về thuốc và nguyên liệu dùng làm thuốc.

Từ sau ngày giải phóng Miền Nam, Bộ Y tế đã cho in lại 4000 cuốn DĐVN I có kết hợp sửa chữa và bổ sung theo nội dung của bản bổ sung năm 1977, để đáp ứng yêu cầu công tác tiêu chuẩn hóa và đảm bảo chất lượng thuốc cho Ngành Dược của cả nước Việt Nam thống nhất.

Có thể nói, mặc dầu công việc biên soạn chủ yếu được tiến hành trong thời kỳ chiến tranh giải phóng và bảo vệ Tổ quốc, DĐVN I đã đáp ứng được yêu cầu là bộ tiêu chuẩn quốc gia của Việt Nam về thuốc và các phương pháp kiểm nghiệm thuốc, có tác dụng thúc đẩy công tác quản lý chất lượng thuốc phục vụ cho nhiệm vụ của ngành trong sản xuất cung ứng thuốc, chăm lo sức khỏe nhân dân trong chiến tranh bảo vệ Tổ quốc cũng như trong thời kỳ xây dựng kinh tế sau khi đất nước đã hòa bình thống nhất.

Trước thực tế Việt Nam có nền y học cổ truyền dân tộc lâu đời, thực hiện phương châm của Đảng và Nhà nước về kế thừa, phát huy, phát triển y học cổ truyền, kết hợp y học cổ truyền với y học hiện đại và hiện đại hóa y học cổ truyền, thuốc từ dược liệu và thuốc cổ truyền cũng được sử dụng ngày càng nhiều và rộng rãi. Để thống nhất tiêu chuẩn trong toàn ngành, nâng cao chất lượng thuốc cổ truyền, việc tiến hành xây dựng cuốn DĐVN I, tập 2, phần đông dược là

một yêu cầu bức thiết. Bộ Y tế đã có Quyết định ngày 16 tháng 9 năm 1968 thành lập Ban Đông dược của HĐDĐVN do GS.TS. Trương Công Quyền, Chủ tịch Hội đồng DĐVN kiêm Trưởng ban với 4 Phó ban: GS.TSKH. Đỗ Tất Lợi; BS. Lương y Lê Văn Lời; Lương y Lã Văn Quỳnh và Lương y Phó Đức Thành. Ban Đông dược có 3 tiểu ban: Dược liệu, Y lý Đông y và Bào chế. Số thành viên tham gia xây dựng cuốn Dược điển Việt Nam I, tập 2 (phần đông dược) gồm 5 cán bộ chuyên trách trong tổng số 8 cán bộ thuộc biên chế Văn phòng HĐDĐVN lúc đó, cùng 23 ủy viên, 11 cộng tác viên và 7 cơ quan.

Việc xây dựng DĐVN I, tập 2 (phần đông dược) được tiến hành qua các bước:

1. Xây dựng và xuất bản cuốn Dược liệu Việt Nam (1969 - 1972) gồm 341 dược liệu trong nước, 74 dược liệu nhập ngoại, 3 chuyên luận chung về trồng cây thuốc, chế biến, bào chế, bảo quản thuốc cổ truyền dân tộc. Trong bước này đã thống nhất chọn tên chính, tên khoa học, tên khác của cây thuốc hoặc bộ phận dùng làm thuốc, mô tả, hình vẽ bộ phận dùng của dược liệu, tính vị, công dụng, liều dùng, cách dùng... Nhờ tập hợp được các lương y và các dược sĩ có nhiều kinh nghiệm, Ban Đông dược đã thảo luận và đi đến thống nhất quan điểm về các vấn đề chuyên môn. Cuốn Dược liệu Việt Nam đã được xuất bản 2 lần, lần thứ nhất là 5000 cuốn và lần thứ hai là 12000 cuốn.

2. Dự kiến danh mục, thống nhất nội dung, bố cục các chuyên luận và biên soạn dự thảo DĐVN I (phần đông dược) (1970 - 1975). Yêu cầu về nội dung của cuốn Dược điển Việt Nam I, tập 2 (phần đông dược) cao hơn các chuyên luận trong cuốn Dược liệu Việt Nam. Ngoài phương pháp kiểm nghiệm định tính, thử tinh khiết, định lượng còn có thêm mục chế biến, bảo quản và những vấn đề cần thiết cho các lương y như: Tính vị, quy kinh, công năng, chủ trị, cách dùng, liều lượng và kiêng kỵ.

3. In các dự thảo, gửi tới các cơ sở để thu thập ý kiến đóng góp (1975 - 1980).

4. Chỉnh lý bản dự thảo, trình Bộ Y tế duyệt và cho phép xuất bản. Tháng 4-1983 cuốn Dược điển Việt Nam in lần thứ nhất tập 2 (Thuốc Dân tộc) được ban hành với 244 chuyên luận, số lượng 4000 cuốn. Như vậy đến 1983, Bộ DĐVN I đã được hoàn chỉnh cả về tân dược và đông dược.

Từ giữa thập kỷ 80, đất nước đã bắt đầu quá trình thực hiện đường lối và chính sách đổi mới của Đảng và Nhà nước. Yêu cầu về chất lượng thuốc ngày càng cao trong quá trình hội nhập quốc tế ngày càng gia tăng đã thúc đẩy công nghiệp dược trong nước bắt đầu phát triển. Thời kỳ này Hội đồng cũng đã có thêm nhiều Dược điển mới của các nước để tham khảo. Trình độ cán bộ dược đã được nâng lên, Ngành Dược có thêm nhiều giáo sư, tiến sĩ, dược sĩ chuyên khoa. Hệ thống kiểm nghiệm thuốc của Nhà nước và các doanh nghiệp từng bước được hiện đại hóa theo yêu cầu của quản lý chất lượng và yêu cầu phục vụ cho công tác sản xuất - kinh doanh dược phẩm. Đến lúc này nội dung DĐVN I có nhiều điểm không còn phù hợp. Việc soạn thảo Dược điển Việt Nam lần thứ 2 (DĐVN II) đã trở thành một yêu cầu thực tế. Ngày 12/5/1984 Bộ Y tế đã ban hành Quyết định 328/BYT-QĐ bổ sung và kiện toàn tổ chức HĐDĐVN để biên soạn DĐVN II. Ban thường trực HĐDĐVN II gồm: Chủ tịch Hội đồng GS. Trương Công Quyền, 4 phó Chủ tịch: GS.TS. Nguyễn Văn Đàn; PGS. Ngô Gia Trúc; GS. Nguyễn Kim Hùng và PGS. Trần Thị Hoàng Ba. Ban thư ký gồm Trưởng ban: PGS. Doãn Huy Khắc với 3 Phó ban: DSCKII. Phan Văn Tín, TS. Nguyễn Bá Hiệp và TS. Nguyễn Văn Thị. Văn phòng Hội đồng Dược điển Việt Nam là một đơn vị hành chính chuyên môn, trong biên chế Viện Kiểm nghiệm, giúp việc cho Ban Thường trực và Ban Thư ký. Tổng số cán bộ tham gia xây dựng DĐVN II là 221 người gồm các giáo sư, tiến sĩ, dược sĩ chuyên khoa, trong đó có 5 bác sĩ y khoa, 4 lương y và 9 cán bộ ngành khác.

Dược điển Việt Nam II gồm 3 tập. Tập 1 về Tân dược có 89 chuyên luận xuất bản năm 1990 gồm 39 hóa dược, 12 bào chế, 8 dược liệu, 29 phương pháp kiểm nghiệm chung, 1 quy định chung, phát hành 1500 cuốn. Tập 2 (thuốc đông dược), xuất bản năm 1991, gồm 63 chuyên luận dược liệu và một chuyên luận chung về phương pháp chế biến dược liệu cổ truyền. Tập 3 xuất bản tháng 12-1994 gồm 84 hóa dược, 70 thành phẩm bào chế, 70 dược liệu, 62 phương pháp kiểm nghiệm chung, 90 phổ hồng ngoại. DĐVN II, tập 3 có nhiều chuyên luận mới và các chuyên luận khác đã được soát xét, nâng cao, cũng như đưa vào một số phương pháp kiểm nghiệm chung hiện đại như sắc ký khí, sắc ký lỏng.

Sau 10 năm đổi mới, tình hình ngành Dược trong nước đã có nhiều chuyển biến tích cực đáng kể. Vào giữa thập niên 90, thị trường thuốc ở Việt Nam đã tăng gấp 6 lần những năm cuối thập kỷ 80. Công nghiệp dược trong nước đã có bước phát triển mới, sản xuất gần 5000 dược phẩm. Khoảng 200 công ty dược phẩm nước ngoài được cấp giấy phép hoạt động ở Việt Nam. Khoảng 4000 dược phẩm nước ngoài thuộc các khu vực trên thế giới được cấp số đăng ký ở Việt Nam. Công tác tiêu chuẩn hóa và đảm bảo chất lượng thuốc trong nước, thuốc nước ngoài ngày càng được nâng cao. Năm 1995, Việt Nam trở thành thành viên thứ mười của Hiệp hội các quốc gia Đông Nam Á (khối ASEAN) và từng bước chủ động tham gia tiến trình hội nhập quốc tế. Việc soạn thảo và ban hành Dược điển Việt Nam lần thứ 3 là một biện pháp quan trọng để bảo đảm hiệu lực cho công tác quản lý nhà nước về chất lượng thuốc trong tình hình đất nước và bối cảnh quốc tế mới.

Ngày 25-7-1994, trong Quyết định số 519/BYT-QĐ Bộ trưởng Bộ Y tế đã công bố danh sách Ban thường trực HĐDĐVN III gồm 11 thành viên do GS.TS. Trương Công Quyền Chủ tịch Hội đồng, 7 phó chủ tịch: PGS.TS. Lê Văn Truyền,

PGS. Doãn Huy Khắc (kiêm Trưởng ban thư ký), GS.TS. Nguyễn Văn Đàn, GS.TSKH. Đặng Đức Trạch, PGS. Vũ Khánh, PGS. Ngô Gia Trúc và PGS. Trần Thị Hoàng Ba. Các Phó trưởng ban thư ký gồm: TS. Nguyễn Vi Ninh, PGS.TS. Trịnh Văn Quỳ và TS. Nguyễn Văn Thị. Cuối năm 1997, trong Quyết định số 2678/1997/BYT-QĐ ngày 23-12-1997, Bộ trưởng Bộ Y tế bổ nhiệm PGS.TS. Lê Văn Truyền - Thứ trưởng Bộ Y tế giữ chức vụ Chủ tịch Hội đồng Dược điển Việt Nam III, tiếp nối nhiệm vụ Chủ tịch HĐDĐVN mà GS.TS. Trương Công Quyền đã đảm nhiệm trong hơn 3 thập kỷ. Các Ban của Hội đồng nói chung vẫn giữ nguyên về tổ chức, riêng ban phương pháp kiểm nghiệm chung tách thành 2 ban: Ban phương pháp phân tích thuốc thử và chất đối chiếu và Ban phương pháp sinh học. Các cán bộ tham gia xây dựng DĐVN III gồm: 4 cán bộ chuyên trách thuộc biên chế Văn phòng Hội đồng Dược điển Việt Nam, 176 ủy viên và các cộng tác viên, nhiều cơ quan trong ngành Y tế.

Trong 5 năm (1995 - 2000), Hội đồng Dược điển Việt Nam đã hoàn thành việc biên soạn Dược điển Việt Nam III và in hai tập Dự thảo. Dự thảo Dược điển Việt Nam III (Thuốc cổ truyền) gồm 154 chuyên luận in vào năm 1998. Dự thảo Dược điển Việt Nam III (Tân dược và Dược liệu) in vào năm 2000. Hai bản Dự thảo Dược điển Việt Nam III được gửi tới các đơn vị trong toàn ngành để lấy ý kiến đóng góp. Năm 2001, sau khi thu thập các ý kiến đóng góp, Hội đồng đã tổ chức thẩm định, nghiên cứu bổ sung và hoàn thiện các chuyên luận để Dược điển Việt Nam III được in chính thức đầu năm 2002. So với lần xuất bản trước, Dược điển Việt Nam III đã đưa thêm nhiều chuyên luận thuốc mới, bổ sung những kỹ thuật và phương pháp tiên tiến, hiện đại trong kiểm nghiệm thuốc, đã nâng cao tiêu chuẩn chất lượng của nguyên liệu làm thuốc và thành phẩm tương đương với trình độ tiên tiến trong khu vực và trên thế giới, đáp ứng với yêu cầu thực tế của Việt Nam và yêu cầu hội nhập quốc tế.

Nhận thức được tầm quan trọng của công tác Dược điển trong thời kỳ đất nước hội nhập vào nền kinh tế toàn cầu, Bộ Y tế chủ trương củng cố HĐDĐVN để hướng dẫn việc triển khai áp dụng DĐVN III và tiếp tục xây dựng Dược điển, tiến tới ban hành DĐVN IV. Ngày 28/02/2003, tại Quyết định số 689/BYT-QĐ, Bộ trưởng Bộ Y tế đã bổ nhiệm PGS.TS. Trịnh Văn Quỳ, Viện trưởng Viện Kiểm nghiệm làm Chủ tịch HĐDĐVN, thay PGS.TS. Lê Văn Truyền. Sau đó, Ban Thường trực Hội đồng đã được củng cố lại với các Phó chủ tịch là những cán bộ đang giữ chức vụ quản lý của Cục quản lý Dược, Viện Kiểm nghiệm thuốc, Viện Kiểm định Vắc xin và Sinh phẩm y tế và Vụ Khoa học và Đào tạo Bộ Y tế. Như vậy, Ban Thường trực HĐDĐVN IV gồm 9 thành viên do PGS.TS. Trịnh Văn Quỳ làm Chủ tịch Hội đồng; 6 Phó chủ tịch: GS.TS. Phạm Thanh Kỳ, TS. Trần Công Kỳ, PGS.TS. Trịnh Văn Lầu, TS. Cao Minh Quang, GS.TS. Nguyễn Đình Bảng và TS. Phạm Quốc Bảo. Do những thay đổi cán bộ giữ chức vụ lãnh đạo các cơ quan, đơn vị quản lý dược và kiểm nghiệm nên đến năm 2007, danh sách 6 Phó chủ tịch Hội đồng là GS.TS. Phạm Thanh Kỳ, TS. Trương Quốc Cường, PGS.TS. Trịnh Văn Lầu, DS. Nguyễn Văn Mô, PGS.TS. Lê Văn Phùng và TS. Phạm Quốc Bảo. Trưởng Ban thư ký là Viện trưởng Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương (PGS.TS. Trịnh Văn Lầu), các Phó trưởng Ban thư ký là ThS. Cao Thị Mai Phương (Chánh Văn phòng Hội đồng Dược điển Việt Nam) và DS. Nguyễn Văn Viên (chuyên viên Cục Quản lý Dược - Bộ Y tế). Ngày 31/3/2008, Bộ trưởng Bộ Y tế đã bổ nhiệm TS. Nguyễn Văn Tựu, Phó viện trưởng Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương, làm Chủ tịch Hội đồng Dược điển Việt Nam thay PGS.TS. Trịnh Văn Quỳ nghỉ chế độ hưu trí, để tiếp tục điều hành các công việc của Hội đồng Dược điển Việt Nam. Tiếp theo đó, ngày 2 tháng 1 năm 2009, Bộ Trưởng Bộ Y tế đã ký Quyết định số 08/QĐ-BYT thành lập Trung tâm Dược điển - Dược thư Việt Nam trên cơ sở của Văn phòng Hội đồng Dược điển Việt Nam, là một đơn vị sự nghiệp có thu trực thuộc Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương, có tư cách pháp nhân, có con dấu và tài khoản riêng. Trung tâm Dược điển - Dược thư Việt Nam là cơ quan thường trực của Hội đồng Dược điển Việt Nam.

Sau khi củng cố Ban Thường trực Hội đồng, các Ban chuyên môn cũng đều được tổ chức lại theo hướng giảm đầu mối, trong đó Ban Dược liệu và Ban Thuốc cổ truyền nhập thành Ban Dược liệu - Đông dược; Ban Phương pháp phân tích, thuốc thử và chất đối chiếu và Ban Phương pháp sinh học nhập thành Ban Phương pháp kiểm nghiệm chung. Các ủy viên Ban Thường trực Hội đồng đã được phân công trực tiếp phụ trách các ban chuyên môn; các cán bộ Văn phòng HĐDĐ Việt Nam được cử làm Thư ký của các ban chuyên môn.

Đồng thời với việc củng cố tổ chức, Hội đồng triển khai ngay các hoạt động chuyên môn. Năm 2003 - 2004, Hội đồng tập trung vào việc dịch chuyển ngữ DĐVN III sang tiếng Anh và biên tập thành phiên bản tiếng Anh của DĐVN III. Tháng 4 năm 2005, phiên bản tiếng Anh DĐVN III đã được xuất bản và phát hành, chủ yếu đến các đối tác nước ngoài, các công ty xuất nhập khẩu thuốc và các tổ chức quốc tế. Đây là lần đầu tiên Dược điển Việt Nam có thêm phiên bản tiếng Anh, giúp các đồng nghiệp nước ngoài có thể tiếp cận dễ dàng với bộ Tiêu chuẩn quốc gia về thuốc của Việt Nam, một đất nước có ngành Dược đang phát triển mạnh mẽ và hội nhập sâu rộng với nền kinh tế trên thế giới.

Cũng trong các năm 2004 - 2005 Hội đồng đã tiến hành rà soát, chỉnh sửa và bổ sung DĐVN III. Đầu năm 2006 Bản bổ sung DĐVN III được ban hành và xuất bản. Nội dung của Bản bổ sung đã được chuẩn bị như một phần của DĐVN IV sẽ xuất bản sau này.

Công tác xây dựng DĐVN IV được triển khai với một kế hoạch tổng thể được Bộ Y tế phê duyệt. Vào thời kỳ này, Luật Dược đã được Quốc hội khóa XI, kỳ họp thứ 7 thông qua ngày 14/6/2005. Dược điển Việt Nam đã được xác định trong

Luật Dược là bộ Tiêu chuẩn quốc gia về chất lượng thuốc và các phương pháp kiểm nghiệm thuốc. Luật Tiêu chuẩn và Quy chuẩn kỹ thuật cũng được Quốc hội khóa XI, kỳ họp thứ 9 thông qua ngày 29/6/2006 chi phối việc xây dựng và ban hành Dược điển, đòi hỏi công tác này phải tuân theo những quy trình, thủ tục đầy đủ và chặt chẽ.

Ngày 29/12/2008, Bộ Y tế và Bộ Khoa học và Công nghệ đã ký Thông tư liên tịch số 11/2008/TTLT/BYT-BKHCN để hướng dẫn xây dựng, thẩm định, công bố Bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc và ban hành, xuất bản Dược điển Việt Nam. Thông tư này đã đưa công tác tiêu chuẩn thuốc lên một bước phát triển mới, đảm bảo việc xây dựng các tiêu chuẩn quốc gia về thuốc - Dược điển Việt Nam tuân thủ các quy định của Luật Dược, Luật Tiêu chuẩn và Quy chuẩn kỹ thuật, phù hợp với đặc thù của tiêu chuẩn quốc gia về thuốc và thông lệ quốc tế; đáp ứng yêu cầu hội nhập quốc tế về dược.

Thời gian này, Dược điển Việt Nam IV đã cơ bản hoàn thành và được Bộ Y tế nghiệm thu cấp Bộ. Để đáp ứng các quy định tại Thông tư 11/2008/TTLT/BYT-BKHCN, các tiêu chuẩn quốc gia về thuốc của Dược điển Việt Nam IV đã được gửi thẩm tra về chuyên môn tại Cục Quản lý Dược và thẩm định tại Tổng cục Tiêu chuẩn - Đo lường - Chất lượng. Ngày 16 tháng 7 năm 2009 Bộ trưởng Bộ Khoa học và Công nghệ đã ký công bố Bộ Tiêu chuẩn quốc gia (TCVN I: 2009) xuất bản lần 1, bao gồm: TCVN I-1: 2009 Bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc - phần 1: Phương pháp kiểm nghiệm thuốc; TCVN I-2: 2009 Bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc - phần 2: Nguyên liệu hóa dược; TCVN I-3: 2009 Bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc - phần 3: Thành phẩm hóa dược; TCVN I-4: 2009 Bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc - phần 4: Dược liệu và thuốc từ dược liệu; TCVN I-5: 2009 Bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc - phần 5: Vắc xin và sinh phẩm y tế. Trên cơ sở công bố Bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc TCVN I: 2009 của Bộ trưởng Bộ Khoa học và Công nghệ, ngày 01 tháng 9 năm 2009, Bộ trưởng Bộ Y tế đã ký Quyết định số 3195/QĐ-BYT về việc ban hành Dược điển Việt Nam lần xuất bản thứ tư, có hiệu lực thi hành từ 01/01/2010.

Song song với việc ban hành Dược điển VN IV, ngày 14 tháng 10 năm 2009, Bộ trưởng Bộ Y tế đã ra Quyết định số 3931/QĐ-BYT thành lập Hội đồng Dược điển Việt Nam V bao gồm Chủ tịch, các Phó chủ tịch, Ban thường trực Hội đồng và 7 Ban kỹ thuật tiêu chuẩn về thuốc. Theo Quyết định này, Chủ tịch Hội đồng Dược điển Việt Nam V là TS. Nguyễn Văn Tựu, các Phó Chủ tịch gồm: PGS.TS. Trịnh Văn Lẩu, TS. Trương Quốc Cường, PGS.TS. Trần Thị Oanh, PGS.TS. Nguyễn Ngọc Vinh, PGS.TS. Lê Văn Phùng và ThS. Nguyễn Quang Ân. Ban thường trực Hội đồng là những người đứng đầu các cơ quan quản lý, các Viện, Trường, các chuyên gia đầu ngành có uy tín, có ảnh hưởng lớn và tầm nhìn sâu rộng giúp cho việc định hướng và phát triển của Dược điển Việt Nam. Cuối năm 2010, TS. Nguyễn Văn Tựu được Nhà nước cho nghỉ chế độ, vì vậy ngày 31 tháng 12 năm 2010 Bộ trưởng Bộ Y tế đã ra quyết định 5322/QĐ-BYT cử PGS.TS. Trịnh Văn Lẩu làm Chủ tịch Hội đồng Dược điển Việt Nam V. Tiếp sau đó, Bộ trưởng Bộ Y tế cũng bổ nhiệm PGS.TS Đoàn Cao Sơn, Viện trưởng Viện Kiểm nghiệm Thuốc TW làm Phó chủ tịch Hội đồng Dược điển Việt Nam V để tăng cường nhân lực cho Hội đồng.

Ngay sau khi được thành lập, Hội đồng Dược điển V cùng với Trung tâm Dược điển - Dược thư Việt Nam đã xây dựng kế hoạch tổng thể xây dựng Bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc và ban hành Dược điển Việt Nam V đồng thời khẩn trương triển khai sau khi được Bộ Y tế phê duyệt. Từ năm 2012, hằng năm lần lượt các Bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc được công bố: Bộ TCVN II:2012 bao gồm 79 tiêu chuẩn theo Quyết định số 2702/QĐ-BKHCN ngày 08 tháng 10 năm 2012; Bộ TCVN III:2014 bao gồm 51 tiêu chuẩn theo Quyết định số 759/QĐ-BKHCN ngày 22 tháng 4 năm 2014; Bộ TCVN IV:2015 bao gồm 58 tiêu chuẩn theo Quyết định số 746/QĐ-BKHCN ngày 15 tháng 4 năm 2015; Bộ TCVN V:2017 bao gồm 109 tiêu chuẩn quốc gia về thuốc theo Quyết định số 968/QĐ-BKHCN ngày 28 tháng 4 năm 2017; Bộ TCVN VI:2017 bao gồm 64 tiêu chuẩn theo Quyết định số 2760/QĐ-BKHCN ngày 13 tháng 10 năm 2017. Các tiêu chuẩn quốc gia về thuốc của Bộ TCVN II, III, IV đã được tập hợp trong Bản bổ sung Dược điển Việt Nam V và được Bộ trưởng Bộ Y tế ban hành vào tháng 6 năm 2015.

Giai đoạn xây dựng Dược điển V là giai đoạn mà việc áp dụng công nghệ thông tin và các kỹ thuật tiên tiến đã giúp cho việc kiểm tra đánh giá chất lượng thuốc có những kết quả tiến bộ vượt bậc, nâng trình độ của Việt Nam lên ngang tầm với các nước trong khu vực và quốc tế. Bắt nhịp với xu thế hội nhập, Hội đồng Dược điển chủ trương mở rộng hợp tác quốc tế, tham gia và đóng góp tích cực vào các diễn đàn trao đổi kinh nghiệm kiểm tra đánh giá, quản ký chất lượng và hòa hợp tiêu chuẩn thuốc trong khu vực và quốc tế, cả trên lĩnh vực thuốc tân dược và thuốc đông dược - dược liệu.

Dược điển Việt Nam lần xuất bản lần thứ năm có số chuyên luận tăng vượt bậc với 1519 chuyên luận, trong đó có 228 chuyên mục chung, 485 nguyên liệu hóa dược, 385 thành phẩm hóa dược, 372 dược liệu và thuốc từ dược liệu, 41 vắc xin và sinh phẩm y tế, 8 bao bì và nguyên liệu sản xuất bao bì. Với nội dung tăng lên tương đương với khoảng 2200 trang sách, Dược điển Việt Nam V được in thành hai tập, tập 1 gồm nguyên liệu hóa dược và thành phẩm hóa dược, tập 2 gồm dược diệu, thuốc từ dược liệu, vắc xin, sinh phẩm và các phụ lục.

Trải qua hơn 50 năm lịch sử, với 5 lần xuất bản, Dược điển Việt Nam đã trở thành tài liệu tham chiếu kỹ thuật không thể thiếu của ngành Dược, đóng góp vai trò quan trọng trong việc đảm bảo chất lượng thuốc phục vụ sự nghiệp chăm sóc sức khỏe cộng đồng, góp phần vào sự phát triển kinh tế xã hội của đất nước.

HỘI ĐỒNG DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM V

(Theo Quyết định số 3931/QĐ-BYT ngày 14/10/2009, Quyết định số 5322/QĐ-BYT ngày 31/12/2010, Quyết định số 1032/QĐ-BYT ngày 03/4/2012)

Chủ tịch Hội đồng Dược điển Việt Nam V
TS. Nguyễn Văn Tựu (10/2009 - 2010)
PGS.TS. Trịnh Văn Lầu (từ 12/2010)

Các Phó chủ tịch Hội đồng Dược điển Việt Nam V
Cục trưởng Cục Quản lý Dược: TS. Trương Quốc Cường
Viện trưởng Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương: PGS.TS. Đoàn Cao Sơn (từ 4/2012)
Viện trưởng Viện Kiểm nghiệm thuốc Thành phố Hồ Chí Minh: PGS.TS. Nguyễn Ngọc Vinh
Viện trưởng Viện Kiểm định quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm y tế: PGS.TS. Lê Văn Phùng (đến 12/2014)
Lãnh đạo Cục Khoa học công nghệ và Đào tạo, Bộ Y tế: PGS.TS. Trần Thị Oanh
Vụ Kế hoạch - Tài chính, Bộ Y tế: ThS. Nguyễn Quang Ân

Ủy viên thư ký hội đồng:
TS. Nguyễn Văn Lợi
ThS. Cao Thị Mai Phương

Ban Thường trực Hội đồng Dược điển V
Trưởng ban: TS. Nguyễn Văn Tựu
Phó trưởng ban: PGS.TS. Trịnh Văn Lầu
DS. Nguyễn Văn Thanh
Các uỷ viên: PGS.TS. Trịnh Văn Quỳ, GS.TS. Phạm Thanh Kỳ, GS.TS. Võ Xuân Minh, PGS.TS. Trần Thị Oanh, PGS.TS. Nguyễn Ngọc Vinh, PGS.TS. Lê Văn Phùng, ThS. Nguyễn Quang Ân, PGS.TS. Lê Viết Hùng, GS.TS. Lê Quan Nghiệm, TS. Phạm Quốc Bảo, PGS. TSKH. Nguyễn Minh Khởi, DS. Nguyễn Quý Sơn, TS. Lê Thanh Hải, TS. Nguyễn Văn Lợi, ThS. Cao Thị Mai Phương.

Ban Danh pháp - Quy chế
Trưởng ban: TS. Trương Quốc Cường
Phó trưởng ban: TS. Phạm Quốc Bảo
DS. Nguyễn Văn Thanh
Thư ký ban: TS. Nguyễn Văn Lợi
Các uỷ viên: PGS.TS. Đinh Thị Thanh Hải, ThS. Lục Thị Thu Hằng, ThS. Nguyễn Thị Phương Mai, ThS. Cao Thị Mai Phương, ThS. Chu Đăng Trung, DS. Nguyễn Văn Viên.

Ban Hóa dược
Trưởng ban: PGS.TS. Trịnh Văn Lầu
Phó trưởng ban: ThS. Phan Thị Thuỳ Chi
PGS.TS. Trương Phương
Thư ký ban: ThS. Lục Thị Thu Hằng.
Các uỷ viên: TS. Trần Hồng Anh, ThS. Phạm Thị Duyên, PGS.TS. Trần Thành Đạo, ThS. Nguyễn Thanh Hà, ThS. Nguyễn Thị Thu Hà, ThS. Trần Thúy Hạnh, PGS.TS. Trần Đức Hậu, ThS. Lê Thị Thiên Hương, TS. Chương Ngọc Nãi, GS.TS. Nguyễn Hải Nam, ThS. Nguyễn Thị Kim Thanh, TS. Nguyễn Thị Thanh Thảo, ThS. Lê Thị Thu, PGS.TS. Lê Minh Trí, ThS. Trần Thị Bích Vân, DS. Nguyễn Thị Hồng Yến.

Ban Bào chế
Trưởng ban: GS.TS. Võ Xuân Minh
Phó trưởng ban: PGS.TS. Đoàn Cao Sơn
PGS.TS. Nguyễn Ngọc Vinh
Thư ký ban: ThS. Lục Thị Thu Hằng.
Các uỷ viên: ThS. Trần Thị Quỳnh Chi, TS. Hà Minh Hiền, TS. Lê Thị Hường Hoa, PGS.TS. Nguyễn Đăng Hòa, ThS. Bùi Thị Hòa, PGS.TS. Huỳnh Văn Hóa, PGS.TS. Phạm Thị Minh Huệ, ThS. Lê Văn Lăng, ThS. Nguyễn Đăng Lâm, TS. Nguyễn Trần Linh, PGS.TS. Nguyễn Văn Long, PGS.TS. Hà Diệu Ly, DSCK II. Dương Công Minh, ThS. Phạm Thị Hồng Nhung, DS. Phạm Hồng Phương, ThS. Cao Thị Mai Phương, DSCKI. Bùi Văn Thanh, ThS. Lục Thị Vân.

Ban Dược liệu - Đông dược
Trưởng ban: GS.TS. Phạm Thanh Kỳ
Phó trưởng ban: PGS.TS. Trần Hùng
PGS.TSKH. Nguyễn Minh Khởi
Thư ký ban: ThS. Nguyễn Thị Phương Mai
Các uỷ viên: ThS. Vương Văn Ánh, DS. Nguyễn Thị Minh Châu, ThS. Nguyễn Thị Kim Danh, ThS. Huỳnh Ngọc Duy, ThS. Phạm Thị Giảng, PGS.TS. Nguyễn Thu Hằng, TS. Nguyễn Viết Kình, TS. Võ Văn Lẹo, TS. Bùi Mỹ Linh, TS. Trần Công Luận, TS. Phạm Đông Phương, PGS.TS. Trần Thị Hồng Phương, ThS. Trịnh Thị Quy, PGS.TS. Đỗ Quyên, GS.TS. Phạm Xuân Sinh, ThS. Lê Thị Minh Thảo, PGS.TS. Nguyễn Viết Thân, PGS.TS. Nguyễn Thị Bích Thu, PGS.TS. Huỳnh Ngọc Thụy, TS. Nguyễn Đức Toàn, TS. Phạm Xuân Trường, TS. Nguyễn Văn Tựu, PGS.TS. Nguyễn Tiến Vững.

Ban Vắc xin và Sinh phẩm
Trưởng ban: PGS.TS.Lê Văn Phùng (đến 2014)
Phó trưởng ban: PGS.TS. Nguyễn Thị Hồng Linh,
GS.TS. Phan Thị Ngà.
Thư ký ban: TS. Đỗ Thúy Ngân
ThS. Nguyễn Thị Phương Mai
Các uỷ viên: ThS. Nguyễn Thị Kiều Anh, TS. Lê Kim Hòa, BS. Đỗ Diệp Lan, PGS.TS. Trương Xuân Liên, GS.TS. Lê Thị Luân, ThS. Lưu Anh Thư, GS.TSKH. Nguyễn Thu Vân, ThS. Lê Thị Hải Yến.

Ban Phương pháp kiểm nghiệm chung
Trưởng ban: PGS.TS. Trịnh Văn Quỳ
Phó trưởng ban: TS. Phùng Thị Vinh
ThS. Cao Thị Mai Phương
Thư ký ban: ThS. Nguyễn Thị Phương Mai
Các uỷ viên: ThS. Nguyễn Tuấn Anh, TS. Lê Đình Chi, PGS.TSKH. Đỗ Trung Đàm, PGS.TS. Phạm Thị Thanh Hà, ThS. Lục Thị Thu Hằng, ThS. Đặng Trần Phương Hồng, ThS. Nguyễn Thị Vĩnh Hồng, TS. Tạ Mạnh Hùng, PGS.TS. Trần Việt Hùng, TS. Nguyễn Thị Kim Hương, ThS. Trương Thị Thu Lan, GS.TS. Thái Nguyễn Hùng Thu, PGS.TS. Nguyễn Đức Tuấn.

Ban Biên tập - Hiệu đính
Trưởng ban: TS. Nguyễn Văn Tựu
Phó trưởng ban: ThS. Lục Thị Thu Hằng
ThS. Cao Thị Mai Phương
Thư ký ban: ThS. Nguyễn Thị Phương Mai
Các uỷ viên: ThS. Phan Thị Thùy Chi, PGS.TSKH. Đỗ Trung Đàm, ThS. Lê Thị Thu Hiền, ThS. Đặng Trần Phương Hồng, ThS. Nguyễn Thị Hương, GS.TS. Phạm Thanh Kỳ, TS. Đỗ Thúy Ngân, PGS.TS. Trịnh Văn Quỳ, DSCK II. Trần Thị Lệ Sung, TS. Phùng Thị Vinh.

Trung tâm Dược điển - Dược thư Việt Nam
Giám đốc: ThS. Lục Thị Thu Hằng
Phó Giám đốc: ThS. Nguyễn Thị Phương Mai
Cán bộ chuyên trách: ThS. Lê Thị Thu Hiền, ThS. Nguyễn Thị Hương, DSTH. Phạm Bình Minh, ThS. Nguyễn Thanh Thảo, CN. Hà Thị Thúy, DS. Nguyễn Thị Trang.

CÁC CỘNG TÁC VIÊN

DS. Nguyễn Kim Anh
ThS. Cao Ngọc Anh
DS. Nguyễn Thị Vân Anh
ThS. Phạm Huy Bách
ThS. Phạm Thị Kiều Dung
TS. Lê Việt Dũng
ThS. Trần Kiều Duyên
TS. Đỗ Tuấn Đạt
ThS. Nguyễn Thành Đạt
ThS. Mai Thanh Hà
ThS. Phạm Thị Hà
ThS. Trần Thị Thu Hà
ThS. Nguyễn Thị Thu Hằng
TS. Nguyễn Thị Minh Hiền
DS. Nguyễn Thị Thu Hiền
ThS. Trần Hoàng
GS. Phạm Gia Huệ
ThS. Trần Thị Thanh Huế
ThS. Lê Thị Thu Huyền
DS. Lê Thị Cẩm Hương
ThS. Hoàng Thị Hường
ThS. Nguyễn Thị Thu Hường
ThS. Trần Đình Khải
TS. Đặng Văn Khánh
ThS. Phạm Văn Kiền
TS. Nguyễn Thị Kiều
DS. Lê Thành Lâm
TS. Nguyễn Thị Liên
DS. Nguyễn Ngọc Liễu
CN. Đỗ Khánh Linh
DSCKI. Ngô Thị Lư
ThS. Nguyễn Thị Lý
ThS. Đoàn Thị Tuyết Mai
DS. Phạm Hồng Minh
DS. Lê Thị Quỳnh Nga
TS. Trần Minh Ngọc
TS. Hà Thị Vân Oanh
ThS. Bùi Việt Phương
TS. Nguyễn Thị Phương
TS. Nguyễn Thị Lan Phương
ThS. Nguyễn Thị Lan Phương
ThS. Nguyễn Thị Thanh Phương
ThS. Hoàng Thị Tâm
ThS. Nguyễn Thị Minh Tâm
ThS. Phạm Thị Thanh Tâm
ThS. Nguyễn Thị Phương Thảo
ThS. Đoàn Hữu Thiện
ThS. Đỗ Bích Thuận
DSCKI. Nguyễn Thị Ngọc Trâm
ThS. Trần Thị Thu Trang
PGS.TS. Lê Văn Truyền
TS. Nguyễn Hoàng Tuấn
PGS.TS. Nguyễn Tường Vi

CÁC CƠ QUAN VÀ ĐƠN VỊ THAM GIA XÂY DỰNG DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM V

Cục quản lý Dược, Bộ Y tế
Cục Khoa học công nghệ và Đào tạo, Bộ Y tế
Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng, Bộ Khoa học và Công nghệ
Viện Kiểm nghiệm Thuốc Trung ương, Bộ Y tế
Viện Kiểm nghiệm Thuốc TP. Hồ Chí Minh, Bộ Y tế
Trường Đại học Dược Hà Nội
Khoa Dược, Đại học Y - Dược TP. Hồ Chí Minh
Viện Dược liệu, Bộ Y tế
Viện Kiểm định quốc gia Vắc xin và Sinh phẩm Y tế, Bộ Y tế
Bệnh viện Y học cổ truyền Trung ương, Bộ Y tế
Trung tâm Kiểm nghiệm Hà Nội
Trung tâm Kiểm nghiệm Thuốc, Mỹ phẩm, Thực phẩm Thừa Thiên Huế
Trung tâm Kiểm nghiệm Thuốc, Mỹ phẩm, Thực phẩm TP. Hồ Chí Minh
Viện kiểm nghiệm, nghiên cứu Dược và trang thiết bị y tế quân đội
Một số doanh nghiệp sản xuất và kinh doanh Dược...

DANH MỤC CÁC CHUYÊN LUẬN

I. Nguyên liệu hóa dược và Thành phẩm hóa dược

1 Abacavir sulfat
2 Acebutolol hydroclorid
3 Acebutolol, viên nén
4 Acenocoumarol
5 Acenocoumarol, viên nén
6 Acetazolamid
7 Acetazolamid, viên nén
8 Acetylcystein
9 Acetylcystein, bột pha hỗn dịch
10 Acetylcystein, nang
11 Aciclovir
12 Aciclovir, kem
13 Aciclovir, viên nén
14 Acid acetylsalicylic
15 Acid acetylsalicylic, viên nén
16 Acid acetylsalicylic, viên nén bao tan trong ruột
17 Aspirin và cafein, viên nén
18 Acid aminocaproic
19 Acid ascorbic
20 Acid ascorbic, thuốc tiêm
21 Acid ascorbic, viên nén
22 Acid benzoic
23 Benzosali, thuốc mỡ
24 Acid boric
25 Acid boric, dung dịch 3 %
26 Acid boric, thuốc mỡ 10 %
27 Acid citric ngậm 1 phân tử nước
28 Acid folic
29 Acid folic, viên nén
30 Acid hydrocloric
31 Acid hydrocloric loãng
32 Acid mefenamic
33 Acid mefenamic, viên nén
34 Acid methacrylic và ethyl acrylat đồng trùng hợp (1 : 1)
35 Acid methacrylic và ethyl acrylat đồng trùng hợp (1 : 1), dịch phân tán 30 %
36 Acid methacrylic và methyl methacrylat đồng trùng hợp (1 : 1)
37 Acid methacrylic và methyl methacrylat đồng trùng hợp (1 : 2)
38 Acid nalidixic
39 Acid nalidixic, viên nén
40 Acid nicotinic
41 Acid salicylic
42 Acid tranexamic
43 Acid tranexamic, nang
44 Acid tranexamic, viên nén
45 Adrenalin (epinephrin)
46 Adrenalin acid tartrat
47 Adrenalin, thuốc tiêm
48 Albendazol
49 Albendazol, viên nén
50 Alimemazin tartrat
51 Alimemazin, siro
52 Alimemazin, viên nén
53 Alopurinol
54 Alopurinol, viên nén
55 Alverin citrat
56 Alverin, nang
57 Ambroxol hydroclorid
58 Ambroxol hydroclorid, nang
59 Ambroxol hydroclorid, viên nén
60 Amikacin
61 Amikacin, thuốc tiêm
62 Aminophylin
63 Aminophylin, thuốc tiêm
64 Aminophylin, viên nén
65 Amiodaron hydroclorid
66 Amiodaron, viên nén
67 Amitriptylin hydroclorid
68 Amitryptilin, viên nén
69 Amlodipin besilat
70 Amlodipin, viên nén
71 Amodiaquin hydroclorid
72 Amodiaquin hydroclorid, viên nén
73 Amoni clorid
74 Amoxicilin natri
75 Amoxicilin, bột pha tiêm
76 Amoxicilin và acid clavulanic, bột pha tiêm
77 Amoxicilin trihydrat
78 Amoxicilin, bột pha hỗn dịch
79 Amoxicilin, nang
80 Amoxicilin, viên nén
81 Amoxicilin và acid clavulanic, bột pha hỗn dịch
82 Amoxicilin và acid clavulanic, viên nén
83 Amoxicilin và cloxacilin, nang
84 Amphotericin B
85 Amphotericin, viên ngậm
86 Ampicilin
87 Ampicilin natri
88 Ampicilin, bột pha tiêm
89 Ampicilin và sulbactam, bột pha tiêm
90 Ampicilin trihydrat

91 Ampicilin, nang
92 Arginin
93 Arginin aspartat
94 Arginin hydroclorid
95 Arginin, nang
96 Artemether
97 Artemether, nang
98 Artemether, viên nén
99 Artemether và lumefantrin, viên nén
100 Artemisinin
101 Artesunat
102 Artesunat, bột pha tiêm
103 Aspartam
104 Aspartam, thuốc bột
105 Atenolol
106 Atenolol, viên nén
107 Atorvastatin calci trihydrat
108 Atorvastatin, viên nén
109 Atropin sulfat
110 Atropin sulfat, thuốc tiêm
111 Atropin sulfat, viên nén
112 Attapulgit
113 Azithromycin
114 Azithromycin, nang
115 Azithromycin, bột pha hỗn dịch
116 Bacitracin
117 Bạc nitrat
118 Bạc vitelinat
119 Bari sulfat
120 Bari sulfat pha hỗn dịch
121 Benzalkonium clorid
122 Benzathin benzylpenicilin
123 Benzathin benzylpenicilin, bột pha tiêm
124 Benzylpenicilin kali
125 Benzylpenicilin natri
126 Benzylpenicilin, bột pha tiêm
127 Berberin clorid
128 Berberin clorid, viên nén
129 Betamethason
130 Betamethason, viên nén
131 Betamethason dipropionat
132 Bethamethason natri phosphat
133 Betamethason, thuốc nhỏ mắt
134 Betamethason valerat
135 Biotin
136 Biotin, viên nén
137 Bisacodyl
138 Bisacodyl, viên nén bao tan trong ruột
139 Bisoprolol fumarat
140 Bông hút nước
141 Bông hút nước tiệt khuẩn
142 Bột bó
143 Bột talc
144 Bromhexin hydroclorid
145 Bromhexin hydroclorid, viên nén
146 Bupivacain hydroclorid
147 Cafein
148 Cafein và natri benzoat, thuốc tiêm
149 Calci carbonat
150 Calci và vitamin D, viên nén
151 Calci clorid dihydrat
152 Calci clorid 10%, thuốc tiêm
153 Calci gluconat
154 Calci gluconat, viên nén sủi
155 Calci gluconat để pha thuốc tiêm
156 Calci gluconat, thuốc tiêm
157 Calci glycerophosphat
158 Calci hydroxyd
159 Calci lactat pentahydrat
160 Calci lactat trihydrat
161 Calci pantothenat
162 Calci phosphat
163 Calcitriol
164 Calcitriol, nang mềm
165 Camphor racemic
166 Camphor thiên nhiên
167 Captopril
168 Captopril, viên nén
169 Carbamazepin
170 Carbamazepin, viên nén
171 Carbidopa
172 Carbomer
173 Carmelose calci
174 Carmelose natri
175 Cefaclor
176 Cefaclor, bột pha hỗn dịch
177 Cefaclor, nang
178 Cefadroxil monohydrat
179 Cefadroxil, bột pha hỗn dịch
180 Cefadroxil, nang
181 Cefadroxil, viên nén
182 Cefalotin natri
183 Cefamadol nafat
184 Cefazolin natri
185 Cefazolin, bột pha tiêm
186 Cefdinir
187 Cefdinir, bột pha hỗn dịch
188 Cefdinir, nang
189 Cefepim hydroclorid monohydrat
190 Cefixim
191 Cefixim, bột pha hỗn dịch
192 Cefixim, nang

193 Cefixim, viên nén
194 Cefoperazon natri
195 Cefoperazon, bột pha tiêm
196 Cefoperazon và sulbactam, bột pha tiêm
197 Cefotaxim natri
198 Cefotaxim, bột pha tiêm
199 Cefpodoxim proxetil
200 Cefpodoxim, bột pha hỗn dịch
201 Cefpodoxim, nang
202 Cefpodoxim, viên nén
203 Cefradin
204 Cefradin, nang
205 Ceftazidim pentahydrat
206 Ceftazidim, bột pha tiêm
207 Ceftriaxon natri
208 Ceftriaxon, bột pha tiêm
209 Cefuroxim axetil
210 Cefuroxim, bột pha hỗn dịch
211 Cefuroxim, viên nén
212 Cefuroxim natri
213 Cefuroxim, bột pha tiêm
214 Celecoxib
215 Celulose acetat
216 Celulose vi tinh thể
217 Cephalexin
218 Cephalexin, bột pha hỗn dịch
219 Cephalexin, nang
220 Cephalexin, viên nén
221 Cetirizin hydroclorid
222 Cetirizin, viên nén
223 Cetostearyl alcol
224 Cetyl alcol
225 Chymotrypsin
226 Chymotrypsin, viên nén
227 Cilastatin natri
228 Cimetidin
229 Cimetidin, viên nén
230 Cinarizin
231 Cinarizin, viên nén
232 Cineol
233 Ciprofloxacin hydroclorid
234 Ciprofloxacin, thuốc nhỏ mắt
235 Ciprofloxacin, viên nén
236 Clarithromycin
237 Clarithromycin, nang
238 Clarithromycin, viên nén
239 Clavulanat kali
240 Clindamycin hydroclorid
241 Clindamycin, nang
242 Clofazimin
243 Clofazimin, nang
244 Clopidogrel hydrosulfat
245 Clopidogrel, viên nén
246 Cloral hydrat
247 Cloramphenicol
248 Cloramphenicol, nang
249 Cloramphenicol, thuốc nhỏ mắt
250 Cloramphenicol, thuốc nhỏ tai
251 Cloramphenicol, viên nén
252 Cloramphenicol và dexamethason natri phosphat, kem
253 Cloramphenicol và dexamethason natri phosphat, thuốc nhỏ mắt
254 Cloramphenicol palmitat
255 Cloramphenicol natri succinat
256 Cloramphenicol, bột pha tiêm
257 Clorhexidin gluconat, dung dịch
258 Cloroform
259 Cloroquin phosphat
260 Cloroquin phosphat, viên nén
261 Clorpheniramin maleat
262 Clorpheniramin, viên nén
263 Clorpromazin hydroclorid
264 Clorpromazin hydroclorid, thuốc tiêm
265 Clorpromazin hydroclorid, viên nén
266 Clotrimazol
267 Clotrimazol, kem
268 Clotrimazol, viên nén đặt âm đạo
269 Cloxacilin natri
270 Cloxacilin, nang
271 Cocain hydroclorid
272 Codein
273 Codein phosphat
274 Codein phosphat, viên nén
275 Colchicin
276 Colchicin, viên nén
277 Colecalciferol
278 Colecalciferol, viên nén
279 Cortison acetat
280 Cortison, viên nén
281 Cyanocobalamin
282 Cyanocobalamin, thuốc tiêm
283 Cyproheptadin hydroclorid
284 Cyproheptadin hydroclorid, viên nén
285 Dapson
286 Dapson, viên nén
287 Dầu parafin
288 Dexamethason
289 Dexamethason, viên nén
290 Dexamethason acetat
291 Dexamethason natri phosphat
292 Dexamethason, thuốc tiêm
293 Dexclorpheniramin maleat

294 Dexclorpheniramin, viên nén
295 Dexpanthenol
296 Dexpanthenol, viên nén
297 Dextromethorphan hydrobromid
298 Dextromethorphan hydrobromid, viên nén
299 Diazepam
300 Diazepam, thuốc tiêm
301 Diazepam, viên nén
302 Diclofenac diethylamin
303 Diclofenac natri
304 Diclofenac natri, thuốc tiêm
305 Diclofenac natri, viên nén bao tan trong ruột
306 Dicloxacilin natri
307 Diethyl phtalat
308 Diltiazem hydroclorid
309 Diltiazem, viên nén
310 Dimenhydrinat
311 Dimenhydrinat, viên nén
312 Dimercaprol
313 Dimercaprol, thuốc tiêm
314 Diphenhydramin hydroclorid
315 Diphenhydramin, dung dịch thuốc
316 Diphenhydramin, viên nén
317 Dịch truyền Ringer - lactat
318 Domperidon maleat
319 Domperidon, viên nén
320 Doxycyclin hydroclorid
321 Doxycyclin, nang
322 Đồng sulfat
323 Đồng sulfat khan
324 Đường trắng
325 Efavirenz
326 Efavirenz, nang
327 Emetin hydroclorid
328 Enalapril maleat
329 Enalapril, viên nén
330 Ephedrin hydroclorid
331 Ephedrin hydroclorid, thuốc tiêm
332 Ephedrin hydroclorid, viên nén
333 Ergocalciferol
334 Ergocalciferol, viên nén
335 Erythromycin
336 Erythromycin, viên nén
337 Erythromycin ethyl sucinat
338 Erythromycin stearat
339 Erythromycin stearat, nang
340 Erythromycin stearat, viên nén
341 Erythrosin
342 Esomeprazol magnesi trihydrat
343 Esomeprazol, nang tan trong ruột
344 Esomeprazol, viên nén bao tan trong ruột
345 Ethambutol hydroclorid
346 Ethambutol, viên nén
347 Ethambutol và isoniasid, viên nén
348 Ethanol
349 (Các) ethanol loãng
350 Ethanol 96 %
351 Ether mê
352 Ether thường
353 Ethinylestradiol
354 Ethinylestradiol, viên nén
355 Ethylcelulose
356 Eugenol
357 Famotidin
358 Famotidin, viên nén
359 Felodipin
360 Fenofibrat
361 Fenofibrat, nang
362 Fexofenadin hydroclorid
363 Fexofenadin, viên nén
364 Flucloxacilin natri
365 Flucloxacilin, nang
366 Fluconazol
367 Fluconazol, nang
368 Fluocinolon acetonid
369 Fluocinolon acetonid dihydrat
370 Fluocinolon, kem
371 Formaldehyd, dung dịch
372 Furosemid
373 Furosemid, viên nén
374 Gabapentin
375 Gabapentin, nang
376 Gabapentin, viên nén
377 Gelatin
378 Gelatin, vỏ nang cứng
379 Gentamicin sulfat
380 Gentamicin, thuốc nhỏ mắt
381 Gentamicin, thuốc tiêm
382 Glibenclamid
383 Glibenclamid, viên nén
384 Glibenclamid và metformin, viên nén
385 Gliclazid
386 Gliclazid, viên nén
387 Glimepirid
388 Glimepirid, viên nén
389 Glimepirid và metformin, viên nén
390 Glipizid
391 Glipizid, viên nén
392 Glipizid và metformin, viên nén
393 Glucosamin hydroclorid
394 Glucosamin sulfat kali clorid
395 Glucosamin sulfat natri clorid

396 Glucosamin, viên nén
397 Glucose khan
398 Glucose ngậm một phân tử nước
399 Glucose, thuốc tiêm
400 Glucose, thuốc tiêm truyền
401 Glutathion
402 Glycerin
403 Glycerol monostearat 40 - 55
404 Glyceryl trinitrat, dung dịch
405 Glyceryl trinitrat, viên nén
406 Griseofulvin
407 Griseofulvin, viên nén
408 Guaifenesin
409 Haloperidol
410 Haloperidol, viên nén
411 Halothan
412 Heptaminol hydroclorid
413 Heptaminol, viên nén
414 Histidin
415 Histidin hydroclorid monohydrat
416 Hydroclorothiazid
417 Hydroclorothiazid, viên nén
418 Hydrocortison acetat
419 Hydrocortison acetat, thuốc mỡ
420 Hydrocortison acetat, thuốc tiêm
421 Hydrocortison và neomycin, thuốc nhỏ mắt
422 Hydroxocobalamin acetat
423 Hydroxocobalamin clorid
424 Hydroxocobalamin sulfat
425 Hydroxocobalamin, thuốc tiêm
426 Hydroxyethylcelulose
427 Hydroxyethylmethylcelulose
428 Hydroxypropylcelulose
429 Hyoscin butylbromid
430 Hyoscin butylbromid, viên nén
431 Ibuprofen
432 Ibuprofen, viên nén
433 Imipenem
434 Imipenem và cilastatin, bột pha tiêm
435 Imipramin hydroclorid
436 Imipramin, viên nén
437 Indapamid
438 Indapamid, viên nén
439 Indinavir sulfat
440 Indinavir, nang
441 Indomethacin
442 Indomethacin, nang
443 Indomethacin, viên nén
444 Iod
445 Iod, dung dịch 1%
446 Irbesartan
447 Irbesartan, viên nén
448 Isoleucin
449 Isoniazid
450 Isoniazid, viên nén
451 Isosorbid dinitrat hỗn hợp
452 Isosorbid dinitrat, viên nén
453 Isosorbid mononitrat hỗn hợp
454 Isosorbid mononitrat, viên nén
455 Itraconazol
456 Itraconazol, nang
457 Kali bromid
458 Kali clorid
459 Kali clorid, dung dịch đậm đặc pha tiêm
460 Kali clorid, viên nén
461 Kali iodid
462 Kali permanganat
463 Kanamycin sulfat
464 Kanamycin, thuốc tiêm
465 Kaolin nặng
466 Kaolin nhẹ
467 Kaolin nhẹ thiên nhiên
468 Ketoconazol
469 Ketoconazol, kem
470 Ketoconazol, viên nén
471 Ketoconazol và neomycin, kem
472 Ketoprofen
473 Ketoprofen, nang
474 Kẽm oxyd
475 Kẽm oxyd, thuốc mỡ
476 Kẽm sulfat
477 Kẽm sulfat, thuốc nhỏ mắt
478 Lactose
479 Lamivudin
480 Lamivudin, dung dịch uống
481 Lamivudin, viên nén
482 Lamivudin và zidovudin, viên nén
483 Lanolin khan
484 Lansoprazol
485 Lansoprazol, nang tan trong ruột
486 Levamisol hydroclorid
487 Levodopa
488 Levodopa, viên nén
489 Levodopa và carbidopa, viên nén
490 Levofloxacin
491 Levofloxacin, viên nén
492 Levomepromazin maleat
493 Levomepromazin, viên nén
494 Levonorgestrel
495 Levonorgestrel, viên nén
496 Levothyroxin natri
497 Levothyrosin, viên nén

498 Lidocain hydroclorid
499 Lidocain, thuốc tiêm
500 Lincomycin hydroclorid
501 Lincomycin, nang
502 Lincomycin, thuốc tiêm
503 Loperamid hydroclorid
504 Loperamid, nang
505 Loperamid, viên nén
506 Lopinavir
507 Loratadin
508 Loratadin, viên nén
509 Losartan kali
510 Losartan kali, viên nén
511 Lovastatin
512 Lovastatin, viên nén
513 Lumefantrin
514 Lysin acetat
515 (Các) macrogol
516 Magnesi carbonat nặng
517 Magnesi carbonat nhẹ
518 Magnesi clorid
519 Magnesi hydroxyd
520 Magnesi - Nhôm hydroxyd, viên nén
521 Magnesi lactat dihydrat
522 Magnesi - B6, viên nén
523 Magnesi oxyd nặng
524 Magnesi oxyd nhẹ
525 Magnesi stearat
526 Magnesi sulfat
527 Magnesi trisilicat
528 Mangiferin
529 Manitol
530 Mebendazol
531 Mebendazol, viên nén
532 Mefloquin hydroclorid
533 Mefloquin, viên nén
534 Meloxicam
535 Meloxicam, viên nén
536 Menthol racemic
537 Menthol tá tuyền
538 Meprobamat
539 Mercurocrom
540 Metformin hydroclorid
541 Metformin, viên nén
542 Methadon hydroclorid
543 Methadon hydroclorid, dung dịch đậm đặc
544 DL-Methionin
545 Methionin, viên nén
546 Methyl parahydroxybenzoat
547 Methyl salicylat
548 Methylcelulose
549 Methyldopa
550 Methyldopa, viên nén
551 Methylprednisolon
552 Methylprednisolon, viên nén
553 Methylprednisolon acetat
554 Methylprednisolon acetat, thuốc tiêm
555 Metoclopramid
556 Metoclopramid hydroclorid
557 Metoclopramid, thuốc tiêm
558 Metoclopramid, viên nén
559 Metronidazol
560 Metronidazol, thuốc tiêm truyền
561 Metronidazol, viên nén
562 Metronidazol và nystatin, viên nén
563 Metronidazol và spiramicin, viên nén
564 Miconazol
565 Morphin hydroclorid
566 Morphin hydroclorid, thuốc tiêm
567 Naloxon hydroclorid
568 Naphazolin nitrat
569 Natri benzoat
570 Natri bromid
571 Natri calci edetat
572 Natri camphosulfonat
573 Natri citrat
574 Natri clorid
575 Natri clorid, thuốc nhỏ mắt 0,9 %
576 Natri clorid, thuốc tiêm
577 Natri clorid đẳng trương, thuốc tiêm truyền
578 Natri hydrocarbonat
579 Natri hydrocarbonat, thuốc bột
580 Natri hydrocarbonat, thuốc tiêm
581 Natri salicylat
582 Natri sulfacetamid
583 Natri sulfat
584 Natri sulfat khan
585 Natri thiosulfat
586 Natri thiosulfat, viên nén
587 Neomycin sulfat
588 Neomycin, thuốc nhỏ mắt
589 Nevirapin khan
590 Nevirapin, viên nén
591 Nhôm hydroxyd khô
592 Nhôm phosphat khô
593 Niclosamid khan
594 Niclosamid monohydrat
595 Niclosamid, viên nén
596 Nicotinamid
597 Nicotinamid, viên nén
598 Nifedipin
599 Nifedipin, viên nén

600 Nifuroxazid
601 Nikethamid
602 Nikethamid, thuốc giọt
603 Nitrazepam
604 Nitrofurantoin
605 Nitrofurantoin, viên nén
606 Norfloxacin
607 Norfloxacin, viên nén
608 Nước cất
609 Nước để pha thuốc tiêm
610 Nước tinh khiết
611 Nước vô khuẩn để tiêm
612 Nước oxy già đậm đặc
613 Nước oxy già loãng 3 %
614 Nước oxy già loãng 10 %
615 Nystatin
616 Nystatin, thuốc mỡ
617 Nystatin, viên đặt
618 Nystatin, viên nén
619 Ofloxacin
620 Ofloxacin, nang
621 Ofloxacin, thuốc nhỏ mắt
622 Ofloxacin, viên nén
623 Omeprazol
624 Omeprazol, nang tan trong ruột
625 Oresol
626 Oseltamivir phosphat
627 Oseltamivir, nang
628 Ouabain
629 Oxacilin natri monohydrat
630 Oxygen
631 Oxymetazolin hydroclorid
632 Oxymetazolin, thuốc nhỏ mũi
633 Oxytetracyclin dihydrat
634 Oxytetracyclin hydroclorid
635 Oxytetracyclin, nang
636 Pantoprazol natri sesquihydrat
637 Pantoprazol, viên nén bao tan trong ruột
638 Papaverin hydroclorid
639 Papaverin hydroclorid, viên nén
640 Paracetamol
641 Paracetamol, nang
642 Paracetamol, thuốc tiêm truyền
643 Paracetamol, viên đặt
644 Paracetamol, viên nén
645 Paracetamol, viên sủi
646 Paracetamol và cafein, viên nén
647 Paracetamol và clorpheniramin, viên nén
648 Paracetamol và codein, viên nén
649 Paracetamol và ibuprofen, viên nén
650 Pefloxacin mesilat
651 Pefloxacin mesylat, viên nén
652 Penicilamin
653 Pepsin
654 Perindopril *tert*-butylamin
655 Perindopril *tert*-butylamin, viên nén
656 Pethidin hydroclorid
657 Phenobarbital
658 Phenobarbital, viên nén
659 Phenol
660 Phenoxymethylpenicilin
661 Penicilin V, viên nén
662 Phenoxymethylpenicilin kali
663 Penicilin V kali, viên nén
664 Phenylpropanolamin hydroclorid
665 Phenytoin
666 Phenytoin, viên nén
667 Phthalylsulfathiazol
668 Phthalylsulfathiazol, viên nén
669 Phytomenadion
670 Phytomenadion, viên nén
671 Pilocarpin nitrat
672 Piperacilin natri
673 Piperazin adipat
674 Piperazin citrat
675 Piperazin hydrat
676 Piperazin phosphat
677 Piperazin phosphat, viên nén
678 Piracetam
679 Piracetam, nang
680 Piracetam, thuốc tiêm
681 Piroxicam
682 Piroxicam, nang
683 Piroxicam, viên nén
684 Polymyxin B sulfat
685 Polysorbat 20
686 Polysorbat 60
687 Polysorbat 80
688 Povidon
689 Povidon iod
690 Povidon iod, dung dịch
691 Praziquantel
692 Praziquantel, viên nén
693 Prednisolon
694 Prednisolon, viên nén
695 Prednison
696 Primaquin diphosphat
697 Primaquin diphosphat, viên nén
698 Procain hydroclorid
699 Procain hydroclorid, thuốc tiêm
700 Procainamid hydroclorid
701 Progesteron

702 Progesteron, nang mềm
703 Progesteron, thuốc tiêm
704 Promethazin hydroclorid
705 Promethazin hydroclorid, kem
706 Promethazin hydroclorid, sirô
707 Promethazin hydroclorid, viên nén
708 Propranolol hydroclorid
709 Propranolol, viên nén
710 Propyl parahydroxybenzoat
711 Propylen glycol
712 Propylthiouracil
713 Propylthiouracil, viên nén
714 Pyrantel pamoat
715 Pyrantel pamoat, viên nén
716 Pyrazinamid
717 Pyrazinamid, viên nén
718 Pyridoxin hydroclorid
719 Pyridoxin hydroclorid, thuốc tiêm
720 Pyridoxin hydroclorid, viên nén
721 Pyrimethamin
722 Quinapril hydroclorid
723 Quinin bisulfat
724 Quinin dihydroclorid
725 Quinin dihydroclorid, thuốc tiêm
726 Quinin hydroclorid
727 Quinin sulfat
728 Quinin sulfat, viên nén
729 Ramipril
730 Ramipril, viên nén
731 Ranitidin hydroclorid
732 Ranitidin, viên nén
733 Retinol (vitamin A) tổng hợp đậm đặc dạng bột
734 Retinol (vitamin A) tổng hợp đậm đặc dạng dầu
735 Vitamin A, nang mềm
736 Vitamin A và D, nang mềm
737 Riboflavin
738 Riboflavin, viên nén
739 Riboflavin natri phosphat
740 Rifampicin
741 Rifampicin, nang
742 Rifampicin, viên nén
743 Rifampicin và isoniasid, nang
744 Rifampicin, isoniazid và pyrazinamid, viên nén
745 Ritonavir
746 Rotundin
747 Rotundin, viên nén
748 Roxithromycin
749 Roxithromycin, bột pha hỗn dịch
750 Roxithromycin, viên nén
751 Rutin
752 Rutin, viên nén
753 Rutin và acid ascorbic, viên nén
754 Salbutamol
755 Salbutamol sulfat
756 Salbutamol, viên nén
757 Sắt fumarat
758 Sắt fumarat và acid folic, viên nén
759 Sắt oxyd
760 Sắt (II) sulfat
761 Sắt (II) sulfat khô
762 Sắt (II) sulfat, viên nén
763 Simvastatin
764 Simvastatin, viên nén
765 Sorbitol
766 Sorbitol, thuốc bột
767 Spartein sulfat
768 Spartein sulfat, thuốc tiêm
769 Spectinomycin hydroclorid
770 Spiramycin
771 Spiramycin, viên nén
772 Stavudin
773 Stavudin, viên nén
774 Stearyl alcol
775 Streptomycin sulfat
776 Streptomycin, bột pha tiêm
777 Strychnin sulfat
778 Sucralfat
779 Sulbactam natri
780 Sulfadiazin
781 Sulfadimidin
782 Sulfadoxin
783 Sulfadoxin và pyrimethamin, viên nén
784 Sulfaguanidin
785 Sulfaguanidin, viên nén
786 Sulfamethoxazol
787 Sulfamethoxazol, viên nén
788 Sulfamethoxypyridazin
789 Sulfasalazin
790 Sulfathiazol
791 Sulpirid
792 Sulpirid, nang
793 Sultamicilin
794 Sultamicilin tosilat dihydrat
795 Tamoxifen citrat
796 Tartrazin
797 Telmisartan
798 Telmisartan, viên nén
799 Tenoxicam
800 Tenoxicam, viên nén
801 Terbutalin sulfat
802 Terfenadin
803 Terfenadin, viên nén

804 Terpin hydrat
805 Tetracain hydroclorid
806 Tetracyclin hydroclorid
807 Tetracyclin hydroclorid, nang
808 Tetracyclin hydroclorid, thuốc mỡ tra mắt
809 Tetracyclin hydroclorid, viên nén
810 Than hoạt tính
811 Theophylin
812 Theophylin, viên nén
813 Thiamin hydroclorid
814 Thiamin hydroclorid, thuốc tiêm
815 Thiamin nitrat
816 Thiamin, viên nén
817 Vitamin B1, B6 và B12, viên nén
818 Thiamphenicol
819 Thiopental natri
820 Ticarcilin natri
821 Timolol maleat
822 Timolol, viên nén
823 Tinh bột biến tính natri glycolat typ A
824 Tinh bột biến tính natri glycolat typ B
825 Tinh bột biến tính natri glycolat typ C
826 Tinh bột gạo
827 Tinh bột khoai tây
828 Tinh bột lúa mì
829 Tinh bột ngô
830 Tinh bột sắn
831 Tinh bột thủy phân
832 Tinidazol
833 Tinidazol, viên nén
834 Titan dioxyd
835 Tobramycin
836 Tobramycin, thuốc nhỏ mắt
837 Tobramycin, thuốc tiêm
838 all-*rac*-Alpha tocopherol
839 all-*rac*-Alpha tocopheryl acetat
840 Nang mềm Vitamin E
841 Tolbutamid
842 Tolbutamid, viên nén
843 Tramadol hydroclorid
844 Triamcinolon acetonid
845 Triamcinolon acetonid, kem
846 Triglycerid mạch trung bình
847 Trihexyphenidyl hydroclorid
848 Trihexyphenidyl, viên nén
849 Trimetazidin hydroclorid
850 Trimetazidin, viên nén
851 Trimethoprim
852 Cotrimoxazol, viên nén
853 Valproat natri
854 Valproat natri, viên nén
855 Vancomycin hydroclorid
856 Vancomycin, bột pha tiêm
857 Vanilin
858 Vaselin
859 Verapamil hydroclorid
860 Vinblastin sulfat
861 Vinblastin sulfat, bột pha tiêm
862 Vincristin sulfat
863 Vincristin sulfat, bột pha tiêm
864 Vinpocetin
865 Vinpocetin, viên nén
866 Xylometazolin hydroclorid
867 Xylometazolin, thuốc nhỏ mũi
868 Zidovudin
869 Zidovudin, dung dịch uống
870 Zidovudin, viên nén

II. Huyết thanh, sinh phẩm và vắc xin

1 Huyết thanh miễn dịch dùng cho người
2 Globulin miễn dịch người
3 Huyết thanh kháng bạch hầu
4 Huyết thanh kháng dại
5 Huyết thanh kháng nọc rắn
6 Huyết thanh kháng uốn ván
7 Huyết thanh miễn dịch viêm gan B
8 Interferon alpha 2
9 Tuberculin PPD
10 (Các) Vắc xin dùng cho người
11 Vắc xin bạch hầu hấp phụ
12 Vắc xin bạch hầu, uốn ván và ho gà hấp phụ (DTwP)
13 Vắc xin bạch hầu, uốn ván hấp phụ dùng cho người lớn và vị thành niên
14 Vắc xin phối hợp bạch hầu, uốn ván, ho gà vô bào (DTaP) hấp phụ
15 Vắc xin bạch hầu, uốn ván, ho gà, viêm gan B và Hib (DTwP – HeB – Hib)
16 Vắc xin uốn ván hấp phụ
17 Vắc xin bại liệt bất hoạt (IPV)
18 Vắc xin bại liệt uống
19 Vắc xin BCG
20 Vắc xin cúm bất hoạt
21 Vắc xin dại tế bào dùng cho người
22 Vắc xin *Haemophilus influenza* typ b cộng hợp
23 Vắc xin não mô cầu polysaccharid cộng hợp
24 Vắc xin phế cầu
25 Vắc xin phế cầu cộng hợp hấp phụ
26 Vắc xin phòng papillomavirus ở người (tái tổ hợp)
27 Vắc xin quai bị
28 Vắc xin rota sống giảm độc lực (uống)
29 Vắc xin rubella
30 Vắc xin sởi

31 Vắc xin sởi, quai bị và rubella (vắc xin MMR)
32 Vắc xin tả uống bất hoạt
33 Vắc xin thương hàn uống
34 Vắc xin thương hàn Vi polysaccharid
35 Vắc xin thủy đậu
36 Vắc xin viêm gan A bất hoạt, hấp phụ
37 Vắc xin viêm gan A bất hoạt, virosom
38 Vắc xin viêm gan A sống giảm độc lực
39 Vắc xin viêm gan B tái tổ hợp
40 Vắc xin phối hợp viêm gan A bất hoạt, hấp phụ và vắc xin viêm gan B tái tổ hợp, hấp phụ
41 Vắc xin viêm não Nhật Bản

III. Dược liệu

1 Actiso (Lá)
2 Ba kích (Rễ)
3 Bá tử nhân
4 Bạc hà
5 Bách bệnh (Rễ)
6 Bách bộ (Rễ)
7 Bách hợp (Thân hành)
8 Bạch cập (Thân rễ)
9 Bạch chỉ (Rễ)
10 Bạch đậu khấu (Quả)
11 Bạch đồng nữ (Cành mang lá)
12 Bạch giới tử
13 Bạch hoa xà thiệt thảo
14 Bạch tật lê (Quả)
15 Bạch thược (Rễ)
16 Bạch truật (Thân rễ)
17 Bán biên liên
18 Bán chi liên
19 Bán hạ (Thân rễ)
20 Bèo tấm
21 Bìm bìm biếc (Hạt)
22 Bình vôi
23 Bồ bồ
24 Bồ công anh
25 Bồ kết (Gai)
26 Bồ kết (Quả)
27 Bổ cốt chỉ (Quả)
28 Bối mẫu (Thân hành)
29 Cà độc dược (Hoa)
30 Cà độc dược (Lá)
31 Cà gai leo
32 Cá ngựa
33 Cải củ (Hạt)
34 Cam thảo (Rễ và Thân rễ)
35 Cam thảo nam
36 Cau (Hạt)
37 Cau (Vỏ quả)
38 Cánh kiến trắng
39 Cát cánh (Rễ)
40 Cát sâm (Rễ)
41 Cần tây (Quả)
42 Cần tây (Toàn cây)
43 Câu đằng
44 Câu kỷ tử
45 Cẩu tích (Thân rễ)
46 Chè dây (Lá)
47 Chè đắng (Lá)
48 Chè vằng (Lá)
49 Chỉ thực
50 Chỉ xác
51 Chiêu Liêu (Vỏ thân)
52 Cỏ cứt lợn
53 Cỏ mần trầu
54 Cỏ ngọt (Lá)
55 Cỏ nhọ nồi
56 Cỏ tranh (Thân rễ)
57 Cỏ xước (Rễ)
58 Cóc mẩn
59 Cốc tinh thảo
60 Cối xay
61 Côn bố
62 Cốt khí (Rễ)
63 Cốt toái bổ (Thân rễ)
64 Cơm cháy (Hoa)
65 Cơm cháy (Lá)
66 Củ chóc (Thân rễ)
67 Củ mài (Củ)
68 Củ súng
69 Cúc gai (Quả)
70 Cúc hoa vàng (Cụm hoa)
71 Dạ cẩm
72 Dành dành (Quả)
73 Dâm dương hoắc
74 Dâu (Cành)
75 Dâu (Lá)
76 Dâu (Quả)
77 Dâu (Vỏ rễ)
78 Dây đau xương (Thân)
79 Dây thìa canh
80 Diên hồ sách (rễ củ)
81 Diếp cá
82 Diệp hạ châu
83 Diệp hạ châu đắng
84 Dừa cạn (Lá)
85 Dừa cạn (Rễ)
86 Đại (Hoa)
87 Đại hoàng (Thân rễ)
88 Đại hồi (Quả)
89 Đại phù bình
90 Đại táo (Quả)
91 Đạm trúc diệp
92 Đan sâm (Rễ và Thân rễ)

93 Đảng sâm (Rễ)
94 Đảng sâm Việt Nam (Rễ)
95 Đảng sâm Việt Nam chế
96 Đào (Hạt)
97 Đăng tâm thảo
98 Đậu đen (Hạt)
99 Đậu ván trắng (Hạt)
100 Đậu xanh (Hạt)
101 Địa cốt bì
102 Địa du (Rễ)
103 Địa hoàng (Rễ)
104 Địa liền (Thân rễ)
105 Địa long
106 Đinh hương (Nụ hoa)
107 Đinh lăng (Rễ)
108 Đỗ trọng (Vỏ thân)
109 Độc hoạt (Rễ)
110 Đơn kim
111 Đơn lá đỏ (Lá)
112 Đương quy (Rễ)
113 Đương quy đi thực (Rễ)
114 Gai (Rễ)
115 Gấc (Áo hạt)
116 Gấc (hạt)
117 Giảo cổ lam
118 Gừng (Thân rễ)
119 Hà thủ ô đỏ (Rễ)
120 Hà thủ ô trắng (Rễ)
121 Hạ khô thảo (Cụm quả)
122 Hậu phác (Vỏ)
123 Hoàng bá (Vỏ thân)
124 Hoàng cầm (Rễ)
125 Hoàng đằng (Thân và Rễ)
126 Hoàng kỳ (Rễ)
127 Hoàng liên (Thân rễ)
128 Hoàng nàn (Vỏ thân, vỏ cành)
129 Hoàng tinh (Thân rễ)
130 Hoạt thạch
131 Hoắc hương
132 Hoè (Nụ hoa)
133 Hồ tiêu (Quả)
134 Hồng hoa (Hoa)
135 Húng chanh (Lá)
136 Huyền sâm (Rễ)
137 Huyết giác (Lõi gỗ)
138 Hương gia bì (Vỏ rễ)
139 Hương nhu tía
140 Hương nhu trắng
141 Hương phụ (Thân rễ)
142 Hy thiêm
143 Ích mẫu
144 Ích trí (Quả)
145 Ké đầu ngựa (Quả)
146 Kê huyết đằng (Thân)
147 Kê nội kim
148 Kha tử (Quả)
149 Khiếm thực (Hạt)
150 Khoản đông hoa
151 Khổ hạnh nhân
152 Khổ sâm (Lá và Cành)
153 Khôi (Lá)
154 Khương hoạt (Thân rễ và Rễ)
155 Kim anh (Quả)
156 Kim ngân (Cuộng)
157 Kim ngân (Hoa)
158 Kim tiền thảo
159 Kinh giới
160 Lá hen
161 Lá lốt
162 Lá móng (Lá)
163 Lạc tiên
164 Liên kiều (Quả)
165 Linh chi
166 Long đởm (Rễ và Thân rễ)
167 Long nha thảo
168 Long nhãn
169 Lô hội (Nhựa)
170 Lộc giác
171 Lộc giác giao
172 Lộc giác sương
173 Lộc nhung
174 Lức (Lá)
175 Lức (Rễ)
176 Ma hoàng
177 Mã đề (Hạt)
178 Mã đề (Lá)
179 Mã tiền (Hạt)
180 Mạch môn (Rễ)
181 Mạch nha
182 Mai mực
183 Mạn kinh tử
184 Măng cụt (Vỏ quả)
185 Mâm xôi (Quả)
186 Mật ong
187 Mẫu đơn bì (Vỏ rễ)
188 Mẫu lệ
189 Miết giáp
190 Mò hoa trắng
191 Mỏ quạ (Lá)
192 Mộc hoa trắng
193 Mộc hương (Rễ)
194 Mộc qua (Quả)
195 Mộc tặc
196 Một dược (Gôm nhựa)
197 Mơ muối
198 Muồng trâu (Lá)

199 Mướp đắng (Quả)
200 Náng hoa trắng (Lá)
201 Nần nghệ (Thân rễ)
202 Nga truật (Thân rễ)
203 Ngải cứu
204 Ngành ngạnh (Lá)
205 Nghệ (Thân rễ)
206 Ngọc trúc (Thân rễ)
207 Ngoi (Lá)
208 Ngô công
209 Ngô thù du (Quả)
210 Ngũ bội tử
211 Ngũ gia bì chân chim (Vỏ thân, vỏ cành)
212 Ngũ gia bì gai (Vỏ rễ, vỏ thân)
213 Ngũ gia bì hương (Vỏ rễ, vỏ thân)
214 Ngũ vị tử
215 Ngưu bàng (quả)
216 Ngưu tất (Rễ)
217 Nha đảm tử
218 Nhàu (Quả)
219 Nhàu (Rễ)
220 Nhân sâm (Thân rễ và Rễ)
221 Nhân trần
222 Nhân trần tía
223 Nhũ hương (Gôm nhựa)
224 Nhục đậu khấu (Hạt)
225 Nhục thung dung (Thân)
226 Núc nác (Vỏ thân)
227 Ô đầu (Rễ củ)
228 Ô dược (Rễ)
229 Ổi (Lá)
230 Phòng kỷ (Rễ)
231 Phòng phong (Rễ)
232 Phụ tử
233 Phục linh
234 Qua lâu (Hạt)
235 Qua lâu (Quả)
236 Quế (Cành)
237 Quế (Vỏ thân, vỏ cành)
238 Qui giáp và qui bản
239 Rau đắng đất
240 Rau má
241 Rau sam
242 Râu mèo
243 Râu ngô
244 Rẻ quạt (Thân rễ)
245 Riềng (Thân rễ)
246 Rong mơ
247 Sa nhân (Quả)
248 Sa sâm (Rễ)
249 Sài đất
250 Sài hồ (Rễ)
251 Sáp ong trắng
252 Sáp ong vàng
253 Sắn dây (Rễ củ)
254 Sâm bố chính (Rễ)
255 Sâm cau (Thân rễ)
256 Sâm đại hành (Thân hành)
257 Sâm Việt Nam (Thân rễ và rễ)
258 Sen (Cây mầm)
259 Sen (Hạt)
260 Sen (Lá)
261 Sói rừng
262 Sơn thù (Quả)
263 Sơn tra (Quả)
264 Sử quân tử
265 Tam thất (Rễ củ)
266 Tang ký sinh
267 Táo (Hạt)
268 Tắc kè
269 Tầm gửi
270 Tầm vôi
271 Tần giao (Rễ)
272 Tất bát (Quả)
273 Tế tân (Rễ và Thân rễ)
274 Thạch cao
275 Thạch hộc (Thân)
276 Thanh cao
277 Thanh cao hoa vàng (Lá)
278 Thanh bì
279 Thảo quả (Quả)
280 Thảo quyết minh (Hạt)
281 Thăng ma (Thân rễ)
282 Thị đế
283 Thiên ma (Thân rễ)
284 Thiên môn đông (Rễ)
285 Thiên niên kiện (Thân rễ)
286 Thiên trúc hoàng
287 Thỏ ty tử
288 Thổ hoàng liên (Thân rễ)
289 Thổ phục linh (Thân rễ)
290 Thông thảo (Lõi thân)
291 Thục địa
292 Thuyền thoái
293 Thương lục (Rễ củ)
294 Thương truật (Thân rễ)
295 Tía tô (Lá)
296 Tía tô (Quả)
297 Tía tô (Thân)
298 Tiền hồ (Rễ)
299 Tiểu hồi (Quả)
300 Toàn yết
301 Tỏi (Căn Hành)
302 Tô mộc
303 Trạch tả (Thân rễ)
304 Trám (Cành và Lá)

305 Trắc bách diệp
306 Trần bì
307 Tri mẫu (Thân rễ)
308 Trinh nữ hoàng cung (Lá)
309 Trư linh
310 Tục đoạn (Rễ)
311 Từ uyển (Rễ và Thân rễ)
312 Tỳ bà diệp
313 Tỳ giải (Thân rễ)
314 Uy linh tiên (Rễ và Thân rễ)
315 Vàng đắng (Thân)
316 Viễn chí (Rễ)
317 Vọng cách (Lá)
318 Vối (Lá)
319 Vối (Nụ hoa)
320 Vông nem (Lá)
321 Vừng đen (Hạt)
322 Xà sàng (Quả)
323 Xích đồng nam (Rễ)
324 Xích thược (Rễ)
325 Xuyên khung (Thân rễ)
326 Xuyên sơn giáp
327 Xuyên tâm liên
328 Xuyên tiêu (Quả)
329 Xương bồ
330 Ý dĩ (Hạt)

IV. Cao dược liệu, dầu, tinh dầu

1 Cao đặc actisô
2 Cao đặc diệp hạ châu đắng
3 Cao đặc đinh lăng
4 Cao đặc ích mẫu
5 Cao khô chè dây
6 Cao khô huyết giác
7 Cao khô lá bạch quả
8 Dầu gấc
9 Dầu mù u
10 Tinh dầu bạc hà
11 Tinh dầu bạch đàn
12 Tinh dầu gừng
13 Tinh dầu hồi
14 Tinh dầu húng chanh
15 Tinh dầu hương nhu trắng
16 Tinh dầu long não
17 Tinh dầu nghệ
18 Tinh dầu quế
19 Tinh dầu tràm

V. Thuốc cổ truyền

1 Bột bình vị
2 Cao bổ phổi
3 Cao lỏng hoắc hương chính khí
4 Cao hy thiêm

5 Cao ích mẫu
6 Cao lỏng tứ nghịch
7 Cao tang cúc ẩm
8 Độc hoạt ký sinh thang
9 Hoàn an thai
10 Hoàn bát trân
11 Hoàn bát vị
12 Hoàn bổ trung ích khí
13 Hoàn lục vị
14 Hoàn minh mục địa hoàng
15 Hoàn ngân kiều giải độc
16 Hoàn nhị trần
17 Hoàn ninh khôn
18 Hoàn phì nhi
19 Hoàn quy tỳ
20 Hoàn sâm nhung bổ thận
21 Hoàn thập toàn đại bổ
22 Hoàn thiên vương bổ tâm
23 Hoàn tiêu dao

DANH MỤC CÁC CHUYÊN LUẬN MỚI SO VỚI DĐVN IV

I. Nguyên liệu hóa dược

Abacavir sulfat
Acebutolol hydroclorid
Acenocoumarol
Acid aminocaproic
Acid methacrylic và ethyl acrylat đồng trùng hợp (1 : 1)
Acid methacrylic và ethyl acrylat đồng trùng hợp (1 : 1) (Dịch phân tán 30 %)
Acid methacrylic và methyl methacrylat đồng trùng hợp (1 : 1)
Acid methacrylic và methyl methacrylat đồng trùng hợp (1 : 2)
Acid tranexamic
Ambroxol hydroclorid
Amiodaron hydroclorid
Amodiaquin hydroclorid
Amoxicilin natri
Arginin
Arginin aspartat
Arginin hydroclorid
Atorvastatin calci trihydrat
Attapulgit
Bethamethason natri phosphat
Bisoprolol fumarat
Bupivacain hydroclorid
Calcitriol
Carbidopa
Carbomer
Carmelose calci
Carmelose natri
Cefalotin natri
Cefamadol nafat
Cefdinir
Cefepim hydroclorid monohydrat
Cefoperazon natri
Cefpodoxim proxetil
Ceftazidim pentahydrat
Celecoxib
Celulose acetat
Celulose vi tinh thể
Cilastatin natri
Clopidogrel hydrosulfat
Colchicin
Dầu parafin
Diclofenac diethylamin
Diltiazem hydroclorid
Dimenhydrinat
Efavirenz
Emetin hydroclorid
Esomeprazol magnesi trihydrat
Ethylcelulose
Felodipin
Fexofenadin hydroclorid
Gabapentin
Glimepirid
Glipizid
Glutathion
Heptaminol hydroclorid
Histidin
Histidin hydroclorid monohydrat
Imipenem
Imipramin hydroclorid
Indapamid
Indinavir sulfat
Irbesartan
Isoleucin
Isosorbid dinitrat hỗn hợp
Isosorbid mononitrat hỗn hợp
Itraconazol
Kanamycin sulfat
Lansoprazol
Levamisol hydroclorid
Levodopa
Levofloxacin
Lopinavir
Loratadin
Losartan kali
Lovastatin
Lumefantrin
Lycin acetat
Magnesi lactat dihydrat
Methadon hydroclorid
Methylcelulose
Metoclopramid hydroclorid
Naloxon hydroclorid
Nevirapin khan
Niclosamid khan
Nifuroxazid
Nitrazepam
Oseltamivir phosphat
Ouabain

Oxacilin natri monohydrat
Oxytetracyclin hydroclorid
Pantoprazol natri sesquihydrat
Pefloxacin mesilat
Penicilamin
Perindopril *tert*-butylamin
Piperacilin natri
Polymyxin B sulfat
Propylen glycol
Quinapril hydroclorid
Ramipril
Ritonavir
Salbutamol sulfat
Simvastatin
Stavudin
Sucralfat
Sulbactam natri
Sulfasalazin
Sultamicilin
Sultamicilin tosilat dihydrat
Tamoxifen citrat
Telmisartan
Terbutalin sulfat
Thiamphenicol
Ticarcilin natri
Tinh bột biến tính natri glycolat typ A
Tinh bột biến tính natri glycolat typ B
Tinh bột biến tính natri glycolat typ C
Tinh bột thủy phân
Tramadol hydroclorid
Triamcinolon acetonid
Triglycerid mạch trung bình
Trimetazidin hydroclorid
Valproat natri
Verapamil hydroclorid
Vinpocetin

II. Thành phẩm hóa dược

Bột pha hỗn dịch amoxicilin
Bột pha hỗn dịch amoxicilin và acid clavulanic
Bột pha hỗn dịch cefaclor
Bột pha hỗn dịch cefdinir
Bột pha hỗn dịch cefixim
Bột pha hỗn dịch cefpodoxim
Bột pha hỗn dịch cefuroxim
Bột pha tiêm amoxicilin và acid clavulanic
Bột pha tiêm ampicilin và sulbactam
Bột pha tiêm cefoperazon
Bột pha tiêm cefoperazon và sulbactam
Bột pha tiêm ceftazidim
Bột pha tiêm cefuroxim
Bột pha tiêm imipenem và cilastatin
Bột pha tiêm vancomycin
Dung dịch acid boric 3 %
Dung dịch iod 1 %
Dung dịch methadon hydroclorid đậm đặc
Dung dịch thuốc diphenhydramin
Dung dịch uống lamivudin
Dung dịch uống zidovudin
Kem cloramphenicol và dexamethason natri phosphat
Kem promethazin hydroclorid
Kem triamcinolon acetonid
Nang acid tranexamic
Nang ambroxol hydroclorid
Nang amoxicilin và cloxacilin
Nang arginin
Nang cefdinir
Nang cefixim
Nang cefpodoxim
Nang clofazimin
Nang efavirenz
Nang fenofibrat
Nang flucloxacilin
Nang gabapentin
Nang indinavir
Nang itraconazol
Nang mềm calcitriol
Nang oseltamivir
Nang oxytetracyclin
Nang tan trong ruột esomeprazol
Nang tan trong ruột lansoprazol
Sirô alimemazin
Sirô promethazin hydroclorid
Thuốc nhỏ mắt betamethason
Thuốc nhỏ mắt cloramphenicol và dexamethason natri phosphat
Thuốc nhỏ mắt tobramycin
Thuốc nhỏ tai cloramphenicol
Thuốc tiêm amikacin
Thuốc tiêm diazepam
Thuốc tiêm dimercaprol
Thuốc tiêm kanamycin
Thuốc tiêm metoclopramid
Thuốc tiêm piracetam
Thuốc tiêm tobramycin
Thuốc tiêm truyền paracetamol
Viên nén acebutolol
Viên nén acenocoumarol

Viên nén acid tranexamic
Viên nén ambroxol hydroclorid
Viên nén amiodaron
Viên nén amitryptilin
Viên nén amlodipin
Viên nén amodiaquin hydroclorid
Viên nén artemether và lumefantrin
Viên nén aspirin và cafein
Viên nén atovastatin
Viên nén bao tan trong ruột acid acetylsalicylic
Viên nén bao tan trong ruột esomeprazol
Viên nén bao tan trong ruột pantoprazol
Viên nén cefpodoxim proxetil
Viên nén clopidogrel
Viên nén codein phosphat
Viên nén colchicin
Viên nén colecalciferol
Viên nén cortison
Viên nén dapson
Viên nén diltiazem
Viên nén dimenhydrinat
Viên nén diphenhydramin
Viên nén ergocalciferol
Viên nén ethinylestradiol
Viên nén fexofenadin
Viên nén gabapentin
Viên nén glibenclamid
Viên nén glibenclamid và metformin
Viên nén glimepirid
Viên nén glimepirid và metformin
Viên nén glipizid
Viên nén glipizid và metformin
Viên nén glycerin trinitrat
Viên nén heptaminol
Viên nén hyoscin butylbromid
Viên nén imipramin
Viên nén indapamid
Viên nén irbesartan
Viên nén isosorbid dinitrat
Viên nén isosorbid mononitrat
Viên nén lamivudin và zidovudin
Viên nén levodopa
Viên nén levodopa và carbidopa
Viên nén levofloxacin
Viên nén loratadin
Viên nén losartan kali
Viên nén lovastatin
Viên nén metoclopramid
Viên nén metronidazol và spiramicin

Viên nén nevirapin
Viên nén nitrofurantoin
Viên nén paracetamol và ibuprofen
Viên nén pefloxacin mesylat
Viên nén perindopril *tert*-butylamin
Viên nén piperazin phosphat
Viên nén ramipril
Viên nén rifampicin, isoniazid và pyrazinamid
Viên nén simvastatin
Viên nén stavudin
Viên nén sủi calci gluconat
Viên nén telmisartan
Viên nén terfenadin
Viên nén timolol
Viên nén trimetazidin
Viên nén valproat natri
Viên nén vinpocetin
Viên nén zidovudin
Viên ngậm amphotericin
Vỏ nang cứng gelatin

III. Huyết thanh, sinh phẩm và vắc xin

Huyết thanh miễn dịch viêm gan B
Vắc xin bạch hầu, uốn ván, ho gà, viêm gan B và Hib (DTwP – HeB – Hib)
Vắc xin cúm bất hoạt
Vắc xin *Haemophilus influenzatyp b* cộng hợp
Vắc xin não mô cầu polysaccharid cộng hợp
Vắc xin phế cầu
Vắc xin phế cầu cộng hợp hấp phụ
Vắc xin phòng papillomavirus ở người (tái tổ hợp)
Vắc xin quai bị
Vắc xin rota sống giảm độc lực (uống)
Vắc xin rubella
Vắc xin thủy đậu
Vắc xin viêm gan A bất hoạt, hấp phụ
Vắc xin viêm gan A bất hoạt, virosom
Vắc xin viêm gan A sống giảm độc lực
Vắc xin phối hợp viêm gan A bất hoạt, hấp phụ và vắc xin viêm gan B tái tổ hợp, hấp phụ
Vắc xin phối hợp bạch hầu, uốn ván, ho gà vô bào (DTaP) hấp phụ
Vắc xin sởi, quai bị, rubella (vắc xin MMR)

IV. Dược liệu

Bách bệnh (Rễ)
Bạch đồng nữ (Cành mang lá)
Bán biên liên
Bán chi liên
Bèo tấm

Bồ kết (Gai)
Bồ kết (Quả)
Cà gai leo
Cần tây (Quả)
Cần tây (Toàn cây)
Chè đắng (Lá)
Cỏ cứt lợn
Cỏ mần trầu
Côn bố
Cơm cháy (Hoa)
Cúc gai (Quả)
Dây thìa canh
Đơn kim
Giảo cổ lam
Khôi (Lá)
Lá móng (Lá)
Linh chi
Long nha thảo
Lộc giác
Lộc giác giao
Lộc giác sương
Mò quạ (Lá)
Mướp đắng (Quả)
Náng hoa trắng (Lá)
Nần nghệ (Thân rễ)
Ngành ngạnh (Lá)
Ngoi (Lá)
Ngũ gia bì hương (Vỏ rễ, vỏ thân)
Ổi (Lá)
Rau đắng đất
Râu ngô
Sói rừng
Sừ quân tử
Thanh bì
Trinh nữ hoàng cung (Lá)
Trư linh
Vối (Lá)
Vối (Nụ hoa)
Vọng cách (Lá)
Vừng đen (Hạt)
Xích đồng nam (Rễ)
Xuyên tâm liên

V. Cao dược liệu, dầu, tinh dầu

Cao đặc diệp hạ châu đắng
Cao đặc đinh lăng
Cao đặc ích mẫu
Cao khô chè dây
Cao khô huyết giác
Cao khô lá bạch quả
Dầu gấc
Tinh dầu Gừng
Tinh dầu Hùng chanh
Tinh dầu Nghệ

VI. Các phương pháp kiểm nghiệm thuốc và chuyên mục

PHỤ LỤC 1

1.25 Dung dịch rửa vết thương

1.26 Yêu cầu chung đối với các chế phẩm probiotic

1.27 Thuật ngữ dạng thuốc theo mô hình giải phóng dược chất

PHỤ LỤC 4

4.5 Phổ khối

4.6 Phổ khối - plasma cảm ứng (ICP- MS)

4.7 Phổ huỳnh quang tia X

4.8 Phổ Raman

PHỤ LỤC 6

6.12 Phân tích nhiệt

6.13 Xác định khối lượng riêng thô và khối lượng riêng gõ của bột

PHỤ LỤC 10

10.20 Xác định các chất bảo quản kháng khuẩn

10.21 Định lượng acid omega-3 trong dầu cá

10.22 Định lượng vitamin D

PHỤ LỤC 11

11.9 Phép thử độ đồng đều đơn vị liều

11.10 Phép thử độ giải phóng dược chất của thuốc dán thẩm qua da

PHỤ LỤC 12

12.21 Xác định hàm lượng aflatoxin B_1 trong dược liệu

12.22 Xác định acid aristolochic I trong dược liệu

12.23 Hướng dẫn thiết lập dấu vân tay hóa học của dược liệu bằng phương pháp sắc ký lỏng hoặc sắc ký khí

12.24 Lỗ khí và chỉ số lỗ khí

PHỤ LỤC 13

13.11 Định lượng hoạt tính vitamin B_{12} bằng phương pháp vi sinh vật

PHỤ LỤC 15

15.42 Xác định hàm lượng sacharid tổng số bằng phương pháp orcinol

15.43 Quy trình thử nghiệm công hiệu (in vivo) của vắc xin viêm gan B tái tổ hợp

15.44 Một số phương pháp miễn dịch sử dụng trong kiểm định vắc xin

15.45 Xác định BSA tồn dư trong vắc xin

15.46 Các kỹ thuật ELISA (Phương pháp miễn dịch gắn men, phương pháp ELISA).
Hướng dẫn xử trí các vấn đề thường gặp trong thử nghiệm ELISA

15.47 Kiểm tra mycoplasma trong vắc xin/sinh phẩm (phương pháp nuôi cấy hoặc dùng chỉ thị tế bào)

PHỤ LỤC 17

17.8 Đồ đựng máu và các chế phẩm máu

17.9.1 Các phụ gia cho chất dẻo

17.9.2 Nguyên liệu để sản xuất đồ đựng máu và chế phẩm máu

17.9.3 Polyethylen

17.9.4 Polyethylen terephthalat để sản xuất đồ đựng chế phẩm không phải là thuốc tiêm

17.9.5 Poly(ethylen-vinyl acetat) dùng sản xuất đồ đựng và dây truyền dịch dinh dưỡng

17.9.6 Polyolefin

17.9.7 Polypropylen dùng làm đồ đựng và nút cho thuốc tiêm truyền và thuốc nhỏ mắt

PHỤ LỤC19

Bảng liên hệ giữa phần trăm ethanol theo thể tích, phần trăm ethanol theo khối lượng, khối lượng riêng của hỗn hợp ethanol và nước

DANH MỤC CÁC CHUYÊN LUẬN CỦA DĐVN IV KHÔNG ĐƯA VÀO DĐVN V

Thành phẩm hóa dược

Viên nén artemisinin

Nang artemisinin

Viên nén artesunat

Vắc xin và Sinh phẩm

Biosubtyl

Vắc xin viêm gan B điều chế từ huyết tương người

Phương pháp kiểm nghiệm thuốc

Phụ lục 15.30 Xác định hiệu lực vắc xin dại theo phương pháp Habel

QUI ĐỊNH CHUNG

1. Tên chính của các chuyên luận là tên Việt Nam, sau tên Việt Nam là tên Latin và những tên Việt Nam thông dụng khác nếu có.
Đối với dược liệu: Có thể dùng tên qui ước của dược liệu hoặc dùng tên cây, con kèm theo bộ phận dùng làm thuốc để làm tên chuyên luận, những từ chỉ bộ phận dùng làm thuốc để trong dấu ngoặc đơn, ví dụ: (Lá), (Quả), (Thân rễ).... Tên qui ước của dược liệu là tên của vị thuốc đã được dùng trong y học cổ truyền, ví dụ: Phù bình, Bạch giới tử...
Mỗi chuyên luận của Dược điển Việt Nam V (chuyên luận riêng hay phụ lục) là một tiêu chuẩn về chất lượng thuốc hoặc phương pháp kiểm nghiệm thuốc của Việt Nam.
2. Nguyên tử lượng các nguyên tố trong Dược điển Việt Nam V là các giá trị đã được thừa nhận ghi trong Phụ lục 18. Bảng nguyên tử lượng các nguyên tố.
3. Các đơn vị đo lường dùng trong Dược điển Việt Nam V đều tuân theo Luật Đo lường ban hành ngày 11/11/2011 và Nghị định của Chính phủ số 86/2012/NĐ-CP ngày 19/10/2012 quy định chi tiết và hướng dẫn thi hành một số điều của Luật Đo lường.
4. Các đơn vị đo lường được viết tắt như sau:

Mét: m	Giờ: h
Decimét : dm	Phút: min
Centimét: cm	Giây: s
Milimét: mm	KilôPascan: kPa
Micrômét: µm	Pascan: Pa
Nanômét: nm	Pascan giây: Pa·s
Lít: l hoặc L	Ampe: A
Mililít: ml hoặc mL	Miliampe: mA
Microlít: µl hoặc µL	Vôn: V
Kilôgam: kg	Milivôn: mV
Gam: g	Mol: mol
Miligam: mg	Mol trên lít: mol/l, Mol/L, M
Centigam: cg	Becoren: Bq
Microgam: µg	Đơn vị quốc tế: IU hoặc đvqt
Nanôgam: ng	Độ Celsius: °C
	Phần trăm: %

5. Nếu không có chỉ dẫn khác, mọi nhiệt độ được ghi trong Dược điển Việt Nam V đều được biểu thị bằng độ bách phân Celsius, ký hiệu là "°C".
6. Nhiệt độ tiêu chuẩn được qui định là 20 °C, nhiệt độ bình thường của phòng thí nghiệm (nhiệt độ phòng) được qui định là 20 °C đến 30 °C. Nếu không có chỉ dẫn gì khác, tất cả thử nghiệm đối với thuốc phải thực hiện ở nhiệt độ phòng (20 °C đến 30 °C) và những nhận xét kết quả phải thực hiện ngay sau khi thao tác. Tuy nhiên khi đánh giá kết quả một thử nghiệm bị ảnh hưởng bởi nhiệt độ thì phải thực hiện ở điều kiện nhiệt độ tiêu chuẩn (20 °C).
Trong thử nghiệm "Mất khối lượng do làm khô", nếu chỉ qui định tiến hành ở một nhiệt độ nào đó, thì giới hạn cho phép về nhiệt độ được hiểu là: Nhiệt độ qui định ± 2 °C (ví dụ: 100 °C nghĩa là 100 °C ± 2 °C).
7. Nhiệt độ nước: Nước cách thủy là nước có nhiệt độ 98 °C đến 100 °C, trừ khi có chỉ dẫn khác; cụm từ "trong cách thủy" có nghĩa là dụng cụ ngâm trong nước đun sôi, "trên cách thủy" có nghĩa là dụng cụ chỉ tiếp xúc với hơi nước đun sôi.
Nước nóng: 70 °C đến 80 °C.
Nước ấm: 40 °C đến 50 °C.
Nước lạnh: 2 °C đến 10 °C.
Nước đá: 0 °C
8. Nhiệt độ nơi bảo quản:
Lạnh sâu: Dưới -10 °C.
Lạnh: 2 °C đến 10 °C.

Mát: 10 °C đến 20 °C.
Nhiệt độ phòng: 20 °C đến 30 °C (là nhiệt độ phổ biến ở nơi làm việc).
Nhiệt độ phòng có điều nhiệt: 20 °C đến 25 °C (là nhiệt độ được duy trì bằng máy điều hòa nhiệt độ).
Nóng: 35 °C đến 40 °C.
Rất nóng: Trên 40 °C.
9. Áp suất được biểu thị bằng số đơn vị kilôPascan (kPa).
1 kPa = 7,5006 Torr.
1 Torr là áp suất dưới cột thủy ngân 1 mm.
Nếu ghi "chân không" mà không có chỉ dẫn gì khác thì có nghĩa là áp suất không quá 2,0 kPa (15 mm thủy ngân).
10. Khái niệm "cân chính xác" là cân tới 0,1 mg, 0,01 mg hoặc 0,001 mg tùy theo độ nhạy của loại cân phân tích dùng để cân sao cho sai số của phép cân không quá 0,1 %.
Khối lượng cân được có độ chính xác phù hợp với độ lặp lại xác định. Độ lặp lại đó tương ứng với +5 hoặc -5 đơn vị sau chữ số có nghĩa cuối cùng đã cho; ví dụ: Lượng cân 0,25 g nghĩa là lượng cân đó nằm trong khoảng 0,245 g đến 0,255 g.
Khái niệm "cân" nghĩa là phép cân được thực hiện với sai số dưới 1 %.
Khái niệm "cân khoảng" là cân để lấy một lượng không quá ± 10 % lượng chỉ định trong chuyên luận.
Khái niệm "sấy đến khối lượng không đổi" và "nung đến khối lượng không đổi" nghĩa là hai lần cân liên tiếp không khác nhau quá 0,5 mg. Lần cân thứ hai tiến hành sau một thời gian sấy hoặc nung thêm (thường 1 h là thích hợp) tùy theo tính chất và lượng cân.
Khái niệm "đã cân trước" (đối với chén nung, bình, vại...) nghĩa là dụng cụ được xử lý đến khối lượng không đổi. Nếu trong chuyên luận có qui định phải cân một cắn hay một tủa (sấy khô, nung, đun bốc hơi) trong những dụng cụ thì có nghĩa là những dụng cụ này được sấy hoặc nung đến khối lượng không đổi.
Khái niệm "cắn không đáng kể" hay "cắn không thể cân được" là cắn không nặng quá 0,5 mg.
11. Khi đo thể tích, nếu chữ số sau dấu thập phân là 0 hoặc tận cùng bằng 0 thì thể tích đó phải đong, đo chính xác (ví dụ 10,0 ml hoặc 0,50 ml). Khái niệm "đong, đo chính xác" để lấy một thể tích dung dịch hay chất lỏng là phải đong đo bằng pipet chính xác, bình định mức hay buret chuẩn. Còn "đong, đo" được hiểu là dùng ống đong hoặc những phương tiện khác thích hợp để đo thể tích. Những thể tích cỡ microlít được đo bằng micropipet hay microsyringe (bơm chất lỏng siêu vi).
Để đếm giọt, dùng ống đếm giọt chuẩn, 20 giọt nước tinh khiết của ống này ở 20 °C có khối lượng từ 0,90 g đến 1,10 g.
12. "*Nước*" có nghĩa là nước tinh khiết. Nước tinh khiết được sử dụng trong tất cả các thử nghiệm thuốc nhưng không dùng với những chế phẩm tiêm.
13. Một dung dịch, nếu không ghi rõ dung môi sử dụng thì được hiểu là dung dịch trong nước tinh khiết hay nước cất.
14. Khái niệm "ngay" và " ngay lập tức" dùng trong thử nghiệm thuốc có nghĩa là thao tác này phải thực hiện trong vòng 30 s sau thao tác trước đó.
15. Thử định tính là phép thử cần thiết để nhận biết một dược chất hay những thành phần chính của thuốc dựa trên tính chất vật lý hay hóa học đặc trưng. Nhận biết một dược liệu hay thuốc từ dược liệu dựa trên mô tả, đặc điểm vi phẫu, bột và các phép thử vật lý hóa học đặc trưng.
Phổ hấp thụ hồng ngoại là phương pháp chuẩn xác để định tính, vì mỗi một chất chỉ cho một vùng "điểm chỉ" của phổ, không trùng lặp với phổ của những chất khác. Những đặc tính của phổ hồng ngoại có thể được dùng như là phép thử hàng đầu để định tính. Thường thì phép thử phổ hồng ngoại tự nó đã đủ tin cậy và không cần thêm phép thử nào khác. Tuy nhiên, khi một sản phẩm là một muối thì cần thiết thử thêm "ion đặc hiệu". Những phép thử định tính tiếp theo trong mỗi chuyên luận là để khẳng định lại về định tính của phổ hồng ngoại đã làm trước. Trong trường hợp cần thiết, cần tiến hành xác định thêm điểm chảy của thuốc; khi điểm chảy không có sự lặp lại đúng như nhiệt độ đã qui định thì có thể dùng một giá trị xấp xỉ, giới hạn sai số được qui định trong chuyên luận riêng.
16. Thử tinh khiết là tập hợp các phép thử nhằm phát hiện những tạp chất nhiễm vào thuốc. Để kiểm tra độ tinh khiết, phải thử xác định sự có mặt các tạp chất, số lượng và giới hạn của chúng cũng như những yêu cầu khác tùy theo mỗi chuyên luận. Những tạp chất được coi là đối tượng phải thử là những chất thường được đưa vào trong quá trình sản xuất hoặc xuất hiện trong quá trình bảo quản và những tạp chất bất thường như những kim loại nặng, arsen...Dược điển chỉ quy định kiểm tra những tạp chất thường gặp. Điều này có nghĩa là Dược điển không chấp nhận những tạp chất khác có trong thuốc mặc dù không được ghi trong Dược điển. Mỗi khi có sự thay thế chất này bằng chất khác hoặc cho thêm một chất mới trong thực hiện qui trình thì phải có thêm những phép thử tương ứng. Nồng độ của tạp chất được biểu thị bằng phần triệu của khối lượng, hoặc khi giới hạn vượt quá 500 phần triệu thì được biểu thị bằng phần trăm (%). Những giá trị này chỉ là khoảng giá trị phù hợp với những yêu cầu đã được xác định dựa trên sự thích hợp với những thử nghiệm đã cho.

17. Trong chuyên luận kháng sinh, tại mục định lượng có ghi đồng thời hai phương pháp là phương pháp vi sinh vật và phương pháp hóa học hay hóa lý; mỗi phương pháp đều có thể được sử dụng. Phương pháp định lượng vi sinh vật được coi như phương pháp được khuyến cáo áp dụng, nếu dùng phương pháp khác để định lượng thì phương pháp đó không được kém tin cậy hơn phương pháp vi sinh vật. Nếu kết quả của hai phương pháp quá chênh lệch thì lấy kết quả theo phương pháp vi sinh vật để kết luận (trừ khi có chỉ dẫn khác).

18. Phương pháp thử qui định trong Dược điển Việt Nam có thể được thay thế bằng những phương pháp khác có độ đúng và độ chính xác cao hơn. Tuy nhiên, khi có sự chênh lệch, nghi ngờ, thì chỉ kết quả thu được từ phương pháp ghi trong Dược điển là có giá trị để đưa ra kết luận cuối cùng.

19. Nếu trong chuyên luận có ghi việc xác định phải tiến hành so sánh với một chất chuẩn hay chất đối chiếu (ĐC) thì phải dùng các chất này theo qui định tại Phụ lục 2.5.

20. Khi thử nghiệm hay định lượng (trừ chỉ dẫn khác) nếu qui định mẫu thử phải so sánh với mẫu kiểm tra trắng thì phải chuẩn bị mẫu này như mẫu thử nhưng không cho chất cần thử hay cần định lượng và phải tiến hành song song cùng điều kiện như mẫu thử. Cũng tương tự như vậy khi thử nghiệm được yêu cầu tiến hành song song với mẫu đối chiếu (chứng).

21. Các kết quả định lượng được tính đến một số lẻ thập phân cần thiết nhiều hơn yêu cầu một chữ số rồi làm tròn lên hay xuống như sau:

Nếu con số cuối cùng đã tính được là 5 đến 9 thì con số đứng trước nó được tăng thêm 1.

Nếu con số cuối cùng đã tính được là dưới 5 thì con số đứng trước nó không thay đổi.

Các phép tính khác, thí dụ chuẩn hóa các dung dịch chuẩn độ cũng tiến hành tương tự.

Thí dụ: 8,2758 làm tròn số là 8,276.

1,2634 làm tròn số là 1,263.

22. Hàm lượng tiêu chuẩn: Hàm lượng tiêu chuẩn của một chất qui định trong một chuyên luận được thể hiện tính theo công thức hóa học có thể có giới hạn trên 100 % của chất đó, giới hạn trên này áp dụng với kết quả định lượng tính theo hàm lượng tương đương của công thức hóa học mà chất đó qui định. Ví dụ: Ghi chứa không ít hơn 98,5 % và không lớn hơn 102,0 % của $C_{12}H_{22}CaO_{14}.H_2O$ nghĩa là kết quả định lượng không được ít hơn 98,5 % và không nhiều hơn 102,0 % tính theo hàm lượng tương đương của $C_{12}H_{22}CaO_{14}.H_2O$.

Nếu trong chuyên luận riêng không ghi giới hạn trên thì có nghĩa là giới hạn trên không quá 101,0 %.

23. Trong các chuyên luận, ở mục mô tả hoặc tính chất, thuật ngữ "trắng" có nghĩa là trắng hoặc gần như trắng; "không màu" có nghĩa là không có màu hoặc gần như không màu; "không mùi" có nghĩa là không có mùi hoặc thực tế không có mùi. Trừ khi có các chỉ dẫn khác, cách thử màu sắc hoặc mùi được tiến hành như sau:

a) Màu:

Chất rắn: Lấy 1 g chất thử cho lên trên một tờ giấy trắng hoặc mặt kính đồng hồ không màu đặt lên trên tờ giấy trắng rồi quan sát.

Chất lỏng: Cho chất thử vào trong một ống nghiệm không màu, đường kính bên trong 15 mm, đặt trước một nền trắng cách ống 30 mm, nhìn ngang ống dưới ánh sáng ban ngày.

b) Mùi:

Chất rắn: Trên một mặt kính đồng hồ, đường kính từ 6 cm đến 8 cm, lấy từ 0,5 g đến 2,0 g chất thử trải thành lớp mỏng, sau 15 min, xác định mùi bằng cảm quan.

Chất lỏng: Lấy 2 ml chất thử cho vào mặt kính đồng hồ như trên rồi xác định mùi bằng cảm quan.

24.Trong cách biểu thị nồng độ dung dịch, nếu không có chỉ dẫn gì khác, nồng độ được biểu thị là phần trăm (%) khối lượng trên thể tích (kl/tt), tính theo số gam chất hòa tan trong 100 ml dung dịch, ký hiệu là % (kl/tt) hoặc %.

Các trường hợp khác biểu thị bằng các ký hiệu và được hiểu như sau:

% (kl/kl): Số gam chất hòa tan trong 100 g dung dịch.

% (tt/tt): Số mililít chất hòa tan trong 100 ml dung dịch.

% (tt/kl): Số mililít chất hòa tan trong 100 g dung dịch.

25. Ethanol không có chỉ dẫn gì khác thì có nghĩa là ethanol tuyệt đối.

Khái niệm "alcol" không có chỉ dẫn gì có nghĩa là alcol chứa khoảng 96 % (tt/tt) ethanol (C_2H_6O). Dung dịch ethanol trong nước ở những nồng độ khác được chỉ bằng từ ethanol kèm theo tỷ lệ phần trăm (tt/tt) hoặc (kl/kl) ethanol (C_2H_6O) trong dung dịch đó. Nếu chỉ ghi ethanol kèm theo tỷ lệ phần trăm thì được hiểu là phần trăm theo thể tích (tt/tt), ví dụ: Ethanol 70 %.

26. Ether có nghĩa là ether ethylic.

Các ether dầu hỏa: Khi viết kèm giới hạn về nhiệt độ thì giới hạn này được hiểu là khoảng sôi. Ví dụ: Ether dầu hỏa (30 °C đến 40 °C) nghĩa là ether dầu hỏa có khoảng sôi từ 30 °C đến 40 °C.

27. Hỗn hợp của các chất lỏng được ghi theo ký hiệu 10 : 1, hoặc 50 : 9 : 1, v.v... có nghĩa là hỗn hợp các chất đó theo thể tích. Thí dụ: *cloroform - methanol - amoniac* (50 : 9 : 1) có nghĩa là lấy lần lượt 50 ml cloroform trộn đều với 9 ml methanol và 1 ml amoniac thành một hỗn hợp. Trong chuyên luận, tên các chất lỏng trong hỗn hợp được in nghiêng và không có chữ (TT) đi kèm sau.

28. Trong chuyên luận, tên các hóa chất, thuốc thử, dung dịch thử, chất chỉ thị, dung dịch chuẩn độ, dung dịch mẫu, dung dịch đệm được trình bày bằng chữ nghiêng và có chữ *(TT)* nếu có trong Phụ lục 2.1. Các thuốc thử chung; Phụ lục 2.3. Các dung dịch đệm và Phụ lục 2.4. Các dung dịch mẫu hoặc có chữ *(CD)* nếu có trong Phụ lục 2.2. Các dung dịch chuẩn độ.

29. Các định nghĩa về độ tan như sau:

"Tan" có nghĩa là chất thử (đã được tán nhỏ thành bột nếu là chất rắn) hòa tan được trong dung môi tạo thành một dung dịch trong, đồng nhất, không còn những phần tử của chất thử. Xác định độ tan bằng cách cho lượng dung môi vào chất thử để ở nhiệt độ (25 ± 2) °C trong 30 min, cứ cách 5 min lại lắc 30 s.

Độ tan được biểu thị như sau:

Độ tan	Số ml dung môi hòa tan 1 g chất thử
Rất tan	Dưới 1
Dễ tan	Từ 1 đến 10
Tan	Trên 10 đến 30
Hơi tan	Trên 30 đến 100
Khó tan	Trên 100 đến 1 000
Rất khó tan	Trên 1 000 đến 10 000
Thực tế không tan	Trên 10 000

30. Độ acid hay độ kiềm của dung dịch, nếu không có chỉ dẫn gì khác, được xác định bằng giấy quỳ xanh hay đỏ. Muốn xác định những tính chất này chính xác hơn thì phải đo pH bằng pH kế.

31. Bình hút ẩm: Cụm từ "trong bình hút ẩm" có nghĩa là dùng một bình kín có kích thước thích hợp, bên trong chứa silica gel hoặc một chất làm khô khác để giữ cho không khí trong bình có độ ẩm thấp.

Bình hút ẩm chân không: Là bình hút ẩm chứa một chất làm khô thích hợp và có áp suất không quá 2,0 kPa (15 mm thủy ngân), nếu không có chỉ dẫn khác.

32. Danh pháp thực vật, động vật của cây, con làm thuốc gồm tên chi và tên loài, họ thực vật hay động vật.

33. Dược liệu được ghi trong Dược điển là bộ phận dùng làm thuốc có lưu hành trên thị trường, không lẫn tạp chất. Trong Dược điển, việc thu thập xử lý dược liệu tại chỗ chỉ bao hàm riêng bộ phận dùng.

34. Qui cách đặc điểm dược liệu được mô tả dựa trên dược liệu khô nói chung. Chất lượng tiêu chuẩn của dược liệu tươi cũng được qui định nếu đem dùng tươi.

35. Phần mô tả dược liệu chỉ đề cập đến bộ phận dùng làm thuốc, không mô tả toàn bộ con vật hay toàn bộ cây cung cấp dược liệu đó.

36. Việc làm khô dược liệu tại chỗ, hay làm khô trong quá trình thu hái dược liệu được hiểu như sau:

a. Thuật ngữ "làm khô", có nghĩa là có thể sấy, nướng khô, phơi dưới ánh sáng mặt trời hoặc phơi trong bóng râm (phơi âm can).

b. Thuật ngữ "làm khô ở nhiệt độ thấp" có nghĩa là phơi, sấy khô ở nhiệt độ không quá 60 °C, được dùng cho dược liệu không chịu được nhiệt độ cao.

c. Thuật ngữ "phơi âm can" có nghĩa là phơi trong bóng râm ngoài không khí, được dùng cho dược liệu không sấy, nướng, không phơi nắng được.

d. Trong một số trường hợp, dược liệu phải phơi khô trong thời gian ngắn, thuật ngữ được dùng là "phơi nhanh dưới nắng to", "phơi đúng thời gian".

e. Thuật ngữ "dược liệu khô kiệt" có nghĩa là dược liệu được điều chỉnh khối lượng bằng cách trừ đi khối lượng nước được xác định theo phương pháp sấy hoặc cất với dung môi ghi trong chuyên luận riêng.

37. Đặc điểm vi phẫu (thường là đặc điểm mặt cắt ngang dược liệu), soi bột dược liệu và những vi đặc điểm khác của một dược liệu là những đặc điểm của vật mẫu quan sát dưới kính hiển vi.

38. Các dược liệu, dược chất, tá dược và chất phụ gia dùng trong một chế phẩm phải tuân theo những qui định của Dược điển. Những điều Dược điển không qui định thì phải tuân theo qui định hiện hành của Bộ Y tế.

Tá dược, chất phụ gia đem dùng không được phương hại tới tính an toàn và tính hiệu quả của thuốc. Cần chú ý tránh làm cản trở phương pháp phân tích đã qui định trong chuyên luận Dược điển.

39. Dược liệu dùng sản xuất thuốc thành phẩm (thuốc dược liệu, thuốc cổ truyền) phải đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam. Nếu có yêu cầu dùng dược liệu đã bào chế thì qui trình bào chế phải được tiến hành theo phương pháp qui định trong chuyên luận Dược điển. Trừ khi có những chỉ dẫn khác.
40. Khối lượng qui định cho mỗi thành phần trong công thức của một chế phẩm thuốc từ dược liệu được tính theo khối lượng dược liệu sạch, đã tán thành bột hoặc đã được xử lý.
41. Dược liệu sử dụng theo đường uống thường dùng dưới dạng thuốc sắc, trừ khi có những chỉ dẫn khác.
42. Liều lượng qui định dùng trong dược điển là liều dùng thông thường đối với người trưởng thành. Việc sửa đổi, điều chỉnh liều lượng tùy thuộc vào tình trạng bệnh tật của từng người bệnh cụ thể. Liều tối đa của một thuốc là liều cao nhất mà người trưởng thành có thể chịu được và không được dùng quá liều; trừ khi có những chỉ dẫn khác.
43. Nước dùng trong bào chế thuốc dược liệu, thuốc cổ truyền là nước sạch, nước uống đạt theo tiêu chuẩn vệ sinh y tế.
44. Rượu dùng trong bào chế dược liệu, thuốc dược liệu, thuốc cổ truyền là rượu được làm từ gạo, ngô, sắn... có hàm lượng ethanol từ 30 % đến 40 % trừ khi có qui định trong chuyên luận riêng.
45. Những yêu cầu cơ bản về bảo quản thuốc được ghi ở mục "Bảo quản". Đồ đựng là phương tiện để bảo quản thuốc, yêu cầu của đồ đựng cũng bao gồm cả những phần hợp thành như là nút hay nắp. Các đồ đựng phải kín, không được làm ảnh hưởng đến chất lượng thuốc đựng bên trong, không cho môi trường bên ngoài tác động ảnh hưởng đến chất lượng và phải đạt theo qui định của Dược điển Việt Nam.
Về nhiệt độ nơi bảo quản phải thực hiện đúng yêu cầu qui định.
"Tránh ánh sáng" có nghĩa là chất đựng được để trong chai lọ thủy tinh màu hổ phách, hoặc chai lọ thủy tinh màu, chai lọ thủy tinh bọc bằng giấy đen hoặc bất kỳ đồ đựng nào không bị ảnh hưởng bởi ánh sáng.
"Đậy kín" có nghĩa là đồ đựng có thể tránh cho các chất đựng bên trong không bị bụi bẩn và các chất lạ bên ngoài nhiễm vào.
"Hàn kín" có nghĩa là đồ đựng phải kín hơi và có thể bảo vệ chất đựng trong đó chống được hơi ẩm và các vi khuẩn.
46. Nhãn thuốc phải theo đúng quy định hiện hành.

KÝ HIỆU CÁC CHỮ VIẾT TẮT

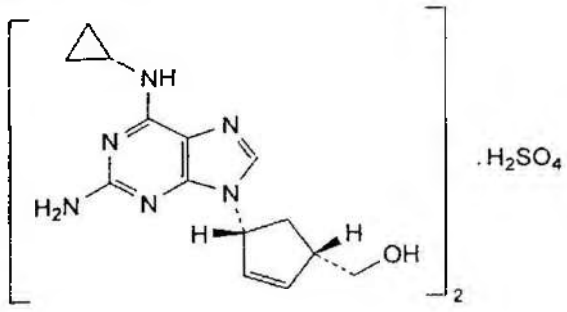
DĐVN V:	Dược điển Việt Nam lần xuất bản thứ năm.
P.t.l:	Phân tử lượng
TT:	Thuốc thử.
TT_1, TT_2, TT_3:	Thuốc thử 1, thuốc thử 2, thuốc thử 3...
ĐC:	Chất đối chiếu.
CĐ:	Chuẩn độ (Dung dịch).
BCG:	Bacillus Calmette - Guérin.
Lf/ mg PN:	Đơn vị lên bông trong 1 mg nitơ protein.
Lf/ mg N:	Đơn vị lên bông trong 1 mg nitơ toàn phần.
Kf:	Thời gian xuất hiện hiện tượng lên bông (tính theo phút) khi được theo dõi trong phản ứng lên bông.
Lf:	Lượng độc tố hoặc giải độc tố khi trộn với 1 IU kháng độc tố sẽ xuất hiện lên bông trong thời gian ngắn nhất.
L+:	Lượng độc tố tối thiểu khi kết hợp với 1 IU kháng độc tố có thể giết chết một con vật có cân nặng xác định trong bốn ngày (Liều L+ phụ thuộc vào từng loại động vật thí nghiệm).
L+/ 10:	Lượng độc tố tối thiểu khi kết hợp với 0,1 IU kháng độc tố có thể giết chết một vật thí nghiệm có cân nặng xác định trong bốn ngày.
Lr:	Lượng độc tố tối thiểu khi kết hợp với một lượng kháng độc tố cố định (thường là 0,002 IU kháng độc tố) trong thể tích 0,2 ml sẽ gây phản ứng da tại chỗ có thể nhìn thấy được (chỉ đối với bạch cầu).
LD_{50}:	Lượng độc tố giết 50 % của một nhóm động vật trong vòng 4 ngày (LD_{50} khác nhau tùy theo từng loại động vật thí nghiệm)
MLD:	Liều gây chết nhỏ nhất, là lượng độc tố có thể giết chết các súc vật trong vòng 4 ngày (MLD khác nhau tùy theo loại động vật thí nghiệm). Nói chung, MLD đã được thay thế bằng LD_{50}.
ED_{50}:	Liều vắc xin bảo vệ được 50 % động vật đã được gây miễn dịch chống lại một liều thử thách của vi khuẩn độc hoặc độc tố.
ABV:	Đơn vị kết hợp kháng độc tố (Antitoxin Binding Value), là giá trị xác định lượng độc tố thêm vào giải độc tố thành một hỗn hợp (xác định kiểm tra trên động vật thí nghiệm).
CPE:	Tác động gây bệnh tế bào (Cytopathic effect).

MEM: Môi trường MEM (Minimum Essential Medium).
FCS: Huyết thanh bào thai bê (Foetal Calf Sera).
$CCID_{50}$: Lượng virus gây nhiễm 50% tế bào (Cell culture infective dose).
NMSL: Nước muối sinh lý.
EU: Đơn vị nội độc tố (Endotoxin Unit).
Nước BET: Nước để thử nội độc tố.
Me: - CH_3 (methyl)
Et: - CH_2CH_3 (ethyl)
Pr^i: - $CH(CH_3)_2$ (*iso*-propyl)
Pr^n: - $CH_2CH_2CH_3$ (*n*-propyl)
Bu^i: - $CH_2CH(CH_3)_2$ (*iso*-butyl)
Bu^s: - $CH(CH_3)CH_2CH_3$ (*sec*-butyl)
Bu^n: - $CH_2CH_2CH_2CH_3$ (*n*-butyl)
Bu^t: - $C(CH_3)_3$ (*tert*-butyl)
Ph: - C_6H_5 (phenyl)
Ac: - $COCH_3$ (acetyl)

Các chuyên luận
NGUYÊN LIỆU HÓA DƯỢC
VÀ THÀNH PHẨM HÓA DƯỢC

ABACAVIR SULFAT

Abacaviri sulfas



$C_{28}H_{38}N_{12}O_6S$ P.t.l: 671

Abacavir sulfat là bis[[(1*S*,4*R*)-4-[2-amino-6-(cyclo-propyl-amino)-9*H*-purin-9-yl]cyclopent-2-enyl]methanol] sulfat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{28}H_{38}N_{12}O_6S$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột màu trắng hoặc gần như trắng.

Tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 % và methylen clorid.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B và D.

Nhóm II: A, C và D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của abacavir sulfat chuẩn.

B. Góc quay cực riêng phải từ -58,0° đến -54,0° (Phụ lục 6.4). Dùng dung dịch S để đo.

Dung dịch S: Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

C. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Tạp chất đồng phân đối quang.

D. Dung dịch S phải cho phản ứng (A) của ion sulfat (Phụ lục 8.1).

Tạp chất đồng phân đối quang

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Diethylamin - 2-propanol - heptan (0,1 : 15 : 85).

Pha động B: Heptan - 2-propanol (50 : 50).

Dung dịch A: Acid trifluoroacetic - methanol (0,5 : 100).

Dung dịch B: Methanol - 2-propanol - heptan (30 : 30 : 40).

Dung dịch thử: Hòa tan 40 mg chế phẩm trong 30 ml dung dịch A, lắc siêu âm đến khi tan hoàn toàn, thêm 30 ml *2-propanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng *heptan (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2 mg abacavir chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký (chứa tạp chất A và D) trong 1,5 ml dung dịch A. Lắc siêu âm cho tan hoàn toàn, thêm 1,5 ml *2-propanol (TT)* và pha loãng thành 5,0 ml bằng *heptan (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng dung dịch B. Tiếp tục pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng dung dịch B.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh là *dẫn xuất amylose của silica gel dùng cho sắc ký phân tách đồng phân đối quang* (10 µm).

Nhiệt độ cột: 30 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 286 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 25	100	0
25 - 27	100 → 0	0 → 100
27 - 37	0	100

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo abacavir chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) để xác định pic của tạp chất A và D.

Thời gian lưu tương đối của các pic tạp chất so với pic abacavir (thời gian lưu khoảng 17 min): Tạp chất D khoảng 0,8; tạp chất A khoảng 0,9.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa hai pic tạp chất D và tạp chất A ít nhất là 1,5; và độ phân giải giữa hai pic tạp chất A và pic abacavir ít nhất là 1,5.

Giới hạn:

Trên sắc ký đồ dung dịch thử: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: [(1*R*,4*S*)-4-[2-amino-6-(cyclopropylamino)-9*H*-purin-9-yl]cyclopent-2-enyl]methanol.

Tạp chất D: [(1*R*,4*R*)-4-[2-amino-6-(cyclopropylamino)-9*H*-purin-9-yl]cyclopent-2-enyl]methanol.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). *Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi sử dụng, dùng dụng cụ thủy tinh màu nâu, trung tính.*

Pha động A: Pha loãng 0,5 ml *acid trifluoroacetic (TT)* trong 1000 ml *nước*.

Pha động B: Nước - methanol (15 : 85).

Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Lắc siêu âm đến khi chế phẩm tan hoàn toàn.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2,5 mg abacavir chuẩn dùng để định tính pic (chứa tạp chất B và D) trong 10,0 ml *nước*.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *nước*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng *nước*.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (15 cm × 3,9 mm), được nhồi *end-capped octadecylsilyl silica gel* dùng cho sắc ký (5 µm).

Nhiệt độ cột: 30 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 5	95	5
5 - 25	95 → 70	5 → 30
25 - 40	70 → 10	30 → 90

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo abacavir chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) để xác định pic của tạp chất B và D.

Thời gian lưu tương đối của các pic tạp chất so với pic abacavir (thời gian lưu khoảng 22 min): Tạp chất D khoảng 1,04; tạp chất B khoảng 1,3.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa hai pic abacavir và tạp chất D ít nhất là 1,5.

Giới hạn: Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử:

Diện tích pic tạp chất B không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).

Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).

Tổng diện tích của tất cả các pic tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).

Bỏ qua các pic tạp chất có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất B: 6-(cyclopropylamino)-9-[(1*R*,4*S*)-4-[[(2,5-diamino-6-cloropyrimidin-4-yl)oxy]methyl]cyclopent-2-enyl]-9*H*-purin-2-amin

Kim loại nặng

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

Lấy 12 ml dung dịch S tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị dung dịch đối chiếu.

Nước

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 60,0 mg chế phẩm.

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Cân chính xác khoảng 0,300 g chế phẩm, hòa tan trong 50 ml *nước*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 33,54 mg $C_{28}H_{38}N_{12}O_6S$.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

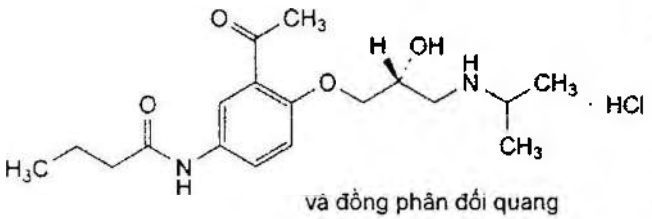
Thuốc kháng virus HIV.

Chế phẩm

Viên nén, dung dịch uống.

ACEBUTOLOL HYDROCLORID

Acebutolol hydrochloridum



và đồng phân đối quang

$C_{18}H_{28}N_2O_4.HCl$ P.t.l: 372.89

Acebutolol hydroclorid là *N*-[3-acetyl-4-[(2*RS*)-2-hydroxy-3-[(1-methylethyl)amino]propoxy]phenyl] butanamid hydrochlorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{18}H_{29}ClN_2O_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan trong nước và trong ethanol 96 %, rất khó tan trong aceton và trong methylen clorid.

Nhiệt độ nóng chảy khoảng 143 °C.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của acebutolol hydroclorid chuẩn. Chuẩn bị các mẫu dạng đĩa nén.

B. Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong dung dịch *acid hydrocloric (TT)* 0,1 % (tt/tt) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng dung dịch *acid hydrocloric (TT)* 0,1 % (tt/tt).

Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 220 nm đến 350 nm,

dung dịch thử phải cho cực đại hấp thụ ở bước sóng 233 nm và 322 nm. Độ hấp thụ riêng ở bước sóng 233 nm phải từ 555 đến 605.

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

Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.

Dung môi khai triển: *Acid percloric - methanol - nước* (5 : 395 : 600).

Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg acebutolol hydroclorid chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 20 mg pindolol chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Thêm 1 ml dung dịch thu được vào 1 ml dung dịch đối chiếu (1).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 3/4 bản mỏng. Để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí và kích thước. Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách rõ rệt.

D. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thu được không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu đối chiếu VN_5 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. pH của dung dịch thu được phải từ 5,0 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Trộn đều 2,0 ml *acid phosphoric (TT)* và 3,0 ml *triethylamin (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Pha động B: *Acetonitril - pha động A* (50 : 50).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 0,5 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng pha động A.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan tạp chất I chuẩn của acebutolol có trong một lọ chuẩn trong 1,0 ml pha động A.

Dung dịch đối chiếu (3): Trộn 2,0 ml dung dịch đối chiếu (1) và 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) và pha loãng thành 10,0 ml bằng pha động A.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 5,0 mg tạp chất C chuẩn của acebutolol trong 10 ml *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml bằng pha động A. Pha loãng 0,5 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng pha động A.

Dung dịch đối chiếu (5): Hòa tan 5,0 mg tạp chất B chuẩn của acebutolol trong 10,0 ml *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml bằng pha động A. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng pha động A.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (12,5 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 240 nm.

Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.

Thể tích tiêm: 25 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 2	98	2
2 - 30,5	98 → 10	2 → 90
30,5 - 41	10	90

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic của tạp chất I với pic của acebutolol ít nhất là 7,0.

Giới hạn:

Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5) (0,2 %).

Tạp chất C: Diện tích pic tạp chất C không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,1 %).

Tạp chất I: Diện tích pic tạp chất I không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).

Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: *N*-[3-acetyl-4-[(2*RS*)-oxiran-2-ylmethoxy]phenyl] butanamid.

Tạp chất B: *N*-[3-acetyl-4-[(2*RS*)-2-hydroxy-3-[(1-methylethyl) amino]propoxy]phenyl]acetamid (diacetolol).

Tạp chất C. *N*-(3-acetyl-4-hydroxyphenyl)butanamid.

Tạp chất D: 1-[5-amino-2-[(2*RS*)-2-hydroxy-3-[(1-methylethyl) amino]propoxy]phenyl]ethanon.

Tạp chất E: *N*-[4-[(2RS)-2-hydroxy-3-[(1-methylethyl)amino] propoxy]phenyl]butanamid.
Tạp chất F: *N*-[3-acetyl-4-[(2*RS*)-2,3-dihydroxypropoxy]phenyl] butanamid.
Tạp chất I: *N*-[3-acetyl-4-[(2*RS*)-3-(ethylamino)-2-hydroxypropoxy] phenyl]butanamid.
Tạp chất J: *N*-[3-acetyl-4-[(2*RS*)-2-hydroxy-3-[(1-methylethyl) amino]propoxy]phenyl]propanamid.
Tạp chất G: *N,N'*-[[(1-methylethyl)imino]bis[(2-hydroxypropan-1,3-diyl)oxy(3-acetyl-1,4-phenylen)]] dibutanamid (biamin).
Tạp chất H: *N,N'*-[(2-hydroxypropan-1,3-diyl)bis[oxy(3-acetyl-1,4-phenylen)]]dibutanamid.
Tạp chất K: *N*-[3-butanoyl-4-[(2*RS*)-2-hydroxy-3-[(1-methylethyl) amino]propoxy]phenyl]butanamid.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong *nước*, tiến hành thử theo phương pháp 5.
Pha loãng 10,0 ml *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* thành 20,0 ml bằng *nước* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C; 3 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,300 g trong 50 ml *ethanol 96 % (TT)* và thêm 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Đọc thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tiêu thụ giữa 2 điểm uốn.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 37,29 mg $C_{18}H_{29}ClN_2O_4$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chẹn beta-adrenergic.

Chế phẩm
Viên nén, nang.

VIÊN NÉN ACEBUTOLOL
Tabellae Acebutololi

Là viên nén chứa acebutolol hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng acebutolol, $C_{18}H_{28}N_2O_4$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

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

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Pha loãng nếu cần bằng *nước*.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng acebutolol hydroclorid chuẩn, hòa tan trong *nước* để thu được dung dịch có nồng độ acebutolol tương đương với nồng độ acebutolol của dung dịch thử.
Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử và dung dịch chuẩn ở bước sóng 232 nm (Phụ lục 4.1).
Tính hàm lượng acebutolol, $C_{18}H_{28}N_2O_4$, dựa vào độ hấp thụ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{18}H_{28}N_2O_4$ trong acebutolol hydroclorid chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng acebutolol, $C_{18}H_{28}N_2O_4$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi khai triển: *Cloroform - dimethylformamid - acid acetic băng* (60 : 20 : 20).
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng khoảng 0,4 g acebutolol với 20 ml hỗn hợp đồng thể tích *cloroform (TT)* và *methanol (TT)* trong 2 min, ly tâm lấy dung dịch trong.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 3 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng hỗn hợp đồng thể tích *cloroform (TT)* và *methanol (TT)*. Tiếp tục pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng cùng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng hỗn hợp đồng thể tích *cloroform (TT)* và *methanol (TT)*. Tiếp tục pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng cùng hỗn hợp dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra và để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được có vết phụ nào đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %) và không được có quá 2 vết phụ đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %). Bỏ qua các vết trên vạch xuất phát.

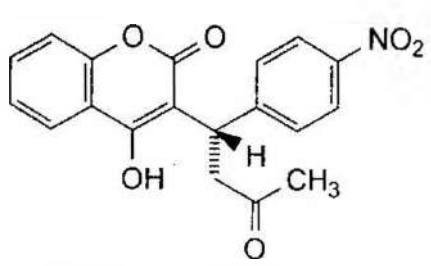
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm: Hòa tan 2,4 g *natri decanesulfonat (TT)* trong 1000 ml *nước*, chỉnh pH đến 3,5 bằng *acid acetic băng (TT)*.
Pha động: Methanol - dung dịch đệm (60 : 40). Điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng chất chuẩn acebutolol hydroclorid và hòa tan trong *methanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,22 mg/ml (tương đương với nồng độ acebutolol khoảng 0,2 mg/ml)
Dung dịch thử: Cân 20 viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 200 mg acebutolol cho vào bình định mức 200 ml, thêm khoảng 180 ml *methanol (TT)*, lắc trong 30 min. Thêm *methanol (TT)* đến định mức, lắc đều, lọc. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 25,0 ml bằng *methanol (TT)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 3,9 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng của pic chính không được lớn hơn 1,5 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic đáp ứng từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng acebutolol, $C_{18}H_{28}N_2O_4$, dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{18}H_{28}N_2O_4$ trong acebutolol hydroclorid chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chẹn beta-adrenergic.

Hàm lượng thường dùng
200 mg; 400 mg.

ACENOCOUMAROL
Acenocoumarolum



và đồng phân đối quang

$C_{19}H_{15}NO_6$ P.t.l.: 353,3

Acenocoumarol là (*RS*)-4-hydroxy-3-(1-*p*-nitrophenyl-3-oxobutyl) coumarin, phải chứa từ 98,5 % đến 100,5 % $C_{19}H_{15}NO_6$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột đa hình, gần như trắng cho tới màu vàng sẫm.
Thực tế không tan trong nước và ether, khó tan trong ethanol 96 %. Tan trong các dung dịch hydroxyd kiềm.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của acenocoumarol. Nếu phổ thu được của chế phẩm khác với phổ đối chiếu, hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 10 ml *aceton (TT)* và thêm *nước* từng giọt một cho đến khi dung dịch trở nên đục. Đun nóng trên cách thủy cho đến khi dung dịch trong và để yên. Lọc, rửa tinh thể thu được bằng hỗn hợp đồng thể tích *aceton (TT)* và *nước*. Sấy khô ở 100 °C trong 30 min ở áp suất 2 kPa. Đo phổ cắn thu được.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
A. Dung dịch 2,0 % chế phẩm trong *aceton (TT)* phải trong (Phụ lục 9.2).
B. Độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch 2,0 % chế phẩm trong *aceton (TT)*, đo ở 460 nm trong cốc đo dày 4 cm, không được lớn hơn 0,12.
C. Dung dịch 2,0 % chế phẩm trong *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* phải trong (Phụ lục 9.2), và có màu vàng.

Độ hấp thụ ánh sáng
Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch 0,001 % chế phẩm trong hỗn hợp *dung dịch acid hydrocloric 1 M - methanol* (1 : 9) ở cực đại hấp thụ 306 nm, từ 0,50 đến 0,54, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tạp chất liên quan
Không được quá 0,1 %.
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Dicloromethan - cyclohexan - acid acetic băng (50 : 50 : 20).
Dung dịch thử: Dung dịch 2,0 % chế phẩm trong *aceton (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch 0,0020 % chế phẩm trong *aceton (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát ngay dưới ánh sáng tử ngoại ở 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 1). Dùng 1,0 g.

Định lượng
Hòa tan 0,6 g chế phẩm trong 50 ml *aceton (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*, dùng *dung dịch xanh bromothymol* làm chỉ thị. Song song làm mẫu trắng. 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 35,33 mg $C_{19}H_{15}NO_6$.

Loại thuốc
Chống đông máu.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN ACENOCOUMAROL
Tabellae Acenocoumaroli

Là viên nén chứa acenocoumarol.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng acenocoumarol, $C_{19}H_{15}NO_6$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Đun hồi lưu một lượng bột viên đã nghiền mịn có chứa 50 mg acenocoumarol với 30 ml *aceton (TT)* dưới sinh hàn ngược trong 5 min. Lọc và rửa cắn 2 lần, mỗi lần 10 ml *aceton (TT)*. Gộp dịch lọc và dịch rửa, bốc hơi đến còn khoảng 5 ml, thêm từng giọt *nước* tới khi dung dịch trở nên đục. Làm nóng hỗn hợp trên cách thủy đến khi dung dịch trong và để yên. Lọc và rửa tinh thể với hỗn hợp đồng thể tích *nước* và *aceton (TT)*, làm khô ở nhiệt độ 100 °C, áp suất 2 kPa trong 30 min. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của acenocoumarol.
B. Phổ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong mục Định lượng phải cho cực đại hấp thụ ở bước sóng 283 nm và 306 nm.
C. Làm nóng 25 mg cắn thu được trong phép thử A với 2,5 ml *acid acetic băng (TT)*, 0,5 ml *acid hydrocloric (TT)* và 0,2 g *bột kẽm (TT)* trên cách thủy trong 5 min, để nguội và lọc. Thêm vào dịch lọc 0,05 ml *dung dịch natri nitrit 10 % (TT)* và thêm hỗn hợp trên vào hỗn hợp gồm 10 ml dung dịch *2-naphthol 1 %* và 3 ml *dung dịch natri hydroxyd 5 M (TT)*. Tủa màu đỏ tươi tạo thành.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Acid acetic băng - cloroform - cyclohexan (20 : 50 : 50).
Dung dịch thử: Lắc kỹ một lượng bột viên tương ứng với khoảng 20 mg acenocoumarol với 5 ml *aceton (TT)*. Ly tâm và sử dụng dung dịch trong làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử thành 200 thể tích bằng *aceton (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được khoảng 15 cm, để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát ngay bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.
Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử cũng không được đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %).

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)
Áp dụng cho viên nén có hàm lượng acenocoumarol nhỏ hơn hoặc bằng 4 mg.
Nghiền mịn 1 viên nén, thêm 30 ml *methanol (TT)* và khuấy trong 30 min. Lọc qua phễu thủy tinh xốp và rửa cắn 3 lần, mỗi lần 15 ml *methanol (TT)*. Gộp dịch lọc và dịch rửa, thêm 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* và thêm *methanol (TT)* vừa đủ 100,0 ml. Tiếp tục pha loãng (nếu cần) bằng hỗn hợp dung môi được chuẩn bị bằng cách pha loãng 1 thể tích *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* thành 10 thể tích bằng *methanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,001 % acenocoumarol.
Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 306 nm, trong cốc đo dày 1 cm dùng hỗn hợp *dung dịch acid hydrocloric 1 M - methanol* (1 : 9) làm mẫu trắng. Tính hàm lượng acenocoumarol, $C_{19}H_{15}NO_6$, trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ đo được, lấy 521 là giá trị A (1 %, 1 cm) của acenocoumarol ở bước sóng cực đại 306 nm.

Định lượng
Cân 20 viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 1 mg acenocoumarol, thêm 30 ml *methanol (TT)* và khuấy trong 30 min. Lọc qua phễu thủy tinh xốp và rửa cắn 3 lần, mỗi lần 15 ml *methanol (TT)*. Gộp dịch lọc và dịch rửa, thêm 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* thêm *methanol (TT)* vừa đủ 100,0 ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 306 nm, trong cốc đo dày 1 cm, dùng hỗn hợp dung dịch *acid hydrocloric 1 M - methanol* (1 : 9) làm mẫu trắng. Tính hàm lượng acenocoumarol, $C_{19}H_{15}NO_6$, trong chế phẩm dựa vào độ hấp thụ đo được, lấy 521 là giá trị A (1 %, 1 cm) của acenocoumarol ở bước sóng cực đại 306 nm.

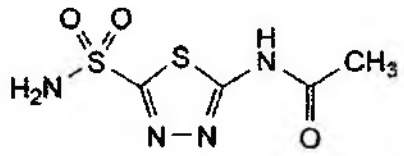
Bảo quản
Trong đồ đựng kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống đông máu.

Hàm lượng thường dùng
4 mg.

ACETAZOLAMID

Acetazolamidum



$C_4H_6N_4O_3S_2$ P.t.l: 222,2

Acetazolamid là *N*-(5-sulfamoyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl) acetamid, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_4H_6N_4O_3S_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hay gần như trắng. Đa hình.

Rất khó tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %, tan trong các dung dịch hydroxyd kiềm loãng.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của acetazolamid chuẩn. Nếu phổ của chế phẩm ở trạng thái rắn khác với phổ của chất chuẩn, hòa tan riêng rẽ chế phẩm và chuẩn trong *ethanol 96 % (TT)*, bốc hơi đến khô, chuẩn bị các mẫu đo mới dưới dạng đĩa nén và ghi phổ.

B. Hòa tan 30,0 mg chế phẩm trong *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT)* (dung dịch A). Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch A trong khoảng bước sóng từ 230 nm đến 260 nm, dung dịch có cực đại hấp thụ ở bước sóng 240 nm. Độ hấp thụ riêng ở bước sóng cực đại phải nằm trong khoảng từ 162 đến 176.

Pha loãng 25,0 ml dung dịch A thành 100,0 ml bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT)*. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 260 nm đến 350 nm, dung dịch có cực đại hấp thụ ở bước sóng 292 nm. Độ hấp thụ riêng ở bước sóng cực đại phải nằm trong khoảng từ 570 đến 620.

C. Lấy khoảng 20 mg chế phẩm vào một ống nghiệm, thêm vào 4 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và 0,2 g *kẽm bột (TT)*. Đặt ngay một miếng *giấy tẩm chì acetat (TT)* lên miệng ống nghiệm. Miếng giấy sẽ có màu đen ánh nâu.

D. Hòa tan khoảng 25 mg chế phẩm trong một hỗn hợp gồm 0,1 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* và 5 ml *nước*. Thêm 0,1 ml *dung dịch đồng sulfat 10 % (TT)*. Tủa màu xanh ánh lục được tạo thành.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*. Dung dịch này không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn dung dịch màu mẫu V_5 hoặc VN_5 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril dùng trong phương pháp sắc ký - dung dịch kali dihydrophosphat 0,68 % (10 : 90).

Dung dịch thử: Hòa tan 40 mg chế phẩm trong pha động, pha loãng thành 100,0 ml với pha động.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung *dịch đối chiếu (2)*: Hòa tan acetazolamid chuẩn dùng để đánh giá tính phù hợp của hệ thống (chứa các tạp chất A, B, C, D, E và F) có trong 1 lọ chuẩn trong 1,0 ml pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped propoxybenzen silica gel dùng cho sắc ký* (4 µm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại đặt ở bước sóng 265 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 25 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 3,5 lần thời gian lưu của acetazolamid.

Thời gian lưu tương đối so với acetazolamid (thời gian lưu khoảng 8 min) như sau: Tạp chất E khoảng 0,3; tạp chất D khoảng 0,4; tạp chất B khoảng 0,6; tạp chất C khoảng 1,4; tạp chất A khoảng 2,1; tạp chất F khoảng 2,6.

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo acetazolamid chuẩn để đánh giá tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định các pic tạp chất A, B, C, D, E và F.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất D và pic của tạp chất E ít nhất là 2,0.

Giới hạn:

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng: Tạp chất B là 2,3; tạp chất C là 2,6; tạp chất D là 1,6.

Tạp chất A, B, C, D, E, F, G: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,15 %).

Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 6 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,6 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: *N*-(5-cloro-1,3,4-thiadiazol-2-yl)acetamid.

Tạp chất B: *N*-(1,3,4-thiadiazol-2-yl)acetamid.

Tạp chất C: *N*-(5-sulfanyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)acetamid.
Tạp chất D: 5-amino-1,3,4-thiadiazol-2-sulfonamid.
Tạp chất E: Acid 5-acetamido-1,3,4-thiadiazol-2-sulfonic.
Tạp chất F: *N*-[5-[(5-acetamido-1,3,4-thiadiazol-2-yl)sulfonyl] sulfamoyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl]acetamid.
Tạp chất G: 5-amino-1,3,4-thiadiazol-2-thiol.

Sulfat
Không được quá 0,05 % (Phụ lục 9.4.14).
Thêm 20 ml *nước cất* vào 0,4 g chế phẩm và hòa tan bằng cách đun nóng tới sôi. Làm nguội trong khi vẫn lắc liên tục và lọc. Lấy 15 ml dịch lọc tiến hành thử.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 25 ml *dimethylformamid (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N trong ethanol (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N trong ethanol (CĐ)* tương đương với 22,22 mg $C_4H_6N_4O_3S_2$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc điều trị glôcôm.

Chế phẩm
Thuốc tiêm, viên nén.

VIÊN NÉN ACETAZOLAMID
Tabellae Acetazolamidi

Là viên nén chứa acetazolamid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng acetazolamid, $C_4H_6N_4O_3S_2$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,5 g acetazolamid, thêm 50 ml *aceton (TT)*, lắc kỹ, lọc. Thêm dần vào dịch lọc một lượng *n-hexan (TT)* vừa đủ để tạo tủa. Lọc lấy tủa, sấy tủa thu được ở 105 °C đến khô. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của tủa thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của acetazolamid.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Propan-2-ol - ethyl acetat - amoniac (50 : 30 : 20). Dung môi pha ngay trước khi dùng, bão hòa bình sắc ký 1 h trước khi khai triển, vách bình sắc ký không bao giấy lọc.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg acetazolamid, thêm 10 ml hỗn hợp đồng thể tích *ethanol 96 % (TT)* và *ethyl acetat (TT)*, lắc kỹ trong 20 min, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Hút chính xác 1 ml dung dịch thử, pha loãng với hỗn hợp dung môi trên vừa đủ 100 ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra và để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ, bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử cũng không được có màu đậm hơn màu của vết chính của dung dịch đối chiếu (1 %).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 60 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan và lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc với *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* nếu cần. Đo độ hấp thụ của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 265 nm, trong cốc đo dày 1 cm, song song đo độ hấp thụ của dung dịch chuẩn acetazolamid có cùng nồng độ trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*, dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng acetazolamid, $C_4H_6N_4O_3S_2$, đã hòa tan trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_4H_6N_4O_3S_2$ trong acetazolamid chuẩn.
Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng acetazolamid, $C_4H_6N_4O_3S_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 4,1 g *natri acetat khan (TT)* trong 950 ml *nước*, thêm 20 ml *methanol (TT)*, 30 ml *acetonitril (TT)* và trộn đều. Điều chỉnh đến pH 4,0 ± 0,05 bằng *acid acetic băng (TT)*.

Dung dịch chuẩn nội: Cân chính xác khoảng 100 mg sulfadiazin chuẩn và chuyển vào bình định mức 100 ml. Thêm 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,5 M (TT)* và lắc để hòa tan. Thêm *nước* vừa đủ đến định mức, lắc đều.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 25 mg acetazolamid chuẩn và chuyển vào bình định mức 25 ml. Thêm 2,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,5 M (TT)* và lắc để hòa tan. Thêm *nước* vừa đủ đến định mức và lắc đều. Lấy 10,0 ml dung dịch thu được vào bình định mức 100 ml, thêm 10,0 ml dung dịch chuẩn nội, 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,5 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ đến định mức, lắc đều.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 100 mg acetazolamid và chuyển vào bình định mức 100 ml, thêm 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,5 M (TT)* và siêu âm trong 5 min. Để nguội, thêm *nước* đến vừa đủ thể tích, lắc đều, lọc. Lấy 10,0 ml dịch lọc vào bình định mức 100 ml, thêm 10,0 ml dung dịch chuẩn nội, 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,5 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ đến định mức, lắc đều.

Điều kiện sắc ký

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µml.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký:

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, thời gian lưu tương đối của acetazolamid là khoảng 0,7 và của sulfadiazin là 1,0; hệ số phân giải giữa pic acetazolamid và pic sulfadiazin trên sắc ký đồ không nhỏ hơn 2,0. Độ lệch chuẩn tương đối của tỷ số giữa diện tích pic acetazolamid và diện tích pic sulfadiazin từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 1,0 %.

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

Tính hàm lượng acetazolamid, $C_4H_6N_4O_3S_2$, trong mỗi viên dựa vào tỷ số giữa diện tích pic acetazolamid và diện tích pic sulfadiazin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_4H_6N_4O_3S_2$ trong acetazolamid chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

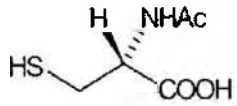
Thuốc điều trị glôcôm.

Hàm lượng thường dùng

125 mg, 250 mg.

ACETYLCYSTEIN

Acetylcysteinum



$C_5H_9NO_3S$ P.t.l:163,2

Acetylcystein là acid (2*R*)-2-(acetylamino)-3-sulfanyl-propanoic, phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $C_5H_9NO_3S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc tinh thể không màu.

Dễ tan trong nước và trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong dicloromethan.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, E.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của acetylcystein chuẩn. Chuẩn bị các mẫu đo bằng cách phân tán trong *kali bromid (TT)* dưới dạng đĩa nén.

B. Điểm chảy (Phụ lục 6.7): Từ 104 °C đến 110 °C.

C. Thêm 0,05 ml *dung dịch natri nitroprusiat 5 % (TT)* và 0,05 ml *amoniac đậm đặc (TT)* vào 0,5 ml dung dịch S (xem Độ trong và màu sắc của dung dịch). Sẽ xuất hiện màu tím thẫm.

D. Trong phần Tạp chất liên quan, thời gian lưu của pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (2) phải tương tự với pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2).

E. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Góc quay cực riêng.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 20 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Thêm 8 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* vào 2 ml dung dịch S và lắc đều. pH của dung dịch thu được phải từ 2,0 đến 2,8 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ +21,0° đến +27,0°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Trộn đều 1,25 g chế phẩm với 1 ml *dung dịch natri edetat 1 %* trong một bình định mức 25 ml. Thêm 7,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 4 % (TT)*, lắc kỹ để hòa tan. Pha loãng thành 25,0 ml bằng *dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT_2)*.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng, trừ dung dịch thử (3).

Pha động: Phối hợp 3 thể tích *acetonitril (TT)* và 97 thể tích *nước*; điều chỉnh đến pH 3,0 bằng *acid phosphoric (TT)*.

Dung dịch thử (1): Lắc 0,80 g chế phẩm trong 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử (1) thành 100,0 ml bằng *nước*. Pha loãng tiếp 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch thử (3): Dùng dung dịch thử (1) sau khi pha ít nhất 1 h.

Dung dịch đối chiếu (1): Lắc một hỗn hợp gồm 4,0 mg acetylcystein chuẩn, 4,0 mg *L-cystin (TT)*, 4,0 mg *L-cystein (TT)*, 4,0 mg tạp chất chuẩn C của acetylcystein (N,N'-diacetyl-L-cystin), 4,0 mg tạp chất chuẩn D của acetylcystein (N,S-diacetyl-L-cystein) trong 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (2): Lắc 4,0 mg acetylcystein chuẩn trong 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Khi tiến hành sắc ký theo các điều kiện trên, các chất sẽ có thời gian lưu như sau: L-cystin khoảng 2,2 min; L-cystein khoảng 2,4 min; acid 2-methyl-2-thiazolin-4-carboxylic [được tạo thành trong dung dịch thử (3)] khoảng 3,3 min; acetylcystein khoảng 6,4 min; tạp chất C khoảng 12 min; tạp chất D khoảng 14 min.

Phép thử chỉ có giá trị khi: Trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic L-cystin và pic L-cystein ít nhất là 1,5; độ phân giải giữa pic tạp chất C và pic tạp chất D ít nhất là 2,0.

Tiêm *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* làm mẫu trắng. Lần lượt tiến hành sắc ký 3 lần dung dịch đối chiếu (1), dung dịch đối chiếu (2) và các dung dịch thử. Ghi sắc ký đồ với thời gian gấp 5 lần thời gian lưu của acetylcystein (khoảng 30 min).

Từ sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (1), tính hàm lượng phần trăm của các tạp chất đã biết và chưa biết theo các công thức sau:

$$\text{Tạp chất đã biết} = \frac{A_1 \times m_2 \times 100}{A_2 \times m_1}$$

$$\text{Tạp chất chưa biết} = \frac{A_3 \times m_3 \times 100}{A_4 \times m_1}$$

Trong đó:

A_1 là diện tích pic của từng tạp chất (L-cystin, L-cystein, tạp chất C và tạp chất D) trong sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (1);

A_2 là diện tích pic của các tạp chất tương ứng (L-cystin, L-cystein, tạp chất C và tạp chất D) trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1);

A_3 là diện tích pic của tạp chất chưa biết trong sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (1);

A_4 là diện tích pic của acetylcystein trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2);

m_1 là khối lượng chế phẩm trong dung dịch thử (1);

m_2 là khối lượng của mỗi tạp chất liên quan có trong dung dịch đối chiếu (1);

m_3 là khối lượng của acetylcystein trong dung dịch đối chiếu (2).

Giới hạn:

Hàm lượng phần trăm của mỗi tạp chất đã biết hoặc chưa biết không được quá 0,5 %.

Tổng hàm lượng phần trăm của cả tạp chất đã biết và chưa biết không được quá 0,5 %.

Bỏ qua tất cả các pic ứng với pic của dung môi, pic xuất hiện với thời gian lưu khoảng 3,3 min (tương ứng với pic của acid 2-methyl-2-thiazolin-4-carboxylic) và các pic có diện tích pic nhỏ hơn 0,1 lần so với pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2).

Kẽm

Không được quá 10 phần triệu.

Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 2).

Dung dịch thử: Hòa tan 1,00 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,001 M* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha các dung dịch đối chiếu bằng cách dùng *dung dịch kẽm mẫu 5 mg/ml (TT)*, pha loãng bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,001 M*.

Đo độ hấp thụ ở bước sóng 213,8 nm, dùng đèn cathod rỗng kẽm làm nguồn bức xạ, ngọn lửa không khí - acetylen và hiệu chỉnh sự hấp thụ không đặc hiệu.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

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

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; sấy chân không; 70 °C; 3 h).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,140 g chế phẩm trong 60 ml *nước* và thêm 10 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*. Sau khi làm mát

trong nước đá, thêm 10 ml *dung dịch kali iodid (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)*, dùng 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)* tương đương với 16,32 mg $C_5H_9NO_3S$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc giải độc quá liều paracetamol, thuốc tiêu chất nhày.

Chế phẩm
Thuốc tiêm, thuốc bột, nang.

BỘT PHA HỖN DỊCH ACETYLCYSTEIN
Pulveres Acetylcysteini

Là thuốc bột dùng để pha hỗn dịch hoặc dung dịch uống chứa acetylcystein. Có thể có thêm các tá dược tạo mùi vị, tạo màu, chất bảo quản, chất ổn định... phù hợp.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc bột" (Phụ lục 1.7) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng acetylcystein, $C_5H_9NO_3S$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột thuốc khô tơi, không bị ẩm, vón, màu sắc đồng nhất.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic acetylcystein trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
B. Hòa tan một lượng chế phẩm chứa khoảng 1,0 g acetylcystein trong 20 ml *nước*. Lắc kỹ, lọc. Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 0,1 ml *dung dịch natri nitroprusiat 5 % (TT)* và 0,1 ml *amoniac đậm đặc (TT)* sẽ xuất hiện màu đỏ tím đậm.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 75 °C; 4 h, trong chân không).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 3,0 bằng *dung dịch acid phosphoric đậm đặc (TT)*, lọc.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột thuốc đã nghiền mịn thu được ở phép thử Độ đồng đều khối lượng tương ứng khoảng 0,1 g acetylcystein vào bình định mức 100 ml, hòa tan và pha loãng với *dung dịch natri metabisulfit 0,05 %* đến định mức, lắc đều, lọc. Hút 10 ml dịch lọc vào bình định mức 100 ml, pha loãng với *dung dịch natri metabisulfit 0,05 %* đến định mức, lắc đều.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 0,1 g acetylcystein chuẩn vào bình định mức 100 ml, hòa tan bằng *dung dịch natri metabisulfit 0,05 %*, pha loãng với cùng dung môi đến định mức, lắc đều. Hút 10 ml dung dịch này vào bình định mức 100 ml, pha loãng với *dung dịch natri metabisulfit 0,05 %*, đến định mức, lắc đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 214 nm.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích đáp ứng từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng acetylcystein, $C_5H_9NO_3S$, có trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_5H_9NO_3S$ của acetylcystein chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc điều hòa sự tiết dịch của phế quản.

Hàm lượng thường dùng
200 mg.

NANG ACETYLCYSTEIN
Capsulae Acetylcysteini

Là nang cứng chứa acetylcystein.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận Thuốc nang (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng acetylcystein, $C_5H_9NO_3S$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, sắc ký đồ dung dịch thử phải cho pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic acetylcystein trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
B. Hòa tan một lượng chế phẩm chứa khoảng 1,0 g acetylcystein trong 20 ml *nước*. Lắc kỹ, lọc. Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 0,1 ml *dung dịch natri nitroprusiat 5 % (TT)* và 0,1 ml *amoniac đậm đặc (TT)* sẽ xuất hiện màu đỏ tím đậm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 3,0 bằng *dung dịch acid phosphoric đậm đặc (TT)*, lọc.

Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác lượng bột tương ứng khoảng 0,1 g acetylcystein vào bình định mức 100 ml, hòa tan và pha loãng với *dung dịch natri metabisulfit 0,05 %* đến định mức, lắc đều, lọc. Hút 10,0 ml dung dịch lọc vào bình định mức 100 ml, pha loãng với *dung dịch natri metabisulfit 0,05 %* đến định mức, lắc đều.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 0,1 g acetylcystein chuẩn vào bình định mức 100 ml, hòa tan bằng *dung dịch natri metabisulfit 0,05 %*, pha loãng với cùng dung môi đến định mức, lắc đều. Hút 10 ml dung dịch này vào bình định mức 100 ml, pha loãng với *dung dịch natri metabisulfit 0,05 %* đến định mức, lắc đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 214 nm.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích đáp ứng từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %. Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng acetylcystein, $C_5H_9NO_3S$, có trong nang dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_5H_9NO_3S$ của acetylcystein chuẩn.

Bảo quản

Trong lọ kín, để nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

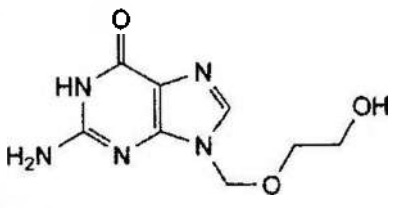
Thuốc điều hòa sự tiết dịch của phế quản.

Hàm lượng thường dùng

200 mg.

ACICLOVIR

Aciclovirum



$C_8H_{11}N_5O_3$ P.t.l: 225,2

Aciclovir là 2-amino-9-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-1,9-dihydro-6*H*-purin-6-on, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_8H_{11}N_5O_3$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng. Khó tan trong nước, dễ tan trong dimethyl sulfoxyd, rất khó tan trong ethanol 96 %. Tan trong các dung dịch acid vô cơ loãng và hydroxyd kiềm loãng.

Định tính

Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của aciclovir chuẩn.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi. Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu V_7 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Acetonitril - dung dịch đệm phosphat pH 3,1 (1 : 99).

Pha động B: Acetonitril - dung dịch đệm phosphat pH 2,5 (50 : 50).

Dung dịch đệm phosphat pH 2,5: Hòa tan 3,48 g *dikali hydrophosphat (TT)* vào 1000 ml *nước* và điều chỉnh đến pH 2,5 bằng *acid phosphoric (TT)*.

Dung dịch đệm phosphat pH 3,1: Hòa tan 3,48 g *dikali hydrophosphat (TT)* vào 1000 ml *nước* và điều chỉnh đến pH 3,1 bằng *acid phosphoric (TT)*.

Hỗn hợp dung môi: Dimethyl sulfoxyd (TT) - nước (20 : 80).

Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm bằng 5,0 ml *dimethyl sulfoxyd (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với *nước*.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg aciclovir chuẩn dùng để đánh giá tính phù hợp của hệ thống (chứa các tạp chất A, B, J, K, N, O, và P) trong 1 ml *dimethyl sulfoxyd (TT)* và pha loãng thành 5,0 ml với *nước*.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan aciclovir chuẩn dùng để định tính pic 1 (chứa tạp chất C và tạp chất I) có trong 1 lọ chuẩn trong 200 µl *dimethyl sulfoxyd (TT)* và pha loãng thành 1,0 ml với *nước*. Chuẩn bị dung dịch ngay trước khi dùng.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan aciclovir chuẩn dùng để định tính pic 2 (chứa tạp chất F và tạp chất G) có trong 1 lọ chuẩn trong 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1).

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (2), (3) và (4).

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 5	100	0
5 - 27	100 → 80	0 → 20
27 - 40	80	20

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo aciclovir chuẩn dùng để định tính pic 1 và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của tạp chất C và tạp chất I. Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo aciclovir chuẩn dùng để định tính pic 2 và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của các tạp chất A, B, F, G, J, K, N, O và P.

Thời gian lưu tương đối so với aciclovir (thời gian lưu khoảng 13 min): Tạp chất B khoảng 0,4; tạp chất P khoảng 0,7; tạp chất C khoảng 0,9; tạp chất N khoảng 1,37; tạp chất O khoảng 1,42; tạp chất I khoảng 1,57; tạp chất J khoảng 1,62; tạp chất F khoảng 1,7; tạp chất A khoảng 1,8; tạp chất K khoảng 2,5; tạp chất G khoảng 2,6.

Tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic của tạp chất C và pic của aciclovir ít nhất là 1,5. Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4), độ phân giải giữa pic của tạp chất F và pic của tạp chất A ít nhất là 1,5; độ phân giải giữa pic của tạp chất K và pic của tạp chất G ít nhất là 1,5.

Giới hạn:

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất I với 1,5.

Tạp chất B: Diện tích của pic tạp chất B không được lớn hơn 7 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,7 %).

Tạp chất O: Diện tích của pic tạp chất O không được lớn hơn 3 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %).

Tạp chất A, G, J, K, N, P: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).

Tạp chất C, F, I: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu cần, không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).

Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 15 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,5 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,03 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: 2-[(2-amino-6-oxo-1,6-dihydro-9*H*-purin-9-yl) methoxy]ethyl acetat.

Tạp chất B: 2-amino-1,7-dihydro-6*H*-purin-6-on (guanin).

Tạp chất C: 2-amino-7-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-1,7-dihydro-6*H*-purin-6-on.

Tạp chất F: *N*-[9-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-oxo-6,9-dihydro-1*H*-purin-2-yl]acetamid.

Tạp chất G: 2-[[2-(acetylamino)-6-oxo-1,6-dihydro-9*H*-purin-9-yl]methoxy]ethyl acetat.

Tạp chất I: 2-amino-7-[[2-[(2-amino-6-oxo-1,6-dihydro-9*H*-purin-9-yl)methoxy]ethoxy]methyl]-1,7-dihydro-6*H*-purin-6-on.

Tạp chất J: 9,9'-[ethylenbis(oxymethylen)]bis(2-amino-1,9-dihydro-6*H*-purin-6-on).

Tạp chất K: 2,2'-[methylendiimino]bis[9-(2-hydroxyethoxy) methyl]-1,9-dihydro-6*H*-purin-6-on)].

Tạp chất L: *N*-(9-acetyl-6-oxo-6,9-dihydro-1*H*-purin-2-yl) acetamid (*N*²,9-diacetylguanin).

Tạp chất M: 2-[[2-(acetylamino)-6-oxo-1,6-dihydro-7*H*-purin-7-yl]methoxy]ethyl acetat.

Tạp chất N: Chưa xác định cấu trúc.

Tạp chất O: Chưa xác định cấu trúc.

Tạp chất P: 2-amino-9-(2-hydroxyethyl)1,9-dihydro-6*H*-purin-6-on.

Nước

Không được quá 6,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,500 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 %. (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong 60 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Song song làm mẫu trắng trong cùng điều kiện.

1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 22,52 mg $C_8H_{11}N_5O_3$.

Bảo quản

Trong bao bì kín.

Loại thuốc

Thuốc chống virus.

Chế phẩm

Kem, thuốc mỡ tra mắt, dung dịch tiêm truyền, hỗn dịch uống, viên nén.

KEM ACICLOVIR
Cremoris Acicloviri

Là thuốc kem dùng ngoài da có chứa aciclovir.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc mềm dùng trên da và niêm mạc" (Phụ lục 1.12) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng aciclovir, $C_8H_{11}N_5O_3$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Kem thuốc có màu trắng hoặc trắng hơi ngà vàng.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, phổ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử trong khoảng từ 230 nm đến 350 nm, có cực đại hấp thụ ở 255 nm và có một vai ở khoảng 274 nm.
B. Trong phần Guanin, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch (2) phải phù hợp về vị trí và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch (3).

Guanin
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Celulose F_{254}
Dung môi khai triển (1): Ethyl acetat.
Dung môi khai triển (2): Propan-1-ol - amoniac 13,5 M - dung dịch amoni sulfat 5 % (10 : 30 : 60).
Dung dịch (1): Cân một lượng kem đã trộn đều có chứa 30 mg aciclovir vào một ống ly tâm có nút dung tích 10 ml, thêm 3 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và lắc để phân tán kem. Thêm 5 ml hỗn hợp gồm 1 thể tích *cloroform (TT)* và 2 thể tích *propan-1-ol (TT)*, lắc mạnh, ly tâm và pha loãng lớp dung dịch ở trên thành 5 ml với *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*, trộn đều, ly tâm và sử dụng lớp dung dịch phía trên.
Dung dịch (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT).*
Dung dịch (3): Hòa tan 6,0 mg aciclovir chuẩn trong 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT).*
Dung dịch (4): Hòa tan 6,0 mg guanin trong 100 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT).*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký với dung môi khai triển (1) đến khi dung môi đi hết chiều dài bản mỏng. Lấy bản mỏng ra, làm khô trong luồng không khí khô và triển khai sắc ký một lần nữa với dung môi khai triển (2) đến khi dung môi đi được 8 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.
Trên sắc ký đồ của dung dịch (1), bất kỳ vết phụ nào tương ứng với vết guanin phải không được có màu đậm màu hơn màu của vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch (4) (1,0 %). Không kể đến bất kỳ vết nào xuất hiện ngay dưới vạch dung môi.

Định lượng
Lắc một lượng kem đã được trộn đều có chứa 7,5 mg aciclovir với 50 ml *dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT).* Lắc mạnh với 50 ml *ethyl acetat (TT)*, để lắng cho tách lớp và lấy lớp dung dịch nước bên dưới. Rửa lớp dung môi hữu cơ với 20 ml *dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT)*, gộp dịch rửa và lớp nước bên dưới, pha loãng thành 100 ml với *dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT).* Lắc đều và lọc (giấy lọc Whatman GF/F), bỏ 10 ml dịch lọc đầu, lấy chính xác 10 ml dịch lọc vào bình định mức 50 ml, thêm nước vừa đủ đến vạch. Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 255 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm, dùng hỗn hợp *dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT)* và *nước* (1 : 4) làm mẫu trắng. Tính hàm lượng aciclovir, $C_8H_{11}N_5O_3$ theo A (1 %, 1 cm), lấy 562 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở cực đại 255 nm.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống virus.

Hàm lượng thường dùng
5 %, tuýp 2 g, 10 g.

VIÊN NÉN ACICLOVIR
Tabellae Acicloviri

Là viên nén chứa aciclovir.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng aciclovir, $C_8H_{11}N_5O_3$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, phổ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử trong khoảng từ 230 nm đến 350 nm, có cực đại hấp thụ ở 255 nm và có một vai ở khoảng 274 nm.
B. Trong phần Guanin, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch (2) phải phù hợp về vị trí và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch (3).

Guanin
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Celulose F_{254}.
Dung môi khai triển: Propan-1-ol - amoniac 13,5 M - dung dịch amoni sulfat 5 %(10 : 30 : 60).
Dung dịch (1): Cân một lượng bột viên tương ứng khoảng 0,25 g aciclovir vào bình định mức 50 ml, thêm 25 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*, lắc trong 10 min, thêm *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* vừa đủ đến vạch, để yên để lắng những phần nguyên liệu không tan trước khi tiến hành chấm sắc ký.

Dung dịch (2): Pha loãng 1 ml dung dịch (1) thành 10 ml bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT).*
Dung dịch (3): Hòa tan 5,0 mg aciclovir chuẩn trong 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT).*
Dung dịch (4): Hòa tan 5,0 mg guanin trong 100 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT).*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm. Lấy bản sắc ký ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch (1), bất kỳ vết phụ nào tương ứng với vết guanin phải không được có màu đậm hơn màu của vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch (4) (1,0 %). Không kể đến bất kỳ vết nào xuất hiện ngay dưới vạch dung môi.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu, pha loãng dịch lọc bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* (nếu cần). Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 255 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng aciclovir, $C_8H_{11}N_5O_3$, theo A (1 %, 1 cm), lấy 560 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở cực đại 255 nm.
Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % (Q) lượng aciclovir, $C_8H_{11}N_5O_3$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Amoniac 13,5 M - methanol - dicloromethan (2 : 20 : 80).
Dung dịch (1): Lắc một lượng bột viên tương ứng 0,25 g aciclovir với 10 ml *dimethyl sulfoxid (TT)* trong 15 min và lọc.
Dung dịch (2): Pha loãng 0,7 ml dung dịch (1) thành 100 ml bằng *dimethyl sulfoxid (TT).*
Dung dịch (1) và (2) phải sử dụng ngay.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm. Lấy bản sắc ký ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch (1), bất kỳ vết phụ nào có giá trị R_f lớn hơn giá trị R_f của vết chính, phải không được có màu đậm hơn màu của vết trên sắc ký đồ của dung dịch (2) (0,7 %).

Định lượng
Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng khoảng 0,1 g aciclovir cho vào bình định mức 100 ml, thêm 60 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và siêu âm hòa tan trong 15 min. Thêm *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều và lọc. Hút chính xác 15 ml dịch lọc cho vào bình định mức 100 ml, thêm 50 ml *nước* và 5,8 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT),* thêm *nước* vừa đủ đến vạch. Hút chính xác 5 ml dung dịch trên cho vào bình định mức 50 ml, thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT* vừa đủ đến vạch và lắc đều. Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 255 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng aciclovir, $C_8H_{11}N_5O_3$, theo A (1 %, 1 cm); lấy 560 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở cực đại 255 nm.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

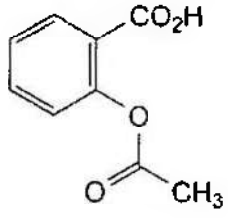
Loại thuốc
Thuốc chống virus.

Hàm lượng thường dùng
200 mg, 400 mg, 800 mg.

ACID ACETYLSALICYLIC

Acidum acetylsalicylicum

Aspirin



$C_9H_8O_4$ P.t.l: 180,2

Acid acetylsalicylic là acid 2-(acetyloxy)benzoic, phải chứa từ 99,5 % đến 101,0 % $C_9H_8O_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Tinh thể không màu, bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng. Khó tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %. Điểm chảy ở khoảng 143 °C (Phụ lục 6.7, phương pháp 3).

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của acid acetylsalicylic chuẩn.

B. Đun sôi 0,2 g chế phẩm với 4 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* trong 3 min, để nguội và thêm 5 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)*. Tủa kết tinh được tạo thành. Tủa sau khi được lọc, rửa với nước và sấy khô ở 100 °C đến 105 °C, có điểm chảy từ 156 °C đến 161 °C (Phụ lục 6.7).

C. Trong một ống nghiệm, trộn 0,1 g chế phẩm với 0,5 g *calci hydroxyd (TT)*. Đun hỗn hợp và cho khói sinh ra tiếp xúc với miếng giấy lọc đã được tẩm 0,05 ml *dung dịch nitrobenzaldehyd (TT)* sẽ xuất hiện màu vàng ánh lục hoặc xanh lam ánh lục. Làm ẩm miếng giấy lọc với *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*, màu sẽ chuyển thành xanh lam.

D. Hòa tan bằng cách đun nóng khoảng 20 mg tủa thu được từ phép định tính B trong 10 ml *nước* và làm nguội. Dung dịch thu được cho phản ứng (A) của salicylat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 9 ml *ethanol 96 % (TT)*. Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3), chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.

Pha động: *Acid phosphoric - acetonitril dùng trong phương pháp sắc ký - nước* (2 : 400 : 600).

Dung dịch thử: Hoà tan 0,100 g chế phẩm trong *acetonitril dùng trong phương pháp sắc ký (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hoà tan 50,0 mg *acid salicylic (TT)* (tạp chất C) trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Hoà tan 10 mg *acid salicylic (TT)* (tạp chất C) trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Hút 1,0 ml dung dịch thu được và 0,2 ml dung dịch thử, thêm pha động vừa đủ 100,0 ml.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan acid acetylsalicylic chuẩn để định tính pic (chứa các tạp chất A, B, D, E và F) có trong 1 lọ chuẩn trong 1,0 ml *acetonitril (TT)* bằng siêu âm.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 237 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 7 lần thời gian lưu của acid acetylsalicylic.

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) để xác định pic của tạp chất C. Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo acid acetylsalicylic chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của các tạp chất A, B, D, E và F.

Thời gian lưu tương đối so với acid acetylsalicylic (thời gian lưu khoảng 5 min): Tạp chất A khoảng 0,7; tạp chất B khoảng 0,8; tạp chất C khoảng 1,3; tạp chất D khoảng 2,3; tạp chất E khoảng 3,2; tạp chất F khoảng 6,0.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của acid acetylsalicylic với pic của tạp chất C ít nhất là 6,0.

Giới hạn:

Tạp chất A, B, C, D, E, F: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,15 %).

Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Tổng diện tích của tất cả các pic tạp chất không được lớn hơn 2,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,25 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,03 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: Acid 4-hydroxybenzoic.

Tạp chất B: Acid 4-hydroxybenzen-1,3-dicarboxylic (acid 4-hydroxyisophthalic).

Tạp chất C: Acid 2-hydroxybenzencarboxylic (acid salicylic).

Tạp chất D: Acid 2-[[2-(acetyloxy)benzoyl]oxy]benzoic (acid acetylsalicylsalicylic).

Tạp chất E: Acid 2-[(2-hydroxybenzoyl)oxy]benzoic (salsalat, acid salicylsalicylic).

Tạp chất F: 2-(acetyloxy)benzoic anhydrid (acetylsalicylic anhydrid).

Kim loại nặng

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

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 12 ml *aceton (TT)* và pha loãng với *nước* thành 20 ml. Lấy 12 ml dung dịch thu được đem thử theo phương pháp 2. Pha loãng *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb (TT)* bằng hỗn hợp *aceton - nước* (9 : 6) để được dung dịch chì mẫu 1 phần triệu để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; trong chân không).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2)

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 1,000 g chế phẩm trong 10 ml *ethanol 96 % (TT)* trong bình nón nút mài. Thêm 50,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,5 N (CĐ)*. Đậy nút bình và để yên trong 1 h. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,5 N (CĐ)*, dùng 0,2 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* làm chỉ thị.

Song song làm mẫu trắng.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,5 N (CĐ)* tương đương với 45,04 mg $C_9H_8O_4$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Hạ nhiệt, giảm đau, kháng viêm.

Chế phẩm
Viên nén, viên nén bao tan trong ruột.

VIÊN NÉN ACID ACETYLSALICYLIC
Tabellae Acidi acetylsalicylici
Viên nén aspirin

Là viên nén chứa acid acetylsalicylic.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng acid acetylsalicylic, $C_9H_8O_4$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Đun sôi 0,5 g bột viên trong 2 min đến 3 min với 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*. Để nguội, thêm *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* cho đến khi thừa acid, sẽ có tủa kết tinh. Lọc lấy tủa, hòa tan tủa trong vài ml *nước*, thêm 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 0,5 % (TT)* sẽ có màu tím đậm.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 500 ml dung dịch đệm pH 4,5.
Pha dung dịch đệm pH 4,5: Hòa tan 29,9 g *natri acetat (TT)* trong *nước*, thêm 16,6 ml *acid acetic băng (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 10 L.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Lấy một lượng dung dịch hòa tan, lọc, bỏ 10 ml dịch lọc đầu. Đo độ hấp thụ ánh sáng ngay lập tức ở bước sóng 265 nm (Phụ lục 4.1) (nếu cần pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan để có nồng độ thích hợp), so với mẫu trắng là môi trường hòa tan. Song song đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch acid acetylsalicylic chuẩn có nồng độ tương đương được pha trong môi trường hòa tan. Từ hàm lượng acid acetylsalicylic chuẩn, tính hàm lượng acid acetylsalicylic, $C_9H_8O_4$, có trong dung dịch mẫu thử đã hòa tan.
Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % (Q) hàm lượng acid acetylsalicylic, $C_9H_8O_4$, so với hàm lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Giới hạn acid salicylic tự do
Không được quá 3,0 %.

Cân một lượng bột viên tương ứng với 0,2 g acid acetylsalicylic, lắc với 4 ml *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng với *nước* đến 100 ml ở nhiệt độ không quá 10 °C. Lọc ngay bằng giấy lọc và lấy 50 ml dịch lọc vào ống so màu Nessler, thêm vào 1 ml *dung dịch phèn sắt amoni 0,2 % (TT)* mới pha, trộn đều và để yên trong 1 min. Dung dịch này không được có màu tím đậm hơn màu của dung dịch mẫu [gồm 1 ml *dung dịch phèn sắt amoni 0,2 % (TT)* mới pha và hỗn hợp của 3 ml *dung dịch acid salicylic 0,10 % (kl/tt)* mới pha, 2 ml *ethanol 96 % (TT)* và *nước* vừa đủ 50 ml].

Định lượng
Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình, nghiền thành bột mịn, cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 0,5 g acid acetylsalicylic, thêm 30 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,5 N (CĐ)* đun sôi nhẹ trong 10 min, rồi chuẩn độ lượng natri hydroxyd thừa bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,5 N (CĐ)*, dùng *dung dịch đỏ phenol (TT)* làm chỉ thị. Song song tiến hành một mẫu trắng như trên. Hiệu số giữa 2 lần chuẩn độ biểu thị lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,5 N (CĐ)* đã dùng để định lượng.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,5 N (CĐ)* tương ứng với 45,04 mg $C_9H_8O_4$.

Bảo quản
Trong lọ nút kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc giảm đau salicylat, hạ sốt, chống viêm không steroid, chống kết tập tiểu cầu.

Hàm lượng thường dùng
100 mg, 300 mg, 500 mg.

VIÊN NÉN BAO TAN TRONG RUỘT ACID ACETYLSALICYLIC
Tabellae Acidi acetylsalicylici
Viên bao tan trong ruột aspirin

Là viên nén bao tan trong ruột chứa acid acetylsalicylic.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" mục Viên bao tan trong ruột (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng acid acetylsalicylic, $C_9H_8O_4$, từ 93,0 % đến 107,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lấy một lượng bột viên tương ứng với 300 mg acid acetylsalicylic, đun sôi từ 2 min đến 3 min với 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*. Để nguội, thêm *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* cho đến khi thừa acid, sẽ có tủa kết tinh và có mùi acid acetic. Lọc lấy tủa, hòa tủa trong *nước*, dung dịch thu được khi thêm *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)* sẽ có màu tím đậm.

B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic acid acetylsalicylic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Giai đoạn trong môi trường acid

Thiết bị: Kiểu giỏ quay.

Môi trường hòa tan: 1000 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 2 h.

Cách tiến hành: Sau thời gian quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan (nếu cần) và đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 276 nm với mẫu trắng là môi trường hòa tan. So sánh với dung dịch acid acetylsalicylic chuẩn có nồng độ tương đương pha trong cùng dung môi.

Tính hàm lượng acid acetylsalicylic, $C_9H_8O_4$, hòa tan trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_9H_8O_4$ trong acid acetylsalicylic chuẩn.

Yêu cầu: Không được quá 10 % lượng acid acetylsalicylic, $C_9H_8O_4$, so với lượng ghi trên nhãn hòa tan trong 2 h.

Giai đoạn trong môi trường đệm

Tiếp tục ngay sau khi kết thúc giai đoạn trong môi trường acid trên cùng mẫu thử.

Thiết bị: Kiểu giỏ quay.

Môi trường hòa tan: Đệm phosphat hỗn hợp pH 6,8 (TT).

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Thay thế dung dịch acid hydrocloric 0,1 M trong bình thử độ hòa tan bằng 900 ml *đệm phosphat hỗn hợp pH 6,8 (TT)* đã làm nóng trước đến 37 °C ± 0,5 °C. Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan (nếu cần) và đo ngay độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được (dung dịch thử) ở bước sóng 265 nm với mẫu trắng là *đệm phosphat hỗn hợp pH 6,8 (TT).* So sánh với dung dịch acid acetylsalicylic chuẩn có nồng độ tương đương pha trong cùng dung môi.

Tính hàm lượng acid acetylsalicylic, $C_9H_8O_4$, hòa tan trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_9H_8O_4$ trong acid acetylsalicylic chuẩn.

Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng acid acetylsalicylic so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Giới hạn acid salicylic tự do

Không được quá 3,0 %.

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - dung dịch natri dihydrophosphat 0,05 M được chỉnh đến pH 2,0 bằng acid phosphoric (1 : 3).

Dung môi hòa tan: Acetonotril - acid formic (99 : 1).

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 300 mg acid acetylsalicylic vào bình định mức 100 ml, thêm 60 ml *acetonitril (TT)* và 1 ml *acid formic (TT)*, lắc kỹ trong 15 min và thêm *acetonitril (TT)* đến vừa đủ định mức. Trộn đều và lọc.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch acid salicylic chuẩn 0,009 % trong dung môi hòa tan.

Dung dịch phân giải: Dung dịch chứa acid salicylic chuẩn 0,009 % và acid acetylsalicylic chuẩn 0,3 % trong dung môi hòa tan.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành :

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, hệ số phân giải giữa hai pic chính không nhỏ hơn 3.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu.

Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử: Diện tích của bất kỳ pic nào tương ứng với acid salicylic không được lớn hơn diện tích của pic acid salicylic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3,0 %).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Pha động, dung môi hòa tan, điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Giới hạn acid salicylic tự do.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình của viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 300 mg acid acetylsalicylic vào bình định mức 100 ml, thêm 60 ml *acetonitril (TT)* và 1 ml *acid formic (TT)*, lắc kỹ trong 15 min và thêm *acetonitril (TT)* đến vừa đủ định mức, trộn đều và lọc. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thu được thành 20,0 ml với dung môi hòa tan.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch acid acetylsalicylic chuẩn 0,075 % trong dung môi hòa tan.

Dung dịch phân giải: Hỗn hợp dung dịch chứa acid salicylic chuẩn 0,0015 % và acid acetylsalicylic chuẩn 0,075 % pha trong dung môi hòa tan.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa hai pic chính không nhỏ hơn 3. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic từ 6 lần tiêm lặp lại mẫu chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.

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

Tính hàm lượng acid acetylsalicylic, $C_9H_8O_4$, có trong một viên dựa vào diện tích pic đáp ứng của acid acetylsalicylic trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_9H_8O_4$ trong acid acetylsalicylic chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc giảm đau, hạ sốt, chống viêm không steroid, chống kết tập tiểu cầu.

Hàm lượng thường dùng
81 mg, 100 mg, 150 mg.

VIÊN NÉN ASPIRIN VÀ CAFEIN
Tabellae Aspirini et Caffeini

Là viên nén chứa aspirin và cafein.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng aspirin, $C_9H_8O_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng cafein, $C_8H_{10}N_4O_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Trong mục Định lượng, hai pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của hai pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 500 ml dung dịch đệm acetat 0,05 M pH 4,5 được chuẩn bị như sau: Hòa tan 2,99 g *natri acetat (TT)* và 1,66 ml *acid acetic băng (TT)* trong *nước* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Tiến hành định lượng aspirin và cafein hòa tan bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với pha động và điều kiện sắc ký như phần Định lượng. Chuẩn bị dung dịch aspirin chuẩn và cafein chuẩn trong môi trường hòa tan có nồng độ tương đương với nồng độ aspirin và cafein tương ứng trong dung dịch thử.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng aspirin, $C_9H_8O_4$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.
Không ít hơn 75 % (Q) lượng cafein, $C_8H_{10}N_4O_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng và giới hạn acid salicylic
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 1,0 g *natri pentansulfonat (TT)* và 2,3 g *amoni dihydrophosphat (TT)* trong 850 ml *nước*. Thêm 150 ml *acetonitril (TT)* và điều chỉnh pH đến 2,5 bằng *acid phosphoric (TT)*.

Dung môi pha mẫu: Hỗn hợp *nước* và *acetonitril* (53 : 46), điều chỉnh pH đến 2,5 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng aspirin chuẩn và cafein chuẩn trong dung môi pha mẫu để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,001×A mg aspirin và 0,001×C mg cafein trong 1 ml (trong đó A và C là lượng ghi trên nhãn của asprin và cafein tương ứng trong mỗi viên, tính bằng mg).
Dung dịch chuẩn acid salicylic: Hòa tan một lượng acid salicylic chuẩn trong dung môi pha mẫu để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,005×A mg acid salicylic trong 1 ml (trong đó A là lượng ghi trên nhãn của aspirin trong mỗi viên, tính bằng mg).
Dung dịch phân giải: Hòa tan một lượng acid salicylic chuẩn trong dung dịch chuẩn để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,0001×A mg acid salicylic trong 1 ml (trong đó A là lượng ghi trên nhãn của aspirin trong mỗi viên, tính bằng mg).
Dung dịch thử: Cân 20 viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 1 viên vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml dung môi pha mẫu và lắc kỹ. Thêm dung môi pha mẫu vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc và bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Hút chính xác 5,0 ml dịch lọc vào bình định mức 50 ml và thêm dung môi pha mẫu vừa đủ.
Điều kiện sắc ký:
Cột thép không gỉ (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (3 - 10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch phân giải: Thời gian lưu tương đối khoảng 0,2 đối với cafein, 0,7 đối với aspirin và 1,0 đối với acid salicylic. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic aspirin và acid salicylic không dưới 1,5.
Tiến hành sắc ký 6 lần lặp lại đối với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích mỗi pic aspirin và cafein không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Căn cứ vào diện tích pic acid salicylic thu được từ dung dịch thử và dung dịch chuẩn acid salicylic, hàm lượng $C_7H_6O_3$ của acid salicylic chuẩn, tính hàm lượng acid salicylic, $C_7H_6O_3$, trong chế phẩm. Chế phẩm không được có quá 3,0 % acid salicylic, $C_7H_6O_3$, so với lượng aspirin ghi trên nhãn.
Căn cứ vào diện tích pic aspirin thu được từ dung dịch thử và dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_9H_8O_4$ của asprin chuẩn, tính hàm lượng aspirin, $C_9H_8O_4$, có trong một viên.
Căn cứ vào diện tích pic cafein thu được từ dung dịch thử và dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_8H_{10}N_4O_2$ của cafein chuẩn, tính hàm lượng cafein, $C_8H_{10}N_4O_2$, có trong một viên.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Hạ nhiệt giảm đau.

Hàm lượng thường dùng
Aspirin 350 mg và cafein 30 mg.
Aspirin 200 mg và cafein 20 mg.

ACID AMINOCAPROIC
Acidum aminocaproicum



$C_6H_{13}NO_2$ P.t.l.: 131,2

Acid aminocaproic là acid 6-aminohexanoic, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_6H_{13}NO_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hay gần như trắng, hoặc tinh thể không màu. Dễ tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %.
Nóng chảy ở nhiệt độ khoảng 205 °C kèm theo sự phân hủy.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của acid aminocaproic chuẩn.
B. Quan sát sắc ký đồ thu được trong phép thử Các chất dương tính với ninhydrin. Vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (2) phải tương tự về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1).
C. Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 4 ml hỗn hợp đồng thể tích *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và *nước*. Bốc hơi dung dịch thu được trên cách thủy tới khô. Làm khô cắn trong bình hút ẩm. Hòa tan cắn trong khoảng 2 ml *ethanol (TT)* sôi. Để nguội và để ở nhiệt độ 4 °C đến 8 °C trong 3 h. Lọc dưới áp suất giảm. Rửa cắn với khoảng 10 ml *aceton (TT)* và làm khô ở 60 °C trong 30 min. Nhiệt độ nóng chảy (Phụ lục 6.7) của cắn phải trong khoảng từ 131 °C đến 133 °C.
D. Hòa tan khoảng 5 mg chế phẩm trong 0,5 ml *nước*. Thêm 3 ml *dimethylformamid (TT)* và 2 ml *dung dịch acid ascorbic (TT)*. Đun nóng trên cách thủy. Màu vàng cam xuất hiện.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 10,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2) và trong (Phụ lục 9.2) khi để yên trong 24 h.

pH
pH dung dịch S từ 7,5 đến 8,0 (Phụ lục 6.2).

Độ hấp thụ ánh sáng
A. Độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch S đo ở 287 nm không được quá 0,10 và đo ở 450 nm không được quá 0,03.
B. Để 2,0 g chế phẩm thành một lớp phẳng trong một đĩa nông có đường kính 9 cm, đậy đĩa và để yên ở 98 °C đến 102 °C trong 72 h. Hòa tan chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở 287 nm không được quá 0,15 và ở 450 nm không được quá 0,03.

Các chất dương tính với ninhydrin
Không được quá 0,5 %.
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel.
Dung môi khai triển: Acid acetic băng - nước - butanol (20 : 20 : 60).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 50 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg acid aminocaproic chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5 ml dung dịch thử (2) thành 20 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10 mg acid aminocaproic chuẩn và 10 mg leucin chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Để khô bản mỏng ngoài không khí. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để khô bản mỏng trong luồng khí ấm. Phun *dung dịch ninhydrin (TT)* và sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 15 min. Bất kỳ vết phụ nào trong sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (1), không được đậm màu hơn vết thu được trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3) cho 2 vết chính tách biệt rõ ràng.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 12 ml dung dịch S thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

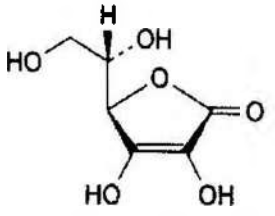
Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g.

Định lượng
Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 20 ml *acid acetic khan (TT)*. Dùng 0,1 ml *dung dịch tím tinh thể (TT)* làm chỉ thị. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* đến khi dung dịch chuyển từ màu tím ánh lam sang màu xanh lá cây ánh lam.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 13,12 mg $C_6H_{13}NO_2$.

Loại thuốc
Thuốc kháng tiêu fibrin, thuốc cầm máu.

Chế phẩm
Thuốc tiêm, viên nén.

ACID ASCORBIC
Acidum ascorbicum
Vitamin C, acid L-ascorbic



$C_6H_8O_6$ P.t.l: 176,1

Acid ascorbic là (*5R*)-5-[(*1S*)-1,2-dihydroxyethyl]-3,4-dihydroxyfuran-2(5*H*)-on, phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % $C_6H_8O_6$.

Tính chất
Tinh thể không màu hay bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, bị biến màu khi tiếp xúc với không khí và ẩm. Dễ tan trong nước, hơi tan trong ethanol 96 %. Chảy ở khoảng 190 °C kèm phân huỷ.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của acid ascorbic chuẩn.
B. Hoà tan 0,10 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng ngay thành 100,0 ml với cùng dung môi. Hút 1,0 ml dung dịch mới pha vào 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ngay sau khi pha loãng. Dung dịch chỉ có duy nhất một cực đại hấp thụ ở bước sóng 243 nm. Giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 243 nm nằm trong khoảng từ 545 đến 585.
C. Thêm 0,2 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)* và 0,2 ml *dung dịch bạc nitrat 2 % (TT)* vào 1 ml dung dịch S (xem Độ trong và màu sắc của dung dịch), sẽ xuất hiện tủa màu xám.
D. pH của dung dịch S phải từ 2,1 đến 2,6 (Phụ lục 6.2).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 20 ml bằng cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu VN_7 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực riêng
Từ +20,5° đến +21,5° (Phụ lục 6.4)
Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi để tiến hành thử.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.
Pha động: *Dung dịch đệm phosphat - acetonitril (TT_1)* (25 : 75).
Dung dịch đệm phosphat: Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* vào *nước* sau đó pha loãng thành 175 ml dung dịch bằng *nước*. Đem lọc dung dịch thu được với màng lọc có kích thước lỗ lọc 0,45 µm sau đó pha loãng thành 1000 ml với *nước*.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10,0 mg tạp chất C chuẩn của acid ascorbic trong pha động và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5,0 mg tạp chất D chuẩn của acid ascorbic và 5,0 mg acid ascorbic chuẩn trong pha động, thêm 2,5 ml dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 200,0 ml bằng pha động. Trộn 1,0 ml dung dịch thu được với 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1).
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *aminopropylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Nhiệt độ cột: 45 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2) và (3). Ghi sắc ký đồ với thời gian gấp 2,5 lần thời gian lưu của acid ascorbic.
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định các pic tạp chất C và D.
Thời gian lưu tương đối so với acid ascorbic (thời gian lưu khoảng 11 min): Tạp chất D khoảng 0,4; tạp chất C khoảng 1,7.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic của acid

ascorbic với pic của tạp chất C ít nhất là 3,0; trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), tỷ số tín hiệu trên nhiễu ít nhất là 20 đối với pic của tạp chất C.
Giới hạn:
Tạp chất C, D: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,15 %).
Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn diện tích pic của acid ascorbic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất khác trừ tạp chất C và D: Không được lớn hơn 2 lần diện tích pic của acid ascorbic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic của acid ascorbic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 2-furaldehyd.
Tạp chất C: Acid D-*xylo*-hex-2-ulosonic (acid D-sorbosonic).
Tạp chất D: Methyl D-*xylo*-hex-2-ulosonat (methyl D-sorbosonic).
Tạp chất E: Acid oxalic.
Tạp chất F: (5*R*)-5-[(1*R*)-1,2-dihydroxyethyl]-3,4-dihydroxyfuran-2(5*H*)-on.
Tạp chất G: Acid (2*R*)-2-[(2*R*)-3,4-dihydroxy-5-oxo-2,5-dihydroxyfuran-2-yl]-2-hydroxyacetic.
Tạp chất H: (2*R*)-2-[(2*R*)-3,4-dihydroxy-5-oxo-2,5-dihydroxyfuran-2-yl]-2-hydroxyacetat.

Acid oxalic
Không được quá 0,2 %.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong 5 ml *nước*. Trung tính hóa bằng *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 70 mg *acid oxalic (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 500 ml với cùng dung môi, dùng 5 ml dung dịch thu được để chuẩn bị mẫu đối chiếu.
Thêm đồng thời vào mỗi dung dịch trên 1 ml *dung dịch acid acetic loãng (TT)* và 0,5 ml *dung dịch calci clorid (TT)*. Để yên trong 1 h. Dung dịch thử không được đục hơn dung dịch đối chiếu.

Đồng
Không được quá 5 phần triệu.
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *dung dịch acid nitric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị các dung dịch chuẩn đồng có nồng độ 0,2; 0,4 và 0,6 phần triệu bằng cách pha loãng *dung dịch đồng mẫu 10 phần triệu Cu (TT)* bằng *dung dịch acid nitric 0,1 M (TT)*.
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 324,8 nm, dùng đèn cathod rỗng đồng làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - acetylen. Dùng *dung dịch acid nitric 0,1 M (TT)* để hiệu chỉnh máy về zero.

Sắt
Không được quá 2 phần triệu.
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong *dung dịch acid nitric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị các dung dịch chuẩn sắt có nồng độ 0,2; 0,4 và 0,6 phần triệu bằng cách pha loãng *dung dịch sắt mẫu 20 phần triệu Fe (TT)* bằng *dung dịch acid nitric 0,1 M (TT)*.
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 248,3 nm, dùng đèn cathod rỗng sắt làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - acetylen. Dùng *dung dịch acid nitric 0,1 M (TT)* để hiệu chỉnh máy về zero.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Lấy 12 ml dung dịch thu được thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong một hỗn hợp gồm 80 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* và 10 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)*. Thêm 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)* cho tới khi xuất hiện màu xanh tím bền vững.
1 ml *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)* tương đương với 8,81 mg $C_6H_8O_6$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ẩm, tránh tiếp xúc với kim loại và ánh sáng.

Loại thuốc
Vitamin C. Chất bảo quản (chống oxy hoá).

Chế phẩm
Viên nén, nang, thuốc tiêm.

THUỐC TIÊM ACID ASCORBIC
Injectio Acidi ascorbici
Thuốc tiêm vitamin C

Là dung dịch vô khuẩn của acid ascorbic trong nước để pha thuốc tiêm, có thể thêm các chất bảo quản.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng acid ascorbic, $C_6H_8O_6$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với hàm lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu hay màu vàng nhạt.

Định tính
A. Lấy một lượng chế phẩm chứa khoảng 50 mg acid ascorbic, thêm 0,2 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* và 0,2 ml *dung dịch bạc nitrat 2 % (TT)*. Xuất hiện tủa màu xám đen.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi khai triển: *Ethanol 96 % - nước* (120 : 20)
Dung dịch thử: Pha loãng chế phẩm, nếu cần, với *nước* để thu được dung dịch có nồng độ acid ascorbic 0,5 %.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch acid ascorbic chuẩn 0,5 %.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho tới khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.
Vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và màu sắc với vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

pH
Từ 5,0 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Màu sắc
Nếu cần, pha loãng một thể tích chế phẩm (lấy chính xác) với *nước* để thu được dung dịch có nồng độ 50 mg acid ascorbic/ml. Đo độ hấp thụ của dung dịch này ở bước sóng 420 nm (Phụ lục 4.1), trong cốc đo dày 1 cm, dùng *nước* làm mẫu trắng.
Độ hấp thụ đo được không quá 0,06.

Acid oxalic
Không được quá 0,3 %.
Dung dịch thử: Lấy chính xác một thể tích chế phẩm có chứa 250 mg acid ascorbic, nếu cần, pha loãng với *nước* vừa đủ 5 ml, trung hòa bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M* với giấy quỳ đỏ *(TT)*, thêm 1 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)* và 0,5 ml *dung dịch calci clorid 0,5 M (TT)*. Để yên trong 1 h.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 70 mg *acid oxalic (TT)* trong 500 ml *nước*. Lấy 5 ml dung dịch thu được, thêm 1 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)* và 0,5 ml *dung dịch calci clorid 0,5 M (TT)*. Để yên trong 1 h.
Pha dung dịch thử và dung dịch đối chiếu trong cùng thời gian và cùng điều kiện.
Dung dịch thử không được đục hơn dung dịch đối chiếu.

Định lượng
Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương ứng với khoảng 0,20 đến 0,25 g acid ascorbic, thêm 0,25 ml *dung dịch formaldehyd 1 % (TT)*, 4 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 % (TT)*, 0,5 ml *dung dịch kali iodid 10 % (TT)* và 2 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)*. Định lượng bằng *dung dịch kali iodat 0,1 N (CĐ)* cho đến khi xuất hiện màu lam bền vững. 1 ml *dung dịch kali iodat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 8,806 mg $C_6H_8O_6$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng, ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C.

Loại thuốc
Vitamin.

Hàm lượng thường dùng
100 mg/ml, 250 mg/ml, 500 mg/ml.

VIÊN NÉN ACID ASCORBIC
Tabellae Acidi ascorbici
Viên nén vitamin C

Là viên nén chứa acid ascorbic.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng acid ascorbic, $C_6H_8O_6$, từ 95,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,10 g acid ascorbic, thêm 10 ml *nước*, lắc kỹ, lọc. Dịch lọc có phản ứng acid với *giấy quỳ (TT)*. Lấy 5 ml dịch lọc thêm 0,5 ml *dung dịch bạc nitrat 2 % (TT)*, xuất hiện tủa xám đen.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi khai triển: *Ethanol 96 % - nước* (120 : 20).
Dung dịch thử: Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,05 g acid ascorbic, thêm 10 ml *nước*, lắc kỹ và lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch acid ascorbic chuẩn 0,5 %.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng để khô ngoài không khí ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.
Sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải có vết tương ứng về vị trí và màu sắc với vết chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu.

Định lượng
Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,1 g acid ascorbic, thêm 30 ml hỗn hợp *nước* đun sôi để nguội và *dung dịch acid acetic 1 M (TT)* (10 : 1), lắc kỹ. Thêm 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)*, định lượng bằng *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)* cho tới khi xuất hiện màu xanh lam bền vững.

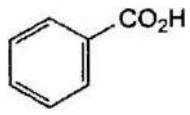
1 ml *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)* tương đương với 8,806 mg $C_6H_8O_6$.

Bảo quản
Tránh ẩm và ánh sáng, tránh để tiếp xúc với kim loại.

Loại thuốc
Vitamin.

Hàm lượng thường dùng
100 mg, 500 mg, 1000 mg.

ACID BENZOIC
Acidum benzoicum



$C_7H_6O_2$ P.t.l: 122,1

Acid benzoic là acid benzen carboxylic, phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % $C_7H_6O_2$.

Tính chất
Tinh thể hình kim hay mảnh, không màu hoặc bột kết tinh trắng, không mùi hoặc thoảng mùi cánh kiến trắng. Khó tan trong nước, tan trong nước sôi, dễ tan trong ethanol 96 %, ether và dầu béo.

Định tính
Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
A. Điểm chảy: 121 °C đến 124 °C (Phụ lục 6.7).
B. Dung dịch S phải cho phản ứng (A) của ion benzoat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Các hợp chất dễ bị carbon hóa
Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 5 ml *acid sulfuric (TT)*, lắc đều. Sau 5 min, dung dịch thu được không được thẫm màu hơn dung dịch màu chuẩn V_5 (Phụ lục 9.3, phương pháp 1).

Các hợp chất dễ bị oxy hóa
Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong 10 ml *nước* sôi. Để nguội, lắc đều và lọc. Thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)* và 0,2 ml *dung dịch kali permanganat 0,1 N (CĐ)* vào dịch lọc. Sau 5 min dung dịch vẫn phải còn màu hồng.

Các hợp chất chứa clor
Tất cả dụng cụ thủy tinh phải là loại thủy tinh không có clor và được chuẩn bị sẵn cho thử nghiệm này như sau: Ngâm qua đêm trong *dung dịch acid nitric 35 %*, rửa sạch và làm đầy bằng *nước*.

Dung dịch (1): Hòa tan 6,7 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 40 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* và 50 ml *ethanol 96 % (TT)*, pha loãng với *nước* thành 100 ml. Lấy 10,0 ml dung dịch thu được thêm 7,5 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* và 0,125 g *hợp kim nikel - nhôm (TT)* và đun nóng trên cách thủy trong 10 min. Để nguội đến nhiệt độ phòng, lọc, hứng dịch lọc vào bình định mức 25 ml, rửa ba lần, mỗi lần với 2 ml *ethanol 96 % (TT)*, pha loãng thành 25 ml bằng *nước*.
Dung dịch (2): Chuẩn bị giống như dung dịch (1) nhưng không có chế phẩm.
Trong 4 bình định mức 25 ml, cho riêng rẽ 10 ml dung dịch (1), 10 ml dung dịch (2), 10 ml *dung dịch clorid mẫu 8 phần triệu (TT)* [dung dịch (3)] và 10 ml *nước* [dung dịch (4)]. Thêm vào mỗi bình 5 ml *dung dịch phèn sắt amoni (TT)*. Thêm từng giọt, vừa thêm vừa lắc, 2 ml *acid nitric (TT)* và 5 ml *dung dịch thủy ngân (II) thiocyanat (TT)*. Lắc kỹ, thêm *nước* đến định mức và để trong cách thủy ở 20 °C trong 15 min. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 460 nm (Phụ lục 4.1) của dung dịch (1), dùng dung dịch (2) làm mẫu trắng và độ hấp thụ của dung dịch (3), dùng dung dịch (4) làm mẫu trắng.
Độ hấp thụ của dung dịch (1) không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch (3) (300 phần triệu).

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 12 ml dung dịch S và tiến hành thử theo phương pháp 2. Dùng hỗn hợp gồm 5 ml *ethanol 96 % (TT)*, 5 ml *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* và 2 ml dung dịch S để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Cân chính xác khoảng 0,200 g chế phẩm, hòa tan trong 20 ml *ethanol 96 % (TT)*, thêm 0,1 ml *dung dịch đỏ phenol (TT)*, chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* cho đến khi màu chuyển từ vàng sang đỏ tím.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 12,21 mg $C_7H_6O_2$.

Bảo quản
Trong chai lọ nút kín.

Loại thuốc
Kháng nấm, chất bảo quản chống vi sinh vật.

THUỐC MỠ BENZOSALI
Unguentum Benzosalicylici

Là thuốc mỡ dùng ngoài da có chứa acid benzoic và acid salicylic trong các chất nhũ hóa thích hợp.

Công thức

Acid benzoic (bột mịn)	60 g
Acid salicylic (bột mịn)	30 g
Tá dược nhũ hóa vừa đủ	1000 g

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc mềm dùng trên da và niêm mạc" (Phụ lục 1.12) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng acid benzoic, $C_7H_6O_2$, từ 5,7 đến 6,3 % (kl/kl).

Hàm lượng acid salicylic, $C_7H_6O_3$, từ 2,7 đến 3,3 % (kl/kl).

Tính chất

Thuốc mỡ màu trắng đục.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Toluen - acid acetic băng (8 : 2)

Dung dịch thử: Đun nóng nhẹ 1,0 g chế phẩm với 10 ml *cloroform (TT)*, để nguội, lọc.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch có chứa acid benzoic 0,6 % và acid salicylic 0,3 % trong *cloroform (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl các dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, làm khô bản mỏng ở ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Các vết trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu phải giống nhau về giá trị R_f và màu sắc. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu có 2 vết tách ra rõ ràng.

Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu đều cho một vết huỳnh quang xanh lơ có cùng giá trị R_f và màu sắc.

Phun *dung dịch sắt (III) clorid 5,0 % (TT)* lên bản mỏng. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu đều cho một vết màu tía, tương ứng với vị trí của vết huỳnh quang xanh lơ đã quan sát thấy dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm, có cùng giá trị R_f và màu sắc.

Định lượng

Acid benzoic: Lấy 2 g chế phẩm cho vào bình nón dung tích 300 ml, thêm 150 ml *nước*, đun nóng cho chảy rồi chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*, dùng *dung dịch phenolphtalein (TT)* làm chỉ thị. Giữ lại dung dịch này để định lượng acid salicylic.

Sau khi trừ 1 ml đối với mỗi lượng 13,81 mg của $C_7H_6O_3$ tìm thấy trong định lượng acid salicylic, mỗi ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương ứng với 12,21 mg $C_7H_6O_2$.

Acid salicylic: Làm nguội dung dịch đã chuẩn độ xong ở phần định lượng acid benzoic. Lọc qua giấy lọc đã thấm *nước* vào bình định mức 250 ml, thêm khoảng 20 ml *nước* vào bình nón, tráng kỹ và lọc tiếp vào bình định mức trên, làm như vậy 2 lần nữa, tập trung dịch lọc vào bình định mức, thêm *nước* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lấy chính xác 5 ml dung dịch thu được vào bình định mức 50 ml, thêm *dung dịch sắt (III) clorid 0,1 %* trong *dung dịch acid nitric 0,1 %* vừa đủ đến vạch. Lọc (nếu cần) để loại khói mù trong bình, rồi đo độ hấp thụ của dung dịch này ở bước sóng cực đại 530 nm (Phụ lục 4.1), dùng *dung dịch sắt (III) clorid 0,1 %* trong *dung dịch acid nitric 0,1 %* làm mẫu trắng. Song song tiến hành đo độ hấp thụ của dung dịch chuẩn được pha như sau: Lấy chính xác 5 ml dung dịch acid salicylic 0,024 % cho vào bình định mức 50 ml, thêm *dung dịch sắt (III) clorid 0,1 %* trong *dung dịch acid nitric 0,1 %* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc (nếu cần) để loại bỏ khói mù trong bình.

Tính hàm lượng của acid salicylic, $C_7H_6O_3$, dựa theo độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_7H_6O_3$ trong dung dịch chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, ở nơi mát.

ACID BORIC

Acidum boricum

H_3BO_3 P.t.l: 61,8

Acid boric phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % H_3BO_3.

Tính chất

Bột kết tinh trắng, mảnh, bóng, không màu, dính tay khi sờ hoặc tinh thể trắng. Tan trong nước và ethanol 96 %, dễ tan trong nước sôi và glycerin 85 %.

Định tính

A. Hòa tan 0,1 g chế phẩm bằng cách đun nóng nhẹ trong 5 ml *methanol (TT)*, thêm 0,1 ml *acid sulfuric (TT)*. Đốt, dung dịch cho ngọn lửa màu xanh lá.

B. Dung dịch S (xem Độ trong và màu sắc của dung dịch) có phản ứng acid.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 3,3 g chế phẩm trong 80 ml *nước* sôi, để nguội và pha loãng thành 100 ml bằng *nước không có carbon dioxyd (TT)*.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

pH của dung dịch S từ 3,8 đến 4,8 (Phụ lục 6.2).

Độ tan trong ethanol 96 %

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *ethanol 96 % (TT)* sôi. Dung dịch thu được không được đục hơn hỗn dịch chuẩn số II (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất hữu cơ

Chế phẩm không được biến thành đen khi làm nóng liên tục tới đỏ.

Sulfat
Không được quá 0,045 % (Phụ lục 9.4.14).
Pha loãng 10 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Kim loại nặng
Không được quá 15 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 12 ml dung dịch S và tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng hỗn hợp gồm 2,5 ml *dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb (TT)* và 7,5 ml *nước* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Định lượng
Hòa tan 1,000 g chế phẩm bằng cách làm nóng trong 100 ml *nước* có chứa 15 g *manitol (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ)* cho tới khi xuất hiện màu hồng, dùng 0,5 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ)* tương đương với 61,80 mg H_3BO_3.

DUNG DỊCH ACID BORIC 3 %
Solutio Acidi borici 3 %

Là dung dịch dùng tại chỗ của acid boric trong nước.

Công thức điều chế

Acid boric	3 g
Nước tinh khiết vđ	100 ml

Hòa tan acid boric trong nước sôi, để nguội, thêm nước vừa đủ 100 ml. Lọc.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Dung dịch thuốc" (Phụ lục 1.3) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng acid boric, H_3BO_3, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu, không mùi, có phản ứng hơi acid

Định tính
A. Lấy 3 ml chế phẩm vào một bát sứ nhỏ, đun trong cách thủy đến cắn. Thêm vào cắn 5 ml *methanol (TT)*, khuấy cho tan (có thể đun trên cách thủy nếu cần). Thêm 0,1 ml *acid sulfuric (TT)* và đốt. Ngọn lửa thu được có viền màu xanh lá.
B. Lấy 5 ml chế phẩm, thêm 1 giọt *dung dịch đa cam methyl (TT)*, dung dịch có màu vàng. Thêm 5 ml *glycerin (TT)*, màu chuyển sang đỏ cam.

Định lượng
Lấy chính xác 5 ml chế phẩm, thêm 20 ml *glycerin (TT)* đã được trung tính trước [dùng *dung dịch phenolphtalein (TT)* làm chỉ thị] và chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* cho tới khi xuất hiện màu hồng. Thêm 5 ml *glycerin (TT)* đã trung tính trước với *dung dịch phenolphtalein (TT)*, nếu màu hồng biến mất thì tiếp tục chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* cho tới khi xuất hiện màu hồng bền vững.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương ứng với 6,18 mg H_3BO_3.

Giới hạn nhiễm khuẩn
Chế phẩm phải đạt yêu cầu về giới hạn nhiễm khuẩn (Phụ lục 13.6).
Nếu dùng để rửa mắt, chế phẩm phải vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

Bảo quản
Đựng trong đồ đựng kín.

Loại thuốc
Sát khuẩn tại chỗ.

THUỐC MỠ ACID BORIC 10 %
Unguentum Acidi borici 10 %

Là thuốc mỡ dùng ngoài da có chứa acid boric.
Acid boric phải được tán thành bột mịn qua rây số 125 trước khi pha chế.

Công thức

Acid boric (tán rất mịn)	10 g
Tá dược nhũ hóa vừa đủ	100 g

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc mềm dùng trên da và niêm mạc" (Phụ lục 1.12) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng acid boric, H_3BO_3, từ 9,0 % đến 11,0 %.

Tính chất
Thuốc mỡ màu trắng hoặc vàng nhạt.

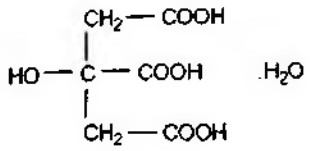
Định tính
Lấy 1 g chế phẩm cho vào một bát sứ, thêm 4 ml *ethanol (TT)* và 1 giọt *acid sulfuric đậm đặc (TT)*. Châm lửa đốt (vừa đốt vừa khuấy bằng một đũa thủy tinh). Ngọn lửa có viền màu xanh lá.

Định lượng
Cân chính xác khoảng 1,0 g chế phẩm cho vào cốc có mỏ, thêm 20 ml *nước* và 20 ml *glycerin (TT)* đã được trung tính trước với *dung dịch phenolphtalein (TT)* làm chỉ thị. Đun cách thủy cho tan, lắc đều. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxy.t 0,1 N (CĐ)* đến khi xuất hiện màu hồng bền vững [*dung dịch phenolphtalein (TT)* làm chỉ thị].
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 6,18 mg H_3BO_3.

Bảo quản
Trong lọ thủy tinh hay bình sứ, nút kín.

ACID CITRIC NGẬM MỘT PHÂN TỬ NƯỚC

Acidum citricum monohydricum



$C_6H_8O_7.H_2O$ P.t.l: 210,1

Acid citric ngậm một phân tử nước là acid 2-hydroxy-propan-1,2,3-tricarboxylic, phải chứa từ 99,5 % đến 101,0 % $C_6H_8O_7$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc tinh thể hay dạng hạt không màu. Lên hoa. Rất dễ tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %, hơi tan trong ether.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, E.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của acid citric monohydrat chuẩn, đo sau khi mẫu thử và chuẩn được sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 2 h.

B. Hòa tan 1 g chế phẩm trong 10 ml *nước*, dung dịch thu được phải có pH nhỏ hơn 4 (Phụ lục 6.2).

C. Thêm khoảng 5 mg chế phẩm vào hỗn hợp gồm 1 ml *anhydrid acetic (TT)* và 3 ml *pyridin (TT)*. Màu đỏ xuất hiện.

D. Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 5 ml *nước*, trung hòa bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* (khoảng 7 ml), thêm 10 ml *dung dịch calci clorid (TT)*, đun sôi, kết tủa trắng được tạo thành.

E. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Nước.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu V_7, VN_7 hay VL_7 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Chất dễ bị carbon hóa

Cho 1,0 g chế phẩm vào ống nghiệm, thêm 10 ml *acid sulfuric (TT)*, đun ngay hỗn hợp trong cách thủy ở 90 °C ± 1 °C trong 1 h. Làm nguội thật nhanh, dung dịch không được có màu đậm hơn màu của hỗn hợp gồm 1 ml dung dịch gốc màu đỏ và 9 ml dung dịch gốc màu vàng (Phụ lục 9.3, phương pháp 1).

Acid oxalic

Không được quá 0,036 %, tính theo acid oxalic khan.

Hòa tan 0,80 g chế phẩm trong 4 ml *nước*. Thêm 3 ml *acid hydrocloric (TT)* và 1 g *kẽm (TT)* dạng hạt, đun sôi 1 min và để yên trong 2 min. Chuyển lớp dung dịch ở phía trên vào một ống nghiệm có chứa 0,25 ml *dung dịch phenylhydrazin hydroclorid 1 %*, đun đến sôi. Làm nguội nhanh rồi chuyển dung dịch sang một ống đong có chia vạch. Thêm đồng lượng thể tích *acid hydrocloric (TT)*, 0,25 ml *dung dịch kali fericyanid 5 %*, lắc đều và để yên 30 min. Dung dịch không được có màu hồng đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu được chuẩn bị đồng thời và tương tự như dung dịch thử, dùng 4 ml *dung dịch acid oxalic 0,01 %*.

Sulfat

Không được quá 0,015 % (Phụ lục 9.4.14).

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 15 ml với cùng dung môi và tiến hành thử.

Nhôm

Không được quá 0,2 phần triệu (Phụ lục 9.4.9).

Nếu chế phẩm được dùng để pha chế dung dịch thẩm tách thì phải đạt phép thử này.

Dung dịch thử: Hòa tan 20 g chế phẩm trong 100 ml *nước*, thêm 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0 (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Hỗn hợp gồm 2 ml *dung dịch nhôm mẫu 2 phần triệu Al (TT)*, 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0 (TT)* và 98 ml *nước*.

Dung dịch mẫu trắng: Hỗn hợp gồm 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0 (TT)* và 100 ml *nước*.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Hòa tan 5,0 g chế phẩm (bằng cách chia thành phần nhỏ) trong 39 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng* (TT), pha loãng thành 50 ml bằng *nước*. Lấy 12 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Từ 7,5 % đến 9,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,500 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn

Dưới 0,5 EU/mg (Phụ lục 13.2).

Nếu chế phẩm được dùng để pha chế các dạng thuốc tiêm mà không có phương pháp nào khác để loại nội độc tố vi khuẩn thì phải đáp ứng yêu cầu này. Dưới 0,5EU/mg (Phụ lục 13.2).

Định lượng

Hòa tan 0,550 g chế phẩm trong 50 ml *nước*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ)*, dùng 0,5 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* làm chỉ thị.

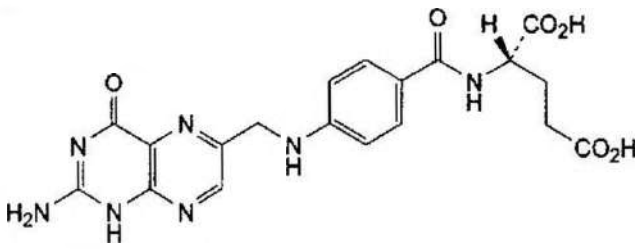
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ)* tương đương với 64,03 mg $C_6H_8O_7$.

Bảo quản

Trong lọ kín.

ACID FOLIC

Acidum folicum



$C_{19}H_{19}N_7O_6$ P.t.l: 441,4

Acid folic là acid (2*S*)-2-[[4-[[(2-amino-4-oxo-1,4-dihydropteridin-6-yl) methyl] amino] benzoyl] amino] pentandioic, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{19}H_{19}N_7O_6$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh màu vàng nhạt hoặc vàng cam. Thực tế không tan trong nước và hầu hết các dung môi hữu cơ, tan trong các dung dịch acid và kiềm loãng.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: A, C.

A. Góc quay cực riêng (Phụ lục 6.4): Từ +18° đến +22° (tính theo chế phẩm khan).

Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Amoniac đậm đặc - propanol - ethanol 96 % (20 : 20 : 60).

Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong hỗn hợp *methanol - amoniac đậm đặc* (9 : 2) rồi pha loãng thành 100 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50 mg acid folic chuẩn trong hỗn hợp *methanol - amoniac đậm đặc* (9 : 2) rồi pha loãng thành 100 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí và soi dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải tương ứng với vết chính thu được trên sắc ký đồ từ dung dịch đối chiếu về vị trí, kích thước và màu sắc.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Methanol - dung dịch có chứa kali dihydrophosphat 1,116 % và dikali hydrophosphat 0,550 % (12 : 88).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 5 ml *dung dịch natri carbonat 2,86 %* và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,100 g acid folic chuẩn trong 5 ml *dung dịch natri carbonat 2,86 %* và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 20 mg *acid pteroic (TT)* trong 5 ml *dung dịch natri carbonat 2,86 %* và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động. Trộn 1,0 ml dung dịch thu được với 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 2,0 ml dung dịch thử thành 20,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 10,0 mg *acid N-(4-aminobenzoyl)-L-glutamic (TT)* trong 1 ml *dung dịch natri carbonat 2,86 %* và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (5): Hòa tan 12,0 mg *acid pteroic (TT)* trong 1 ml *dung dịch natri carbonat 2,86 %* và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh B (octylsilyl silica gel dùng cho sắc ký lỏng, hạt tròn, 5 µm), diện tích bề mặt 350 m^2/g, kích thước lỗ xốp 10 nm, hàm lượng carbon 12,5 %.

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 280 nm.

Tốc độ dòng: 0,6 ml/min.

Thể tích tiêm: 5 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký dung dịch thử và các dung dịch đối chiếu (3), (4), (5) trong khoảng thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của acid folic.

Thời gian lưu tương đối so với acid folic (thời gian lưu khoảng 8,5 min): Tạp chất A khoảng 0,5; tạp chất B khoảng 0,6; tạp chất C khoảng 0,9; tạp chất E khoảng 1,27; tạp chất D khoảng 1,33; tạp chất F khoảng 2,2.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của acid folic và acid pteroic (tạp chất D) ít nhất là 4,0.

Giới hạn: Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử:

Diện tích của bất kỳ pic phụ nào tương ứng với tạp chất A không được lớn hơn diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,5%).

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

Diện tích của các pic tạp chất khác ngoài pic chính và các pic tương ứng với tạp chất A, tạp chất D không được lớn hơn diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,5 %).

Tổng diện tích của bất kỳ pic tạp chất nào khác ngoài pic chính và các pic tương ứng với tạp chất A, tạp chất D không được lớn hơn hai lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1,0 %).
Bỏ qua những pic của dung môi và các pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid (2*S*)-2-[(4-aminobenzoyl)amino]pentandioic (acid *N*-(4-aminobenzoyl)-L-glutamic).
Tạp chất B: 2,5,6-triaminopyrimidin-4(1*H*)-on.
Tạp chất C: Acid (2*S*)-2-[[4-[[(2-amino-4-oxo-1,4-dihydro-pteridin-7- yl)methyl]amino]benzoyl]amino] pentandioic (acid isofolic).
Tạp chất D: Acid 4-[[(2-amino-4-oxo-1,4-dihydrop-teridin-6-yl) methyl]amino]benzoic (acid pteroic).
Tạp chất E: Acid (2*S*)-2-[[4-[bis[(2-amino-4-oxo-1,4-dihydro-pteridin-6-yl)methyl]amino]benzoyl]amino] pentandioic (acid 6-pterinylfolic).
Tạp chất F: 2-amino-7-(cloromethyl)pteridin-4(1*H*)-on.

Nước
Từ 5,0 % đến 8,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,150 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1). Tính hàm lượng của $C_{19}H_{19}N_7O_6$ trong chế phẩm dựa trên diện tích pic của acid folic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng của acid folic chuẩn.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Ngăn ngừa và điều trị bệnh thiếu máu.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN ACID FOLIC
Tabellae Acidi folici

Là viên nén chứa acid folic.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng acid folic, $C_{19}H_{19}N_7O_6$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Amoniac 13,5 M - propanol - ethanol 96 % (20 : 20 : 60).
Dung dịch thử: Hòa tan một lượng bột viên tương ứng với 0,5 mg acid folic trong 1 ml hỗn hợp gồm 1 thể tích *amoniac 13,5 M (TT)* và 9 thể tích *methanol (TT)*. Ly tâm và lấy dung dịch trong để chấm sắc ký.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch acid folic chuẩn 0,05 % trong hỗn hợp gồm 2 thể tích *amoniac 13,5 M (TT)* và 9 thể tích *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm.
Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, màu sắc huỳnh quang và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Sản phẩm phân hủy
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Tiến hành thử nghiệm trong điều kiện tránh ánh sáng.
Pha động: Dung dịch kali dihydrophosphat 0,05 M (TT) đã được điều chỉnh đến pH 5,5 bằng *dung dịch natri hydroxyd 5 M (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch chứa 0,5 mg/ml *acid 4-aminobenzoic (TT)* và 2,0 mg/ml acid *N-(4-aminobenzoyl)-L-glutamic (TT)* trong pha động.
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với 5,0 mg acid folic với 50,0 ml pha động, ly tâm và sử dụng dung dịch trong.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (20 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm) (cột Spherisorb ODS1 là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 269 nm.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu, hệ số phân giải giữa 2 pic tương ứng với acid *N*-(4-aminobenzoyl)-L-glutamic và acid 4-aminobenzoic không được nhỏ hơn 3.
Diện tích của các pic tương ứng với acid 4-amino-benzoic và acid *N*-(4-aminobenzoyl)-L-glutamic trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử không được lớn hơn diện tích của các pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ đồng đều hàm lượng
Viên nén chứa ít hơn 2 mg acid folic phải đáp ứng yêu cầu "Độ đồng đều hàm lượng" (Phụ lục 11.2).
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Pha động: Hỗn hợp *dung dịch kali dihydrophosphat 0,05 M (TT)* và *acetonitril (TT)* (93 : 7) được điều chỉnh đến pH 6,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd 5 M (TT)*.

Dung dịch chuẩn: Thêm 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,5 M (TT)* vào 5,0 ml dung dịch acid folic chuẩn 0,0020 % trong *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch thử: Lắc 1 viên với 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và thêm vừa đủ pha động để được dung dịch có nồng độ acid folic 0,001 %. Ly tâm và sử dụng dung dịch trong.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (20 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm) (cột Spherisorb ODS1 là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 283 nm.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng acid folic, $C_{19}H_{19}N_7O_6$, trong từng viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{19}H_{19}N_7O_6$ trong acid folic chuẩn.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Viên nén chứa 2 mg acid folic hoặc nhiều hơn
Dung dịch chuẩn: Pha loãng 5,0 ml dung dịch acid folic chuẩn 0,020 % trong *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên, nghiền thành bột mịn. Lắc một lượng bột viên (cân chính xác) tương ứng khoảng 20 mg acid folic với 50 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*, pha loãng bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* thành 100,0 ml, ly tâm và pha loãng 5,0 ml dịch trong thành 100,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký: Như mô tả trong mục Độ đồng đều hàm lượng.
Tính hàm lượng acid folic, $C_{19}H_{19}N_7O_6$, trong viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{19}H_{19}N_7O_6$ trong acid folic chuẩn.
Viên nén chứa ít hơn 2 mg acid folic
Lấy giá trị trung bình của 10 viên trong phép thử Độ đồng đều hàm lượng.

Bảo quản
Đựng trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Vitamin.

Hàm lượng thường dùng
0,4 mg, 0,8 mg, 1 mg, 5 mg.

ACID HYDROCLORIC
Acidum hydrochloricum

HCl P.t.l: 36,46

Acid hydrocloric phải chứa từ 35,0 % đến 39,0 % (kl/kl) HCl.

Tính chất
Chất lỏng trong và không màu, bốc khói. Hòa trộn ở bất kỳ tỷ lệ nào với nước.
Có tỷ trọng tương đối khoảng 1,18.

Định tính
A. Pha loãng chế phẩm với *nước*, dung dịch thu được có pH nhỏ hơn 4 (Phụ lục 6.2).
B. Chế phẩm phải cho phản ứng của ion clorid (Phụ lục 8.1).
C. Chế phẩm phải đáp ứng giới hạn hàm lượng HCl trong phần Định lượng.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Thêm 8 ml *nước* vào 2 ml chế phẩm, dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Clor tự do
Không được quá 4 phần triệu.
Thêm 100 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, 1 ml *dung dịch kali iodid 10 % (TT)* và 0,5 ml *dung dịch hồ tinh bột không có iodid (TT)* mới pha vào 15 ml chế phẩm. Để yên trong tối 2 min. Bất kỳ màu xanh nào xuất hiện cũng phải biến mất khi thêm 0,2 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)*.

Sulfat
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.14).
Thêm 10 mg *natri hydrocarbonat (TT)* vào 6,4 ml chế phẩm và bốc hơi đến khô trên cách thủy. Hòa tan cắn trong 15 ml *nước* và tiến hành thử.

Kim loại nặng
Không được quá 2 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan cắn thu được trong phần Cắn sau khi bay hơi trong 1 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và pha loãng thành 25 ml bằng *nước*. Pha loãng 5 ml dung dịch thu được thành 20 ml bằng *nước*.
Lấy 12 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Cắn sau khi bay hơi
Không được quá 0,01 %.
Làm bay hơi 100,0 g chế phẩm trên cách thủy tới khô, và sấy ở 100 °C - 105 °C. Khối lượng cắn thu được không được quá 10 mg.

Định lượng
Cân chính xác bình nón nút mài có chứa 30 ml *nước*. Thêm

vào 1,5 ml chế phẩm và cân lại. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ)*, dùng *dung dịch đỏ methyl (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ)* tương đương với 36,46 mg HCl.

Bảo quản
Trong lọ thủy tinh hoặc làm bằng vật liệu trơ, đậy kín và ở nhiệt độ không quá 30 °C.

ACID HYDROCLORIC LOÃNG
Acidum hydrochloricum dilutum

HCl P.t.l: 36,46

Acid hydrocloric loãng phải chứa từ 9,5 % đến 10,5 % (kl/kl) HCl.
Acid hydrocloric loãng được điều chế bằng cách thêm 274 g acid hydrocloric đậm đặc vào 726 g nước và trộn đều.

Định tính
A. Acid hydrocloric loãng có pH nhỏ hơn 4 (Phụ lục 6.2).
B. Chế phẩm phải cho phản ứng của ion clorid (Phụ lục 8.1).
C. Chế phẩm phải đáp ứng giới hạn hàm lượng HCl trong phần Định lượng.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Chế phẩm phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Clor tự do
Không được quá 1 phần triệu.
Thêm 50 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, 1 ml *dung dịch kali iodid 10 % (TT)* và 0,5 ml *dung dịch hồ tinh bột không có iodid (TT)* mới pha vào 60 ml chế phẩm. Để yên trong tối 2 min. Bất kỳ màu xanh nào xuất hiện cũng phải biến mất khi thêm 0,2 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)*.

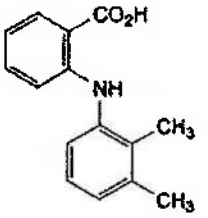
Sulfat
Không được quá 5 phần triệu (Phụ lục 9.4.14).
Thêm 10 mg *natri hydrocarbonat (TT)* vào 26 ml chế phẩm và bốc hơi đến khô trên cách thủy. Hòa tan cắn trong 15 ml *nước* và tiến hành thử.

Kim loại nặng
Không được quá 2 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan cắn thu được trong phần Cắn sau khi bay hơi trong 1 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và pha loãng thành 25 ml bằng *nước*. Pha loãng 5 ml dung dịch thu được thành 20 ml bằng *nước*.
Lấy 12 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Cắn sau khi bay hơi
Không được quá 0,01 %.
Làm bay hơi 100,0 g chế phẩm trên cách thủy tới khô, và sấy ở 100 °C đến 105 °C. Khối lượng cắn thu được không được quá 10 mg.

Định lượng
Thêm 30 ml *nước* vào 6,00 g chế phẩm. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ)*, dùng *dung dịch đỏ methyl (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ)* tương đương với 36,46 mg HCl.

ACID MEFENAMIC
Acid mefenamicum



$C_{15}H_{15}NO_2$ P.t.l: 241,3

Acid mefenamic là acid 2-[(2,3-dimethylphenyl)amino] benzoic, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{15}H_{15}NO_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột vi tinh thể màu trắng hay gần như trắng. Đa hình.
Thực tế không tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 % và methylen clorid. Tan trong dung dịch hydroxyd kiềm loãng.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của acid mefenamic chuẩn. Nếu phổ hấp thụ hồng ngoại khác nhau thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và acid mefenamic chuẩn trong *ethanol 96 % (TT)*, bốc hơi đến khô, ghi phổ mới của các cắn thu được.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Tetrahydrofuran - dung dịch amoni dihydrophosphat pH 5,0 - acetonitril (TT_1)* (14 : 40 : 46).
Dung dịch amoni dihydrophosphat pH 5,0: Hòa tan 5,75 g *amoni dihydrophosphat (TT)* vào 1000 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 5,0 bằng *dung dịch amoniac 2 M (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 50 mg *acid 2-clorobenzoic (TT)* (tạp chất C) và 50 mg *acid benzoic (TT)* (tạp chất D) trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung

môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10,0 mg tạp chất A chuẩn của acid mefenamic bằng pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động. Tiếp tục pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 20,0 mg *acid benzoic (TT)* bằng pha động và pha loãng thành 1000,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 4 lần thời gian lưu của acid mefenamic.
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic các tạp chất C và D.
Thời gian lưu tương đối so với acid mefenemic (thời gian lưu khoảng 8 min): Tạp chất C khoảng 0,3; tạp chất D khoảng 0,35; tạp chất A khoảng 0,5.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất C với pic của tạp chất D ít nhất là 3,0; trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4), tỉ số tín hiệu trên nhiễu ít nhất là 10 đối với pic chính.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng: Tạp chất C là 5,9; tạp chất D là 4,0.
Tạp chất C, D: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).
Tạp chất A: Diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (100 phần triệu).
Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %); bỏ qua pic của tạp chất A.
Ghi chú:
Tạp chất A: 2,3-dimethylanilin.
Tạp chất B: *N*-(2,3-dimethylphenyl)-2-[(2,3-dimethylphenyl) amino]benzamid.
Tạp chất C: Acid 2-clorobenzoic.
Tạp chất D: Acid benzoic.
Tạp chất E: 2,3-dimethyl-*N*-phenylanilin.

Đồng
Không được quá 10 phần triệu.
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Lấy 1,00 g chế phẩm vào trong một chén nung, làm ẩm bằng *acid sulfuric (TT)*, đun nóng cẩn thận trên ngọn lửa trong 30 min và sau đó nung từ từ đến 650 °C. Tiếp tục nung đến khi màu đen biến mất. Để nguội, hòa tan cặn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dãy dung dịch đối chiếu: Chuẩn bị dãy các dung dịch đối chiếu, dùng *dung dịch đồng chuẩn (0,1 % Cu)*, pha loãng bằng *dung dịch acid nitric 0,1 M (TT)*.
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 324,8 nm, dùng đèn cathod rỗng đồng làm nguồn bức xạ và ngọn lửa là không khí - acetylen.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan bằng cách lắc siêu âm khoảng 0,200 g chế phẩm trong 100 ml *ethanol (TT)* ấm đã được trung hòa trước với chỉ thị là *dung dịch đỏ phenol (TT)*, thêm 0,1 ml *dung dịch đỏ phenol (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 24,13 mg $C_{15}H_{15}NO_2$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi mát.

Loại thuốc
Thuốc giảm đau, chống viêm.

Chế phẩm
Viên nén, nang.

VIÊN NÉN ACID MEFENAMIC
Tabellae Acidi mefenamici

Là viên nén chứa acid mefenamic.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng acid mefenamic, $C_{15}H_{15}NO_2$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Độ nhớt
Xem phần trên.

Tính chất của phim
Xem phần trên.

Độ tan của phim
Lấy một mảnh phim thu được trong phép thử Tính chất của phim và cho vào bình nón có chứa *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* rồi khuấy. Mảnh phim không tan trong vòng 2 h. Lấy một mảnh phim khác cho vào bình nón có chứa *dung dịch đệm phosphat pH 6,8 (TT)* rồi khuấy. Mảnh phim tan trong vòng 1 h.

ACID METHACRYLIC VÀ METHYL METHACRYLAT ĐỒNG TRÙNG HỢP (1 : 2)

Acidi methacrylici et methylis methacrylatis polymerisatum (1 : 2)

Acid methacrylic và methyl methacrylat đồng trùng hợp có khối lượng phân tử tương đối trung bình khoảng 135 000. Tỷ lệ nhóm carboxylic so với nhóm ester khoảng 1 : 2.

Hàm lượng
Từ 27,6 % đến 30,7 % đơn vị acid methacrylic (tính theo chế phẩm đã làm khô).

Tính chất
Bột trắng hoặc gần như trắng, trơn chảy rất tốt.
Thực tế không tan trong nước và ethyl acetat, dễ tan trong ethanol khan, 2-propanol và dung dịch natri hydroxyd 1 M.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của acid methacrylic và methyl methacrylat đồng trùng hợp (1 : 2).
B. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu về giới hạn Hàm lượng.

Độ nhớt
Từ 50 mPa·s đến 200 mPa·s (Phụ lục 6.3, phương pháp III). Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng với 37,5 g chế phẩm đã làm khô trong một hỗn hợp gồm 7,9 g *nước* và 254,6 g *2-propanol (TT)*. Xác định độ nhớt ở 20 °C sử dụng nhớt kế quay với tốc độ trượt là 10 s^{-1}.

Tính chất của phim
Nhỏ 1 ml dung dịch thu được trong phép thử Độ nhớt lên một đĩa thủy tinh và để khô. Một lớp phim giòn, trong suốt được hình thành.

Methyl methacrylat và acid methacrylic tự do
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - dung dịch đệm phosphat pH 2,0 (30 : 70).
Dung dịch mẫu trắng: Trộn đều 50,0 ml *methanol (TT)* và 25,0 ml pha động.
Dung dịch thử: Hòa tan 40 mg chế phẩm trong hỗn hợp gồm 50,0 ml *methanol (TT)* và 25,0 ml pha động.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg acid methacrylic chuẩn và 10 mg methyl methacrylat chuẩn trong *methanol (TT)* rồi pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 0,1 ml dung dịch này thành 50,0 ml với *methanol (TT)* rồi trộn với 25,0 ml pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Tốc độ dòng: 2,5 ml/min.
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 202 nm.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch mẫu trắng, dung dịch thử và dung dịch đối chiếu.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu, độ phân giải giữa pic methyl methacrylat và pic acid methacrylic không được nhỏ hơn 2,0. Sắc ký đồ của dung dịch mẫu trắng không được có các pic có thời gian lưu tương ứng với acid methacrylic và methyl methacrylat.
Giới hạn: Tổng hàm lượng methyl methacrylat và acid methacrylic tự do không được quá 0,1 %.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, 105 °C, 6 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 1,000 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 40 ml *nước* và 60 ml *2-propanol (TT)*. Vừa khuấy vừa chuẩn độ chậm bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,5 N (CĐ)*, dùng *dung dịch phenolphthalein (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,5 N (CĐ)* tương đương với 43,05 mg $C_4H_6O_2$ (đơn vị acid methacrylic).

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Công dụng
Tá dược.

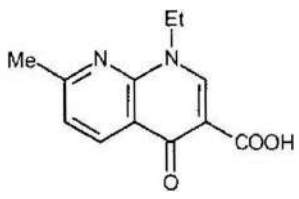
CÁC ĐẶC TÍNH LIÊN QUAN ĐẾN CÔNG DỤNG CỦA NGUYÊN LIỆU
Các đặc tính sau có thể liên quan đến việc sử dụng acid methacrylic và methyl methacrylat đồng trùng hợp (1 : 2) làm tá dược bao kháng dịch vị:

Độ nhớt
Xem phần trên.

Tính chất của phim
Xem phần trên.

Độ tan của phim
Lấy một mảnh phim thu được trong phép thử Tính chất của phim và cho vào bình nón có chứa *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* rồi khuấy. Mảnh phim không tan trong vòng 2 h. Lấy một mảnh phim khác cho vào bình nón có chứa *dung dịch đệm phosphat pH 6,8 (TT)* rồi khuấy. Mảnh phim không tan trong vòng 2 h. Lấy một mảnh phim khác cho vào bình nón có chứa *dung dịch đệm phosphat 0,2 M pH 7,5 (TT)* rồi khuấy. Mảnh phim tan trong vòng 1 h.

ACID NALIDIXIC
Acidum nalidixicum



$C_{12}H_{12}N_2O_3$ P.t.l: 232,2

Acid nalidixic là acid 1-ethyl-7-methyl-4-oxo-1,4-dihydro-1,8-naphthyridin-3-carboxylic, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{12}H_{12}N_2O_3$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng ngà hay vàng nhạt. Thực tế không tan trong nước, tan trong dicloromethan, khó tan trong aceton và ethanol 96 %, tan trong các dung dịch hydroxyd kiềm loãng.
Nóng chảy ở khoảng 230 °C.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của acid nalidixic chuẩn.
B. Hòa tan 12,5 mg chế phẩm trong *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng 230 nm đến 350 nm cho 2 cực đại hấp thụ ở 258 nm và 334 nm. Tỷ lệ giữa độ hấp thụ đo được ở bước sóng 258 nm và 334 nm phải từ 2,2 đến 2,4.
C. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 2 ml *acid hydrocloric (TT)*. Thêm 0,5 ml *dung dịch β-naphthol 10 % trong ethanol 96 %*. Sẽ xuất hiện màu đỏ cam.
D. Trong phần Tạp chất liên quan, vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải giống về vị trí và kích thước với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Độ hấp thụ
Hòa tan 1,50 g chế phẩm trong *dicloromethan (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) đo được ở bước sóng 420 nm không được lớn hơn 0,10.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel F_{254}.
Dung môi khai triển: Dung dịch amoniac 10 % - dicloromethan - ethanol 96 % (10 : 20 : 70).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong *dicloromethan (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 20 ml bằng *dicloromethan (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg acid nalidixic chuẩn trong *dicloromethan (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2 ml dung dịch thử (2) thành 10 ml bằng *dicloromethan (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 10 ml bằng *dicloromethan (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 1 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 25 ml bằng *dicloromethan (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), ngoài vết chính, không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %) và không được có quá một vết như vậy đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4).

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 4. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong 10 ml *dicloromethan (TT)*, thêm 30 ml *isopropanol (TT)* và 10 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*. Đậy kín cốc chuẩn độ và sục khí *nitrogen (TT)* qua dung dịch trong suốt quá trình chuẩn

độ. Giữ nhiệt độ của dung dịch này trong khoảng từ 15 °C đến 20 °C. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M trong ethanol (CĐ)*.
Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2), dùng điện cực so sánh bạc-bạc clorid với một màng ngăn hình ống bao ngoài hoặc một đầu mao quản chứa đầy *dung dịch lithi clorid bão hòa trong ethanol* và một điện cực thủy tinh làm điện cực chỉ thị.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N trong ethanol (CĐ)* tương đương với 23,22 mg $C_{12}H_{12}N_2O_3$.

Bảo quản
Trong lọ nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm quinolon.

Chế phẩm
Viên nén, hỗn dịch uống.

VIÊN NÉN ACID NALIDIXIC
Tabellae Acidi nalidixici

Là viên nén bao phim chứa acid nalidixic.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng acid nalidixic, $C_{12}H_{12}N_2O_3$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Lấy một lượng bột viên tương ứng với khoảng 1,0 g acid nalidixic, thêm 50 ml *cloroform (TT)*, lắc 15 min, lọc và bay hơi dịch lọc đến cắn. Lấy cắn (sau khi sấy ở 105 °C) làm các phản ứng sau đây:
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của acid nalidixic chuẩn.
B. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch chế phẩm 0,0008 % trong *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* trong khoảng 230 đến 350 nm có hai cực đại hấp thụ ở 258 nm và 334 nm.
C. Cắn có nhiệt độ nóng chảy khoảng 228 °C (Phụ lục 6.7).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch đệm methanol-phosphat được pha như sau: Trộn 2,3 thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,2 M (TT)* với 2,5 thể tích *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)* và 2,0 thể tích *methanol (TT)*, pha loãng thành 10 thể tích với *nước*, chỉnh đến pH 8,6 bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 60 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc bằng môi trường hòa tan (nếu cần). Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thử ở bước sóng hấp thụ cực đại 334 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm, dùng dung dịch môi trường hòa tan làm mẫu trắng. Tính hàm lượng acid nalidixic, $C_{12}H_{12}N_2O_3$, đã hòa tan trong mỗi viên theo A (1%, 1 cm), lấy 494 là giá trị A (1%, 1 cm) ở cực đại 334 nm.
Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % (Q) lượng acid nalidixic, $C_{12}H_{12}N_2O_3$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Dung dịch amoniac 5 M - dicloromethan - ethanol 96 % (10 : 20 : 70)
Dung dịch thử: Cân một lượng bột viên tương ứng với 0,10 g acid nalidixic, thêm 50 ml *dicloromethan (TT)*, lắc trong 15 min. Lọc, bay hơi dịch lọc đến cắn và hòa tan cắn trong 5 ml *dicloromethan (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hút chính xác 1 ml dung dịch thử pha loãng đến 200 ml bằng *dicloromethan (TT)*. Sau đó hút chính xác 10 ml dung dịch này pha loãng đến 20 ml bằng *dicloromethan (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Hút chính xác 10 ml dung dịch đối chiếu (1) pha loãng đến 25 ml bằng *dicloromethan (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản sắc ký ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, bất kỳ vết phụ nào ngoài vết chính không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,25 %) và không được có quá một vết phụ có màu đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1%).

Định lượng
Cân 20 viên đã loại bỏ lớp bao, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác lượng bột viên tương ứng khoảng 0,1 g acid nalidixic vào bình định mức 200 ml, thêm 150 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, lắc 3 min, thêm *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều và để yên 15 min, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Hút chính xác 2 ml dịch lọc vào bình định mức 200 ml, pha loãng bằng *nước* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 334 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT)* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng acid nalidixic, $C_{12}H_{12}N_2O_3$, theo A (1%,1 cm), lấy 494 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở cực đại 334 nm.

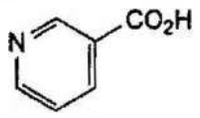
Bảo quản
Trong bao bì kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
0,25 g, 0,5 g, 1,0 g.

ACID NICOTINIC

Acidum nicotinicum



$C_6H_5NO_2$ P.t.l: 123,1

Acid nicotinic là acid pyridin-3-carboxylic, phải chứa từ 99,5 % đến 100,5 % $C_6H_5NO_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng.
Hơi tan trong nước, tan trong nước sôi và ethanol 96 % sôi.
Tan trong các dung dịch hydroxyd kiềm và carbonat loãng.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, C.
Nhóm II: B, C.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại của chế phẩm (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của acid nicotinic chuẩn.
B. Phổ hấp thụ tử ngoại:
Dung dịch đệm: Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 900 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 7,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*.
Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong dung dịch đệm và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml bằng dung dịch đệm.
Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử trong khoảng bước sóng từ 200 nm đến 300 nm. Dung dịch thử phải cho một cực đại hấp thụ ở bước sóng 262 nm và một cực tiểu hấp thụ ở bước sóng 237 nm. Tỷ số giữa độ hấp thụ ở bước sóng 237 nm và độ hấp thụ ở bước sóng 262 nm phải từ 0,46 đến 0,50.
C. Điểm chảy: Từ 234 °C đến 240 °C (Phụ lục 6.7).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Pha loãng 2 ml *acid acetic (TT)* trong 950 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 5,6 bằng *dung dịch amoniac loãng (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Pha động B: *Acetonitril - methanol* (50 : 50).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,120 g chế phẩm trong 200 µl *dung dịch amoniac loãng (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml bằng pha động A.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động A. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 bằng pha động A.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan hỗn hợp tạp chất chuẩn của acid nicotinic (chứa tạp chất A và B) có trong 1 lọ chuẩn trong 1,0 ml pha động A.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped silica gel dùng cho sắc ký lỏng gắn nhóm alkyl thích hợp với pha động thân nước* (4 µm).
Nhiệt độ cột: 15 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 250 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 10	100	0
10 - 30	100 → 20	0 → 80
30 - 35	20	80

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo hỗn hợp tạp chất chuẩn của acid nicotinic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất A và tạp chất B.
Thời gian lưu tương đối so với acid nicotinic (thời gian lưu khoảng 6 min): Tạp chất A khoảng 2,7; tạp chất B khoảng 2,8.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất A với pic của tạp chất B ít nhất là 1,5.
Giới hạn:
Các tạp chất: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Tổng diện tích của tất cả các pic tạp chất không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,03 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid 6-methylpyridin-3-carboxylic (acid 6-methyl nicotinic).
Tạp chất B: Acid 2,2'-bipyridin-5,5'-dicarboxylic (acid 6.6'-dinicotinic).
Tạp chất C: 5-ethyl-2-methylpyridin.
Tạp chất D: Acid pyridin-2,5-dicarboxylic.
Tạp chất E: Acid pyridin-4-carboxylic (acid isonicotinic).
Tạp chất F: Acid 5-nitropyridin-3-carboxylic (acid 5-nitro nicotinic).
Tạp chất G: Pyridin.
Tạp chất H: 3-nitropyridin.
Tạp chất I: 3,5-dinitropyridin.

Clorid

Không được quá 200 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).
Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong *nước* bằng cách đun cách thủy và pha loãng thành 15 ml với cùng dung môi rồi tiến hành thử.

Kim loại nặng

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

Định tính

Chiết một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 0,25 g acid mefenamic bằng *ether (TT)*, 2 lần, mỗi lần 30 ml, gộp dịch chiết ether. Rửa dịch chiết ether thu được bằng *nước*. Bốc hơi dịch chiết ether đến khô trên cách thủy, làm khô cắn ở 105 °C. Hòa tan cắn thu được trong một thể tích *ethanol (TT)* tối thiểu và bốc hơi đến khô trên cách thủy.

Phổ hấp thụ hồng ngoại của cắn thu được (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của acid mefenamic chuẩn.

2,3-Dimethylanilin

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Amoniac 18 M - 1,4-dioxan - toluen (1 : 25 : 90).

Dung dịch (1): Lắc một lượng bột viên đã nghiền mịn chứa khoảng 0,25 g acid mefenamic với một hỗn hợp gồm 7,5 ml *dicloromethan (TT)* và 2,5 ml *methanol (TT)* trong 10 min. Ly tâm lấy dịch trong.

Dung dịch (2): Dung dịch 2,3-dimethylanilin 0,00025 % trong hỗn hợp *dicloromethan - methanol* (3 : 1).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 40 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra, làm khô bằng một luồng khí nóng. Phun bản mỏng bằng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol 20 % (TT)*. Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 30 min và ngay lập tức đặt vào bình thủy tinh kín chứa hơi acid nitric trong 15 min [hơi acid nitric có thể được tạo ra bằng cách nhỏ từng giọt *dung dịch acid sulfuric 7 M (TT)* vào một dung dịch chứa 10 % *natri nitrit (TT)* và 3 % *kali iodid (TT)*]. Đặt bản mỏng dưới một luồng khí nóng trong 15 min và phun *dung dịch N-(1-naphthyl) ethylendiamin dihydroclorid 0,5 % trong ethanol 96 %*. Nếu cần, để khô và phun lại một lần nữa.

Bất kỳ vết nào tương ứng với 2,3-dimethylanilin trong sắc ký đồ thu được của dung dịch (1) không được đậm hơn vết chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch (2) (100 phần triệu).

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Acid acetic băng - 1,4-dioxan - toluen (1 : 25 : 90)

Dung dịch (1): Dung dịch (1) ở mục 2,3-Dimethylanilin.

Dung dịch (2): Lấy 0,1 ml dung dịch (1) pha loãng thành 50 ml bằng hỗn hợp *dicloromethan (TT) - methanol (TT)* (3 : 1).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Đặt bản mỏng vào bình thủy tinh kín chứa hơi iod trong 5 min và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ thu được của dung dịch (1) không được đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch (2) (0,2 %). Bỏ qua bất kỳ vết nào có giá trị R_f nhỏ hơn hoặc bằng 0,04.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: Dùng 40 ml *ethanol (TT)* và thêm *dung dịch đệm phosphat pH 8,0* tới 800 ml.

Dung dịch đệm phosphat pH 8,0: Hòa tan 5,59 g *dikali hydrophosphat (TT)* và 0,41 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 1000 ml nước.

Tốc độ quay: 75 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành:

Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Pha loãng dịch lọc với *dung dịch đệm phosphat pH 8,0 (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ 10 µg/ml.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 20 mg acid mefenamic chuẩn vào bình định mức 100 ml, thêm 5 ml *ethanol (TT)* để hòa tan, thêm *dung dịch đệm phosphat pH 8,0* đến vạch, trộn đều. Pha loãng dung dịch thu được với *dung dịch đệm phosphat pH 8,0* để thu được dung dịch có nồng độ 10 µg/ml.

Đo độ hấp thụ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn ở 286 nm (Phụ lục 4.1), dùng *dung dịch đệm phosphat pH 8,0* làm mẫu trắng. Tính lượng acid mefenamic, $C_{15}H_{15}NO_2$, được hòa tan trong mỗi viên.

Yêu cầu: Không được ít hơn 60 % (Q) lượng acid mefenamic, $C_{15}H_{15}NO_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên và nghiền thành bột mịn. Cân một lượng bột viên tương ứng khoảng 0,5 g acid mefenamic vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 80 ml *ethanol (TT)* ấm đã được trung hòa trước, sử dụng *dung dịch đỏ phenol (TT)* làm chỉ thị. Hòa tan bằng cách đun nóng và siêu âm xen kẽ nhau. Làm nguội, thêm *ethanol (TT)* đã được trung hòa trước vừa đủ 100 ml, trộn đều và chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* với chỉ thị là *dung dịch đỏ phenol (TT)*.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương ứng với 24,13 mg $C_{15}H_{15}NO_2$.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô.

Loại thuốc

Thuốc kháng viêm không steroid, giảm đau.

Hàm lượng thường dùng

250mg, 500 mg.

ACID METHACRYLIC VÀ ETHYL ACRYLAT ĐỒNG TRÙNG HỢP (1 : 1)

Acidi methacrylici et ethylis acrylatis polymerisatum (1 : 1)

Acid methacrylic và ethyl acrylat đồng trùng hợp có khối lượng phân tử tương đối trung bình khoảng 250 000. Tỷ lệ nhóm carboxylic so với nhóm ester khoảng 1 : 1. Chế phẩm có thể ở dạng acid (loại A) hoặc được trung hòa một phần bằng natri hydroxyd (loại B), có thể chứa chất diện hoạt như natri dodecyl sulfat và polysorbat 80.

Hàm lượng

Loại A: Từ 46,0 % đến 50,6 % đơn vị acid methacrylic (tính theo chế phẩm đã làm khô).
Loại B: Từ 43,0 % đến 48,0 % đơn vị acid methacrylic (tính theo chế phẩm đã làm khô).

Tính chất

Bột trắng hoặc gần như trắng, trơn chảy rất tốt.
Thực tế không tan trong nước (loại A) hoặc phân tán trong nước (loại B), thực tế không tan trong ethyl acetat, dễ tan trong ethanol khan và dung dịch natri hydroxyd 1 M.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2).
Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 1 ml *ethanol 90 % (TT)* rồi nhỏ 2 giọt dung dịch thu được lên đĩa natri clorid, làm khô để lớp phim được hình thành rồi phủ một đĩa natri clorid khác lên trên. Phổ hấp thụ hồng ngoại thu được của chế phẩm phải phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của acid methacrylic và ethyl acrylat đồng trùng hợp (1 : 1) đối chiếu (loại A hoặc loại B).
B. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu về giới hạn Hàm lượng.
C. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử Tro sulfat.

Ethyl acrylat và acid methacrylic

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - dung dịch đệm phosphat pH 2,0 (30 : 70).
Dung dịch mẫu trắng: Trộn đều 50,0 ml *methanol (TT)* và 25,0 ml pha động.
Dung dịch thử: Hòa tan 40 mg chế phẩm trong hỗn hợp gồm 50,0 ml *methanol (TT)* và 25,0 ml pha động.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg acid methacrylic chuẩn và 10 mg ethyl acrylat chuẩn trong *methanol (TT)* rồi pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 0,1 ml dung dịch này thành 50,0 ml với *methanol (TT)* rồi trộn với 25,0 ml pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Tốc độ dòng: 2,5 ml/min.
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 202 nm.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch mẫu trắng, dung dịch thử, dung dịch đối chiếu.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu, độ phân giải giữa pic ethyl acrylat và pic acid methacrylic không được nhỏ hơn 2,0. Sắc ký đồ của dung dịch mẫu trắng không được có các pic có thời gian lưu tương ứng với acid methacrylic và ethyl acrylat.
Giới hạn: Tổng hàm lượng ethyl acrylat và acid methacrylic tự do không được quá 0,1 %.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, 105 °C, 6 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,4 % (loại A), hoặc từ 0,5 % đến 3,0 % (loại B) (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 1,000 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 40 ml *nước* và 60 ml *2-propanol (TT)*. Vừa khuấy vừa chuẩn độ chậm bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,5 N (CĐ)*, dùng *dung dịch phenolphthalein (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,5 N (CĐ)* tương đương với 43,05 mg $C_4H_6O_2$ (đơn vị acid methacrylic).

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Nhãn

Phải ghi rõ loại A hay B.

Công dụng

Tá dược.

CÁC ĐẶC TÍNH LIÊN QUAN ĐẾN CÔNG DỤNG CỦA NGUYÊN LIỆU

Các đặc tính sau có thể liên quan đến việc sử dụng acid methacrylic và ethyl acrylat đồng trùng hợp (1 : 1) làm tá dược bao kháng dịch vị:

Độ nhớt biểu kiến

Tiến hành theo Phụ lục 6.3, phương pháp III.
Loại A: Từ 100 mPa·s đến 200 mPa·s. Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng với 37,5 g chế phẩm đã làm khô trong một hỗn hợp gồm 7,9 g *nước* và 254,6 g *2-propanol (TT)*. Xác định độ nhớt ở 20 °C sử dụng nhớt kế quay với tốc độ trượt là 10 s^{-1}.
Loại B: Không lớn hơn 100 mPa·s. Phân tán một lượng chế phẩm tương ứng với 80,0 chế phẩm đã làm khô vào trong *nước* rồi điều chỉnh đến 320 g với cùng dung môi. Khuấy trong 3 h rồi xác định độ nhớt sử dụng nhớt kế quay ở 23 °C và tốc độ quay 100 r/min (rotor 2).

Độ tan của phim
Nhỏ 1 ml dung dịch (loại A) hoặc dịch phân tán (loại B) thu được trong phép đo độ nhớt biểu kiến lên một đĩa thủy tinh và làm khô. Một lớp phim giòn, trong suốt được hình thành. Lấy một mảnh phim thu được cho vào bình nón có chứa *dung dịch đệm phosphat pH 6,8 (TT)* rồi khuấy. Mảnh phim phải tan.

DỊCH PHÂN TÁN 30 % CỦA ACID METHACRYLIC VÀ ETHYL ACRYLAT ĐỒNG TRÙNG HỢP (1 : 1)

Acidi methacrylici et ethylis acrylatis polymerisati 1 : 1 dispersio 30 per centum

Hệ phân tán trong nước của acid methacrylic và ethyl acrylat đồng trùng hợp có khối lượng phân tử tương đối trung bình khoảng 250 000. Tỷ lệ nhóm carboxylic so với nhóm ester khoảng 1 : 1. Có thể có chứa chất diện hoạt phù hợp như natri dodecyl sulfat và polysorbat 80.

Hàm lượng
Từ 46,0 % đến 50,6 % đơn vị acid methacrylic (tính theo khối lượng còn lại sau khi bốc hơi dung môi).

Tính chất
Chất lỏng hơi sánh, đục, màu trắng hay gần như trắng.
Trộn lẫn được với nước. Khi thêm các dung môi như aceton, ethanol tuyệt đối hay 2-propanol, tủa tạo thành và tan khi tiếp tục thêm dư dung môi. Trộn lẫn được với dung dịch natri hydroxyd 4 %.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của dịch phân tán 30 % của acid methacrylic và ethyl acrylat đồng trùng hợp (1 : 1).
B. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu về giới hạn Hàm lượng.

Độ nhớt
Không được quá 15 mPa·s (Phụ lục 6.3, phương pháp III). Xác định độ nhớt ở 20 °C sử dụng nhớt kế quay với tốc độ trượt là 50 s^{-1}.

Tính chất của phim
Nhỏ 1 ml chế phẩm lên một đĩa thủy tinh và để khô. Một lớp phim giòn, trong suốt được hình thành.

Tạp chất lạ
Lọc 100 g chế phẩm qua rây số 90 bằng thép không gỉ có khối lượng xác định. Rửa bằng *nước* đến khi dịch rửa trong rồi sấy khô ở 100 °C đến 105 °C. Khối lượng cắn còn lại không quá 1,00 g.

Ethyl acrylat và acid methacrylic tự do
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - dung dịch đệm phosphat pH 2.0 (30 : 70).
Dung dịch mẫu trắng: Trộn đều 50,0 ml *methanol (TT)* và 25,0 ml pha động.
Dung dịch thử: Hòa tan 40 mg chế phẩm trong hỗn hợp gồm 50,0 ml *methanol (TT)* và 25,0 ml pha động.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg ethyl acrylat chuẩn và 10 mg acid methacrylic chuẩn trong *methanol (TT)* rồi pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 0,1 ml dung dịch này thành 50,0 ml với *methanol (TT)* rồi trộn với 25,0 ml pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột thép không gỉ (10 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Tốc độ dòng: 2,5 ml/min.
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 202 nm.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch mẫu trắng, dung dịch thử, dung dịch đối chiếu.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu, độ phân giải giữa pic ethyl acrylat và acid methacrylic và không được nhỏ hơn 2,0. Sắc ký đồ của dung dịch mẫu trắng không được có các pic có thời gian lưu tương ứng với ethyl acrylat và acid methacrylic.
Giới hạn: Tổng hàm lượng ethyl acrylat và acid methacrylic tự do không được quá 0,1 %.

Cắn sau khi bay hơi
Sấy 1,000 g chế phẩm ở 110 °C trong 5 h (Phụ lục 9.6), khối lượng cắn còn lại từ 0,285 g đến 0,315 g.

Tro sulfat
Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,000 g chế phẩm.

Giới hạn nhiễm khuẩn (Phụ lục 13.6)
Tổng số vi sinh vật hiếu khí: Không được quá 10^3 CFU/g.
Tổng số nấm: Không được quá 10^2 CFU/g.

Định lượng
Hòa tan 1,000 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 40 ml *nước* và 60 ml *2-propanol (TT)*. Vừa khuấy vừa chuẩn độ chậm bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,5 N (CĐ)*, dùng *dung dịch phenolphthalein (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,5 N (CĐ)* tương đương với 43,05 mg $C_4H_6O_2$ (đơn vị acid methacrylic).

Bảo quản
Tránh để đông đặc.

Công dụng
Tá dược.

CÁC ĐẶC TÍNH LIÊN QUAN ĐẾN CÔNG DỤNG CỦA NGUYÊN LIỆU

Các đặc tính sau có thể liên quan đến việc sử dụng dịch phân tán 30 % của acid methacrylic và ethyl acrylat đồng trùng hợp (1 : 1) làm tá dược bao kháng dịch vị:

Độ nhớt
Xem phần trên.

Tính chất của phim
Xem phần trên.

Độ tan của phim
Lấy một mảnh phim thu được trong phép thử Tính chất của phim và cho vào bình nón có chứa *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* rồi khuấy. Mảnh phim không tan trong vòng 2 h. Lấy một mảnh phim khác cho vào bình nón có chứa *dung dịch đệm phosphat pH 6,8 (TT)* rồi khuấy. Mảnh phim tan trong vòng 1 h.

ACID METHACRYLIC VÀ METHYL METHACRYLAT ĐỒNG TRÙNG HỢP (1 : 1)

Acidi methacrylici et methylis methacrylatis polymerisatum (1 : 1)

Acid methacrylic và methyl methacrylat đồng trùng hợp có khối lượng phân tử tương đối trung bình khoảng 135 000. Tỷ lệ nhóm carboxylic so với nhóm ester khoảng 1 : 1.

Hàm lượng
Từ 46,0 % đến 50,6 % đơn vị acid methacrylic (tính theo chế phẩm đã làm khô).

Tính chất
Bột trắng hoặc gần như trắng, trơn chảy rất tốt.
Thực tế không tan trong nước và ethyl acetat, dễ tan trong ethanol tuyệt đối, 2-propanol và dung dịch natri hydroxyd 1 M.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của acid methacrylic và methyl methacrylat đồng trùng hợp (1 : 1).
B. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu về giới hạn Hàm lượng.

Độ nhớt
Từ 50 mPa·s đến 200 mPa·s (Phụ lục 6.3, phương pháp III). Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng với 37,5 g chế phẩm đã làm khô trong một hỗn hợp gồm 7,9 g *nước* và 254,6 g *2-propanol (TT)*. Xác định độ nhớt ở 20 °C sử dụng nhớt kế quay với tốc độ trượt là 10 s^{-1}.

Tính chất của phim
Nhỏ 1 ml dung dịch thu được trong phép thử Độ nhớt lên một đĩa thủy tinh và để khô. Một lớp phim giòn, trong suốt được hình thành.

Methyl methacrylat và acid methacrylic tự do
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Methanol - dung dịch đệm phosphat pH 2,0 (30 : 70).
Dung dịch mẫu trắng: Trộn đều 50,0 ml *methanol (TT)* và 25,0 ml pha động.
Dung dịch thử: Hòa tan 40 mg chế phẩm trong hỗn hợp gồm 50,0 ml *methanol (TT)* và 25,0 ml pha động.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg acid methacrylic chuẩn và 10 mg methyl methacrylat chuẩn trong *methanol (TT)* rồi pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 0,1 ml dung dịch này thành 50,0 ml với *methanol (TT)* rồi trộn với 25,0 ml pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột thép không gỉ (10 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Tốc độ dòng: 2,5 ml/min.
Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 202 nm.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch mẫu trắng, dung dịch thử, dung dịch đối chiếu.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu, độ phân giải giữa pic acid methacrylic và pic methyl methacrylat không được nhỏ hơn 2,0. Sắc ký đồ của dung dịch mẫu trắng không được có các pic có thời gian lưu tương ứng với acid methacrylic và methyl methacrylat
Giới hạn: Tổng hàm lượng methyl methacrylat và acid methacrylic tự do không được quá 0,1 %.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, 105 °C, 6 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,000 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 1,000 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 40 ml *nước* và 60 ml *2-propanol (TT)*. Vừa khuấy vừa chuẩn độ chậm bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,5 N (CĐ)*, dùng *dung dịch phenolphthalein (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,5 N (CĐ)* tương đương với 43,05 mg $C_4H_6O_2$ (đơn vị acid methacrylic).

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Công dụng
Tá dược.

CÁC ĐẶC TÍNH LIÊN QUAN ĐẾN CÔNG DỤNG CỦA NGUYÊN LIỆU
Các đặc tính sau có thể liên quan đến việc sử dụng acid methacrylic và methyl methacrylat đồng trùng hợp (1 : 1) làm tá dược bao kháng dịch vị:

Lấy 1,0 g chế phẩm và tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C; 1 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

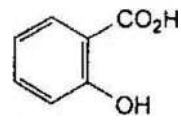
Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 50 ml *nước*, thêm 0,25 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* làm chỉ thị. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* đến khi màu hồng xuất hiện. Song song tiến hành mẫu trắng.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 12,31 mg $C_6H_5NO_2$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Vitamin nhóm B.

Chế phẩm
Viên nén.

ACID SALICYLIC
Acidum salicylicum



$C_7H_6O_3$ P.t.l: 138,1

Acid salicylic là acid 2-hydroxybenzencarboxylic, phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % $C_7H_6O_3$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Tinh thể hình kim màu trắng hoặc không màu hay bột kết tinh trắng. Khó tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 % và ether, hơi tan trong cloroform. Dung dịch chế phẩm có phản ứng acid.

Định tính
Chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B.
Nhóm II: B, C.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của acid salicylic chuẩn.
B. Điểm chảy: 158 °C đến 161 °C (Phụ lục 6.7).
C. Hòa tan khoảng 30 mg chế phẩm trong 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,05 M*, trung hòa nếu cần và pha loãng thành 20 ml bằng *nước*. 1 ml dung dịch thu được cho phản ứng (A) của ion salicylat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10,0 ml *ethanol 96 % (TT)*. Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Acid acetic băng - methanol - nước* (1 : 40 : 60).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg phenol chuẩn trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg tạp chất chuẩn B của acid salicylic (acid 4-hydroxyisophtalic) trong pha động và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 50 mg *acid 4-hydroxybenzoic (TT)* trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (5): Pha loãng hỗn hợp của 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1), 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2), 1,0 ml dung dịch đối chiếu (3) thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (6): Pha loãng hỗn hợp của 0,1 ml dung dịch đối chiếu (1), 0,1 ml dung dịch đối chiếu (2), 0,1 ml dung dịch đối chiếu (3) thành 10,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi *octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 270 nm.
Tốc độ dòng: 0,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Thời gian lưu tương đối so với phenol của acid 4-hydroxybenzoic khoảng 0,70, của acid 4-hydroxyisophtalic khoảng 0,90.
Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính thu được từ sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6) bằng ít nhất 70 % chiều cao của toàn thang sắc ký đồ. Thử nghiệm này không có giá trị khi mà pic thứ ba trong sắc ký đồ của dung dịch (5) không tương ứng với pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) và độ phân giải của pic tương ứng acid 4-hydroxyisophtalic với pic tương ứng phenol là nhỏ hơn 1. Nếu điều kiện về độ phân giải này không đạt, có thể điều chỉnh lượng acid acetic trong pha động.
Giới hạn: Diện tích của những pic tương ứng với acid 4-hydroxybenzoic, với acid 4-hydroxyisophtalic, và phenol trong sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn diện tích của những pic tương ứng lần lượt như trên trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6) (0,1 % của acid

4-hydroxybenzoic; 0,05 % của acid 4-hydroxyisophtalic và 0,02 % của phenol).
Diện tích của bất cứ pic nào, ngoại trừ pic chính và những pic tương ứng với acid 4-hydroxybenzoic, với acid 4-hydroxyisophtalic và phenol trong sắc ký đồ của dung dịch thử thì không được lớn hơn diện tích của pic tương ứng với acid 4-hydroxyisophtalic trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6) (0,05 %).
Tổng diện tích các pic phụ trong sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn hai lần diện tích của pic tương ứng với acid 4-hydroxybenzoic trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6) (0,2 %).
Bỏ qua tất cả các pic mà diện tích nhỏ hơn 0,01 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6).

Clorid
Không được quá 100 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).
Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong 50 ml *nước* đun sôi, để nguội và lọc.
Pha loãng 10 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Sulfat
Không được quá 0,020 % (Phụ lục 9.4.14).
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 5 ml *dimethylformamid (TT)* và thêm 4 ml *nước*. Trộn đều. Thêm 0,2 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và 0,5 ml *dung dịch bari clorid 25 %*. Sau 15 min, dung dịch thu được không được đục hơn dung dịch đối chiếu được chuẩn bị như sau: Thêm 0,2 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*, 0,5 ml *dung dịch bari clorid 25 %*, 3 ml *nước* và 5 ml *dimethylformamid (TT)* vào 2 ml *dung dịch sulfat mẫu 100 phần triệu SO_4 (TT)*, trộn đều.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong 15 ml *ethanol 96 % (TT)*, sau đó thêm 5 ml *nước*. Lấy 12 ml dung dịch này thử theo phương pháp 2. Dùng *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb (TT)* pha loãng bằng hỗn hợp *ethanol 96 % - nước* (3 : 1) để được dung dịch chì mẫu 2 phần triệu dùng chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; áp suất giảm; silica gel).

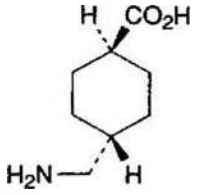
Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 2,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan khoảng 0,120 g chế phẩm trong 30 ml *ethanol 96 % (TT)*, thêm 20 ml *nước* và 0,1 ml *dung dịch đỏ phenol (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* cho đến khi màu chuyển từ vàng sang đỏ tím.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 13,81 mg $C_7H_6O_3$.

Bảo quản
Trong chai lọ nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc tróc lớp sừng da, chống bài tiết bã nhờn, trị vảy nến, chất ăn da.

ACID TRANEXAMIC
Acidum tranexamicum



$C_8H_{15}NO_2$ P.t.l.: 157,2

Acid tranexamic là acid *trans*-4-(aminomethyl)cyclohexan-carboxylic, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_8H_{15}NO_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan trong nước và acid acetic băng, thực tế không tan trong aceton và ethanol 96 %.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của acid tranexamic chuẩn.

pH
Từ 7,0 đến 8,0 (Phụ lục 6.2).
Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 11,0 g *natri dihydrophosphat khan (TT)* trong 500 ml *nước*, thêm 5 ml *triethylamin (TT)* và 1,4 g *natri lauryl sulfat (TT)*. Điều chỉnh dung dịch thu được tới pH 2,5 bằng *dung dịch acid phosphoric loãng (TT)* và pha loãng thành 600 ml bằng *nước*. Thêm 400 ml *methanol (TT)* và trộn đều.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *nước*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch phân giải: Hòa tan 5 mg tạp chất C chuẩn của acid tranexamic trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Lấy 1,0 ml dung dịch này, thêm 1,0 ml dung dịch thử và pha loãng thành 50,0 ml bằng *nước*.

Điều kiện sắc ký:
Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) hoặc (25 cm × 6,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Tốc độ dòng: 0,9 ml/min.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Thời gian chạy sắc ký gấp 3 lần thời gian lưu của acid tranexamic.
Thời gian lưu tương đối so với acid tranexamic (thời gian lưu khoảng 13 min) như sau: Tạp chất C khoảng 1,1; tạp chất D khoảng 1,3; tạp chất B khoảng 1,5; tạp chất A khoảng 2,1.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic của acid tranexamic và tạp chất C ít nhất là 2,0.
Giới hạn:
Khi tính hàm lượng các tạp chất, nhân diện tích pic của các tạp chất với hệ số hiệu chỉnh tương ứng như sau: Tạp chất B là 1,2, tạp chất C là 0,005, tạp chất D là 0,006.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của pic tương ứng với tạp chất A không được lớn hơn 0,2 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (0,1 %). Diện tích của pic tương ứng với tạp chất B đã hiệu chỉnh không được lớn hơn 0,4 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (0,2 %). Diện tích pic của từng tạp chất khác không được lớn hơn 0,2 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (0,1 %). Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất khác không được lớn hơn 0,4 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (0,2 %).
Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (0,025 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid *trans,trans*-4,4'-(iminodimethylen)di(cyclohexan carboxylic),
Tạp chất B: Acid *cis*-4-(aminomethyl)cyclohexan carboxylic,
Tạp chất C: Acid (*RS*)-4-(aminomethyl)cyclohex-1-en carboxylic,
Tạp chất D: Acid 4-aminomethylbenzoic.

Các hợp chất halogenid
Không được quá 140 phần triệu, tính theo clorid (Phụ lục 9.4.5).
Hòa tan 1,2 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi. Lấy 15 ml dung dịch để thử.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Lấy 12 ml dung dịch này thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* làm mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, 105 °C; 2 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g.

Định lượng
Hòa tan 0,140 g chế phẩm trong 20 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 15,72 mg $C_8H_{15}NO_2$.

Loại thuốc
Chống tiêu fibrin; thuốc cầm máu.

Chế phẩm
Thuốc tiêm, viên nén.

NANG ACID TRANEXAMIC
Capsulae Acidi tranexamici

Là nang cứng chứa acid tranexamic.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng acid tranexamic, $C_8H_{15}NO_2$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Cân một lượng bột thuốc trong nang tương đương với khoảng 0,1 g acid tranexamic, thêm 10 ml *nước*, lắc kỹ, lọc. Thêm 1 ml *dung dịch ninhydrin 2 % (TT)* và đun nóng trên cách thủy trong 3 min, xuất hiện màu tím đậm.
B. Trong phần Định lượng, pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic acid tranexamic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 15 min.
Cách tiến hành:
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với các điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Định lượng.
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Pha loãng dịch lọc với *nước* để được dung dịch có nồng độ acid tranexamic khoảng 0,56 mg/ml.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 56 mg acid tranexamic chuẩn, hòa tan trong *nước* và thêm *nước* vừa đủ 100,0 ml.

Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử với thể tích tiêm là 50 µl.
Tính hàm lượng acid tranexamic hòa tan trong mỗi nang dựa vào diện tích pic của acid tranexamic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_8H_{15}NO_2$ của acid tranexamic chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng acid tranexamic, $C_8H_{15}NO_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 15 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 11,0 g *natri dihydrophosphat khan (TT)* trong 500 ml *nước*, thêm 5 ml *triethylamin (TT)* và 1,4 g *natri lauryl sulfat (TT)*. Điều chỉnh đến pH 2,5 bằng *acid phosphoric (TT)* hoặc *dung dịch acid phosphoric 10 % (TT)*, thêm *nước* đến 600 ml và thêm 400 ml *methanol (TT)*, trộn đều. Điều chỉnh tỷ lệ pha động nếu cần.
Dung dịch chuẩn: Cân 50 mg acid tranexamic chuẩn hòa tan trong *nước* và thêm *nước* vừa đủ 25,0 ml.
Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang, trộn đều và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 100 mg acid tranexamic vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml *nước*, lắc kỹ và thêm *nước* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Ly tâm lấy lớp trên.
Dung dịch phân giải: Thêm 1 ml dung dịch *acid 4-(aminomethyl)benzoic (TT)* 0,01 % vào 5 ml dung dịch chuẩn và thêm *nước* thành 50 ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột: 35 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: Điều chỉnh tốc độ dòng để thời gian lưu của acid tranexamic khoảng 16 min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, lần lượt acid tranexamic và acid 4-(aminomethyl)benzoic được rửa giải và độ phân giải giữa 2 pic không nhỏ hơn 3. Tiến hành sắc ký 6 lần riêng biệt đối với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic acid tranexamic không được lớn hơn 1,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng acid tranexamic có trong chế phẩm dựa vào diện tích pic của acid tranexamic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_8H_{15}NO_2$ chuẩn.

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

Loại thuốc
Thuốc cầm máu.

Hàm lượng thường dùng
500 mg; 1 000 mg.

VIÊN NÉN ACID TRANEXAMIC
Tabellae Acidi tranexamici

Là viên nén chứa acid tranexamic.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng acid tranexamic, $C_8H_{15}NO_2$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Cân một lượng bột viên tương đương với khoảng 0,1 g acid tranexamic, thêm 10 ml *nước*, lắc kỹ, lọc. Thêm 1 ml *dung dịch ninhydrin 2 % (TT)* và đun nóng trên cách thủy trong 3 min, xuất hiện màu tím đậm.
B. Trong phần Định lượng, sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic acid tranexamic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 15 min.
Cách tiến hành:
Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng với các điều kiện sắc ký như mô tả ở mục Định lượng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Pha loãng dịch lọc với *nước* để được dung dịch có nồng độ acid tranexamic khoảng 0,56 mg/ml.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 56 mg acid tranexamic chuẩn hòa tan trong *nước* và thêm *nước* vừa đủ 100,0 ml.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử với thể tích tiêm là 50 µl.
Tính hàm lượng acid tranexamic hòa tan trong mỗi viên dựa vào diện tích pic của acid tranexamic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_8H_{15}NO_2$ trong acid tranexamic chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng acid tranexamic, $C_8H_{15}NO_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 15 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 11,0 g *natri dihydrophosphat khan (TT)* trong 500 ml *nước*, thêm 5 ml *triethylamin (TT)* và 1,4 g *natri lauryl sulfat (TT)*. Điều chỉnh đến pH 2,5 bằng *acid phosphoric (TT)* hoặc *dung dịch acid phosphoric 10 % (TT)*, thêm *nước* đến 600 ml và thêm 400 ml *methanol (TT)*, trộn đều. Điều chỉnh tỷ lệ pha động nếu cần.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg acid tranexamic chuẩn, hòa tan trong *nước* và thêm *nước* vừa đủ 25,0 ml.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 100 mg acid tranexamic vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml *nước*, lắc kỹ và thêm *nước* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Ly tâm lấy lớp trên.

Dung dịch phân giải: Thêm 1 ml dung dịch *acid 4-(aminomethyl)benzoic (TT)* 0,01 % vào 5 ml dung dịch chuẩn và thêm *nước* thành 50 ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Nhiệt độ cột: 35 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.

Tốc độ dòng: Điều chỉnh tốc độ dòng để thời gian lưu của acid tranexamic khoảng 16 min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, lần lượt acid tranexamic và acid 4-(aminomethyl)benzoic được rửa giải và độ phân giải giữa 2 pic không nhỏ hơn 3. Tiến hành sắc ký 6 lần riêng biệt đối với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic acid tranexamic không được lớn hơn 1,0 %.

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

Tính hàm lượng acid tranexamic có trong chế phẩm dựa vào diện tích pic của acid tranexamic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_8H_{15}NO_2$ trong acid tranexamic chuẩn.

Bảo quản

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

Loại thuốc

Thuốc cầm máu.

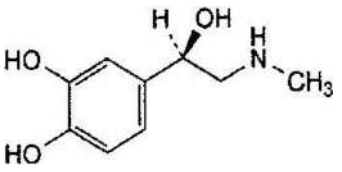
Hàm lượng thường dùng

500 mg; 1000 mg.

ADRENALIN

Adrenalinum

Epinephrin



$C_9H_{13}NO_3$ P.t.l: 183,2

Adrenalin là 4-[(1*R*)-1-hydroxy-2-(methylamino)ethyl] benzen-1,2-diol, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_9H_{13}NO_3$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng. Bị sẫm màu khi tiếp xúc với không khí và ánh sáng.

Thực tế không tan trong nước, ethanol 96 % và methylen clorid. Tan trong acid hydrocloric.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của adrenalin chuẩn.

B. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Góc quay cực riêng.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,000 g chế phẩm trong dung dịch *acid hydrocloric (TT)* 25,75 g/l và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Đo ngay sau khi pha.

Dung dịch S không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn dung dịch màu mẫu VN_5 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực riêng

Từ -50° đến -54°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tránh ánh sáng khi chuẩn bị các dung dịch.

Pha động A: *Acetonitril (TT_1) - hỗn hợp dung môi A* (5 : 95).

Pha động B: *Acetonitril (TT_1) - hỗn hợp dung môi A* (45 : 55).

Hỗn hợp dung môi A: Hòa tan 5,0 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 2,6 g *natri octansulfonat (TT)* trong *nước dùng cho sắc ký (TT)* (thường cần khuấy ít nhất 30 min để hòa tan hoàn toàn) và pha loãng thành 1000 ml với cùng dung môi. Điều chỉnh đến pH 2,8 bằng *acid phosphoric (TT)*.

Hỗn hợp dung môi B: *Acetonitril (TT_1) - hỗn hợp dung môi A* (13 : 87).

Dung dịch mẫu trắng: *Dung dịch acid hydrocloric 0,1 M - hỗn hợp dung môi B* (1 : 9).

Dung dịch thử: Hòa tan 40 mg chế phẩm trong 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng hỗn hợp dung môi B.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi B. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi B.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 1,5 mg noradrenalin tartrat chuẩn (tạp chất B) và 1,5 mg *adrenalon hydroclorid (TT)* (tạp chất C) trong hỗn hợp dung môi B, thêm 1,0 ml dung dịch thử và pha loãng thành 100 ml bằng hỗn hợp dung môi B.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan hỗn hợp tạp chất chuẩn của adrenalin (chứa tạp chất D và E) có trong 1 lọ chuẩn trong 1,0 ml dung dịch mẫu trắng.
Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 4 mg tạp chất F chuẩn của adrenalin trong 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 5 ml bằng hỗn hợp dung môi B.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (3 µm).
Nhiệt độ cột: 50 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 15	92 → 50	8 → 50
15 - 20	50 → 92	50 → 8
20 - 25	92	8

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo hỗn hợp tạp chất chuẩn của adrenalin và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của tạp chất D và tạp chất E. Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo tạp chất F chuẩn của adrenalin và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của tạp chất F.
Thời gian lưu tương đối so với adrenalin (thời gian lưu khoảng 4 min): Tạp chất F khoảng 0,2; tạp chất B khoảng 0,8; tạp chất C khoảng 1,3; tạp chất D khoảng 3,3; tạp chất E khoảng 3,7.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất B với pic của adrenalin ít nhất là 3,0.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng: tạp chất D là 0,7; tạp chất E là 0,6.
Tạp chất B, C, F: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Tạp chất D, E: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).
Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).
Tổng diện tích pic tất cả các tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất B: (1*R*)-2-amino-1-(3,4-dihydroxyphenyl)ethanol (noradrenalin).
Tạp chất C: 1-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-(methylamino)ethanon (adrenalon).
Tạp chất D: 4-[(1*R*)-2-(benzylmethylamino)-1-hydroxyethyl] benzen-1,2-diol.
Tạp chất E: 2-(benzylmethylamino)-1-(3,4-dihydroxyphenyl) ethanon.
Tạp chất F: Acid (1*R*)-1-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-(methylamino) ethansulfonic.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; phosphor pentoxyd; áp suất không quá 0,7 kPa; 18 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan khoảng 0,150 g chế phẩm trong 50 ml *acid acetic khan (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 18,32 mg $C_9H_{13}NO_3$

Bảo quản
Adrenalin phải được bảo quản trong bao bì kín, đóng đầy khí nitơ và tránh ánh sáng.

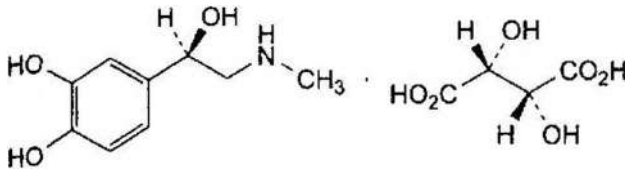
Loại thuốc
Chất chủ vận adrenoceptor, kích thích giao cảm.

Chế phẩm
Thuốc tiêm, thuốc nhỏ mắt.

ADRENALIN ACID TARTRAT

Adrenalinum acidum tartras

Adrenalin tartrat



$C_9H_{13}NO_3.C_4H_6O_6$ P.t.l: 333,3

Adrenalin acid tartrat là (1*R*)-1-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-(methylamino)ethanol hydrogen (2*R*,3*R*)-2,3-dihydroxy butandioat, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_9H_{13}NO_3.C_4H_6O_6$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc trắng hơi xám. Dễ tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của tủa adrenalin base thu được từ phép thử B phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của adrenalin base thu được khi cho 50 mg adrenalin tartrat chuẩn hòa tan trong 5 ml *dung dịch natri metabisulfit 0,5 %*, để hỗn hợp ở nhiệt độ phòng ít nhất 30 min rồi lọc qua phễu thủy tinh xốp. Chuẩn bị mẫu đo dưới dạng đĩa nén.

B. Hòa tan 5 g chế phẩm trong 50 ml *dung dịch natri metabisulfit 0,5 %*, thêm *amoniac (TT)* để kiềm hóa. Để hỗn hợp ở nhiệt độ phòng ít nhất 15 min rồi lọc. Dịch lọc dùng để thử phản ứng C. Rửa tủa 3 lần, mỗi lần với 10 ml *methanol (TT)*, sấy khô ở 80 °C. Góc quay cực riêng (Phụ lục 6.4) của tủa (adrenalin base) từ -50° đến -53,5°. Dùng dung dịch 2 % tủa trong *dung dịch acid hydrocloric 0,5 M (TT)* để đo.

C. 0,2 ml dịch lọc trong phép thử B phải cho phản ứng (B) của tartrat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Kiểm tra ngay độ trong và màu sắc của dung dịch thu được.

Dung dịch không được đục hơn độ đục của hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn dung dịch màu mẫu VN_5 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch trong điều kiện tránh ánh sáng.

Pha động A: Acetonitril (TT_1) - hỗn hợp dung môi A (5 : 95).

Pha động B: Acetonitril (TT_1) - hỗn hợp dung môi A (45 : 55).

Hỗn hợp dung môi A: Hòa tan 5,0 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 2,6 g *natri octansulfonat (TT)* vào *nước dùng cho sắc ký (TT)* (thường cần khuấy ít nhất 30 min để hòa tan hoàn toàn), pha loãng thành 1000 ml với cùng dung môi. Điều chỉnh đến pH 2,8 bằng *acid phosphoric (TT)*.

Hỗn hợp dung môi B: Acetonitril (TT_1) - hỗn hợp dung môi A (130 : 870).

Dung dịch mẫu trắng: Dung dịch acid hydrocloric 0,1 M - hỗn hợp dung môi B (1 : 9).

Dung dịch thử: Hòa tan 75 mg chế phẩm bằng 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng dung dịch thu được thành 50 ml bằng hỗn hợp dung môi B.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi B. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi B.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 1,5 mg noradrenalin tartrat chuẩn (tạp chất B) và 1,5 mg *adrenalon hydroclorid (TT)* (tạp chất C) bằng hỗn hợp dung môi B, thêm 1,0 ml dung dịch thử và pha loãng thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi B.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan hỗn hợp tạp chất chuẩn của adrenalin (chứa tạp chất D và E) có trong 1 lọ chuẩn trong 0,1 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và 0,9 ml hỗn hợp dung môi B.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 7,5 mg adrenalin tartrat có chứa tạp chất A chuẩn bằng 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 5,0 ml bằng hỗn hợp dung môi B.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (3 µm).

Nhiệt độ cột: 50 °C.

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

Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 15	92 → 50	8 → 50
15 - 20	50 → 92	50 → 8
20 - 25	92	8

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo hỗn hợp tạp chất chuẩn của adrenalin và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của tạp chất D và tạp chất E. Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo adrenalin tartrat có chứa tạp chất A chuẩn và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của tạp chất A.

Thời gian lưu tương đối so với adrenalin (thời gian lưu khoảng 4 min): Tạp chất B khoảng 0,8; tạp chất C khoảng 1,3; tạp chất A khoảng 3,2; tạp chất D khoảng 3,3; tạp chất E khoảng 3,7.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất B với pic của adrenalin ít nhất là 3,0.

Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng: tạp chất D là 0,7; tạp chất E là 0,6.
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).
Tạp chất B, C: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Tạp chất D, E: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).
Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 6 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,6 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Chưa xác định cấu trúc.
Tạp chất B: (1*R*)-2-amino-1-(3,4-dihydroxyphenyl)ethanol (noradrenalin).
Tạp chất C: 1-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-(methylamino)ethanon (adrenalon).
Tạp chất D: 4-[(1*R*)-2-(benzylmethylamino)-1-hydroxyethyl) benzen-1,2-diol.
Tạp chất E: 2-(benzylmethylamino)-1-(3,4-dihydroxyphenyl) ethanon.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; trong chân không; 18 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan khoảng 0,300 g chế phẩm trong 50 ml *acid acetic khan (TT)*, đun nóng nếu cần và chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* đến màu xanh. Dùng 0,1 ml *dung dịch tím tinh thể (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 33,33 mg $C_{13}H_{19}NO_9$.

Bảo quản
Trong lọ kín hoặc ống hàn kín, đóng trong điều kiện chân không hoặc nạp đầy khí trơ, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chủ vận adrenoceptor, kích thích giao cảm.

Chế phẩm
Thuốc tiêm.

THUỐC TIÊM ADRENALIN
Injectio Adrenalini
Thuốc tiêm epinephrin

Là dung dịch vô khuẩn đẳng trương của adrenalin tartrat 0,18 % trong nước để pha thuốc tiêm.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng adrenalin, $C_9H_{13}NO_3$, từ 0,09 g đến 0,11 g trong 100 ml chế phẩm.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Lấy 1 ml chế phẩm, thêm từng giọt *dung dịch sắt (III) clorid 0,25 % (TT)* đến khi màu xanh lục xuất hiện. Thêm từ từ *dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT)*, dung dịch chuyển sang màu xanh lam và sau đó chuyển sang màu đỏ.
C. Lấy 10 ml chế phẩm, thêm 2 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 10 % (TT)*, thêm *dung dịch iod-iodid (TT)* vừa đủ để có màu nâu và thêm từng giọt *dung dịch natri thiosulfat 0,1 M (TT)* để loại bỏ lượng thừa iod, sẽ xuất hiện màu đỏ.

pH
Từ 2,8 đến 3,6 (Phụ lục 6.2).

Noradrenalin
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch chứa 4,0 g *tetramethylamoni hydrosulfat (TT)*, 1,1 g *natri heptansulfonat (TT)* và 2 ml *dung dịch Trilon B 0,1 M (TT)* trong hỗn hợp gồm 950 ml *nước* và 50 ml *methanol (TT)*, điều chỉnh đến pH 3,5 bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*.
Dung dịch thử: Dung dịch chế phẩm.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch noradrenalin tartrat 0,0018 % trong pha động.
Dung dịch phân giải: Dung dịch chứa adrenalin tartrat chuẩn 0,0018 % và noradrenalin tartrat 0,0018 % trong pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm) (cột Nucleosil C18 là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 205 nm.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Thử nghiệm chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa hai pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch phân giải không nhỏ hơn 2,0.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử diện tích của bất kỳ pic nào tương ứng với noradrenalin thì không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

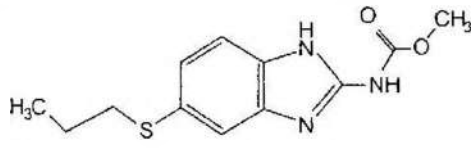
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động và điều kiện sắc ký: Như mô tả trong phần "Noradrenalin".
Dung dịch chuẩn: Dung dịch adrenalin tartrat chuẩn 0,02 % trong pha động.
Dung dịch thử: Pha loãng 1 thể tích chế phẩm thành 10 thể tích bằng pha động.
Dung dịch phân giải: Dung dịch adrenalin tartrat chuẩn 0,02 % và noradrenalin tartrat 0,02 % trong pha động.
Cách tiến hành:
Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa hai pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch phân giải không nhỏ hơn 2,0.
Tính hàm lượng của adrenalin, $C_9H_{13}NO_3$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_9H_{13}NO_3$ của dung dịch chuẩn.

Bảo quản
Nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kích thích giao cảm.

Hàm lượng thường dùng
1 mg/ml.

ALBENDAZOL
Albendazolum



$C_{12}H_{15}N_3O_2S$ P.t.l: 265,3

Albendazol là methyl [5-(propylsulfanyl)-1*H*-benzimidazol-2-yl] carbamat, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{12}H_{15}N_3O_2S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột màu trắng hay hơi vàng.
Dễ tan trong acid formic khan và dimethylformamid, hơi tan trong methanol và cloroform, rất khó tan trong methylen clorid, thực tế không tan trong nước và ethanol 96 %.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của albendazol chuẩn.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong hỗn hợp *acid formic khan - methylen clorid* (1 : 9) để được 10 ml. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn màu mẫu VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch amoni dihydrophosphat 0,167 % - methanol (300 : 700).
Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong 5 ml *methanol (TT)* có chứa 1 % (tt/tt) *acid sulfuric (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong 10 ml *methanol (TT)* có chứa 1 % (tt/tt) *acid sulfuric (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 0,5 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng pha động.
Dung dịch phân giải: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm và 50 mg oxybendazol chuẩn trong 5 ml *methanol (TT)* có chứa 1 % (tt/tt) *acid sulfuric (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm), kích thước lỗ xốp là 10 nm, hàm lượng carbon khoảng 19 %.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 0,7 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính trong sắc ký đồ ít nhất bằng 50 % thang đo.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa các pic tương ứng với albendazol và oxybendazol ít nhất là 3,0.
Tiến hành sắc ký dung dịch thử với thời gian bằng 1,5 lần thời gian lưu của albendazol.
Thời gian lưu tương đối so với albendazol: Tạp chất D khoảng 0,40; tạp chất B và C khoảng 0,43; tạp chất E khoảng 0,47; tạp chất F khoảng 0,57; tạp chất A khoảng 0,80.
Giới hạn: Trong sắc ký đồ thu được của dung dịch thử:
Diện tích của bất kỳ pic phụ nào, ngoài pic chính, không được lớn hơn 1,5 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (0,75 %).
Tổng diện tích của các pic phụ không lớn hơn 3 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1,5 %).
Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu.
Ghi chú:
Tạp chất A: 5-(propylsulphanyl)-1*H*-benzimidazol-2-amin.
Tạp chất B: methyl [5-(propylsulphinyl)-1*H*-benzimi-dazol-2-yl]carbamat.
Tạp chất C: methyl [5-(propylsulphonyl)-1*H*-benzimi-dazol-2-yl]carbamat.
Tạp chất D: 5-(propylsulphonyl)-1*H*-benzimidazol-2-amin.

Tạp chất E: methyl (1*H*-benzimidazol-2-yl)carbamat.
Tạp chất F: methyl [5-(methylsulphanyl)-1*H*-benzimi-dazol-2-yl]carbamat.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 4 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 3 ml *acid formic khan (TT)* và thêm 40 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Không để nhiệt độ cao trong khi chuẩn độ, lắc thật kỹ và dừng ngay chuẩn độ khi đến điểm kết thúc.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 26,53 mg $C_{12}H_{15}N_3O_2S$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc trị giun sán.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN ALBENDAZOL
Tabellae Albendazoli

Là viên nén chứa albendazol.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng albendazol, $C_{12}H_{15}N_3O_2S$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel F_{254}.
Dung môi khai triển: Cloroform - acid acetic băng - ether (60 : 10 : 10).
Dung dịch thử: Hòa tan một lượng bột thuốc đã nghiền mịn chứa khoảng 100 mg albendazol trong 20 ml *acid acetic băng (TT)*. Lọc.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 25 mg albendazol chuẩn trong 5 ml *acid acetic băng (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để bay hơi hết dung môi. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có giá trị R_f và màu sắc tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

B. Trong phần Định lượng, phổ hấp thụ tử ngoại của dung dịch thử phải cho đỉnh hấp thụ cực đại ở bước sóng 308 ± 1 nm (Phụ lục 4.1).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 30 min.
Dung dịch methanol acid : Lấy 50 ml *methanol (TT)* cho vào bình định mức 100 ml thêm 2 ml *acid hydrocloric (TT)*, pha loãng vừa đủ với *methanol (TT)* đến vạch.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 90 mg albendazol chuẩn cho vào bình định mức 250 ml, thêm 10 ml *dung dịch methanol acid*, lắc để hoà tan. Pha loãng với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* vừa đủ đến vạch và lắc đều. Lấy 5,0 ml dung dịch này cho vào bình định mức 200 ml, pha loãng với *dung dịch natri hydroxyd 0,1M (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Cách tiến hành:
Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc với *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ tương đương với dung dịch chuẩn. Đo độ hấp thụ của dung dịch này và dung dịch chuẩn ở bước sóng cực đại khoảng 308 nm và cực tiểu khoảng 350 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm. Dùng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng.
Tính hàm lượng albendazol, $C_{12}H_{15}N_3O_2S$, đã hòa tan theo cách tính trong phần Định lượng.
Yêu cầu: Không được ít hơn 80 % (Q) lượng albendazol, $C_{12}H_{15}N_3O_2S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

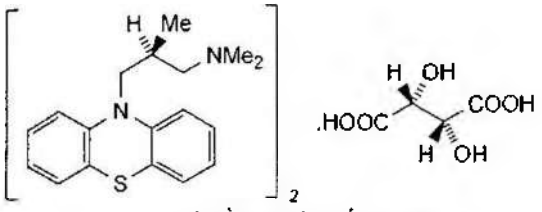
Định lượng
Dung dịch thử: Cân 20 viên và tính khối lượng trung bình của viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột tương ứng với khoảng 0,1 g albendazol vào bình định mức 250 ml, thêm 150 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M trong methanol (TT)*, lắc cho tan hoàn toàn. Sau đó thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M trong methanol (TT)* vừa đủ đến vạch. Lắc đều, lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Lấy chính xác 5,0 ml dịch lọc cho vào bình định mức 250 ml, pha loãng với *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Dung dịch chuẩn: Tiến hành như với dung dịch thử, thay bột viên bằng 100 mg albendazol chuẩn.
Đo độ hấp thụ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn ở bước sóng cực đại khoảng 308 nm và cực tiểu khoảng 350 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm. Dùng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng $C_{12}H_{15}N_3O_2S$ dựa theo hàm lượng của albendazol chuẩn và tỷ số của hiệu số độ hấp thụ ở 2 bước sóng cực đại, cực tiểu của dung dịch thử so với dung dịch chuẩn.

Bảo quản
Trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc trị giun sán phổ rộng.

Hàm lượng thường dùng
200 mg, 400 mg.

ALIMEMAZIN TARTRAT
Alimemazini tartras



và đồng phân đối quang

$(C_{18}H_{22}N_2S)_2.C_4H_6O_6$ P.t.l: 747,0

Alimemazin tartrat là (*RS*)-dimethyl (2-methyl-3-phenothiazin-10-ylpropyl)amin (2*R*,3*R*)-tartrat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $(C_{18}H_{22}N_2S)_2.C_4H_6O_6$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột màu trắng hay màu kem nhạt. Bị sẫm màu dưới tác động của ánh sáng.
Dễ tan trong nước, hơi tan trong ethanol 96 %, rất khó tan trong ether.

Định tính
A. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 10 ml *nước* và thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*. Chiết với 25 ml *ether (TT)*, rửa dịch chiết bằng 5 ml *nước*, làm khan dịch chiết bằng *natri sulfat khan (TT)*, bốc hơi đến khô và hòa tan cắn thu được trong 1 ml *dicloromethan (TT)*.
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của dung dịch thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của alimemazin chuẩn.
B. Điểm chảy: Từ 159 °C đến 163 °C (Phụ lục 6.7).

pH
pH của dung dịch 2 % phải từ 5,0 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan
Không được quá 0,5 %.
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4). Tiến hành tránh ánh sáng.
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi khai triển: *Aceton - diethylamin - cyclohexan* (10 : 10 : 80).
Dung dịch thử: Dung dịch chế phẩm 2,0 %, pha trong hỗn hợp *methanol - diethylamin* (95 : 5).
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch chế phẩm 0,010 %, pha trong hỗn hợp *methanol - diethylamin* (95 : 5).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên vừa được pha. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 12 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bỏ qua các vết sắc ký tại vạch xuất phát, bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử ngoài vết chính không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C; áp suất không quá 0,7 kPa).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 1).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp chuẩn độ trong môi trường khan (Phụ lục 10.6), phương pháp 1).
Dùng 1,00 g chế phẩm để định lượng và *dung dịch tím tinh thể (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 37,35 mg $(C_{18}H_{22}N_2S)_2.C_4H_6O_6$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Đối kháng thụ thể histamin H_1, thuốc an thần.

Chế phẩm
Viên nén, dung dịch uống dùng cho trẻ em.

SIRÔ ALIMEMAZIN
Sirupi Alimemazini

Là sirô chứa alimemazin tartrat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Sirô thuốc" (Phụ lục 1.4) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng alimemazin tartrat, $C_{36}H_{44}N_4S_2.C_4H_6O_6$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4). Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng, các dung dịch dùng ngay sau khi pha.
Bản mỏng, dung môi khai triển, hỗn hợp dung môi và *cách tiến hành* như mô tả ở mục Tạp chất liên quan.
Dung dịch thử: Pha loãng 20 lần dung dịch thử của mục Tạp chất liên quan bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20 mg alimemazin tartrat chuẩn trong 15 ml *nước* và thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, trộn đều. Chiết 2 lần, mỗi lần với 15 ml *cloroform (TT)*, gộp các dịch chiết cloroform và loại nước bằng *natri sulfat khan (TT)*. Bốc hơi dịch chiết cloroform

đến khô trên cách thủy. Hòa tan cắn trong 20 ml hỗn hợp dung môi.
Sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho một vết chính tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, hình dạng và kích thước.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4). Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng, các dung dịch dùng ngay sau khi pha.
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi khai triển: *Aceton - diethylamin - cyclohexan* (10 : 10 : 80).
Hỗn hợp dung môi: *Methanol - diethylamin* (95 : 5).
Dung dịch thử : Pha loãng một lượng sirô, tương ứng với khoảng 20 mg alimemazin tartrat, với 15 ml *nước* và thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, trộn đều. Chiết 2 lần, mỗi lần với 15 ml *cloroform (TT)*, gộp các dịch chiết cloroform và loại nước bằng *natri sulfat khan (TT)*. Bốc hơi dịch chiết cloroform đến khô trên cách thủy. Hòa tan cắn trong 1 ml hỗn hợp dung môi
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 50 lần dung dịch thử bằng hỗn hợp dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.
Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2,0 %). Bỏ qua bất kỳ vết nào tại điểm chấm sắc ký.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Pha động: Dung dịch *natri heptansulfonat (TT)* 0,005 M trong hỗn hợp *methanol - nước - dung dịch acid acetic 6 M* (65 : 34 : 1). Điều chỉnh tỷ lệ các thành phần dung môi nếu cần.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng sirô, tương ứng với khoảng 5 mg alimemazin tartrat, vào bình định mức 100 ml và pha loãng bằng pha động vừa đủ đến vạch, trộn đều. Lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch alimemazin tartrat chuẩn 0,005 % trong pha động (0,05 mg/ml). Lọc qua màng lọc 0,45 mm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, thừa số dung lượng *k'* phải từ 2,0 đến 5,0; số đĩa lý thuyết không nhỏ hơn 1200 và hệ số đối xứng tính trên pic alimemazin tartrat không được lớn hơn 3,5. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic alimemazin tartrat từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt các dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng phần trăm alimemazin tartrat, $C_{36}H_{44}N_4S_2.C_4H_6O$, trong chế phẩm so với lượng ghi trên nhãn, dựa theo diện tích pic alimemazin tartrat trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, khối lượng riêng của sirô (g/ml) và hàm lượng $C_{36}H_{44}N_4S_2.C_4H_6O$ đã biết của alimemazin tartrat chuẩn.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín. Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng histamin H_1; thuốc an thần.

Hàm lượng thường dùng
7,5 mg/5 ml và 30 mg/5 ml.

VIÊN NÉN ALIMEMAZIN
Tabellea Alimemazini
Viên nén trimeprazin

Là viên nén chứa alimemazin tartrat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng alimemazin tartrat, $C_{36}H_{44}N_4S_2.C_4H_6O_6$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Thêm 10 ml *nước* và 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* vào một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 40 mg alimemazin tartrat. Lắc, chiết với 15 ml *ether (TT)*. Rửa lớp ether với 5 ml *nước*. Loại nước bằng *natri sulfat khan (TT)*, bốc hơi ether đến khô trên cách thủy. Hòa tan cắn trong 0,4 ml *dicloromethan (TT)*. Phổ hấp thụ hồng ngoại của dung dịch dicloromethan thu được (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của alimemazin.
B. Thêm 1 ml hỗn hợp đồng thể tích của *formaldehyd (TT)* và *acid sulfuric (TT)* vào một lượng bột viên tương ứng với khoảng 1 mg alimemazin tartrat. Màu đỏ tía xuất hiện.

Độ hòa tan
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.

Môi trường hòa tan: 500 ml *dung dịch acid hydrochloric 0,01 M (TT).*
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, hút dịch hòa tan, lọc. Pha loãng nếu cần với môi trường hòa tan. Đo độ hấp thụ của dung dịch thử ở bước sóng cực đại khoảng 251 nm (Phụ lục 4.1), sử dụng cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan, so sánh với dung dịch chuẩn alimemazin tartrat có cùng nồng độ pha trong môi trường hòa tan.
Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng alimemazin tartrat so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}
Dung môi khai triển: Aceton - diethylamin - cyclohexan (10 : 10 : 80).
Dung dịch thử: Chiết một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 0,1 g alimemazin tartrat với 10 ml hỗn hợp dung môi *methanol - diethylamin* (95 : 5), lọc.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng dung dịch (1) thành 200 lần với cùng hỗn hợp dung môi trên.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên (mới pha). Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.
Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (0,5 %). Bỏ qua bất kỳ vết nào còn nằm tại điểm chấm sắc ký.

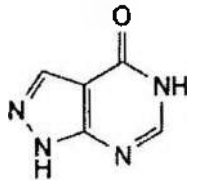
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch *natri heptansulfonat (TT)* 0,005 M trong hỗn hợp *methanol - nước - dung dịch acid acetic 6 M* (65 : 34 : 1) điều chỉnh tỷ lệ thành phần dung môi nếu cần.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 5 mg alimemazin tartrat, cho vào bình định mức 100 ml, hòa tan trong pha động và thêm pha động đến vừa đủ. Lắc đều và lọc.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch alimemazin tartrat chuẩn 0,005 % trong pha động (0,05 mg/ml).
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng của pic alimemazin không được lớn hơn 3,5 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic alimemazin từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 1,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt các dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng phần trăm alimemazin tartrat, $C_{36}H_{44}N_4S_2.C_4H_6O$, trong chế phẩm dựa theo diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{36}H_{44}N_4S_2.C_4H_6O$ của alimemazin tartrat chuẩn.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng histamin H_1; thuốc an thần.

Hàm lượng thường dùng
5 mg.

ALOPURINOL
Allopurinolum



$C_5H_4N_4O$ P.t.l: 136,1

Alopurinol là 1,5-dihydro-4*H*-pyrazolo[3,4-*d*]pyrimidin-4-on, phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % $C_5H_4N_4O$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột trắng hay gần như trắng.
Rất khó tan trong nước và trong ethanol 96 %, tan trong các dung dịch hydroxyd kiềm loãng.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của alopurinol chuẩn.
B. Hòa tan 10 mg chế phẩm trong 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1). Dung dịch thu được phải cho một cực đại hấp thụ ở bước sóng 250 nm và một cực tiểu hấp thụ ở bước sóng 231 nm. Tỷ số giữa độ hấp thụ ở bước sóng 231 nm và độ hấp thụ ở bước sóng 250 nm phải từ 0,52 đến 0,62.
C. Hòa tan 0.3 g chế phẩm trong 2,5 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* và thêm 50 ml *nước*. Thêm từ từ,

vừa thêm vừa lắc 5 ml *dung dịch bạc nitrat 4,25 % (TT)*. Xuất hiện tủa trắng, tủa này không tan khi cho thêm 5 ml *amoniac (TT)*.

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

Bản mỏng: *Silica gel* F_{254}.

Dung môi khai triển: *Ethanol - dicloromethan* (40 : 60).

Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong *amoniac (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20 mg alopurinol chuẩn trong *amoniac (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí và kích thước.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Các dung dịch được pha trước khi dùng. Bảo quản và tiêm mẫu ở 8 °C, sử dụng thiết bị tiêm mẫu tự động.

Pha động: *Dung dịch kali dihydrophosphat 0,125 %.*

Dung dịch thử (1): Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong 2,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và pha loãng ngay thành 50,0 ml bằng pha động.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong 5,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và pha loãng ngay thành 250,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 2,0 ml dung dịch thử (1) thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5,0 mg tạp chất A chuẩn của alopurinol; 5,0 mg tạp chất B chuẩn của alopurinol và 5,0 mg tạp chất C chuẩn của alopurinol trong 5,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và pha loãng ngay thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 20,0 mg alopurinol chuẩn trong 5,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và pha loãng ngay thành 250,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.

Tốc độ dòng: 1,4 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của alopurinol.

Các chất sẽ rửa giải theo thứ tự: Tạp chất A, tạp chất B, tạp chất C và alopurinol.

Thời gian lưu của alopurinol khoảng 10 min.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất B với pic của tạp chất C ít nhất là 1,1.

Giới hạn:

Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).

Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).

Tạp chất C: Diện tích pic tạp chất C không được lớn hơn diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).

Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất (trừ pic của tạp chất A, B và C) không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: 5-amino-1*H*-pyrazol-4-carboxamid.

Tạp chất B: 5-(formylamino)-1*H*-pyrazol-4-carboxamid.

Tạp chất C: 5-(4*H*-1,2,4-triazol-4-yl)-1*H*-pyrazol-4-carboxamid.

Tạp chất D: Ethyl 5-amino-1*H*-pyrazol-4-carboxylat.

Tạp chất E: Ethyl 5-(formylamino)-1*H*-pyrazol-4-carboxylat.

Tạp chất F: Diazan (hydrazin).

Tạp chất D và E

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Các dung dịch được pha trước khi dùng. Bảo quản và tiêm mẫu ở 8 °C, sửa dụng thiết bị tiêm mẫu tự động.

Pha động: *Methanol - dung dịch A* (10 : 90).

Dung dịch A: Dung dịch *kali dihydrophosphat* 0,125 %.

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong 5,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và pha loãng ngay thành 100,0 ml bằng dung dịch A.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 5,0 mg tạp chất D chuẩn của alopurinol và 5,0 mg tạp chất E chuẩn của alopurinol trong 5,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và pha loãng ngay thành 100,0 ml bằng dung dịch A. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng dung dịch A.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (5 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *base-deactivated octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (3 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.

Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 1,5 lần thời gian lưu của tạp chất E.

Thời gian lưu của tạp chất D khoảng 3,6 min; tạp chất E khoảng 4,5 min.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu, độ phân giải giữa pic của tạp chất D với pic của tạp chất E ít nhất là 2,0.

Giới hạn:
Tạp chất D: Diện tích pic tạp chất D không được lớn hơn diện tích pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,1 %).
Tạp chất E: Diện tích pic tạp chất E không được lớn hơn diện tích pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,1 %).

Tạp chất F
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Với những điều kiện dưới đây, bất kỳ hydrazin nào có trong mẫu thử cũng phản ứng với benzaldehyd để tạo thành benzaldehyd azin.
Pha động: *2-propanol - hexan* (5 : 95).
Hỗn hợp dung môi: *Methanol - dung dịch natri hydroxyd loãng* (50 : 50).
Dung dịch A: Hòa tan 2,0 g *benzaldehyd (TT)* vào hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Chuẩn bị dung dịch trước khi dùng.
Dung dịch thử: Hòa tan 250,0 mg chế phẩm vào 5,0 ml hỗn hợp dung môi, thêm 4 ml dung dịch A, lắc đều và để yên ở nhiệt độ phòng trong 2,5 h. Thêm 5,0 ml *hexan (TT)* và lắc trong 1 min. Để yên cho tách lớp và lấy lớp phía trên.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10,0 mg *hydrazin sulfat (TT)* trong hỗn hợp dung môi bằng siêu âm trong 2 min và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Tiếp tục pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Lấy 5,0 ml dung dịch thu được, thêm 4,0 ml dung dịch A, trộn đều rồi để yên 2,5 h ở nhiệt độ phòng. Thêm 5,0 ml *hexan (TT)* và lắc trong 1 min. Để yên cho tách lớp và lấy lớp phía trên.
Dung dịch mẫu trắng: Lấy 5,0 ml hỗn hợp dung môi, thêm 4,0 ml dung dịch A trộn đều rồi để yên 2,5 h ở nhiệt độ phòng. Thêm 5,0 ml *hexan (TT)* và lắc trong 1 min. Để yên cho tách lớp và lấy lớp phía trên.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh *cyanosilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm), kích thước lỗ xốp 10 nm.
Nhiệt độ cột: 30 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 310 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch mẫu trắng, dung dịch đối chiếu và dung dịch thử.
Thời gian lưu tương đối so với benzaldehyd (thời gian lưu khoảng 2,8 min): Benzaldehyd azin khoảng 0,8.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu, độ phân giải giữa pic của benzaldehyd azin với pic của benzaldehyd ít nhất là 2,0; tỉ số tín hiệu trên nhiễu ít nhất là 20 đối với pic của benzaldehyd azin.
Giới hạn:
Tạp chất F: Diện tích pic của benzaldehyd azin trên sắc ký đồ dung dịch thử không được lớn hơn diện tích của pic tương ứng trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (10 phần triệu hydrazin sulfat tương ứng với 2,5 phần triệu hydrazin).

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9), phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (3).
Tính hàm lượng alopurinol, $C_5H_4N_4O$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (3) và hàm lượng $C_5H_4N_4O$ của alopurinol chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Điều trị bệnh gút và tăng acid uric máu.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN ALOPURINOL
Tabellae Allopurinoli

Là viên nén chứa alopurinol.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng alopurinol, $C_5H_4N_4O$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lấy một lượng bột viên tương đương với 50 mg alopurinol, thêm 10 ml dung *dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*, nghiền trộn kỹ, lọc. Acid hóa dịch lọc bằng *dung dịch acid acetic 1 M (TT)* và để yên 10 min đến 15 min. Lọc lấy tủa, rửa tủa bằng 3 ml *ethanol (TT)* sau đó bằng 4 ml *ether (TT)*. Để khô ngoài không khí 15 min sau đó sấy ở 105 °C trong 3 h. Phổ hấp thụ hồng ngoại của cắn

thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của alopurinol chuẩn.
B. Trong phần Định lượng, phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử trong khoảng từ 230 nm đến 350 nm có một cực đại ở bước sóng khoảng 250 nm.
C. Lắc một lượng bột viên tương ứng với 0,1 g alopurinol với 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 1,25 M (TT)*, thêm 3 ml *dung dịch phosphomolybdotungstic (TT)* và 5 ml *dung dịch natri carbonat 20 % (TT)*, màu xanh xám sẽ xuất hiện.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*.
Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan và lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc với *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* để được dung dịch thử có nồng độ tương đương với dung dịch chuẩn.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 40 mg alopurinol chuẩn, chuyển vào bình định mức 200 ml, thêm 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và lắc siêu âm 2 min, tiếp tục lắc cơ học trong khoảng 10 min và thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* đến vừa đủ thể tích. Pha loãng dung dịch thu được với *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* để được dung dịch có nồng độ alopurinol khoảng 8 µg/ml.
Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng alopurinol, $C_5H_4N_4O$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

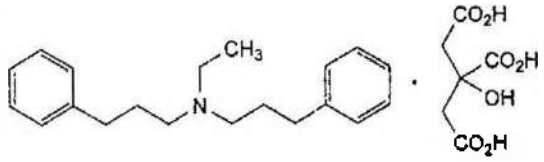
Định lượng
Dung dịch thử: Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,1 g alopurinol và chuyển vào bình định mức 250 ml, thêm 20 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,05 M (TT)*, lắc trong 20 min, thêm 80 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, lắc trong 10 min, thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* đến định mức, lắc đều, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 250,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 100 mg alopurinol chuẩn, chuyển vào bình định mức 250 ml, thêm 20 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,05 M (TT)*, lắc đều để hòa tan và thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* đến định mức. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 250,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của các dung dịch thu được ở bước sóng 250 nm, dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng của alopurinol, $C_5H_4N_4O$, dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_5H_4N_4O$ trong alopurinol chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Dự phòng gút và tăng acid uric máu.

Hàm lượng thường dùng
50 mg; 100 mg; 300 mg.

ALVERIN CITRAT
Alverin citratum



$C_{20}H_{27}N.C_6H_8O_7$ P.t.l: 473,6

Alverin citrat là *N*-ethyl-3-phenyl-*N*-(3-phenylpropyl) propan-1-amin dihydro 2-hydroxypropan-1,2,3-tricarboxylat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{20}H_{27}N.C_6H_8O_7$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng, chảy ở khoảng 104 °C. Khó tan trong nước và methylen clorid, hơi tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của alverin citrat chuẩn.

pH
Dung dịch chế phẩm 0,5 % trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* phải có pH từ 3,5 đến 4,5 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.
Dung dịch thử: Hoà tan 0,250 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi, thêm 2 ml *amoniac (TT)*. Lắc dung dịch thu được 3 lần, mỗi lần với 15 ml *methylen clorid (TT)*. Gộp các lớp dịch ở dưới, lắc với *natri sulfat khan (TT)*, lọc và bốc hơi dịch lọc bằng cất quay ở nhiệt độ không quá 30 °C. Hòa tan cắn thu được bằng *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hoà tan 5 mg tạp chất D chuẩn của alverin (tạp chất D citrat) trong 5 ml *nước*, thêm 1 ml *amoniac (TT)*. Lắc dung dịch thu được 3 lần, mỗi lần với 5 ml *methylen clorid (TT)*. Gộp các lớp dịch ở dưới, lắc với *natri sulfat khan (TT)*, lọc và bốc hơi dịch lọc bằng cất

quay ở nhiệt độ không quá 30 °C. Hòa tan cắn thu được bằng *methylen clorid (TT)*, thêm 0,2 ml dung dịch thử và pha loãng thành 2,0 ml bằng *methylen clorid (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *methylen clorid (TT)*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng *methylen clorid (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan alverin chuẩn dùng để định tính pic (chứa tạp chất C và E) có trong một lọ chuẩn bằng 1 ml *methylen clorid (TT)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột silica nung chảy, chiều dài 25 m, đường kính 0,32 mm, pha tĩnh *poly(dimethyl)(diphenyl)siloxan* (phim có độ dày 0,45 µm).
Khí mang: Khí heli dùng cho sắc ký.
Tốc độ dòng: 2,2 ml/min.
Tỷ lệ chia dòng: 1 : 11.
Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 7	120
	7 - 13	120 → 240
	13 - 21	240
	21 - 24	240 → 290
	24 - 39	290
Buồng tiêm		290
Detector		290

Detector: Ion hóa ngọn lửa.
Thể tích tiêm: 1 µl.
Cách tiến hành:
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo alverin chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic các tạp chất C và E. Thời gian lưu tương đối so với alverin (thời gian lưu khoảng 16 min): Tạp chất A khoảng 0,28; tạp chất B khoảng 0,29; tạp chất C khoảng 0,46; tạp chất D khoảng 0,97; tạp chất E khoảng 1,7.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất D với pic của alverin ít nhất là 3,0.
Giới hạn:
Tạp chất A, B: Với mỗi tạp chất, không được quá 0,1 %.
Tạp chất C: Không được quá 0,2 %.
Tạp chất D, E: Với mỗi tạp chất, không được quá 0,3 %.
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, không được quá 0,10 %.
Tổng tất cả các tạp chất không được quá 1,0 %.
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 1-cloro-3-phenylpropan.
Tạp chất B: 3-phenylpropan-1-ol.
Tạp chất C: *N*-ethyl-3-phenylpropan-1-amin.
Tạp chất D: *N*-(3-cyclohexylpropyl)-*N*-ethyl-3-phenylpropan-1-amin.
Tạp chất E: 3-phenyl-*N*,*N*-bis(3-phenylpropyl)propan-1-amin.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Dùng 0,5 g chế phẩm, thử theo phương pháp 7. Dùng 1 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 80 °C; 2 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,375 g chế phẩm trong 50 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 47,36 mg $C_{20}H_{27}N.C_6H_8O_7$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Giãn cơ trơn, giảm co thắt.

Chế phẩm
Thuốc nang.

NANG ALVERIN
Capsulae Alverini

Là nang cứng chứa alverin citrat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng alverin citrat, $C_{20}H_{27}N.C_6H_8O_7$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi triển khai: *Cloroform - methanol* (90 : 10).
Dung dịch thử: Hòa tan một lượng bột thuốc đã nghiền mịn có chứa khoảng 100 mg alverin citrat trong 10 ml *methanol (TT)*, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch alverin citrat chuẩn 1 % trong *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng

254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vị trí, kích thước và màu sắc phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Trong phép thử Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng thời gian lưu với pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động và *điều kiện sắc ký* được thực hiện giống như trong mục Định lượng.
Dung dịch thử: Lấy khoảng 20 ml dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ một phần dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc này (nếu cần) với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* để tạo thành dung dịch có nồng độ khoảng 0,006 % alverin cirat.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch alverin citrat chuẩn 0,006 % trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tính lượng alverin citrat, $C_{20}H_{27}N.C_6H_8O_7$, hòa tan dựa theo diện tích pic trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{20}H_{27}N.C_6H_8O_7$ trong alverin citrat chuẩn.
Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % (Q) lượng alverin citrat, $C_{20}H_{27}N.C_6H_8O_7$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

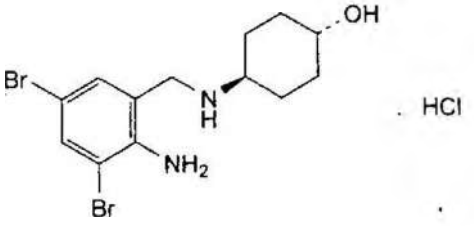
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Dung dịch natri lauryl sulfat 0,01 M* trong hỗn hợp *acetonitril - nước* (55 : 45), điều chỉnh pH đến 3,0 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch thử: Cân thuốc trong 20 nang, tính khối lượng trung bình bột thuốc trong nang và nghiền thành bột mịn, trộn đều. Cân một lượng bột viên tương ứng với 0,300 g alverin citrat vào bình định mức 250 ml, thêm 100 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm 1 h và thêm *methanol (TT)* đến định mức. Lắc kỹ trong 10 min và lọc (giấy lọc cellulose nitrat 0,45 µm là thích hợp). Pha loãng 10,0 ml dịch lọc thu được thành 20,0 ml với *nước*.
Dung dịch chuẩn: Pha dung dịch alverin citrat chuẩn 0,12 % trong *methanol (TT)*. Pha loãng 10,0 ml dung dịch này thành 20,0 ml với *nước*.
Điều kiện sắc ký :
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi *base-deactivated end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Thử nghiệm chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic alverin citrat trong 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng $C_{20}H_{27}N.C_6H_8O_7$ trong nang dựa theo diện tích pic trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{20}H_{27}N.C_6H_8O_7$ trong alverin citrat chuẩn.

Bảo quản
Đựng trong bao bì kín, bảo quản nơi thoáng mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống co thắt cơ trơn.

Hàm lượng thường dùng
40 mg, 60 mg.

AMBROXOL HYDROCLORID
Ambroxoli hydrochloridum



$C_{13}H_{18}Br_2N_2O.HCl$ P.t.l: 414,6

Ambroxol hydroclorid là *trans*-4-[(2-amino-3,5-dibromo-benzyl)amino]cyclohexanol hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{13}H_{18}Br_2N_2O.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hay vàng nhạt. Hơi tan trong nước, tan trong methanol, thực tế không tan trong methylen clorid.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của ambroxol hydroclorid chuẩn.
B. Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng acid. Pha loãng 2,0 ml dung dịch này thành 10,0 ml với *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (TT)*. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong dải bước sóng từ 200 nm đến 350 nm phải có 2 cực đại hấp thụ ở bước sóng 245 nm và 310 nm. Tỷ số độ hấp thụ cực đại ở

bước sóng 245 nm so với độ hấp thụ ở bước sóng 310 nm ($A_{245\,nm}/A_{310\,nm}$) từ 3,2 đến 3,4.

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Amoniac đậm đặc - 2-propanol - ethyl acetat - hexan (1 : 10 : 20 : 70).

Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50 mg ambroxol hydroclorid chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 2/3 chiều dài bản mỏng. Lấy bản mỏng ra, để khô bản mỏng ngoài không khí. Kiểm tra bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải tương tự về vị trí, kích thước với vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu.

D. Hòa tan khoảng 25 mg chế phẩm trong 2,5 ml *nước*, trộn với 1,0 ml *dung dịch amoniac loãng (TT)*, để yên trong 5 min. Lọc và acid hóa dịch lọc bằng *dung dịch acid nitric loãng (TT)*. Dịch lọc phải cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,75 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 15 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu V_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Từ 4,5 đến 6,0 (Phụ lục 6.2)

Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.

Pha động: Hỗn hợp đồng thể tích của *acetonitril (TT)* với một dung dịch được chuẩn bị như sau: Hòa tan 1,32 g *amoni phosphat (TT)* trong 900 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 7,0 bằng *acid phosphoric (TT)* và pha loãng thành 1000 ml với *nước*.

Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với *nước*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml với pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Để tạo tạp chất B, hòa tan 5 mg chế phẩm trong 0,2 ml *methanol (TT)*, thêm 0,04 ml hỗn hợp gồm 1 thể tích *formaldehyd (TT)* và 99 thể tích *nước*. Làm nóng ở 60 °C trong 5 min. Làm bay hơi đến khô dưới luồng khí nitrogen. Hòa tan cắn trong 5 ml *nước* và pha loãng thành 20,0 ml với pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,0) mm được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 248 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

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

Thời gian chạy sắc ký gấp 3 lần thời gian lưu của ambroxol.

Thời gian lưu tương đối so với ambroxol (thời gian lưu khoảng 9 min) của tạp chất B khoảng 0,6.

Định tính các tạp chất: Dùng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic tạp chất B.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic tạp chất B và ambroxol phải ít nhất bằng 4,0.

Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, các pic tạp chất nếu có phải đáp ứng giới hạn sau:

Từng tạp chất: Diện tích của từng pic tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).

Bỏ qua tất cả các pic có diện tích pic nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Ghi chú

Tạp chất A: (2-amino-3,5-dibromophenyl)methanol.

Tạp chất B: *trans*-4-(6,8-dibromo-1,4-dihydroquinazolin-3(2*H*)-yl) cyclohexanol.

Tạp chất C: *trans*-4-[[(*E*)-2-amino-3,5-dibromobenzyliden]amino] cyclohexanol.

Tạp chất D: *cis*-4-[(2-amino-3,5-dibromobenzyl)amino]cyclo hexanol.

Tạp chất E: 2-amino-3,5-dibromobenzaldehyd.

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong 70 ml *ethanol 96 % (TT)* và thêm 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*. Tiến hành định lượng bằng phương pháp chuẩn độ đo điện

thế (Phụ lục 10.2), dùng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Đọc thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* đã tiêu thụ giữa 2 điểm uốn của đường cong chuẩn độ.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 41,46 mg $C_{13}H_{19}Br_2ClN_2O$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc long đờm.

Chế phẩm
Viên nén, nang.

NANG AMBROXOL HYDROCLORID
Capsulae Ambroxoli hydrochloridi

Là nang cứng chứa ambroxol hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng ambroxol hydroclorid, $C_{13}H_{18}Br_2N_2O.HCl$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic ambroxol hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
B. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử trong phần Độ hòa tan, phổ thu được có hai cực đại hấp thụ tại bước sóng 244 nm và 308 nm.

Độ hòa tan
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Pha loãng dịch lọc thu được với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 15 µg/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 244 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. Tính hàm lượng ambroxol hydroclorid hòa tan trong mỗi nang dựa vào độ hấp thụ của dung dịch ambroxol hydroclorid chuẩn được pha trong môi trường hòa tan có nồng độ tương đương nồng độ ambroxol hydroclorid của dung dịch thử.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng ambroxol hydroclorid, $C_{13}H_{18}Br_2N_2O.HCl$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với pha động, điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Định lượng.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với 100 mg ambroxol hydroclorid vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 70 ml pha động, lắc siêu âm để hòa tan, thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động.
Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu và dung dịch thử với thời gian gấp đôi thời gian lưu của pic chính. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, tổng diện tích các pic phụ (không tính đến pic do dung môi) không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Acetonitril - dung dịch diamoni hydrophosphat 0,01 M được chỉnh đến pH 7.0 bằng acid phosphoric* (50 : 50).
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 30 mg ambroxol hydroclorid chuẩn hòa tan trong pha động và thêm pha động vừa đủ 50,0 ml. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang, trộn đều và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 30 mg ambroxol hydroclorid vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml pha động, lắc kỹ để hòa tan và thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch phân giải: Hòa tan 10 mg ambroxol hydroclorid chuẩn trong 0,2 ml *methanol (TT)*, thêm 0,04 ml hỗn hợp *formaldehyd - nước* (1 : 99). Đun nóng trong cách thủy ở 60 °C trong 30 min. Làm bay hơi đến khô dưới luồng khí nitrogen. Hòa tan cặn trong 5 ml *nước* và pha loãng thành 20,0 ml với pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 248 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, thời gian lưu tương đối của pic sản phẩm phân hủy (tạp chất B) so với ambroxol (thời gian lưu khoảng 9 min) khoảng 0,6; độ phân giải giữa pic tạp chất B và pic ambroxol không nhỏ hơn 4,0.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng ambroxol hydroclorid có trong chế phẩm dựa vào diện tích pic của ambroxol hydroclorid trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{13}H_{18}Br_2N_2O.HCl$ của ambroxol hydroclorid chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc long đờm.

Hàm lượng thường dùng
30 mg.

VIÊN NÉN AMBROXOL HYDROCLORID
Tabellae Ambroxoli hydrochloridi

Là viên nén chứa ambroxol hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng ambroxol hydroclorid, $C_{13}H_{18}Br_2N_2O.HCl$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic ambroxol hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
B. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử ở mục Độ hòa tan, phổ thu được có hai cực đại hấp thụ tại bước sóng 244 nm và 308 nm.

Độ hòa tan
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*
Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Pha loãng dịch lọc thu được với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 15 µg/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 244 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. Tính hàm lượng ambroxol hydroclorid hòa tan trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ của dung dịch ambroxol hydroclorid chuẩn được pha trong môi trường hòa tan có nồng độ tương đương nồng độ ambroxol hydroclorid của dung dịch thử.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng ambroxol hydroclorid, $C_{13}H_{18}Br_2N_2O.HCl$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với pha động, điều kiện sắc ký như mô tả ở mục Định lượng.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với 100 mg ambroxol hydroclorid vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 70 ml pha động, lắc siêu âm để hòa tan, thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động.
Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu và dung dịch thử với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của pic chính. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, tổng diện tích các pic phụ (không tính đến pic do dung môi) không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %).

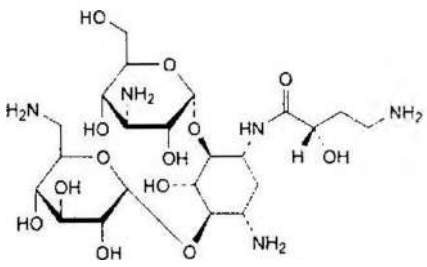
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - dung dịch diamoni hydrophosphat 0,01 M được chỉnh đến pH 7,0 bằng acid phosphoric (50 : 50).
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 30 mg ambroxol hydroclorid chuẩn hòa tan trong pha động và thêm pha động vừa đủ 50,0 ml. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 30 mg ambroxol hydroclorid vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml pha động, lắc kỹ để hòa tan và thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch phân giải: Hòa tan 10 mg ambroxol hydroclorid chuẩn trong 0,2 ml *methanol (TT)*, thêm 0,04 ml hỗn hợp *formaldehyd - nước* (1 : 99). Làm nóng ở 60 °C trong 30 min. Làm bay hơi đến khô dưới luồng khí nitrogen. Hòa tan cắn trong 5 ml *nước* và pha loãng thành 20,0 ml với pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 248 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, thời gian lưu tương đối của pic sản phẩm phân hủy (tạp chất B) so với ambroxol (thời gian lưu khoảng 9 min) khoảng 0,6; độ phân giải giữa pic tạp chất B và pic ambroxol không nhỏ hơn 4,0.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng ambroxol hydroclorid có trong chế phẩm dựa vào diện tích pic của ambroxol hydroclorid trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{13}H_{18}Br_2N_2O.HCl$ của ambroxol hydroclorid chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc long đờm.

Hàm lượng thường dùng
30 mg.

AMIKACIN
Amikacinum



$C_{22}H_{43}N_5O_{13}$ P.t.l: 585,6

Amikacin là 6-*O*-(3-amino-3-deoxy-α-*D*-glucopyranosyl)-4-*O*-(6-amino-6-deoxy-α-D-glucopyranosyl)-1-*N*-[(2*S*)-4-amino-2-hydroxybutanoyl]-2-deoxy-D-streptamin, chất kháng khuẩn điều chế từ kanamycin A, phải chứa từ 96,5 % đến 102,5 % $C_{22}H_{43}N_5O_{13}$ tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột màu trắng hoặc gần như trắng. Hơi tan trong nước, khó tan trong methanol, thực tế không tan trong aceton và ethanol 96 %.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của amikacin chuẩn.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel.
Dung môi khai triển: Lấy lớp dưới sau khi lắc kỹ và để yên cho tách lớp của hỗn hợp đồng thể tích của *amoniac đặc (TT)*, *methanol (TT)* và *methylen clorid (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg amikacin chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg kanamycin monosulfat chuẩn trong 1 ml dung dịch thử, pha loãng thành 10 ml bằng *nước*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl các dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (2). Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí và phun *dung dịch ninhydrin (TT)*, sấy ở 110 °C trong 5 min. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho hai vết tách ra rõ ràng.

pH
Từ 9,5 đến 11,5 (Phụ lục 6.2).
Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong vừa đủ 10 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, đem đo pH.

Góc quay cực riêng
Từ +97° đến +105°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Định lượng.
Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu (1), điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao của pic chính trên sắc ký đồ không được dưới 50 % của thang đo.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa các pic tương ứng của amikacin và tạp chất A ít nhất là 3,5.
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 4 lần thời gian lưu của pic amikacin.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1):
Diện tích của pic tương ứng với tạp chất A không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1 %).
Diện tích của bất kỳ pic phụ khác không được lớn hơn 0,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Tổng diện tích các pic phụ (kể cả pic của tạp chất A) không được lớn hơn 1,5 lần diện tích của pic chính của dung dịch đối chiếu (1) (1,5 %).
Bỏ qua các pic tương ứng với pic của dung dịch mẫu trắng và các pic phụ có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Nước
Không được quá 8,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,20 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch *kali dihydrophosphat* 0,27 % đã được chỉnh đến pH 6,5 bằng dung dịch *kali hydroxyd* 2,2 % - *methanol* (30 : 70).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *nước*, pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Lấy 0,2 ml dung dịch thu được, cho vào một lọ có nút thủy tinh mài đã có sẵn 2,0 ml *dung dịch acid 2,4,6-trinitrobenzen sulphonic 1 %*. Thêm 3,0 ml *pyridin (TT)*, đậy nút thật chặt. Lắc mạnh trong 30 s, sau đó đun nóng trong cách thủy ở 75 °C trong 45 min. Làm lạnh trong nước lạnh trong 2 min và thêm 2 ml *acid acetic băng (TT)*, lắc mạnh trong 30 s.
Dung dịch thử (2): Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Tiến hành xử lý giống như dung dịch thử (1), bắt đầu từ "Lấy 0,2 ml dung dịch thu được".
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10,0 mg tạp chất A chuẩn của amikacin trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*. Tiến hành xử lý giống như dung dịch thử (1), bắt đầu từ "Lấy 0,2 ml dung dịch thu được".

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 50,0 mg amikacin chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với *nước*. Tiến hành xử lý giống như dung dịch thử (1), bắt đầu từ "Lấy 0,2 ml dung dịch thu được".
Dung dịch phân giải: Hòa tan 5 mg amikacin chuẩn và 5 mg tạp chất A chuẩn của amikacin trong *nước*, pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi. Tiến hành xử lý giống như dung dịch thử (1), bắt đầu từ "Lấy 0,2 ml dung dịch thu được".
Dung dịch mẫu trắng: Tiến hành giống như dung dịch thử (1), dùng 0,2 ml *nước*.
Duy trì nhiệt độ của các dung dịch ở 10 °C.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là octadecylsilyl silica gel (5 µm).
Nhiệt độ cột: 30 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 340 nm.
Tốc độ dòng 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu (2), điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao pic chính không được dưới 50 % của thang đo.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic pic amikacin trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (2) thu được từ 6 lần tiêm phải nhỏ hơn 2,0 %.
Tính hàm lượng của $C_{22}H_{43}N_5O_{13}$ từ diện tích pic amikacin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (2).

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm aminoglycosid.

Chế phẩm
Thuốc bột tiêm.

THUỐC TIÊM AMIKACIN
Injectio Amikacini

Là dung dịch vô khuẩn của amikacin sulfat trong nước để pha thuốc tiêm.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng amikacin, $C_{22}H_{43}N_5O_{13}$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu hoặc hơi vàng nhạt.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - amoniac - nước (1 : 4 : 2 : 1)
Dung dịch thử: Hòa loãng một thể tích dung dịch chế phẩm với *nước* để thu được dung dịch có chứa 2,5 mg amikacin sulfat trong 1 ml *nước*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg amikacin sulfat chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg kanamycin monosulfat chuẩn trong 1 ml dung dịch thử, pha loãng thành 10 ml bằng *nước*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl các dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (2). Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí và phun *dung dịch ninhydrin (TT)*, sấy bản mỏng ở 110 °C trong 5 min. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho hai vết tách ra rõ ràng.
B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic amikacin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
C. Dung dịch chế phẩm cho phản ứng đặc trưng của sulfat (Phụ lục 8.1).

pH
Từ 3,5 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2)
Hòa loãng chế phẩm với *nước BET* để thu được dung dịch có nồng độ amikacin tương ứng 10 mg/ml (dung dịch A). Nồng độ giới hạn nội độc tố của dung dịch A là 3,3 EU trong 1 ml.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Dung dịch A - acetonitril* (98 : 2).
Dung dịch A: Hỗn hợp được pha trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* chứa 0,18 % *natri octansulfonat (TT)*, 2 % *natri sulfat khan (TT)*, 5,8 % (tt/tt) *acetonitril* (TT_1) và 5 % (tt/tt) *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M* đã được điều chỉnh đến pH 3,0 bằng *acid phosphoric loãng (TT)*.
Dung dịch thử: Pha loãng một thể tích dung dịch chế phẩm bằng pha động để thu được dung dịch có nồng độ amikacin 0,5 mg/ml.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 65 mg amikacin sulfat chuẩn và hòa tan trong vừa đủ 100,0 ml pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là *end-caped octadecylsilyl silica gel* (5 µm).
Nhiệt độ cột được duy trì ở 40 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 200 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.

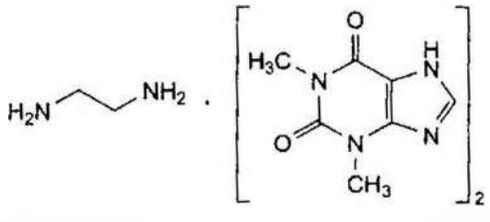
Thời gian chạy sắc ký bằng 1,3 lần thời gian lưu của amikacin.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng của pic amikacin không được lớn hơn 2,0. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic amikacin từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 1,5 %.
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng của amikacin, $C_{22}H_{43}N_5O_{13}$, trong chế phẩm từ diện tích pic amikacin trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{22}H_{43}N_5O_{13}$ trong amikacin sulfat chuẩn.
1 mg $C_{22}H_{43}N_5O_{13}.2H_2SO_4$ tương ứng với 0,7488 mg $C_{22}H_{43}N_5O_{13}$.

Bảo quản
Đựng trong đồ đựng kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm aminoglycosid.

Hàm lượng thường dùng
Tính theo amikacin base: 50 mg/1 ml; 250 mg/ml (2 ml, 4 ml).

AMINOPHYLIN
Aminophyllinum
Theophylin ethylendiamin



$(C_7H_8N_4O_2)_2.C_2H_8N_2$ P.t.l: 420,4

Aminophylin là hỗn hợp ổn định của theophylin và ethylendiamin. Chế phẩm có thể khan hoặc ngậm nước, phải chứa từ 84,0 % đến 87,4 % theophylin ($C_7H_8N_4O_2$) và từ 13,5 % đến 15,0 % ethylendiamin ($C_2H_8N_2$), tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột hoặc hạt nhỏ trắng hay hơi vàng. Dạng khan dễ hút ẩm. Dễ tan trong nước (dung dịch trở nên đục khi hấp thụ carbon dioxyd), thực tế không tan trong ethanol khan.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, C, E.
Nhóm II: B, C, D, E, F.
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *nước*, thêm 2 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* bằng cách thêm từng giọt vừa thêm vừa lắc, lọc. Tủa dùng cho định tính A, B, D và F. Dịch lọc dùng cho định tính C.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của tủa đã được rửa bằng *nước* và sấy khô ở 105 °C phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của theophylin chuẩn.
B. Tủa được rửa bằng *nước* và sấy khô ở 105 °C có điểm chảy từ 270 °C đến 274 °C (Phụ lục 6.7).
C. Thêm 0,2 ml *benzoyl clorid (TT)* vào dịch lọc. Kiềm hóa bằng *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* và lắc kỹ. Lọc lấy tủa, rửa bằng 10 ml *nước*, hòa tan trong 5 ml *ethanol 96 % (TT)* nóng rồi thêm 5 ml *nước*. Tủa tạo thành, sau khi được rửa và sấy khô ở 105 °C, có điểm chảy từ 248 °C đến 252 °C (Phụ lục 6.7).
D. Đun khoảng 10 mg tủa với 1,0 ml *dung dịch kali hydroxyd 36 %* trong cách thủy ở 90 °C trong 3 min. Thêm 1,0 ml *dung dịch acid sulfanilic diazo hóa (TT)*, màu đỏ sẽ từ từ xuất hiện. Song song tiến hành một mẫu trắng.
E. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử Nước.
F. Tủa phải cho phản ứng của nhóm xanthin (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 10 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* bằng cách đun nóng nhẹ.
Dung dịch thu được không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn dung dịch màu mẫu VL_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - dung dịch natri acetat 0,136 % có chứa 0,5 % (tt/tt) acid acetic băng (7 : 93).
Dung dịch thử: Hòa tan 47 mg chế phẩm (với dạng khan) hoặc 50 mg chế phẩm (với dạng ngậm nước) trong pha động và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg *theobromin (TT)* (tạp chất G) trong pha động, thêm 5 ml dung dịch thử và pha loãng thành 100 ml bằng cùng dung môi. Pha loãng 5 ml dung dịch thu được thành 50 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (7 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 272 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 3,5 lần thời gian lưu của theophylin.
Thời gian lưu tương đối so với theophylin (thời gian lưu khoảng 6 min): Tạp chất G khoảng 0,6.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất G với pic của theophylin ít nhất là 2,0.

Giới hạn:
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 1,3,7-trimethyl-3,7-dihydro-1*H*-purin-2,6-dion (cafein).
Tạp chất B: 3-methyl-3,7-dihydro-1*H*-purin-2,6-dion.
Tạp chất C: *N*-(6-amino-1,3-dimethyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-yl)formamid.
Tạp chất D: *N*-methyl-5-(methylamino)-1*H*-imidazol-4-carboxamid.
Tạp chất E: 1,3-dimethyl-7,9-dihydro-1*H*-purin-2,6,8(3*H*)-trion.
Tạp chất F: 7-(2-hydroxyethyl)-1,3-dimethyl-3,7-dihydro-1*H*-purin-2,6-dion (etofylin).
Tạp chất G: 3,7-dimethyl-3,7-dihydro-1*H*-purin-2,6-dion (theobromin).

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8). Dùng *nước* làm dung môi.
Lấy 0,500 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 8. Chuẩn bị 1 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.
Sẽ có tủa tạo thành khi thêm dung dịch đệm pH 3,5. Tủa phải tan lại hoàn toàn khi pha loãng đến 100 ml bằng *nước*.

Nước
Không được quá 1,5 % (với dạng khan) (Phụ lục 10.3).
Từ 3,0 đến 8,0 % (với dạng ngậm nước) (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,50 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
***Ethylendiamin*:** Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 30 ml *nước*, thêm 0,1 ml *dung dịch lục bromocresol (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* cho tới khi xuất hiện màu xanh lục.
1 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 3,005 mg $C_2H_8N_2$.
***Theophylin*:** Sấy khoảng 0,200 g chế phẩm ở 135 °C đến khối lượng không đổi. Hòa tan cắn trong 100 ml *nước* bằng cách đun nóng, để nguội, thêm 20 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 M* và lắc. Thêm 1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* cho tới khi có màu xanh lam.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 18,02 mg $C_7H_8N_4O_2$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Giãn khí - phế quản, giãn cơ trơn mạch máu, lợi tiểu. Trị hen suyễn.

Chế phẩm
Thuốc tiêm, viên nén.

THUỐC TIÊM AMINOPHYLIN
Injectio Aminophyllini

Thuốc tiêm aminophylin là dung dịch vô khuẩn chứa aminophylin hoặc aminophylin hydrat trong nước để pha thuốc tiêm không có carbon dioxyd.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng ethylendiamin, $C_2H_8N_2$, không quá 0,295 g đối với mỗi gam theophylin khan, $C_7H_8N_4O_2$, được xác định ở phần định lượng theophylin.

Hàm lượng theophylin, $C_7H_8N_4O_2$, từ 81,4 % đến 90,0 % so với lượng ghi trên nhãn của aminophylin.

Tính chất
Dung dịch trong.

Định tính
A. Lấy một thể tích chế phẩm chứa khoảng 0,1 g aminophylin, thêm 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*, lắc đều, để yên vài phút, lọc. Rửa tủa với lượng nhỏ nước lạnh và sấy khô ở 105 °C. Phổ hấp thụ hồng ngoại của tủa phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của theophylin hoặc phổ hồng ngoại của theophylin chuẩn (Phụ lục 4.2).
B. Lấy một thể tích chế phẩm chứa khoảng 0,1 g aminophylin, thêm 2 ml *dung dịch đồng sulfat 1 %*, lắc. Màu xanh tím xuất hiện.
C. Bay hơi một lượng thể tích chế phẩm chứa khoảng 60 mg aminophylin đến khô trên đĩa sứ, thêm 1 ml *acid hydrocloric (TT)* và 0,1 g *kali clorat (TT)*, bay hơi đến khô. Cắn xuất hiện màu đỏ nhạt, khi đưa vào hơi amoniac của *dung dịch amoniac 5 M (TT)* cắn chuyển sang màu tía.

pH
Từ 8,8 đến 10,0 (Phụ lục 6.2).

Định lượng
Theophylin: Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương ứng với 0,1 g aminophylin vào bình định mức 250 ml, thêm *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT)* đến vạch. Lấy chính xác 5 ml dung dịch thu được vào bình định mức 250 ml, thêm *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT)* đến vạch. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 275 nm (Phụ lục 4.1), dùng *dung*

dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT) làm mẫu trắng. Tính hàm lượng theophylin, $C_7H_8N_4O_2$, theo A (1 %, 1 cm), lấy 650 là giá trị A (1 %, 1 cm) của theophylin ở bước sóng 275 nm.
Ethylendiamin: Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương ứng 0,5 g aminophylin vào bình nón 100 ml, thêm *nước* nếu cần để được 20 ml, thêm 0,1 ml *dung dịch lục bromocresol (TT_1)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (CĐ)* cho đến khi màu xanh lam chuyển sang xanh lục.
1 ml *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (CĐ)* tương đương với 3,005 mg $C_2H_8N_2$.
Tính lượng ethylendiamin, $C_2H_8N_2$, có trong mỗi gam theophylin, $C_7H_8N_4O_2$, được tìm thấy ở phần định lượng theophylin.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc trị hen suyễn.

Hàm lượng thường dùng
0,240 g/10 ml.

VIÊN NÉN AMINOPHYLIN
Tabellae Aminophyllini

Là viên nén chứa aminophylin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng của theophylin, $C_7H_8N_4O_2$, từ 81,4 % đến 90,0 % so với lượng ghi trên nhãn của aminophylin.

Hàm lượng của ethylendiamin, $C_2H_8N_2$, từ 10,9 % đến 12,1% so với lượng ghi trên nhãn của aminophylin.

Định tính
Lấy một lượng bột viên tương ứng với 0,5 g aminophylin, thêm 20 ml *nước*, lắc, lọc, thêm từng giọt 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* vào dịch lọc, lắc. Để yên vài phút, lọc, tủa dùng làm định tính mục A, B và dịch lọc làm định tính mục C. Rửa tủa với lượng nhỏ *nước* lạnh, kết tinh lại bằng nước nóng và sấy khô tủa thu được ở 105 °C.
A. Tủa có điểm chảy khoảng 271 °C (Phụ lục 6.7).
B. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của tủa phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của theophylin hoặc phổ hấp thụ hồng ngoại của theophylin chuẩn.
C. Thêm 2,0 ml *benzoyl clorid (TT)* vào dịch lọc. Kiềm hóa bằng *dung dịch natri hydroxyd 5 M (TT)*, lắc mạnh, lọc lấy tủa và rửa bằng *nước* lạnh. Kết tinh lại bằng hỗn hợp *nước - ethanol 96 %* (1 : 3), rửa và sấy khô ở 100 °C. Tinh thể có điểm chảy khoảng 250 °C (Phụ lục 6.7)
D. Hòa tan lượng bột viên tương ứng khoảng 0,25 g aminophylin với 5 ml *nước*, lọc. Thêm 2 ml *dung dịch đồng sulfat 1 % (TT)* vào 2 ml dịch lọc, lắc. Màu xanh tía xuất hiện.

Độ hòa tan của theophylin (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *đệm phosphat chuẩn pH 7,0 (TT)*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - nước (45 : 55).
Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Hút chính xác 10 ml dịch lọc pha loãng bằng *đệm phosphat chuẩn pH 7,0 (TT)* (nếu cần) để có nồng độ tương ứng với nồng độ của dung dịch chuẩn.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg theophylin chuẩn vào bình định mức 100 ml, hòa tan và pha loãng bằng *đệm phosphat chuẩn pH 7,0 (TT)* đến vạch. Hút 1,0 ml dung dịch này vào bình định mức 50 ml, pha loãng bằng *đệm phosphat chuẩn pH 7,0 (TT)* đến vừa đủ.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 cm), được nhồi silica đã được gắn với nhóm phenyl (5 µm) (Cột Apex phenyl là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 273 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Tiến hành sắc ký lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính lượng theophylin, $C_7H_8N_4O_2$, được hòa tan dựa vào diện tích pic theophylin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_7H_8N_4O_2$ của theophylin chuẩn.
Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % (Q) lượng theophylin, $C_7H_8N_4O_2$, so với lượng được quy ra từ lượng aminophylin ghi trên nhãn, được hòa tan trong 45 min.

Định lượng
Theophylin: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng khoảng 80 mg aminophylin vào bình định mức 200 ml, thêm hỗn hợp 20 ml *natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và 60 ml *nước*, lắc 10 min, pha loãng bằng *nước* vừa đủ đến vạch, lắc, lọc, bỏ 20 ml dung dịch đầu. Lấy 5,0 ml dịch lọc vào bình định mức 250 ml, pha loãng bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc. Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 275 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT)* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng theophylin, $C_7H_8N_4O_2$, theo A (1 %, 1 cm), lấy 650 là giá trị A (1 %, 1 cm) của theophylin ở cực đại 275 nm.
Ethylendiamin: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng khoảng 0,3 g aminophylin vào bình nón 100 ml, thêm 20 ml *nước*, lắc, đun nóng ở 50 °C trong 30 min, thêm 0,1 ml *dung dịch lục bromocresol (TT_1)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (CĐ)* cho đến khi xuất hiện màu xanh lục.

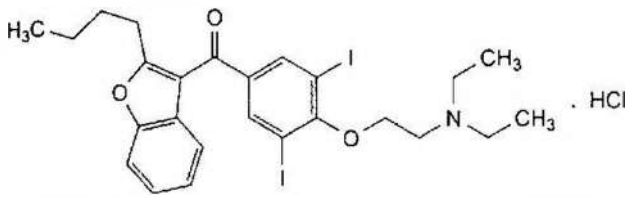
1 ml *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (CĐ)* tương đương với 3,005 mg $C_2H_8N_2$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc trị hen suyễn.

Hàm lượng thường dùng
100 mg.

AMIODARON HYDROCLORID
Amiodaroni hydrochloridum



$C_{25}H_{29}I_2NO_3.HCl$ P.t.l.: 681,8

Amiodaron hydroclorid là (2-butylbenzofuran-3-yl)[4-[2-(diethylamino)ethoxy]-3,5-diiodophenyl] methanon hydroclorid, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{25}H_{29}I_2NO_3.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột tinh thể mịn, trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan trong methylen clorid, tan trong methanol, hơi tan trong ethanol 96 %, rất khó tan trong nước.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của amiodaron hydroclorid chuẩn.
B. Chế phẩm phải cho phản ứng (B) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu VL_5 hay VN_5 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Từ 3,2 đến 3,8 (Phụ lục 6.2).
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* bằng cách đun ở 80 °C, để nguội và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Tạp chất H
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel F_{254}.
Dung môi khai triển: Acid formic khan - methanol - methylen clorid (5 : 10 : 85).
Pha các dung dịch ngay trước khi sử dụng và tránh ánh sáng.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,500 g chế phẩm vào *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10,0 mg *(2-cloroethyl) diethylamin hydroclorid* (Tạp chất **H**) trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml với *methylen clorid (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Trộn đều 2,0 ml dung dịch thử với 2,0 ml dung dịch đối chiếu (1).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 50 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1), 100 µl dung dịch đối chiếu (2). Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 15 cm, để khô bản mỏng ngoài không khí. Phun lên bản mỏng lần lượt *thuốc thử kali iodobismuthat (TT_1)* và *dung dịch hydrogen peroxyd loãng (TT)*. Quan sát ngay dưới ánh sáng ban ngày. Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho thấy rõ vết tạp chất H.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, màu của vết có R_f tương ứng với tạp chất H không đậm hơn màu của vết chính trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (1) (0,02 %).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch đệm pH 4,9 - methanol - acetonitril (30 : 30 : 40).
Dung dịch đệm pH 4,9: Thêm 3,0 ml *acid acetic băng (TT)* vào 800 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 4,9 bằng dung dịch *ammoniac loãng (TT)* và pha loãng thành 1000 ml với *nước*.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,125 g chế phẩm vào hỗn hợp đồng thể tích *acetonitril (TT)* và *nước*, pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 5 mg tạp chất amiodaron D chuẩn, 5 mg tạp chất amiodaron E chuẩn và 5,0 mg amiodaron hydroclorid chuẩn vào *methanol (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml với hỗn hợp đồng thể tích *acetonitril (TT)* và *nước*.
Điều kiện sắc ký:
Cột thép không gỉ (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột: 30 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 240 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Triển khai sắc ký với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của amiodaron.
Thời gian lưu tương đối so với amiodaron (thời gian lưu khoảng 24 min): tạp chất A khoảng 0,26; tạp chất D khoảng 0,29; tạp chất E khoảng 0,37; tạp chất B khoảng 0,49; tạp chất C khoảng 0,55; tạp chất G khoảng 0,62; tạp chất F khoảng 0,69.

Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu, hệ số phân giải giữa các pic tương ứng với tạp chất D và tạp chất E ít nhất là 3,5.

Giới hạn:

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của từng pic tạp chất A, B, C, D, E, F, G không được lớn hơn diện tích của pic amiodaron trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,2 %).

Diện tích của các pic tạp chất chưa định danh không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic amiodaron trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,1 %).

Tổng diện tích của tất cả các pic tạp chất không được lớn hơn 2,5 lần diện tích của pic amiodaron trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,25 lần diện tích pic amiodaron trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: (2-butylbenzofuran-3-yl)[4-[2-(diethylamino)ethoxy] phenyl] methanon.

Tạp chất B: (2-butylbenzofuran-3-yl)[4-[2-(ethylamino)ethoxy] -3,5-diiodophenyl] methanon,

Tạp chất C: (2-butylbenzofuran-3-yl)[4-[2-(diethylamino)ethoxy]-3-iodophenyl] methanon,

Tạp chất D: (2-butylbenzofuran-3-yl)(4-hydroxy-3,5-diiodo-phenyl) methanon,

Tạp chất E: (2-butylbenzofuran-3-yl)(4-hydroxyphenyl)methanon,

Tạp chất F: (2-butylbenzofuran-3-yl)(4-hydroxy-3-iodo-phenyl) methanon,

Tạp chất G: [2-[(1*RS*)-1-methoxybutyl]benzofuran-3-yl][4-[2-(diethylamino)ethoxy]-3,5-diiodophenyl]methanon,

Tạp chất H: 2-cloro-*N,N*-diethylethanamin (2-clorotri-ethylamin, (2-cloroethyl)diethylamin).

Iodid

Không được quá 0,015 %.

Pha đồng thời dung dịch thử và dung dịch đối chiếu.

Dung dịch A: Hòa tan 1,50 g chế phẩm trong 40 ml *nước* ở 80 °C và lắc cho đến khi tan hoàn toàn. Để nguội và pha loãng thành 50,0 ml với *nước*.

Dung dịch thử: Thêm 1,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và 1,0 ml *dung dịch kali iodat 0,05 M* vào 15,0 ml dung dịch A. Pha loãng thành 20,0 ml với *nước*. Để yên trong chỗ tối khoảng 4 h.

Dung dịch đối chiếu: Thêm 1,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* 1,0 ml *dung dịch kali iodid 88,2 mg/l* và 1,0 ml *dung dịch kali iodat 0,05 M (TT)* vào 15,0 ml dung dịch A. Pha loãng thành 20,0 ml với *nước (TT)*. Để yên trong chỗ tối khoảng 4 h.

Cách tiến hành: Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của các dung dịch ở bước sóng 420 nm, dùng mẫu trắng là hỗn hợp 15,0 ml dung dịch A và 1,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, pha loãng thành 20,0 ml với *nước*. Độ hấp thụ của dung dịch thử không được lớn hơn 0,5 lần độ hấp thụ của dung dịch đối chiếu.

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo Phương pháp 3. Dùng 2,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 50 °C; áp suất không quá 0,3 kPa; 4 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan khoảng 0,600 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 5,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* và 75 ml *ethanol 96 % (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Đọc thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tiêu thụ giữa 2 điểm uốn.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 68,18 mg $C_{25}H_{29}I_2NO_3$.HCl

Bảo quản

Đựng trong bao bì kín, tránh ánh sáng, nhiệt độ không quá 30 °C.

Loại thuốc

Chẹn kênh kali, chống loạn nhịp.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN AMIODARON

Tabellae Amiodaroni

Là viên nén chứa amiodaron hydroclorid.

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

Hàm lượng amiodaron hydroclorid, $C_{25}H_{29}I_2NO_3$.HCl, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

A. Lắc một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng khoảng 0,1 g amiodaron hydroclorid với 50 ml *ethanol 96 % (TT)*, lắc kỹ, lọc. Dịch lọc dùng cho các phép thử sau: Lấy 0,1 ml dịch lọc pha loãng với 20 ml *ethanol 96 % (TT)*, đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch ở dải sóng từ 200 nm đến 350 nm, dung dịch có cực đại hấp thụ ở 242 nm và cực tiểu hấp thụ ở 223 nm. Tỷ lệ độ hấp thụ ở 242 nm so với độ hấp thụ ở 223 nm phải từ 1,47 đến 1,61.

Lấy 5 ml dịch lọc, thêm *dung dịch amoniac 10 % (TT)*, dung dịch thu được bị đục, lọc. Thêm tiếp *dung dịch amoniac 10 % (TT)* vào dịch lọc đến khi dịch lọc không còn đục, lọc để thu được dung dịch trong (lọc qua màng lọc 0,45 µm). Lấy 2 ml dịch lọc này acid hóa bằng *dung dịch acid nitric 32 % (TT)* (kiểm tra bằng giấy chỉ thị), thêm 2 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 M (TT)*, xuất hiện tủa trắng, tủa này tan trong *dung dịch amoniac 10 % (TT)*, tủa xuất hiện lại khi thêm *dung dịch acid nitric 32 % (TT)*.

B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic amiodaron hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch đệm pH 4,9 - methanol - acetonitril (30 : 30 : 40).

Dung dịch đệm pH 4,9: Thêm 3,0 ml *acid acetic băng (TT)* vào 800 ml *nước*, chỉnh về pH 4,9 bằng *dung dịch amoniac 10 %* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung môi pha mẫu: Hỗn hợp *acetonitril - nước* (1 : 1).

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng chế phẩm đã nghiền mịn tương ứng với 25 mg amiodaron hydroclorid vào bình định mức 50 ml, thêm 40 ml hỗn hợp *acetonitril - nước* (1 : 1), lắc siêu âm 15 min, để nguội, thêm dung môi pha mẫu vừa đủ, lắc đều, lọc.

Dung dịch đối chiếu: Lấy chính xác 1 ml dung dịch thử vào bình định mức 200 ml, pha loãng và làm vừa đủ bằng hỗn hợp *acetonitril - nước* (1 : 1).

Điều kiện sắc ký :

Cột thép không gỉ (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 240 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung môi pha mẫu.

Tiêm dung dịch đối chiếu, số đĩa lý thuyết của cột xác định trên pic chính của dung dịch đối chiếu phải không nhỏ hơn 7000.

Tiến hành sắc ký dung dịch thử với thời gian gấp 2,5 lần thời gian lưu của pic amiodaron hydroclorid.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, tổng diện tích của các pic phụ không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy

Môi trường hòa tan: 1000 ml *dung dịch natri laurylsulfat 0,25 %*.

Tốc độ quay: 75 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành:

Dung dịch thử: Lấy một phần môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan để được dung dịch có nồng độ tương ứng với dung dịch chuẩn.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 20 mg amiodaron hydroclorid chuẩn vào bình định mức 200 ml, hòa tan và pha loãng vừa đủ bằng *ethanol 96 % (TT)*. Hút chính xác 5 ml dung dịch này pha loãng thành 50,0 ml bằng môi trường hòa tan.

Đo độ hấp thụ ánh sáng ở bước sóng 243 nm (Phụ lục 4.1) của dung dịch chuẩn và dung dịch thử, so với mẫu trắng là môi trường hòa tan.

Từ lượng amiodaron hydroclorid chuẩn, độ pha loãng của dung dịch chuẩn và dung dịch thử, tính hàm lượng amiodaron hydroclorid, $C_{25}H_{29}I_2NO_3$.HCl, đã hòa tan.

Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % (Q) lượng amiodaron hydroclorid, $C_{25}H_{29}I_2NO_3$.HCl, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, điều kiện sắc ký như mô tả trong mục Tạp chất liên quan.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 20 mg amiodaron hydroclorid vào bình định mức 200 ml, hòa tan và pha loãng vừa đủ bằng hỗn hợp *acetonitril - nước* (1 : 1).

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 20 mg amiodaron hydroclorid vào bình định mức 200 ml, thêm 170 ml hỗn hợp *acetonitril - nước* (1 : 1), lắc siêu âm 15 min để hòa tan, để nguội, thêm hỗn hợp *acetonitril - nước* (1 : 1) tới vừa đủ, lắc đều, lọc.

Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Số đĩa lý thuyết của cột xác định trên pic chính của dung dịch chuẩn phải không nhỏ hơn 3000.

Tính hàm lượng amiodaron hydroclorid $C_{25}H_{29}I_2NO_3$.HCl trong viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{25}H_{29}I_2NO_3$.HCl trong amiodaron hydroclorid chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

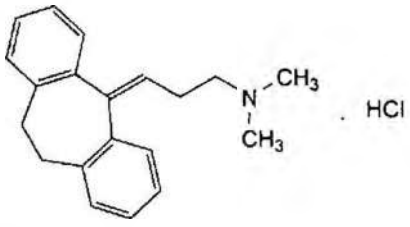
Thuốc chẹn kênh kali; chống loạn nhịp nhóm III.

Hàm lượng thường dùng

200 mg.

AMITRIPTYLIN HYDROCLORID

Amitriptylini hydrochloridum



$C_{20}H_{23}N.HCl$ P.t.l: 313,9

Amitriptylin hydroclorid là 3-(10,11-dihydro-5*H*-dibenzo [*a*,*d*][7]annulen-5-yliden)-*N*,*N*-dimethylpropan-1-amin hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{20}H_{23}N.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Tinh thể không màu hoặc bột trắng hay gần như trắng. Dễ tan trong nước, ethanol 96 % và methylen clorid.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của amitriptylin hydroclorid chuẩn.

B. 20 mg chế phẩm phải cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,25 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn dung dịch màu mẫu N_7 (Phụ lục 9.3), phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 10 ml bằng cùng dung môi. Thêm 0,1 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)* và 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT)*. Dung dịch phải có màu vàng. Thêm 0,4 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*. Dung dịch chuyển sang màu đỏ.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - dung dịch đệm pH 7,0 (35 : 65).

Dung dịch đệm pH 7,0: Hòa tan 5,23 g *dikali hydrophosphat (TT)* trong 1000 ml với *nước*, điều chỉnh đến pH 7,0 bằng *acid phosphoric (TT)*.

Dung dịch thử. Hòa tan 50,0 mg chế phẩm vào pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5,0 mg dibenzosuberon chuẩn (tạp chất A) và 5,0 mg cyclobenzaprin hydroclorid chuẩn (tạp chất B) trong 5,0 ml dung dịch thử và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 50,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped polar-embedded octadecylsilyl amorphous organosilica polymer* (5 µm).

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.

Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của amitriptylin.

Thời gian lưu tương đối so với amitriptylin (thời gian lưu khoảng 14 min): Tạp chất B khoảng 0,9; tạp chất A khoảng 2,2.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất B với pic của amitriptylin ít nhất là 2,0.

Giới hạn:

Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B không được lớn hơn diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).

Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn diện tích pic amitriptylin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 3 lần diện tích pic amitriptylin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic amitriptylin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: 10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*a*,*d*][7]annulen-5-on (dibenzosuberon).

Tạp chất B: 3-(5*H*-dibenzo[*a*,*d*][7]annulen-5-yliden)-*N*,*N*-dimethylpropan-1-amin (cyclobenzaprin).

Tạp chất C: 3-(10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*a*,*d*][7]annulen-5-yliden)-*N*-methylpropan-1-amin (nortriptylin).

Tạp chất D: 5-[3-(dimethylamino)propyl)]-10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*a*,*d*][7]annulen-5-ol.

Tạp chất E: *N*,*N*-dimethyl-3-(1,2,3,4,4a,10,11,11a-octahydro-5*H*-dibenzo[*a*,*d*][7]annulen-5-yliden)propan-1-amin.

Tạp chất F: (5*EZ*,10*RS*)-5-[3-(dimethylamino)propyliden)-10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*a*,*d*][7]annulen-5-ol.

Tạp chất G: 10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*a*,*d*][7]annulen-5-ol (dibenzosuberol).

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 6. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C, 2 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 30 ml *ethanol 96 % (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 31,39 mg $C_{20}H_{24}ClN$.

Bảo quản
Bảo quản tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống trầm cảm 3 vòng, ức chế tái thu nạp monoamin.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN AMITRIPTYLIN
Tabellae Amitriptylini

Là viên nén chứa amitriptylin hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng amitriptylin hydroclorid, $C_{20}H_{23}N.HCl$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lắc một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 10 mg amitriptylin hydroclorid với 100 ml *methanol (TT)*, lọc và pha loãng 10 ml dịch lọc thành 100 ml với *methanol (TT)*. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được phải phù hợp với phổ của dung dịch amitriptylin hydroclorid chuẩn có nồng độ tương đương trong cùng dung môi.
B. Trong mục Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc (bỏ 20 ml dịch lọc đầu). Pha loãng dịch lọc thu được tới nồng độ thích hợp với môi trường hòa tan (nếu cần).
Dung dịch chuẩn: Dung dịch amitriptylin hydroclorid chuẩn trong môi trường hòa tan có nồng độ tương đương với nồng độ amitriptylin hydroclorid trong dung dịch thử.
Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của các dung dịch thu được ở hấp thụ cực đại khoảng 239 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. Tính hàm lượng amitriptylin hydroclorid, $C_{20}H_{23}N.HCl$, hòa tan trong mỗi viên, dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{20}H_{23}N.HCl$ của amitriptylin hydroclorid chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng amitriptylin hydroclorid, $C_{20}H_{23}N.HCl$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - Dung dịch đệm phosphat (42 : 58).
Dung dịch đệm phosphat: Hòa tan 11,04 g *natri dihydrophosphat monohydrat (TT)* trong 900 ml *nước*, điều chỉnh pH đến 2,5 ± 0,5 bằng *acid phosphoric (TT)* và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng amitriptylin hydroclorid chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,2 mg amitriptylin hydroclorid trong 1 ml.
Dung dịch thử: Cân 20 viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 20 mg amitriptylin hydroclorid vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml pha động và lắc kỹ, pha loãng bằng pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột thép không gỉ (30 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 - 10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký 6 lần riêng biệt đối với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số đối xứng của pic amitriptylin hydroclorid không lớn hơn 2,0; số đĩa lý thuyết của cột không dưới 800; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic amitriptylin hydroclorid không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{20}H_{23}N.HCl$ của amitriptylin hydroclorid chuẩn, tính hàm lượng amitriptylin hydroclorid, $C_{20}H_{23}N.HCl$, có trong một viên.

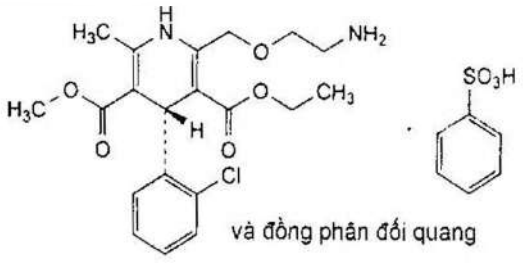
Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống trầm cảm.

Hàm lượng thường dùng
10 mg, 25 mg, 50 mg, 75 mg, 100 mg và 150 mg.

AMLODIPIN BESILAT

Amlodipini besilas



$C_{20}H_{25}ClN_2O_5.C_6H_6O_3S$ P.t.l: 567,1

Amlodipin besilat là 3-ethyl 5-methyl (4*RS*)-2-[(2-aminoethoxy)methyl]-4-(2-clorophenyl)-6-methyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat benzensulfonat, phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % $C_{20}H_{25}ClN_2O_5.C_6H_6O_3S$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột màu trắng hoặc gần như trắng.

Dễ tan trong methanol, hơi tan trong ethanol khan, khó tan trong nước và 2-propanol.

Định tính

Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của amlodipin besilat chuẩn.

Góc quay cực

Từ -0,10° đến +0,10° (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.

Pha động: Dung dịch amoni acetat 0,23 % - methanol (30 : 70).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử (1) thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 10,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 2,5 mg tạp chất B chuẩn của amlodipin và 2,5 mg tạp chất G chuẩn của amlodipin trong pha động và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 2,5 mg amlodipin chuẩn dùng để định tính pic (chứa các tạp chất D, E và F) trong 5 ml pha động.

Dung dịch đối chiếu (4): Hoà tan 5,0 mg tạp chất A chuẩn của amlodipin trong *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (5): Hòa tan 50,0 mg amlodipin besilat chuẩn trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Nhiệt độ cột: 30 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 237 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1), (2), (3) và (4).

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của amlodipin.

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo amlodipin chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của các tạp chất D, E và F. Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của tạp chất A.

Thời gian lưu tương đối so với amlodipin (thời gian lưu khoảng 20 min): Tạp chất G khoảng 0,21; tạp chất B khoảng 0,25; tạp chất D khoảng 0,5; tạp chất F khoảng 0,8; tạp chất E khoảng 1,3.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất G với pic của tạp chất B ít nhất là 2,0.

Giới hạn:

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng: Tạp chất D là 1,7; tạp chất F là 0,7.

Tạp chất D: Diện tích pic tạp chất D đã hiệu chỉnh không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).

Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,15 %).

Tạp chất E, F: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu cần, không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,15 %).

Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).

Tổng các tạp chất: Không được quá 0,8 %.

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %); bỏ qua pic của benzen sulfonat (thời gian lưu tương đối so với amlodipin khoảng 0,14).

Ghi chú:

Tạp chất A: 3-ethyl 5-methyl (4*RS*)-4-(2-clorophenyl)-2-[[2-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-2*H*-isoindol-2-yl)ethoxy]methyl]-6-methyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat.

Tạp chất B: 3-ethyl 5-methyl (4*RS*)-4-(2-clorophenyl)-6-methyl-2-[[2-[[2-(methylcarbamoyl)benzoyl]amino]ethoxy] methyl] -1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat.
Tạp chất D: 3-ethyl 5-methyl 2-[(2-aminoethoxy)methyl]-4-(2-clorophenyl)-6-methylpyridin-3,5-dicarboxylat.
Tạp chất E: Dimethyl (4*RS*)-2-[(2-aminoethoxy)methyl]-4-(2-clorophenyl)-6-methyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat.
Tạp chất F: Dimethyl (4*RS*)-2-[(2-aminoethoxy)methyl]-4-(2-clorophenyl)-6-methyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat.
Tạp chất G: Dimethyl 4-(2-clorophenyl)-2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat.
Tạp chất H: Acid 2-[[2-[[(4*RS*)-4-(2-clorophenyl)-3-(ethoxycarbonyl) -5-(methoxycarbonyl)-6-methyl-1,4-dihydropyridin-2-yl]methoxy]ethyl]carbamoyl]benzoic.

Nước
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 1,000 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (5).
Tính hàm lượng của $C_{26}H_{31}ClN_2O_8S$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (5) và hàm lượng được công bố của $C_{26}H_{31}ClN_2O_8S$ trong amlodipin besilat chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chẹn kênh calci.

Chế phẩm
Nang, viên nén.

VIÊN NÉN AMLODIPIN
Tabellae Amlodipini

Là viên nén chứa amlodipin besilat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng amlodipin, $C_{20}H_{25}ClN_2O_5$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Lắc hỗn hợp *acid acetic băng - nước - methyl isobutyl ceton* (25 : 25 : 50), để tách lớp, lấy lớp trên.
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với 10 mg amlodipin với 2 ml *methanol (TT)*, ly tâm lấy dịch trong.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan amlodipin besilat chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có chứa 5 mg amlodipin trong 1 ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để bay hơi dung môi. Quan sát dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 365 nm.
Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, màu sắc, kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Trong mục Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động và *Điều kiện sắc ký* như mô tả ở mục Định lượng.
Dung dịch thử: Cân 20 viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg amlodipin, hòa tan trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với pha động. Ly tâm lấy dịch trong.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với pha động và pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với pha động.
Dung dịch phân giải: Hòa tan 5 mg amlodipin besilat chuẩn trong 5 ml *dung dịch hydrogen peroxyd đậm đặc (TT)*. Đun nóng ở 70 °C trong 45 min.
Cách tiến hành:
Thời gian lưu tương đối giữa pic amlodipin và pic tạp chất D là khoảng 0,5.
Tiêm dung dịch phân giải, phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic tương ứng với amlodipin và pic tạp chất D ít nhất là 4,5.
Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Tiến hành sắc ký đối với dung dịch thử trong khoảng thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của amlodipin. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, hai lần diện tích của pic tương ứng với tạp chất D không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %). Tổng diện tích của tất cả các pic tạp khác không được lớn hơn diện tích của pic chính trên trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %). Bỏ qua pic tương ứng với benzen sulfonat (thời gian lưu tương đối khoảng 0,2) và bất kỳ pic nào có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,05 %).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT).*
Tốc độ quay: 75 r/min.

Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch chuẩn: Dung dịch amlodipin besilat chuẩn trong môi trường hòa tan có nồng độ tương ứng với nồng độ amlodipin besilat trong dung dịch thử.
Dung dịch thử: Lấy một phần môi trường sau khi hòa tan và lọc, loại bỏ dịch lọc đầu.
Đo độ hấp thụ của các dung dịch ở bước sóng 239 nm (Phụ lục 4.1) trong cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng amlodipin, $C_{20}H_{25}ClN_2O_5$, đã hòa tan trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{20}H_{25}ClN_2O_5$ trong amlodipin besilat chuẩn.
Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % (Q) lượng amlodipin, $C_{20}H_{25}ClN_2O_5$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

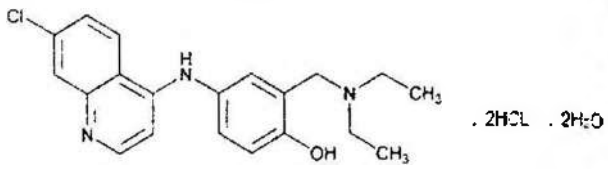
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch đệm triethylamin pH 3,0 - methanol - acetonitril (50 : 35 : 15)
Dung dịch đệm triethylamin pH 3,0: Hòa tan 7,0 ml *triethylamin (TT)* trong 1000 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 3,0 ± 0,1 bằng *acid phosphoric (TT).*
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 70 mg amlodipin besilat chuẩn hòa tan trong pha động và pha loãng với pha động thành 100,0 ml. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với pha động.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg amlodipin vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml pha động, lắc siêu âm 10 min, để nguội, thêm pha động đến vạch, lọc. Pha loãng 10,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột thép không gỉ (15 cm × 3,9 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 237 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm riêng biệt dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng amlodipin, $C_{20}H_{25}ClN_2O_5$, trong chế phẩm dựa vào diện tích của pic amlodipin trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{20}H_{25}ClN_2O_5$ trong amlodipin besilat chuẩn.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống tăng huyết áp.

Hàm lượng thường dùng
5 mg; 10 mg.

AMODIAQUIN HYDROCLORID
Amodiaquini hydrochloridum



$C_{20}H_{22}ClN_3O.2HCl.2H_2O$ P.t.l: 464,8

Amodiaquin hydroclorid là 4-[(7-cloro-4-quinolinyl)amino]-2-[(diethylamino)-methyl]phenol dihydroclorid dihydrat hoặc 4-[(7-cloro-4-quinolyl)amino]-α-(diethylamino)-*o*-cresol dihydroclorid dihydrat, phải chứa từ 97,0 % đến 103,0 % $C_{20}H_{22}ClN_3O.2HCl$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh màu vàng, không mùi, vị hơi đắng. Tan trong nước, hơi tan trong ethanol 96 %, rất khó tan trong benzen, cloroform và ether.

Định tính
A. Hòa tan 20 mg chế phẩm trong 10 ml *nước* trong bình chiết, thêm 1 ml *amoniac (TT)* và chiết bằng cách lắc với 25 ml *cloroform (TT)*. Gạn lấy dịch chiết cloroform, bay hơi cloroform đến cặn và sấy khô cặn ở 105 °C trong 2 h. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cặn thu được đo dưới dạng đĩa kali bromid phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của amodiaquin hydroclorid chuẩn được chuẩn bị tương tự trong cùng điều kiện như với mẫu thử.
B. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* nồng độ 10 µg/ml phải giống với phổ hấp thụ tử ngoại của dung dịch amodiaquin hydroclorid chuẩn có cùng nồng độ, trong cùng dung môi.
C. Dung dịch chế phẩm phải cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).
D. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic amodiaquin hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ trong của dung dịch
Dung dịch 2 % chế phẩm trong *nước* phải trong (Phụ lục 9.2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, dung dịch chuẩn, dung dịch thử, dung dịch kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Định lượng.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử. Tính hàm lượng phần trăm tạp chất (nếu có) trên sắc ký đồ của dung dịch thử bằng phương pháp chuẩn hóa.

Giới hạn: Với mỗi tạp chất (nếu có) không được quá 0,5 %.

Nước
Từ 7,0 % đến 9,0 % (Phụ lục 10.3).

Tro sulfat
Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm: Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*. Thêm 1,0 ml *acid percloric (TT)*, trộn đều và điều chỉnh đến pH 2,5 ± 0,5 bằng *acid phosphoric (TT)*. Lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Pha động: *Dung dịch đệm - methanol* (78 : 22). Nếu cần thì điều chỉnh tỷ lệ các thành phần trong pha động để đạt yêu cầu về tính phù hợp của hệ thống.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng chế phẩm cho vào bình định mức thích hợp, hòa tan và thêm *nước* vừa đủ đến vạch để được dung dịch có nồng độ amodiaquin hydroclorid khoảng 0,15 mg/ml.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng amodiaquin hydroclorid chuẩn cho vào bình định mức thích hợp, hòa tan và thêm *nước* vừa đủ đến vạch để được dung dịch có nồng độ amodiaquin hydroclorid khoảng 0,15 mg/ml.
Dung dịch kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Cân chính xác một lượng amodiaquin hydroclorid chuẩn và cloroquin phosphat chuẩn cho vào bình định mức thích hợp, hòa tan và thêm *nước* vừa đủ đến vạch để được dung dịch có nồng độ amodiaquin hydroclorid khoảng 0,15 mg/ml và cloroquin phosphat khoảng 0,15 mg/ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 224 nm.
Nhiệt độ cột: (25 ± 5) °C.
Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và ghi lại sắc ký đồ. Thời gian lưu tương đối của pic amodiaquin hydroclorid là 1,0 và của pic cloroquin phosphat là 0,8; độ phân giải giữa pic của amodiaquin hydroclorid và cloroquin phosphat không được nhỏ hơn 1,5; hệ số đối xứng cho cả hai pic không được lớn hơn 1,5; và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic giữa 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng $C_{20}H_{22}ClN_3O.2HCl$ dựa vào diện tích của pic amodiaquin hydroclorid thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{20}H_{22}ClN_3O.2HCl$ trong amodiaquin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Thuốc điều trị sốt rét.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN AMODIAQUIN HYDROCLORID
Tabellae Amodiaquini hydrochloridi

Là viên nén chứa amodiaquin hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng amodiaquin, $C_{20}H_{22}ClN_3O$, từ 93,0 % đến 107,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic amodiaquin hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
B. Lắc một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng khoảng 30 mg amodiaquin hydroclorid với 10 ml *nước*, lọc. 2 ml dịch lọc phải cho phản ứng định tính của clorid (Phản ứng A, Phụ lục 8.1)

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan lọc, pha loãng dịch lọc đến nồng độ thích hợp với *nước* (nếu cần). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 342 nm với mẫu trắng là *nước*. Tính hàm lượng amodiaquin, $C_{20}H_{22}ClN_3O$, hòa tan trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ của dung dịch amodiaquin hydroclorid chuẩn có nồng độ tương đương pha trong cùng dung môi.
Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng amodiaquin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch đệm - methanol (78 : 22). Điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.
Dung dịch đệm : Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*. Thêm 1,0 ml *acid percloric (TT)*, trộn đều và điều chỉnh tới pH 2,5 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch acid hydrocloric 1 % (tt/tt): Pha loãng 10 ml *acid hydrocloric (TT)* thành 1000 ml với *nước*.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch amodiaquin hydroclorid chuẩn nồng độ 0,15 mg/ml trong *nước*.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 60 mg amodiaquin hydroclorid

vào bình định mức 100,0 ml, thêm 60 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 % (tt/tt)*, lắc siêu âm trong 25 min ở nhiệt độ 29 °C, thêm *dung dịch acid hydrocloric 1 % (tt/tt)* vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 20 ml bằng *nước*.

Dung dịch phân giải: Dung dịch có chứa 0,15 mg/ml amodiaquin hydroclorid chuẩn và 0,15 mg/ml cloroquin phosphat chuẩn trong *nước*.

Điều kiện sắc ký:

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

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 224 nm.

Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, ghi sắc ký đồ, thời gian lưu tương đối là 1,0 đối với pic amodiaquin và 0,8 với pic cloroquin; độ phân giải giữa hai pic amodiaquin hydroclorid và cloroquin phosphat không nhỏ hơn 1,5, hệ số đối xứng của hai pic không được lớn hơn 1,5. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic trong 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.

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

Tính hàm lượng amodiaquin, $C_{20}H_{22}ClN_3O$, có trong một viên dựa vào diện tích pic đáp ứng của amodiaquin hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{20}H_{22}ClN_3O$ trong amodiaquin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng, để nơi mát.

Loại thuốc

Thuốc chống sốt rét.

Hàm lượng thường dùng

200 mg.

AMONI CLORID

Amonii chloridum

NH_4Cl P.t.l: 53,49

Amoni clorid phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % NH_4Cl, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc tinh thể không màu, dễ tan trong nước.

Định tính

A. Chế phẩm cho phản ứng của ion clorid (Phụ lục 8.1).

B. 10 ml dung dịch S (xem Độ trong và màu sắc của dung dịch) cho phản ứng của muối amoni (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 10,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 0,05 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)*. Để chuyển màu dung dịch, không được dùng quá 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)*.

Bromid và iodid

Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 0,1 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và 0,05 ml *dung dịch cloramin T 2 % (TT)*. Sau 1 min, thêm 2 ml *cloroform (TT)* và lắc mạnh. Lớp cloroform phải không màu.

Sulfat

Không được quá 0,015 % (Phụ lục 9.4.14).

Pha loãng 10 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Calci

Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.3).

Pha loãng 5 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 12 ml dung dịch S và tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị dung dịch đối chiếu.

Sắt

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).

Pha loãng 5 ml dung dịch S thành 10 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 2 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 2,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 1,000 g chế phẩm trong 20 ml *nước*. Thêm một hỗn hợp gồm 5 ml *formaldehyd (TT)* đã được trung tính hóa trước theo chỉ thị là *dung dịch phenolphtalein (TT)* và 20 ml *nước*. Sau 1 min đến 2 min, chuẩn độ chậm bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ)*. Dùng 0,2 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* làm chỉ thị.

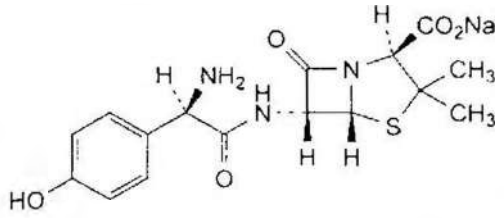
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ)* tương đương với 53,49 mg NH_4Cl.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Dùng để acid hóa nước tiểu và điều trị nhiễm kiềm chuyển hóa.

Chế phẩm
Dung dịch uống.

AMOXICILIN NATRI
Amoxicillinum natricum



$C_{16}H_{18}N_3NaO_5S$ P.t.l.: 387,4

Amoxicilin natri là (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-amino-2-(4-hydroxyphenyl)acetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylat natri, phải chứa từ 89,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{18}N_3NaO_5S$, tính theo chế phẩm khan.
Amoxicilin natri là sản phẩm bán tổng hợp từ một sản phẩm lên men.

Tính chất
Bột trắng hay gần như trắng, rất hút ẩm.
Rất tan trong nước, hơi tan trong ethanol khan, rất khó tan trong aceton.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 5 ml *nước*, thêm 0,5 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)*, khuấy đều và để yên trong nước đá 10 min. Lọc lấy tinh thể và rửa với 2 - 3 ml hỗn hợp dung môi gồm 1 thể tích *nước* và 9 thể tích *aceton (TT)*, sấy ở 60 °C trong 30 min. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của tinh thể thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của amoxicilin trihydrat chuẩn.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G* đã được silan hóa.
Dung môi khai triển: *Aceton - dung dịch amoni acetat 15,4 % đã được điều chỉnh đến pH 5,0 bằng acid acetic băng* (10 : 90).
Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong 10 ml *dung dịch natri bicarbonat 4,2 % (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg amoxicilin trihydrat chuẩn trong 10 ml *dung dịch natri bicarbonat 4,2 % (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 25 mg amoxicilin trihydrat chuẩn và 25 mg ampicilin trihydrat chuẩn trong 10 ml *dung dịch natri bicarbonat 4,2 % (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí. Đặt bản mỏng vào bình bão hòa hơi iod cho đến khi các vết xuất hiện và kiểm tra bản mỏng dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải tương đương với vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí, màu sắc và kích thước. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách ra rõ ràng.
C. Chế phẩm phải cho phản ứng B trong phép thử phản ứng màu của các penicilin và cephalosporin (Phụ lục 8.3).
D. Chế phẩm phải cho phản ứng của ion natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Kiểm tra ngay sau khi pha.
Dung dịch thu được không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2). Dung dịch lúc đầu có thể có màu hồng nhưng chỉ trong thời gian rất ngắn, sau 5 min độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch đo ở bước sóng 430 nm (Phụ lục 4.1) không được lớn hơn 0,20.

pH
Từ 8,0 đến 10,0 (Phụ lục 6.2).
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Góc quay cực riêng
Từ +240° đến +290°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 62,5 mg chế phẩm trong *dung dịch kali biphthalat 0,4 %* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm phosphat pH 5,0: Hút 250 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)*, thêm *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* đến pH 5,0 và pha loãng với *nước* thành 1000,0 ml.
Pha động A: *Acetonitril - dung dịch đệm phosphat pH 5,0* (1 : 99).
Pha động B: *Acetonitril - dung dịch đệm phosphat pH 5,0* (20 : 80).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 30,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml bằng cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Hòa tan 30,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 20,0 ml bằng cùng dung môi. Chuẩn bị ngay trước khi dùng.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 30,0 mg amoxicilin trihydrat chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 4,0 mg cefadroxil chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Lấy 5,0 ml dung dịch này thêm vào 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 100 ml với pha động A.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 2,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20,0 ml với pha động A. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml với pha động A.
Dung dịch đối chiếu (4): Thêm 1,0 ml *nước* vào 0,20 g *amoxicilin trihydrat (TT)*. Lắc đều và thêm từng giọt *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* để hòa tan hoàn toàn. pH của dung dịch thu được khoảng 8,5. Để dung dịch này ở nhiệt độ phòng trong 4 h. Pha loãng 0,5 ml dung dịch này thành 50,0 ml với pha động A.
Điều kiện sắc ký:
Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min với chương trình gradient dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - t_R	92	8
t_R - (t_R + 25)	92 → 0	8 → 100
(t_R + 25) - (t_R + 40)	0	100
(t_R + 40) - (t_R + 55)	92	8

[t_R là thời gian lưu của amoxicilin xác định bằng dung dịch đối chiếu (3)].
Nếu phải điều chỉnh pha động để đạt được yêu cầu về độ phân giải thì việc điều chỉnh tỷ lệ thành phần sẽ được áp dụng ngay tại thời điểm bắt đầu chương trình gradient và cả trong phần Định lượng.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch đối chiếu (2) và (3), tiến hành sắc ký đẳng dòng với tỷ lệ pha động tại thời điểm bắt đầu. Tiêm dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (4), tiến hành sắc ký với chương trình gradient dung môi đã nêu ở trên. Tiêm pha động A để làm mẫu trắng, tiến hành sắc ký với chương trình gradient dung môi đã nêu ở trên.
Xác định các tạp chất: Trên sắc ký đồ thu được với dung dịch đối chiếu (4), 3 pic chính được rửa giải ra sau pic amoxicilin lần lượt là tạp chất C, dimer amoxicilin (tạp chất J; n = 1) và trimer amoxicilin (tạp chất J; n = 2).
Thời gian lưu tương đối so với amoxicilin của các chất như sau: Tạp chất C = khoảng 3,4; Tạp chất J (n = 1) = khoảng 4,1; Tạp chất J (n = 2) = khoảng 4,5.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), hệ số phân giải giữa pic của amoxicilin và pic của cefadroxil ít nhất là 2,0. Nếu cần, điều chỉnh tỷ lệ giữa pha động A và pha động B.
Giới hạn:
Tạp chất J (n = 1): Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (2), diện tích của pic tương ứng với tạp chất J (n = 1) không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3) (3,0 %).
Các tạp chất khác: Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (2), diện tích của bất kỳ pic phụ nào ngoài pic chính và pic tương ứng với tạp chất J (n = 1) không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3) (2,0 %).
Tổng tất cả các tạp: Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (2), tổng diện tích của tất cả các pic phụ ngoài pic chính không được lớn hơn 9 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3) (9,0 %).
Bỏ qua tất cả các pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %).

N,N-dimethylanilin
Không được quá 20 phần triệu.
Xác định bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 10.16, phương pháp 1 hoặc 2).

Acid 2-ethylhexanoic
Không được quá 0,8 % (theo khối lượng) (Phụ lục 10.17).

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3.
Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Không được quá 3,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,400 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn
Dưới 0,25 EU/mg (Phụ lục 13.2).
Nếu chế phẩm dự định dùng để sản xuất các dạng thuốc tiêm phân liều mà không tiến hành các biện pháp thích hợp để loại nội độc tố vi khuẩn thì phải đáp ứng yêu cầu này.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3), tiến hành như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Pha động: Hỗn hợp pha động A và pha động B với tỷ lệ tại thời điểm bắt đầu của chương trình gradient đã nêu, điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiêm dung dịch đối chiếu (1) 6 lần. Phép thử không có giá trị nếu độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic chính lớn hơn 1,0 %.
Tiêm lần lượt dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (1). Hàm lượng phần trăm của amoxicilin natri bằng hàm lượng phần trăm của amoxicilin nhân với hệ số 1,060.

Bảo quản
Đựng trong bao bì kín.
Nếu là nguyên liệu vô khuẩn: Đựng trong bao bì kín, vô khuẩn và tránh sự xâm nhập của vi khuẩn.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm beta-lactam.

Chế phẩm
Thuốc tiêm.

BỘT PHA TIÊM AMOXICILIN
Amoxicillini pro injectione

Bột pha tiêm amoxicilin là bột kết tinh vô khuẩn của amoxicilin natri đóng trong lọ thủy tinh nút kín. Chỉ pha với nước vô khuẩn để tiêm ngay trước khi dùng.
Chế phẩm phải đạt các yêu cầu quy định trong chuyên luận chung về "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, phải từ 90,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc trắng ngà.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại của chế phẩm (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hồng ngoại của amoxicilin natri chuẩn.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Aceton - dung dịch amoni acetat 15,4 % đã được điều chỉnh đến pH 5,0 với acid acetic băng (10 : 90).
Dung dịch thử: Hòa tan một lượng chế phẩm trong *dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT)* để được dung dịch có nồng độ amoxicilin 0,25 %.
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch amoxicilin trihydrat chuẩn 0,25 % trong *dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT).*
Dung dịch đối chiếu (2): Pha dung dịch có chứa amoxicilin trihydrat chuẩn và ampicilin trihydrat chuẩn trong *dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT)* để có nồng độ mỗi chất là 0,25 %.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Cho vào bình chứa hơi iod để phát hiện các vết.
Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương đương về vị trí, màu sắc, kích thước với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi 2 vết của dung dịch đối chiếu (2) được tách rời rõ ràng.
C. Có phản ứng đặc trưng của ion natri (Phụ lục 8.1).

Giới hạn acid - kiềm
Pha chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* để được dung dịch chứa 10 % amoxicilin, pH phải từ 8,0 đến 10,0 (Phụ lục 6.2).

Nước
Không được quá 4,0 % (Phụ lục 10.3). Dùng 0,3 g bột thuốc.

Nội độc tố vi khuẩn
Hòa tan một lượng chế phẩm trong *nước BET (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ amoxicilin 10 mg/ml (dung dịch A). Giới hạn nội độc tố của dung dịch A là 2,5 EU/ml. Tiến hành thử nghiệm sử dụng giá trị pha loãng cực đại của dung dịch A được tính từ độ nhạy của thuốc thử lysat sử dụng trong thử nghiệm (Phụ lục 13.2).

Chất phân hủy
Cân chính xác một lượng chế phẩm tương đương 0,24 g amoxicilin, thêm 25 ml *đệm boric pH 9,0* và 0,5 ml *dung dịch anhydrid acetic (TT),* khuấy trong 3 min. Thêm 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 4,6* và chuẩn độ ngay bằng *dung dịch thủy ngân (II) nitrat 0,02 N (CĐ)* bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch thủy ngân (II) nitrat 0,02 N (CĐ)* tương đương với 7,748 mg chất phân hủy (tính theo amoxicilin natri, $C_{16}H_{18}N_3NaO_5S$).
Chế phẩm không được có quá 9,0 % chất phân hủy, tính theo amoxicilin natri, $C_{16}H_{18}N_3NaO_5S$.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Pha động A - pha động B (92 : 8).
Pha động A: Trộn 1 thể tích *acetonitril (TT)* với 99 thể tích dung dịch chứa 25 % (tt/tt) *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)* đã được điều chỉnh đến pH 5,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT).*
Pha động B: Trộn 20 thể tích *acetonitril (TT)* với 80 thể tích dung dịch chứa 25 % (tt/tt) *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)* đã được điều chỉnh đến pH 5,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT).*
Dung dịch thử: Cân thuốc trong 10 lọ để tính khối lượng trung bình của thuốc trong một đơn vị chế phẩm, trộn đều rồi cân chính xác một lượng chế phẩm tương ứng với khoảng 60 mg amoxicilin vào bình định mức 100 ml, thêm 80 ml pha động A, lắc trong 15 min sau đó lắc siêu âm trong 1 min rồi thêm pha động A vừa đủ đến vạch, trộn đều và lọc.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch amoxicilin trihydrat chuẩn 0,070 % trong pha động A.
Dung dịch phân giải: Dung dịch có chứa 0,003 % amoxicilin trihydrat chuẩn và 0,0004 % cefadroxil chuẩn trong pha động A.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (cột Hypersil ODS là thích hợp).
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải. Thử nghiệm chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa 2 pic amoxicilin và cefadroxil không nhỏ hơn 2. Điều chỉnh thành phần của pha động để đạt yêu cầu độ phân giải trên (nếu cần).

Tiến hành sắc ký với lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, trong một đơn vị chế phẩm từ diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn và dung dịch thử, và hàm lượng $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ trong amoxicilin trihydrat chuẩn.

Bảo quản
Tránh ẩm, ở nhiệt độ không quá 25 °C.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm beta-lactam.

Hàm lượng thường dùng
250 mg, 500 mg, 1000 mg, tính theo amoxicilin.

BỘT PHA TIÊM AMOXICILIN VÀ ACID CLAVULANIC

Amoxicillini et Acidi clavulanici pulvis ad injectionem

Bột pha tiêm amoxicilin và acid clavulanic là bột vô khuẩn của amoxicilin natri và kali clavulanat đóng trong lọ thủy tinh nút kín.
Chế phẩm phải đạt các yêu cầu quy định trong chuyên luận chung về "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng acid clavulanic, $C_8H_9NO_5$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc trắng ngà.

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

Giới hạn acid - kiềm
Pha chế phẩm trong nước không có *carbon dioxyd (TT)* để được dung dịch chứa 10 % amoxicilin, pH phải từ 8,0 đến 10,0 (Phụ lục 6.2).

Nước
Không được quá 3,5 % (Phụ lục 10.3). Dùng 0,5 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn
Tiến hành thử theo chuyên luận "Phép thử nội độc tố vi khuẩn" (Phụ lục 13.2).
Hòa tan một lượng chế phẩm trong *nước BET (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ amoxicilin 10 mg/ml (dung dịch A). Giới hạn nội độc tố của dung dịch A là 2,5 EU/ml.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hỗn hợp 5 thể tích *methanol (TT)* và 95 thể tích *dung dịch natri dihydrophosphat monohydrat 0,78 %* đã được điều chỉnh đến pH 4,4 bằng *acid phosphoric (TT)* hoặc bằng *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)*.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch amoxicilin trihydrat chuẩn và clavulanat lithi chuẩn (hoặc clavulanat kali chuẩn) trong *nước* có nồng độ tương ứng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, là 0,5 mg/ml và acid clavulanic, $C_8H_9NO_5$, là 0,125 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân thuốc trong 10 lọ, tính khối lượng trung bình và trộn đều. Cân chính xác một lượng chế phẩm, tương ứng với khoảng 50 mg amoxicilin vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml *nước*, lắc cho tan, pha loãng bằng *nước* đến vạch, lắc đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Thời gian lưu tương đối của acid clavulanic khoảng 0,5 và amoxicilin là 1,0. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic amoxicilin và acid clavulanic không nhỏ hơn 3,5; hệ số đối xứng của pic amoxicilin và acid clavulanic không lớn hơn 1,5; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic amoxicilin và acid clavulanic không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, và acid clavulanic, $C_8H_9NO_5$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ của amoxicilin trihydrat chuẩn và $C_8H_9NO_5$ của clavulanat lithi chuẩn (hoặc clavulanat kali chuẩn).

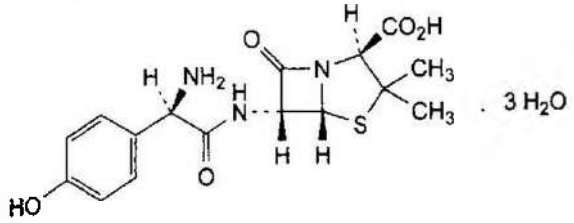
Bảo quản
Bảo quản trong bao bì kín, nơi khô, mát và tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm beta-lactam.

Hàm lượng thường dùng
0,6 g (0,5 g amoxicilin và 0,1 g acid clavulanic).
1,2 g (1,0g amoxicilin và 0,2 g acid clavulanic).

AMOXICILIN TRIHYDRAT

Amoxicillinum trihydricum



$C_{16}H_{19}N_3O_5S.3H_2O$ P.t.l: 419,4

Amoxicilin trihydrat là acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-amino-2-(4-hydroxyphenyl)acetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic trihydrat, phải chứa từ 95,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, tính theo chế phẩm khan.

Sản phẩm bán tổng hợp từ một sản phẩm lên men.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hay gần như trắng.

Khó tan trong nước và rất khó tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong dầu béo. Tan trong các dung dịch acid loãng và dung dịch hydroxyd kiềm loãng.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của amoxicilin trihydrat chuẩn.

B. Tiến hành phương pháp sắc ký lớp mỏng theo "Định tính các penicilin" (Phụ lục 8.2), dùng pha động B.

C. Chế phẩm phải cho phản ứng B trong phép thử "Phản ứng màu của các penicilin và cephalosporin" (Phụ lục 8.3).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan riêng biệt 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,5 M (TT)* và 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch amoniac 2 M (TT)*. Quan sát ngay sau khi hòa tan, cả hai dung dịch trên không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2).

pH

Dung dịch S: Lắc siêu âm hoặc đun nóng nhẹ để hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 50,0 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*.

pH của dung dịch S phải từ 3,5 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ +290° đến +315°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 5.13).

Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm pH 5,0: Thêm *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* vào 250 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)* đến pH 5,0 và pha loãng thành 1000,0 ml bằng *nước*.

Pha động A: Acetonitril - dung dịch đệm pH 5,0 (1 : 99).

Pha động B: Acetonitril - dung dịch đệm pH 5,0 (20 : 80).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 30,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 30,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi. Dùng ngay sau khi pha.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 30,0 mg amoxicilin trihydrat chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 4,0 mg cefadroxil chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Hút 5,0 ml dung dịch thu được và 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thêm pha động A vừa đủ 100 ml.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 2,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20,0 ml bằng pha động A. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng pha động A.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 50 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (tt/tt)	Pha động B (tt/tt)
0 - t_R	92	8
t_R - (t_R + 25)	92 → 0	8 → 100
(t_R + 25) - (t_R + 40)	0	100
(t_R + 40) - (t_R + 55)	92	8

t_R = thời gian lưu của amoxicilin xác định được ở sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3).

Nếu điều chỉnh tỷ lệ pha động để đạt được độ phân giải yêu cầu, việc điều chỉnh này phải được thực hiện ngay tại thời điểm 0 của chương trình dung môi và ở phần Định lượng.

Tiến hành sắc ký đẳng dòng với thành phần pha động như thời điểm bắt đầu chương trình dung môi với dung dịch đối chiếu (2) và (3). Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi ở trên với dung dịch thử (2) và mẫu trắng là pha động A.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của amoxicilin với pic của cefadroxil ít nhất là 2,0 (điều chỉnh tỷ lệ pha động A : B nếu cần).

Giới hạn:

Các tạp chất: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1 %).

Ghi chú:
Tạp chất A: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-amino-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic (acid 6-aminopenicilanic).
Tạp chất B: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*S*)2-amino-2-(4-hydroxyphenyl) acetyl] amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo [3.2.0] heptan-2-carboxylic (L-amoxicilin).
Tạp chất C: Acid (4*S*)-2-[5-(4-hydroxyphenyl)-3,6-dioxopiperazin-2-yl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic (amoxicilin diketopiperazin).
Tạp chất D: Acid (4*S*)-2-[[[(2*R*)-2-amino-2-(4-hydroxyphenyl) acetyl]amino]carboxymethyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic (acid peniciloic của amoxicilin).
Tạp chất E: Acid (2*RS*,4*S*)-2-[[[(2*R*)-2-amino-2-(4-hydroxyphenyl)acetyl]amino]methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic (acid peniloic của amoxicilin).
Tạp chất F: 3-(4-hydroxyphenyl)pyrazin-2-ol.
Tạp chất G: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-[[(2*R*)-2-amino-2-(4-hydroxyphenyl) acetyl]amino]-2-(4-hydroxyphenyl) acetyl] amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0] heptan-2-carboxylic (D-(4-hydroxyphenyl)glycylamoxicilin).
Tạp chất H: Acid (2*R*)-2-[(2,2-dimethylpropanoyl)amino]-2-(4-hydroxyphenyl)acetic.
Tạp chất I: Acid (2*R*)-2-amino-2-(4-hydroxyphenyl)acetic.
Tạp chất J: Các co-oligomer của amoxicilin và acid peniciloic của amoxicilin.
Tạp chất K: Các oligomer của acid peniciloic của amoxicilin.
Tạp chất L: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-[[(2*R*)-2-amino-2-(4-hydroxyphenyl) acetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carbonyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic (6-APA amoxicilin amid).

N,N-Dimethylanilin
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16, phương pháp 1 hoặc 2).

Nước
11,5 % đến 14,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,100 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.9), phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Pha động: Tỷ lệ ban đầu của pha động A và B. Điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1).
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic amoxicilin trihydrat trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (1) thu được từ 6 lần tiêm không được lớn hơn 1,0%.
Tính hàm lượng phần trăm của $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng của $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ trong amoxicilin trihydrat chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm beta-lactam.

Chế phẩm
Viên nén, nang, bột pha hỗn dịch.

BỘT PHA HỖN DỊCH AMOXICILIN
Pulveres Amoxicillini ad suspensionum peroralum

Là thuốc bột chứa amoxicilin trihydrat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc bột" (Phụ lục 1.7) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột thuốc khô tơi, không bị ẩm vón, màu sắc đồng nhất.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Aceton - nước - toluen - acid acetic băng (65 : 10 : 10 : 2,5)
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột thuốc tương ứng 100 mg amoxicilin trong 20 ml hỗn hợp gồm *aceton - dung dịch acid hydrocloric 0,1 M* (4 : 1), lọc.
Dung dịch đối chiếu: Pha amoxicilin trihydrat chuẩn trong hỗn hợp gồm *aceton - dung dịch acid hydrocloric 0,1 M* (4 : 1) để được dung dịch chứa 0,5 % amoxicilin.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 2 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch ninhydrin 0,3 % trong ethanol (TT)*, rồi sấy ở 90 °C trong 15 min. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu phải tương ứng về màu sắc và giá trị R_f.
B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

pH
pH của hỗn dịch tạo thành được chuẩn bị như hướng dẫn trên nhãn phải từ 5,0 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch A: Hòa tan 13,6 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 2000 ml *nước*, điều chỉnh tới pH 5,0 ± 0,1 với *dung dịch kali hydroxyd 45 %*.

Pha động: *Dung dịch A - acetonitril* (96 : 4). Điều chỉnh tỷ lệ acetonitril để đạt điều kiện sắc ký yêu cầu (nếu cần).
Dung dịch chuẩn: Pha amoxicilin trihydrat chuẩn trong dung dịch A để có nồng độ amoxicilin chính xác khoảng 1,2 mg/ml. Lọc qua màng lọc có kích thước lỗ lọc 0,45 µm (chỉ dùng trong vòng 6 h).
Dung dịch thử: Lấy bột thuốc sau khi xác định độ đồng đều khối lượng, trộn đều. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với 120 mg amoxicilin vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml dung dịch A, lắc để hòa tan và thêm dung dịch A đến định mức, lắc đều, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 µm đến 10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng của pic amoxicilin không lớn hơn 2,5 và độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic từ 6 lần tiêm lặp lại mẫu chuẩn không lớn hơn 2,0 %.
Tiêm riêng biệt dung dịch thử và dung dịch chuẩn.
Tính hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, trong chế phẩm từ diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ trong amoxicilin trihydrat chuẩn.

Bảo quản
Để ở nơi mát, trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm beta-lactam.

Hàm lượng thường dùng
250 mg, 500 mg, tính theo amoxicilin khan.

NANG AMOXICILIN
Capsulae Amoxicillini

Là nang cứng có chứa amoxicilin trihydrat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Aceton - nước - toluen - acid acetic băng* (65 : 10 : 10 : 2,5)
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột thuốc trong nang tương ứng 100 mg amoxicilin trong 20 ml hỗn hợp gồm *aceton - dung dịch acid hydrocloric 0,1 M* (4 : 1), lọc.
Dung dịch đối chiếu: Pha amoxicilin trihydrat chuẩn trong hỗn hợp gồm *aceton - dung dịch acid hydrocloric 0,1 M* (4 : 1) để được dung dịch chứa 0,5 % amoxicilin.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 2 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch ninhydrin 0,3 % trong ethanol (TT)*, sấy ở 90 °C trong 15 min. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu phải giống nhau về màu sắc và giá trị R_f.
B. Thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử trong phần Định lượng phải tương ứng với thời gian lưu của pic amoxicilin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Nước
Không được quá 14,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng khoảng 0,100 g bột thuốc.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 60 min.
Cách tiến hành: Lấy một lượng dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 10 ml dịch lọc đầu, pha loãng nếu cần. Đo độ hấp thụ ở bước sóng cực đại 272 nm (Phụ lục 4.1), trong cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *nước*. So sánh với dung dịch amoxicilin trihydrat chuẩn trong *nước* có nồng độ tương đương. Tính hàm lượng của amoxicilin.
Yêu cầu: Không được ít hơn 80 % (Q) lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch A: Hòa tan 13,6 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 2000 ml *nước*, điều chỉnh tới pH 5,0 ± 0,1 với *dung dịch kali hydroxyd 45 %*.
Pha động: *Dung dịch A - acetonitril* (96 : 4). Điều chỉnh tỷ lệ acetonitril để đạt điều kiện sắc ký yêu cầu (nếu cần).
Dung dịch chuẩn: Pha amoxicilin trihydrat chuẩn trong dung dịch A để có nồng độ amoxicilin chính xác khoảng 1,2 mg/ml (chỉ dùng trong vòng 6 h).
Dung dịch thử: Cân thuốc trong từng nang của 20 nang, tính khối lượng trung bình, trộn đều, rồi nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng khoảng 0,200 g amoxicilin, pha trong dung dịch A vừa đủ 200,0 ml, lắc siêu âm để hòa tan và lọc qua màng lọc có kích thước lỗ lọc không quá 1 µm (chỉ dùng trong vòng 6 h).
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 µm đến 10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiêm dung dịch chuẩn, tính trên pic chính thu được trên sắc ký đồ: hệ số

dung lượng phải nằm trong khoảng 1,1 đến 2,8; số đĩa lý thuyết của cột không nhỏ hơn 1700; hệ số đối xứng không lớn hơn 2,5 và độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic từ 6 lần tiêm lặp lại mẫu chuẩn không lớn hơn 2,0 %.
Tiêm riêng biệt dung dịch thử và dung dịch chuẩn.
Tính hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, trong nang từ diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn và dung dịch thử và hàm lượng $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ trong amoxicilin trihydrat chuẩn.

Bảo quản
Để ở nơi mát, trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm beta-lactam.

Hàm lượng thường dùng
250 mg, 500 mg, tính theo amoxicilin khan.

VIÊN NÉN AMOXICILIN
Tabellae Amoxicillini

Là viên nén chứa amoxicilin trihydrat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, từ 90,0 % đến 120,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Aceton - nước - toluen - acid acetic băng (65 : 10 : 10 : 2,5)
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng 100 mg amoxicilin trong 20 ml hỗn hợp gồm *aceton - dung dịch acid hydrocloric 0,1 M* (4 : 1), lọc.
Dung dịch đối chiếu: Pha amoxicilin trihydrat chuẩn trong hỗn hợp gồm *aceton - dung dịch acid hydrocloric 0,1 M* (4 : 1) để được dung dịch chứa 0,5 % amoxicilin.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 2 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch ninhydrin 0,3 % trong ethanol (TT)*, sấy ở 90 °C trong 15 min. Quan sát dưới ánh sáng thường. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu phải giống nhau về màu sắc và giá trị R_f.
B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Nước
Không được quá 13,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng khoảng 0,15 g bột viên.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 60 min.
Cách tiến hành: Lấy một lượng dung dịch, lọc, bỏ 10 ml dịch lọc đầu, pha loãng nếu cần. Đo độ hấp thụ ở bước sóng cực đại khoảng 272 nm (Phụ lục 4.1), trong cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *nước*. So sánh với dung dịch amoxicilin trihydrat chuẩn trong *nước* có nồng độ tương đương. Tính hàm lượng của amoxicilin.
Yêu cầu: Không được ít hơn 80 % (Q) lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch A: Hòa tan 13,6 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 2000 ml *nước*, điều chỉnh tới pH 5,0 ± 0,1 với *dung dịch kali hydroxyd 45 %*.
Pha động: Dung dịch A - acetonitril (96 : 4). Điều chỉnh tỷ lệ acetonitril để đạt điều kiện sắc ký yêu cầu (nếu cần).
Dung dịch chuẩn: Pha amoxicilin trihydrat chuẩn trong dung dịch A để có nồng độ amoxicilin chính xác khoảng 1,2 mg/ml (chỉ dùng trong vòng 6 h).
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng khoảng 0,2 g amoxicilin cho vào bình định mức 200 ml, thêm dung dịch A, lắc siêu âm để hòa tan, thêm đến định mức với cùng dung môi, trộn đều và lọc qua màng lọc có kích thước lỗ lọc không quá 1 µm (chỉ dùng trong vòng 6 h).
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 µm đến 10µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiêm dung dịch chuẩn, tính trên pic chính thu được trên sắc ký đồ: hệ số dung lượng phải nằm trong khoảng 1,1 đến 2,8; số đĩa lý thuyết của cột không nhỏ hơn 1700; hệ số đối xứng không lớn hơn 2,5 và độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic từ 6 lần tiêm lặp lại mẫu chuẩn không lớn hơn 2,0 %.
Tiêm riêng biệt dung dịch thử và dung dịch chuẩn.
Tính hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, trong viên từ diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn và dung dịch thử và hàm lượng $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ trong amoxicilin trihydrat chuẩn.

Bảo quản
Để ở nơi mát, trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm beta-lactam.

Hàm lượng thường dùng
250 mg, 500 mg, tính theo amoxicilin khan.

BỘT PHA HỖN DỊCH AMOXICILIN VÀ ACID CLAVULANIC

Pulveres Amoxicillini et Acidi clavulanici ad suspensionum peroralum

Là thuốc bột pha hỗn dịch uống chứa amoxicilin trihydrat và kali clavulanat.
Chế phẩm phải đạt các yêu cầu quy định trong chuyên luận chung về "Thuốc bột" (Phụ lục 1.7) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng acid clavulanic, $C_8H_9NO_5$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột khô tơi, không bị ẩm, vón.

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

pH
pH của hỗn dịch tạo thành được chuẩn bị như hướng dẫn trên nhãn phải từ 3,8 đến 6,6 (Phụ lục 6.2).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hỗn hợp 5 thể tích *methanol (TT)* và 95 thể tích *dung dịch natri dihydrophosphat monohydrat 0,78 %* đã được điều chỉnh đến pH 4,4 bằng *acid phosphoric (TT)* hoặc bằng *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT).*
Dung dịch chuẩn: Dung dịch amoxicilin trihydrat chuẩn và clavulanat lithi chuẩn (hoặc clavulanat kali chuẩn) trong *nước* có nồng độ tương ứng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, là 0,5 mg/ml và acid clavulanic, $C_8H_9NO_5$, là 0,125 mg/ml.
Dung dịch thử: Lấy bột thuốc sau khi xác định Độ đồng đều khối lượng, trộn đều. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 50 mg amoxicilin vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml *nước*, lắc kỹ để hòa tan, thêm nước đến định mức, lắc đều, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Thời gian lưu tương đối của acid clavulanic khoảng 0,5 và amoxicilin là 1,0. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic amoxicilin và acid clavulanic không nhỏ hơn 3,5; hệ số đối xứng của pic amoxicilin và acid clavulanic không lớn hơn 1,5; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic amoxicilin và acid clavulanic không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, và acid clavulanic, $C_8H_9NO_5$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ của amoxicilin trihydrat chuẩn và $C_8H_9NO_5$ của clavulanat lithi chuẩn (hoặc clavulanat kali chuẩn).
1 mg clavulanat lithi, $C_8H_8LiNO_5$, tương ứng với 0,9711 mg acid clavulanic, $C_8H_9NO_5$.

Bảo quản
Bảo quản trong lọ kín, nơi khô, mát và tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm beta-lactam.

Hàm lượng thường dùng
125 mg amoxicilin và 31,25 mg acid clavulanic.
250 mg amoxicilin và 62,5 mg acid clavulanic.
200 mg amoxicilin và 28,5 mg acid clavulanic.
400 mg amoxicilin và 57 mg acid clavulanic.
600 mg amoxicilin và 42,9 mg acid clavulanic.

VIÊN NÉN AMOXICILIN VÀ ACID CLAVULANIC

Tabellae Amoxicillini et Acidi clavulanici

Là viên nén bao phim chứa amoxicilin trihydrat và kali clavulanat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" mục "Viên bao" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng acid clavulanic, $C_8H_9NO_5$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

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

Nước (Phụ lục 10.3)
Không được quá 7,5 % khi hàm lượng trên nhãn của amoxicilin không lớn hơn 250 mg.
Không được quá 10,0 % khi hàm lượng trên nhãn của amoxicilin lớn hơn 250 mg, nhưng không lớn hơn 500 mg.
Không được quá 11,0 % khi hàm lượng trên nhãn của amoxicilin lớn hơn 500 mg.
Với viên nén dùng để nhai, không được quá 6,0 % khi hàm lượng trên nhãn của amoxicilin không lớn hơn 125 mg và không được quá 8,0 % khi hàm lượng trên nhãn của amoxicilin lớn hơn 125 mg.
Dùng 0,3 g bột viên đã nghiền mịn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 45 min.
Tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc thu được tới nồng độ thích hợp với môi trường hòa tan (nếu cần). Tiến hành định lượng amoxicilin và acid clavulanic hòa tan bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với pha động, điều kiện sắc ký và dung dịch chuẩn như phần định lượng.
Yêu cầu:
Không ít hơn 70 % (Q) lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.
Không ít hơn 70 % (Q) lượng acid clavulanic, $C_8H_9NO_5$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hỗn hợp 5 thể tích *methanol (TT)* và 95 thể tích *dung dịch natri dihydrophosphat monohydrat 0,78 %* đã được điều chỉnh đến pH 4,4 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch amoxicilin trihydrat chuẩn 0,05 % và clavulanat lithi chuẩn 0,02 % trong *nước*.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên đã loại bỏ lớp bao phim và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,250 g amoxicilin vào bình định mức 500 ml, thêm 400 ml *nước* và lắc siêu âm 15 min. Pha loãng bằng *nước* vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm)
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic amoxicilin và acid clavulanic không nhỏ hơn 3,5 và hệ số đối xứng của pic acid clavulanic không lớn hơn 1,5.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, và acid clavulanic, $C_8H_9NO_5$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, và acid clavulanic, $C_8H_9NO_5$, trong dung dịch chuẩn.
1 mg clavulanat lithi, $C_8H_8LiNO_5$, tương ứng với 0,9711 mg acid clavulanic, $C_8H_9NO_5$.

Bảo quản
Trong vỉ nhôm hay trong chai lọ nút kín.
Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
Viên nén tương ứng với 500 mg amoxicilin khan và 125 mg acid clavulanic.

NANG AMOXICILIN VÀ CLOXACILIN
Capsulae Amoxicillini et Cloxacillini

Là nang cứng chứa amoxicilin trihydrat và cloxacilin natri. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu chung trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây.

Hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng cloxacilin, $C_{19}H_{18}ClN_3O_5S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong mục Định lượng, hai pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của hai pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn amoxicilin và cloxacilin natri.
B. Chế phẩm phải cho phản ứng định tính của natri (Phụ lục 8.1).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 60 min.
Cách tiến hành:
Định lượng amoxicilin và cloxacilin bằng phương pháp sắc ký lỏng với pha động và điều kiện sắc ký như mô tả trong mục Định lượng.
Dung dịch chuẩn amoxicilin: Pha dung dịch của amoxicilin trihydrat chuẩn trong *nước* có nồng độ tương đương nồng độ amoxicilin trong dung dịch thử.
Dung dịch chuẩn cloxacilin: Pha dung dịch của cloxacilin natri chuẩn trong *nước* có nồng độ tương đương nồng độ cloxacilin natri của dung dịch thử.
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, hút dịch hòa tan, lọc. Pha loãng (nếu cần) bằng *nước* để thu được dung dịch có nồng độ amoxicilin khoảng 0,27 mg/ml.
Từ diện tích các pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ trong amoxicilin trihydrat chuẩn và $C_{19}H_{18}ClN_3O_5S$ trong cloxacilin natri chuẩn, tính lượng amoxicilin và cloxacilin trong viên hòa tan.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, và 80 % lượng cloxacilin, $C_{19}H_{18}ClN_3O_5S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Dung dịch kali dihydrophosphat 0,02 M, điều chỉnh đến pH 5,0 với *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M.*
Pha động B: Acetonitril.
Dung dịch chuẩn amoxicilin: Pha dung dịch của amoxicilin trihydrat chuẩn trong pha động A có nồng độ amoxicilin chính xác khoảng 0,25 mg/ml.
Dung dịch chuẩn cloxacilin: Pha dung dịch của cloxacilin natri chuẩn trong pha động A có nồng độ cloxacilin chính xác khoảng 0,25 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình bột thuốc trong nang và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với 100 mg amoxicilin vào bình định mức dung tích 100 ml. Thêm khoảng 70 ml pha động A, lắc siêu âm để hòa tan. Thêm pha động A vừa đủ đến vạch. Trộn đều. Lọc. Pha loãng 25,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml với pha động A .
Điều kiện sắc ký:
Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 225 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 6	96	4
6 - 15	70	30
15 - 20	96	4

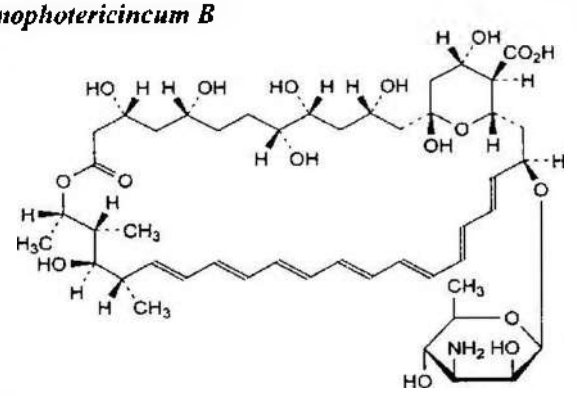
Điều chỉnh tỷ lệ pha động nếu cần.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn amoxoxilin và dung dịch chuẩn cloxacilin. Trên sắc ký đồ thu được, hệ số đối xứng của pic amoxicilin và cloxacilin không lớn hơn 2,0. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích từng pic của 6 lần tiêm lặp lại không quá 2,0 %.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử. Từ diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ trong amoxicilin trihydrat chuẩn và $C_{19}H_{18}ClN_3O_5S$ trong cloxacilin natri chuẩn, tính hàm lượng amoxicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_5S$, và cloxacilin, $C_{19}H_{18}ClN_3O_5S$ trong chế phẩm.

Bảo quản
Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
250 mg tính theo amoxicilin và 250 mg tính theo cloxacilin.

AMPHOTERICIN B
Amophotericincum B



$C_{47}H_{73}NO_{17}$ P.t.l: 924,0

Amphotericin B là một hỗn hợp các polyen chống nấm được sản xuất bằng cách nuôi cấy một số giống *Streptomyces nodosus* hoặc bằng các phương pháp khác, chứa chủ yếu là amphotericin B.
Amphotericin B là: Acid (1*R*,3*S*,5*R*,6*R*,9*R*,11*R*,15*S*,16*R*,17*R*,18*S*,19*E*,21*E*,23*E*,25*E*,27*E*,29*E*,31*E*,33*R*,35*S*,36*R*,37*S*)-33-[(3-amino-3,6-dideoxy-β-D-mannopyranosyl)oxy]-1,3,5,6,9,11,17,37-octahydroxy-15,16,18-trimethyl-13-oxo-14,39-dioxabicyclo-[33.3.1]nonatriaconta-19,21,23,25,27,29,31-heptaen-36 carboxylic.
Hoạt lực của chế phẩm không được nhỏ hơn 750 IU/mg, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột màu vàng hoặc da cam, hút ẩm.
Thực tế không tan trong nước và ethanol 96 %, tan trong dimethyl sulfoxyd và propylen glycol, khó tan trong dimethylformamid, rất khó tan trong methanol.
Dung dịch chế phẩm loãng nhạy cảm với ánh sáng.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của amphotericin B chuẩn. Nếu phổ của chế phẩm khác với phổ của chất chuẩn thì sấy chế phẩm và chất chuẩn ở 60 °C, áp suất không quá 0,7 kPa trong 1 h và tiến hành đo phổ mới.
B. Hòa tan 25 mg chế phẩm trong 5 ml *dimethyl sulfoxyd (TT)* và pha loãng thành 50 ml bằng *methanol (TT).* Pha loãng 2 ml dung dịch này thành 200 ml bằng *methanol (TT).* Phổ hấp thụ tử ngoại khả kiến (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 300 nm đến 450 nm cho 3 cực đại hấp thụ ở bước sóng 362 nm, 381 nm và 405 nm. Tỷ số giữa độ hấp thụ ở bước sóng 362 nm và bước sóng 381 nm phải từ 0,57 đến 0,61. Tỷ số giữa độ hấp thụ ở bước sóng 381 nm và bước sóng 405 nm phải từ 0,87 đến 0,93.
C. Thêm 5 ml *acid phosphoric (TT)* vào 1 ml dung dịch chế phẩm 0,05 % trong *dimethyl sulfoxyd (TT)* sao cho lớp

acid nằm ở bên dưới, tránh làm trộn lẫn 2 lớp chất lỏng. Một vòng màu xanh lam xuất hiện ngay lập tức ở mặt tiếp xúc giữa 2 lớp chất lỏng. Lắc, màu xanh lam đậm được tạo thành. Thêm 15 ml *nước* và lắc, dung dịch sẽ chuyển thành màu vàng nhạt.

D. Trong phần Tạp chất liên quan, thời gian lưu của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử tại bước sóng 383 nm phải giống thời gian lưu của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tránh ánh sáng khi chuẩn bị các dung dịch và sử dụng trong vòng 24 h, trừ dung dịch đối chiếu (3) phải tiêm ngay sau khi pha.

Pha động A: *Methanol - acetonitril - dung dịch đệm pH 4,7* (1 : 3 : 6).

Pha động B: *Methanol - dung dịch đệm pH 3,9 - acetonitril* (12 : 20 : 68).

Dung dịch đệm pH 3,9: Dung dịch *acid citric* 0,42 % được điều chỉnh đến pH 3,9 bằng *amoniac đậm đặc (TT)*.

Dung dịch đệm pH 4,7: Dung dịch *acid citric* 0,42 % được điều chỉnh đến pH 4,7 bằng *amoniac đậm đặc (TT)*.

Hỗn hợp dung môi: *Dung dịch amoni acetat 1 % - N-methylpyrolidon - methanol* (1 : 1 : 2).

Dung dịch thử: Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong 15 ml *N-methylpyrolidon (TT)*, trong vòng 2 h pha loãng thành 50,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20,0 mg amphotericin B chuẩn trong 15 ml *N-methylpyrolidon (TT)*, trong vòng 2 h pha loãng thành 50,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

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

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 20,0 mg nystatin chuẩn trong 15 ml *N-methylpyrolidon (TT)*, trong vòng 2 h pha loãng thành 50,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml bằng dung dịch đối chiếu (1). Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Để tạo ra tạp chất B và C, hòa tan 10 mg chế phẩm trong 5 ml *N-methylpyrolidon (TT)*, trong vòng 2 h thêm 35 ml hỗn hợp *methanol - ethanol* (1 : 4), thêm 0,10 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* trộn đều và ủ ở 25 °C trong 2,5 h. Thêm 10 ml dung dịch *amoni acetat* 1% và trộn đều.

Dung dịch đối chiếu (5): Hòa tan 4 mg amphotericin B chuẩn dùng để định tính pic (chứa tạp chất A và B) trong 5 ml *N-methylpyrolidon (TT)* trong vòng 2 h pha loãng thành 50 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch mẫu trắng: Hỗn hợp dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *base-deactivated end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (3 µm).

Nhiệt độ cột: 20 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 303 nm để phát hiện các tetraen, tại bước sóng 383 nm để phát hiện các heptaen.

Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 3	100	0
3 - 23	100 → 70	0 → 30
23 - 33	70 → 0	30 → 100
33 - 40	0	100

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (2), (3), (4) và (5).

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo amphotericin B chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5) để xác định pic của tạp chất A và tạp chất B.

Thời gian lưu tương đối so với amphotericin B (thời gian lưu khoảng 16 min): Tạp chất B khoảng 0,75; tạp chất A khoảng 0,8; nystatin khoảng 0,85.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống tại bước sóng 383 nm: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4), độ phân giải giữa 2 pic có thời gian lưu tương đối khoảng 0,7 ít nhất là 1,5.

Giới hạn:

Tại bước sóng 303 nm:

Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 2,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (5,0 %); nếu sử dụng để sản xuất thuốc tiêm thì diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (2,0 %)

Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1,0 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %).

Tại bước sóng 383 nm:

Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B không được lớn hơn 4 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (4,0 %).

Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (2,0 %).

Tổng các tạp chất ở bước sóng 303 nm và bước sóng 383 nm: Không được lớn hơn 15,0 %.

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: Amphotericin A (28,29-dihydro-amphotericin B).

Tạp chất B: Amphotericin X1 (13-O-methyl-amphotericin B).

Tạp chất C: Amphotericin X2 (13-O-ethyl-amphotericin B).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; áp suất không quá 0,7 kPa; 60 °C).

Tro sulfat
Không được quá 3,0 % và không được quá 0,5 % khi sử dụng để sản xuất thuốc tiêm (Phụ lục 9.9, phương pháp 2). Dùng 1,0 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 1,0 EU/mg nếu sử dụng để sản xuất thuốc tiêm mà không có biện pháp hữu hiệu để loại bỏ nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2).

Định lượng
Trong quá trình định lượng, tất cả các dung dịch phải tránh ánh sáng.
Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong *dimethyl sulfoxid (TT)* và vừa lắc vừa thêm dung môi này đến vừa đủ 25,0 ml. Lắc dung dịch gốc liên tục và từ dung dịch gốc này pha loãng bằng *dimethyl sulfoxid (TT)* để thu được các dung dịch có nồng độ thích hợp (44,4; 66,7 và 100 IU/ml). Dung dịch cuối cùng được chuẩn bị bằng cách pha loãng 20 lần các dung dịch trên bằng *dung dịch đệm số 14* (Phụ lục 13.9) vì vậy các dung dịch cuối cùng có chứa 5 % (tt/tt) *dimethyl sulfoxid (TT)*. Chuẩn bị đồng thời dung dịch chuẩn và dung dịch thử trong cùng một điều kiện. Tiến hành "Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật" (Phụ lục 13.9).

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng và giữ ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C. Nếu chế phẩm vô trùng, bảo quản trong bao bì vô trùng, kín.

Nhãn
Trên nhãn phải ghi rõ nếu dùng để sản xuất thuốc tiêm.

Loại thuốc
Chống nấm.

Chế phẩm
Viên ngậm. Hỗn dịch uống.

VIÊN NGẬM AMPHOTERICIN
Tabellae Amphotericini

Là viên nén ngậm chứa amphotericin B.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" mục "Viên ngậm" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng amphotericin B, $C_{47}H_{73}NO_{17}$, từ 90,0 % đến 120,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Viên nén tan chậm trong miệng, thường có mùi thơm, vị ngọt.

Định tính
Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 12,5 mg amphotericin B, thêm 2,5 ml *dimethyl sulfoxid (TT)* và lắc trong 5 min. Thêm 15 ml *methanol (TT)*, lắc 10 min, thêm *methanol (TT)* vừa đủ 25 ml và lọc. Pha loãng 1 ml dịch lọc này thành 100 ml bằng *methanol (TT)*. Độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng từ 300 nm đến 450 nm phải có 3 cực đại hấp thụ ở 362 nm, 381 nm và 405 nm. Tỉ số độ hấp thụ ở bước sóng 362 nm so với độ hấp thụ ở bước sóng 381 nm khoảng từ 0,5 đến 0,6. Tỉ số độ hấp thụ ở bước sóng 381 nm so với độ hấp thụ ở bước sóng 405 nm khoảng 0,9.

Hàm lượng tetraen
Không được quá 13,3 % so với lượng amphotericin B ghi trên nhãn.
Dung dịch thử: Thêm vào lượng bột viên tương ứng với 37,5 mg amphotericin B 5 ml *dimethyl sulfoxid (TT)* và 25 ml *methanol (TT)*. Lắc trong 10 min, thêm *methanol (TT)* vừa đủ 50 ml, lắc mạnh và lọc. Pha loãng 4 ml dung dịch lọc này với *methanol (TT)* vừa đủ 50 ml.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50 mg amphotericin B chuẩn trong 5 ml *dimethyl sulfoxid (TT)*, thêm *methanol (TT)* vừa đủ 50 ml. Pha loãng 4 ml dung dịch này với *methanol (TT)* vừa đủ 50 ml.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 25 mg nystatin chuẩn trong 25 ml *dimethyl sulfoxid (TT)*, thêm *methanol (TT)* vừa đủ 250 ml. Pha loãng 4 ml dung dịch này với *methanol (TT)* vừa đủ 50 ml.
Đo lần lượt độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử và các dung dịch đối chiếu (1) và (2) ở các bước sóng cực đại 282 nm và 304 nm, dùng *dung dịch dimethyl sulfoxid 0,8 % (theo thể tích) trong methanol* làm mẫu trắng.
Tính độ hấp thụ riêng A (1 %,1 cm) của chế phẩm ở cả 2 bước sóng theo kết quả hàm lượng amphotericin B tính được ở phần định lượng. Tính A (1 %, 1 cm) của nystatin chuẩn và amphotericin B chuẩn ở cả 2 bước sóng theo chế phẩm đã làm khô. Tính hàm lượng (%) tetraen trong mẫu theo công thức:

$$X = F + \frac{100(B_1S_2 - B_2S_1)}{(N_2B_1 - N_1B_2)}$$

Trong đó:
S_1 và S_2 là độ hấp thụ riêng của chế phẩm ở 282 nm và 304 nm.
N_1 và N_2 là độ hấp thụ riêng của nystatin chuẩn ở 282 nm và 304 nm.
B_1 và B_2 là độ hấp thụ riêng của amphotericin B chuẩn ở 282 nm và 304 nm.
F là hàm lượng tetraen trong amphotericin B chuẩn.

Định lượng
Cân 20 viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 10 mg amphotericin B, thêm 10 ml *nước*, trộn đều, thêm *dimethyl sulfoxid (TT)*

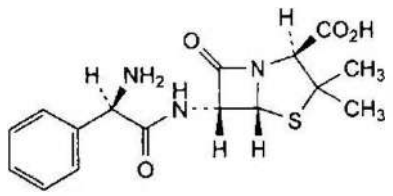
vừa đủ 100 ml, lắc 20 min và lọc. Tiến hành định lượng theo chuyên luận "Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật" (Phụ lục 13.9).
1000 IU tương đương với 1 mg amphotericin B.

Bảo quản
Bảo quản tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống nấm.

Hàm lượng thường dùng
10 mg.

AMPICILIN
Ampicillinum



$C_{16}H_{19}N_3O_4S$ P.t.l: 349,4

Ampicilin là acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-amino-2-phenyl-acetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo [3.2.0]heptan-2-carboxylic, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, tính theo chế phẩm khan.
Sản phẩm bán tổng hợp từ một sản phẩm lên men.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, đa hình.
Hơi tan trong nước, thực tế không tan trong aceton, ethanol 96 % và dầu béo. Tan trong dung dịch acid loãng và dung dịch hydroxyd kiềm loãng.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của ampicilin chuẩn.
B. Tiến hành phương pháp sắc ký lớp mỏng theo "Định tính các penicilin" (Phụ lục 8.2), dùng pha động B.
C. Chế phẩm phải cho phản ứng B trong phép thử "Phản ứng màu của các penicilin và cephalosporin" (Phụ lục 8.3).
D. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử Nước.

Độ trong của dung dịch
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*, đồng thời hòa tan 1,0 g chế phẩm khác trong 10 ml *dung dịch amoniac 2 M (TT)*. Quan sát ngay sau khi hòa tan. Cả hai dung dịch trên không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu số II (Phụ lục 9.2).

pH
Từ 3,5 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).
Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 40 ml với cùng dung môi.

Góc quay cực riêng
Từ +280° đến +305°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 62,5 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Trộn đều 0,5 ml *acid acetic loãng (TT)*, 50 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)* và 50 ml *acetonitril (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Pha động B: Trộn đều 0,5 ml *acid acetic loãng (TT)*, 50 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)* và 400 ml *acetonitril (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Dung dịch thử (1): Hòa tan 27,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Hòa tan 27,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Chuẩn bị ngay trước khi dùng.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 27,0 mg ampicilin khan chuẩn bằng pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 2,0 mg cefradin chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Trộn đều 5,0 ml dung dịch thu được và 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1).
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20,0 ml bằng pha động A.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (tt/tt)	Pha động B (tt/tt)
0 - t_R	85	15
t_R - (t_R + 30)	85 → 0	15 → 100
(t_R + 30) - (t_R + 45)	0	100
(t_R + 45) - (t_R + 60)	85	15

t_R = thời gian lưu của ampicilin xác định được ở sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3).
Nếu phải điều chỉnh tỷ lệ các thành phần pha động để đạt độ phân giải yêu cầu, việc điều chỉnh này phải được thực hiện ngay tại thời điểm 0 của chương trình dung môi và ở phần Định lượng.

Tiến hành sắc ký đẳng dòng với thành phần pha động như thời điểm bắt đầu chương trình dung môi với dung dịch đối chiếu (2) và (3). Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi ở trên với dung dịch thử (2) và mẫu trắng là pha động A.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của ampicilin và pic của cefradin ít nhất là 3,0; nếu cần điều chỉnh tỷ lệ pha động A : B.
Giới hạn:
Tất cả các tạp chất: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1,0 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-amino-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic (acid 6-aminopenicilanic).
Tạp chất B: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*S*)-2-amino-2-phenylacetyl] amino]-3.3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo [3.2.0] heptan-2-carboxylic (L-ampicilin).
Tạp chất C: Acid (4*S*)-2-(3,6-dioxo-5-phenylpiperazin-2-yl)-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic (diketopiperazin của ampicilin).
Tạp chất D: Acid (4*S*)-2-[[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl]amino] carboxymethyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic(acid peniciloic của ampicilin).
Tạp chất F: Acid (2*RS*,4*S*)-2-[[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl] amino]methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic(acid peniloic của ampicilin).
Tạp chất E: Acid (2*S*)-2-[[[(2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-yl]carbonyl]amino]-2-phenylacetic (ampicilinyl-D-phenylglycin).
Tạp chất G: (3*R*,6*R*)-3,6-Diphenylpiperazin-2,5-dion.
Tạp chất H: 3-Phenylpyrazin-2-ol.
Tạp chất I: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl]amino]-2phenylacetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic (D-phenylglycylampicilin).
Tạp chất J: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[(2,2-dimethylpropanoyl)amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic.
Tạp chất K: Acid (2*R*)-2-[(2,2-dimethylpropanoyl)amino]-2-phenylacetic.
Tạp chất L: Acid (2*R*)-2-amino-2-phenylacetic (D-phenylglycin).
Tạp chất M: Các co-oligomer của ampicilin và của acid peniciloic của ampicilin.

N,N-Dimethylanilin
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16, phương pháp 2).

Nước
Không được quá 2,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,300 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

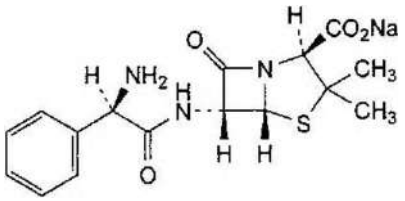
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Pha động: Tỷ lệ ban đầu của pha động A và B. Điều chỉnh nếu cần.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1).
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic ampicilin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) trong 6 lần tiêm không được lớn hơn 1,0.
Tính hàm lượng của $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng của $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ trong ampicilin khan chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để ở nhiệt độ dưới 30 °C.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm beta-lactam.

Chế phẩm
Nang, bột pha hỗn dịch.

AMPICILIN NATRI
Ampicillinum natricum



$C_{16}H_{18}N_3NaO_4S$ P.t.l: 371,4

Ampicilin natri là muối natri của acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic, phải chứa từ 91,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{18}N_3NaO_4S$, tính theo chế phẩm khan.
Sản phẩm bán tổng hợp từ một sản phẩm lên men.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, hút ẩm.
Dễ tan trong nước, hơi tan trong aceton. Thực tế không tan trong dầu béo và parafin lỏng.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 5 ml *nước*, thêm 0,5 ml *acid acetic loãng (TT)*, khuấy đều và để yên 10 min trong nước đá. Lọc tinh thể qua phễu lọc xốp nhỏ (số độ xốp 40)

sử dụng hút chân không, rửa tủa bằng 2 ml đến 3 ml hỗn hợp *nước - aceton* (1 : 9), sấy tủa ở nhiệt độ 60 °C trong 30 min. Phổ hấp thụ hồng ngoại của tủa thu được (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của ampicilin trihydrat chuẩn.

B. Tiến hành phương pháp sắc ký lớp mỏng theo định tính các penicilin (Phụ lục 8.2).

C. Phản ứng B trong phép thử phản ứng màu của các penicilin và các cephalosporin (Phụ lục 8.3).

D. Chế phẩm phải cho phản ứng A của phép thử ion natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Lấy 1,0 g chế phẩm vào 1 bình nón, thêm 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* từ từ và khuấy liên tục. Hòa tan 1,0 g chế phẩm khác trong *nước* và pha loãng thành 10 ml bằng *nước*. Quan sát ngay sau khi hòa tan. Cả hai dung dịch trên không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu số II (Phụ lục 9.2). Độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch chế phẩm trong nước đo ở bước sóng 430 nm không được lớn hơn 0,15.

pH

Từ 8,0 đến 10,0 (Phụ lục 6.2).

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 20 ml bằng cùng dung môi. Sau khi hòa tan 10 min tiến hành đo pH.

Góc quay cực riêng

Từ +258° đến +287°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 62,5 mg chế phẩm trong *dung dịch kali hydrophtalat 0,4 %* và pha loãng thành 25,0 ml bằng cùng dung môi và tiến hành đo.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Trộn đều 0,5 ml *acid acetic loãng (TT)*, 50 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)* và 50 ml *acetonitril (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Pha động B: Trộn đều 0,5 ml *acid acetic loãng (TT)*, 50 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)* và 400 ml *acetonitril (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch thử (1): Hòa tan 31,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 31,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Chuẩn bị ngay trước khi dùng.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 27,0 mg ampicilin khan chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 2,0 mg cefradin chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Trộn đều 5,0 ml dung dịch thu được và 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1).

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20,0 ml bằng pha động A.

Dung dịch đối chiếu (4): Lấy 0,20 g chế phẩm, thêm 1,0 ml nước, làm nóng ở 60 °C trong 1 h. Pha loãng 0,5 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng pha động A.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 50 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (tt/tt)	Pha động B (tt/tt)
0 - t_R	85	15
t_R - (t_R + 30)	85 → 0	15 → 100
(t_R + 30) - (t_R + 45)	0	100
(t_R + 45) - (t_R + 60)	85	15

t_R = Thời gian lưu của ampicilin xác định được ở sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3).

Nếu phải điều chỉnh các thành phần của pha động để đạt độ phân giải như yêu cầu thì các thành phần được điều chỉnh sẽ được áp dụng tại thời điểm ban đầu và trong định lượng.

Tiến hành sắc ký đẳng dòng với thành phần pha động như thời điểm bắt đầu của chương trình dung môi với dung dịch đối chiếu (2) và (3). Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi với dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (4) và mẫu trắng là pha động A.

Định tính các pic: Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của ampicilin và ampicilin dimer. Thời gian lưu tương đối của ampicilin dimer so với ampicilin khoảng 2,8.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của ampicilin với pic của cefradin ít nhất là 3,0. Nếu cần, điều chỉnh tỷ lệ pha động A : B.

Giới hạn:

Ampicilin dimer: Diện tích pic ampicilin dimer không được lớn hơn 4,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (4,5 %).

Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (2 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-amino-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic (acid 6-amino-penicilanic).

Tạp chất B: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*S*)-2-amino-2-phenylacetyl] amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2carboxylic (L-ampicilin).

Tạp chất C: Acid (4*S*)-2-(3,6-dioxo-5-phenylpiperazin-2-yl)-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic (diketopiperazin của ampicilin).

Tạp chất D: Acid (4*S*)-2-[[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl] amino]carboxymethyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic (acid peniciloic của ampicilin).
Tạp chất E: Acid (2*S*)-2-[[[(2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo [3.2.0]hept-2-yl]carbonyl]amino]-2-phenylacetic (ampicilinyl-D-phenylglycin).
Tạp chất F: Acid (2*RS*,4*S*)-2-[[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl] amino]methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic (acid peniloic của ampicilin).
Tạp chất G: (3*R*,6*R*)-3,6-Diphenylpiperazin-2,5-dion.
Tạp chất H: 3-Phenylpyrazin-2-ol.
Tạp chất I: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl]amino]-2phenylacetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic (D-phenylglycylampicilin).
Tạp chất J: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[(2,2-dimethylpropanoyl)amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo [3.2.0]heptan-2-carboxylic.
Tạp chất K: Acid (2*R*)-2-[(2,2-dimethylpropanoyl)amino]-2-phenylacetic.
Tạp chất L: Acid (2*R*)-2-amino-2-phenylacetic (D-phenylglycin).
Tạp chất M: Các co-oligomer của ampicilin và acid peniciloic của ampicilin.
Tạp chất N: Các oligomer của acid peniciloic của ampicilin.

N,N- Dimethylanilin
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16, phương pháp 2).

Acid 2-ethylhexanoic
Không được quá 0,8 % (kl/kl) (Phụ lục 10.17).

Methylen clorid
Không được quá 0,2 % (kl/kl).
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).
Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan 1,0 ml *ethylen clorid (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 500,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 1,0 ml *methylen clorid (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 500,0 ml với cùng dung môi. Lấy 1,0 ml dung dịch thu được, thêm 1,0 ml dung dịch chuẩn nội và pha loãng thành 10,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch thử (1): Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước*, thêm 1,0 ml dung dịch chuẩn nội và pha loãng thành 10,0 ml bằng *nước*.
Điều kiện sắc ký:
Cột thủy tinh (1,5 m × 4 mm) được nhồi *diatomit dùng cho sắc ký khí (TT)* đã được tẩm 10 % (kl/kl) *polyethylen glycol 1000 (TT)*.
Khí mang là *nitrogen dùng cho sắc ký khí (TT)*, lưu lượng 40 ml/min.
Detector ion hóa ngọn lửa.
Nhiệt độ: Cột ở 60 °C, buồng tiêm ở 100 °C, detector ở 150 °C.
Lấy tỉ trọng của methylen clorid ở 20 °C là 1,325 g/ml để tính hàm lượng.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Không được quá 2,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,300 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 0,15 EU/mg (Phụ lục 13.2).
Nếu chế phẩm dùng để sản xuất thuốc tiêm mà không có biện pháp hữu hiệu để loại bỏ nội độc tố vi khuẩn thì phải thử chỉ tiêu này.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Pha động: Tỷ lệ ban đầu của pha động A và B. Điều chỉnh nếu cần.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1).
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic ampicilin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) trong 6 lần tiêm không được lớn hơn 1,0.
Tính hàm lượng của $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng của $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ trong ampicilin khan chuẩn.
Hàm lượng phần trăm của ampicilin natri bằng hàm lượng phần trăm của ampicilin ($C_{16}H_{19}N_3O_4S$) nhân với 1,063.

Bảo quản
Trong bao bì kín. Nếu chế phẩm vô trùng thì bảo quản trong bao bì vô trùng, kín.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm beta-lactam.

Chế phẩm
Thuốc tiêm.

BỘT PHA TIÊM AMPICILIN
Ampicillini pro injectione

Bột pha tiêm ampicilin là bột kết tinh vô khuẩn của ampicilin natri đóng trong lọ thủy tinh nút kín. Chỉ pha với nước vô khuẩn để tiêm ngay trước khi dùng.
Chế phẩm phải đạt các yêu cầu quy định trong chuyên luận chung về "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng ampicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, phải đạt từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, tan trong nước.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A và C.
Nhóm II: B, C và D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của ampicilin natri chuẩn.
Nếu phổ không phù hợp thì thực hiện như sau: Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng với 0,25 g ampicilin trong 5 ml *nước*, thêm 0,5 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)*, trộn đều và để yên 10 min trong nước lạnh. Lọc qua phễu thủy tinh xốp số 3, rửa cắn với 2 ml đến 3 ml hỗn hợp 9 thể tích *aceton (TT)* và 1 thể tích *nước*, làm khô cắn ở 60 °C trong 30 min và đo phổ hồng ngoại. Phổ hồng ngoại của cắn phải phù hợp với phổ hồng ngoại chuẩn của ampicilin trihydrat.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng thời gian lưu với pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
C. Chế phẩm phải có phản ứng đặc trưng của natri (Phụ lục 8.1).
D. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G.*
Dung môi khai triển: *Aceton - dung dịch amoni acetat 15,4 % được điều chỉnh tới pH 5,0 bằng acid acetic băng* (10 : 90).
Dung dịch thử: Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng với 25 mg ampicilin natri trong 10 ml *dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch ampicilin trihydrat chuẩn 0,25 % pha trong *dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch chứa 0,25 % ampicilin trihydrat chuẩn và 0,25 % amoxicilin trihydrat chuẩn, pha trong *dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 2 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, đặt bản mỏng vào bình có hơi iod đến khi xuất hiện các vết, quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Trên sắc ký đồ thu được, vết chính của dung dịch thử và vết chính của dung dịch đối chiếu (1) phải giống nhau về vị trí, màu sắc và hình dạng. Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách biệt nhau rõ ràng.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*, lắc kỹ (dung dịch A).
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước* vừa đủ 10 ml (dung dịch B).
Cả hai dung dịch đều phải trong. Nếu dung dịch đục thì không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2).
Độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch B ở bước sóng 430 nm không được quá 0,15.

Giới hạn acid - kiềm
Dung dịch chế phẩm 10 % trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* có pH từ 8,0 đến 10,0. Đo trong vòng 10 min sau khi pha dung dịch (Phụ lục 6.2).

Nước
Không được quá 2 % (Phụ lục 10.3). Dùng 0,3 g bột thuốc.

Chất hấp thụ iod
Hòa tan khoảng 0,100 g chế phẩm trong 20 ml nước, thêm 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và 25,0 ml *dung dịch iod 0,02 N (CĐ)*. Định lượng ngay bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,02 N (CĐ)*, dùng *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị.
Song song làm mẫu trắng trong cùng điều kiện. Hiệu số giữa hai lần chuẩn độ biểu thị lượng chất hấp thụ iod có mặt.
1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,02 N (CĐ)* tương ứng với 0,7392 mg chất hấp thụ iod. Tính tỷ lệ phần trăm chất hấp thụ iod trong mẫu thử. Tổng tỷ lệ phần trăm chất hấp thụ iod và tỷ lệ phần trăm ampicilin natri (cả hai loại đều tính theo chất khan) không được ít hơn 97,5 %.
1 mg $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ được xác định ở mục Định lượng tương đương với 1,063 mg ampicilin natri, $C_{16}H_{18}N_3NaO_4S$.

Nội độc tố vi khuẩn
Tiến hành thử theo chuyên luận "Phép thử nội độc tố vi khuẩn" (Phụ lục 13.2).
Hòa tan một lượng chế phẩm trong *nước BET (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ ampicilin 9,5 mg/ml (dung dịch A). Nồng độ giới hạn nội độc tố của dung dịch A là 1,5 EU/ml. Giá trị độ pha loãng tối đa của dung dịch A được tính từ độ nhạy của thuốc thử lysat dùng trong phép thử.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Nước - acetonitril - dung dịch kali dihydrophosphat 1 M - dung dịch acid acetic 1 M (909 : 80 : 10 : 1).
Dung dịch thử: Cân thuốc trong 10 lọ, tính khối lượng trung bình của thuốc trong một đơn vị chế phẩm, trộn đều. Cân chính xác một lượng chế phẩm tương ứng với khoảng 50 mg ampicilin vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml pha động, lắc cho tan, pha loãng bằng pha động đến vạch, lắc đều và lọc. Hút 10,0 ml dịch lọc, pha loãng thành 50,0 ml với pha động.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg ampicilin chuẩn vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml pha động, lắc cho tan, pha loãng bằng pha động đến vạch, lắc đều và lọc. Hút 10,0 ml dịch lọc, pha loãng thành 50,0 ml với pha động.
Dung dịch phân giải: Dung dịch có nồng độ ampicilin chuẩn 200 mg/ml và cefradin chuẩn 20 mg/ml pha trong pha động.

Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (cột Hypersil ODS là thích hợp).
Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiêm dung dịch phân giải và điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao của các pic ít nhất bằng nửa thang đo. Thử nghiệm chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa 2 pic ampicilin và cefradrin không nhỏ hơn 3,0. Nếu cần, có thể điều chỉnh thành phần pha động để đạt điều kiện trên. Thử nghiệm chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic của 6 lần tiêm dung dịch chuẩn nhỏ hơn 2,0 %.
Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng ampicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ trong ampicilin chuẩn.

Bảo quản
Để nơi khô mát, nhiệt độ không quá 25 °C.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm beta-lactam.

Hàm lượng thường dùng
500 mg, 1000 mg.

BỘT PHA TIÊM AMPICILIN VÀ SULBACTAM
Ampicillini et Sulbactami pulvis ad injectionem

Là hỗn hợp bột khô vô khuẩn của ampicilin natri và sulbactam natri để pha thuốc tiêm.
Tỷ lệ hàm lượng trên nhãn giữa ampicilin và sulbactam là 2 : 1.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng ampicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, từ 90,0 % đến 115,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng sulbactam, $C_8H_{11}NO_5S$, từ 90,0 % đến 115,0 % so với lượng ghi trên nhãn.
Bột pha tiêm ampicilin và sulbactam phải chứa không ít hơn 563 µg ampicilin và 280 µg sulbactam trong 1 mg chế phẩm, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột màu trắng hoặc gần như trắng.

Định tính
Trong mục Định lượng, sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho 2 pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của ampicilin và sulbactam trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

pH
Dung dịch chứa 10 mg ampicilin và 5 mg sulbactam trong 1 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* phải có pH từ 8,0 đến 10,0 (Phụ lục 6.2).

Nước
Không được quá 2,0 % (Phụ lục 10.3).

Nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2)
Không được quá 0,17 EU trong 1 mg hỗn hợp ampicilin và sulbactam (tương ứng với 0,67 mg ampicilin và 0,33 mg sulbactam).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,005 M - acetonitril (1650 : 350), điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.
Dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,005 M: Pha loãng 6,6 ml *dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 40 %* với *nước* để có 1800 ml dung dịch. Điều chỉnh pH dung dịch đến 5,0 ± 0,1 bằng *dung dịch acid phosphoric 1 M (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 2000 ml.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng ampicilin chuẩn và sulbactam chuẩn, hòa tan với pha động trong bình định mức phù hợp để thu được dung dịch có nồng độ ampicilin là 0,6 mg/ml và nồng độ của sulbactam là 0,3 mg/ml, dung dịch dùng ngay sau khi pha.
Dung dịch phân giải: Pha dung dịch sulbactam chuẩn có nồng độ 0,3 mg/ml trong *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M*, để yên dung dịch này trong 30 min. Điều chỉnh pH của dung dịch này đến 5,0 ± 0,1 bằng *dung dịch acid phosphoric 1 M (TT)*. Hút 5 ml dung dịch thu được chuyển vào bình định mức 25 ml, thêm 4,25 ml *acetonitril (TT)* và thêm *dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,005 M* vừa đủ thể tích. Hút 1 ml dung dịch thu được chuyển vào bình định mức 25 ml, thêm 15 mg ampicilin chuẩn và thêm pha động vừa đủ thể tích, lắc đều. Dung dịch dùng ngay sau khi pha.
Dung dịch thử: Cân thuốc trong 10 lọ, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong một lọ. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 60 mg ampicilin và 30 mg sulbactam vào bình định mức 100 ml. Thêm 70 ml pha động, lắc để hòa tan và thêm pha động vừa đủ thể tích, lắc đều. Dung dịch dùng ngay sau khi pha.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, trên sắc ký đồ thu được, thời gian lưu tương đối của ampicilin là khoảng 0,7 và của sản phẩm

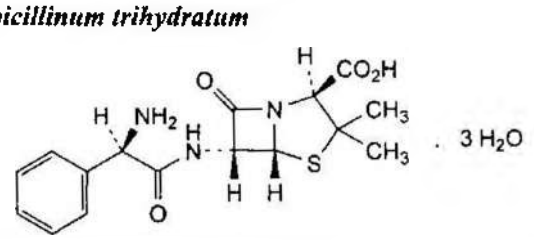
phân hủy của sulbactam trong kiềm là 1,0. Độ phân giải giữa pic ampicilin và pic sản phẩm phân hủy của sulbactam trong kiềm không nhỏ hơn 4,0.
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, trên sắc ký đồ thu được, thời gian lưu tương đối của ampicilin là khoảng 0,35 và của sulbactam là 1,0. Hiệu lực cột xác định trên pic sulbactam không ít hơn 3500 đĩa lý thuyết, hệ số đối xứng không lớn hơn 1,5 và độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích đáp ứng từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng ampicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, và sulbactam, $C_8H_{11}NO_5S$, trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ của ampicilin và $C_8H_{11}NO_5S$ của sulbactam chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
Ampicilin 1 g; sulbactam 0,5 g (lọ 1,5 g).
Ampicilin 2 g; sulbactam 1 g (lọ 3 g).

AMPICILIN TRIHYDRAT
Ampicillinum trihydratum



$C_{16}H_{19}N_3O_4S.\ 3H_2O$ P.t.l: 403,5

Ampicilin trihydrat là acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic trihydrat, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, tính theo chế phẩm khan.
Sản phẩm bán tổng hợp từ một sản phẩm lên men.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng.
Hơi tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 % và dầu béo. Tan trong dung dịch acid loãng và dung dịch hydroxyd kiềm loãng.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của ampicilin trihydrat chuẩn.
B. Tiến hành phương pháp sắc ký lớp mỏng theo "Định tính các penicilin" (Phụ lục 8.2), dùng pha động B.
C. Chế phẩm phải cho phản ứng B trong phép thử "Phản ứng màu của các penicilin và cephalosporin" (Phụ lục 8.3).
D. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử Nước.

Độ trong của dung dịch
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*, đồng thời hòa tan 1,0 g chế phẩm khác trong 10 ml *dung dịch amoniac 2 M (TT)*. Quan sát ngay sau khi hòa tan. Cả hai dung dịch trên không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu số II (Phụ lục 9.2).

pH
Từ 3,5 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).
Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 40 ml với cùng dung môi.

Góc quay cực riêng
Từ +280° đến +305°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 62,5 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Trộn đều 0,5 ml *acid acetic loãng (TT)*, 50 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)* và 50 ml *acetonitril (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Pha động B: Trộn đều 0,5 ml *acid acetic loãng (TT)*, 50 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)* và 400 ml *acetonitril (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Dung dịch thử (1): Hòa tan 31,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Hòa tan 31,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Chuẩn bị ngay trước khi dùng.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 27,0 mg ampicilin khan chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 2,0 mg cefradin chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Trộn đều 5,0 ml dung dịch thu được và 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1).
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20,0 ml bằng pha động A.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (tt/tt)	Pha động B (tt/tt)
0 - t_R	85	15
t_R - (t_R + 30)	85 → 0	15 → 100
(t_R + 30) - (t_R + 45)	0	100
(t_R + 45) - (t_R + 60)	85	15

t_R = thời gian lưu của ampicilin xác định được ở sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3).

Nếu phải điều chỉnh tỷ lệ các thành phần pha động để đạt độ phân giải yêu cầu thì việc điều chỉnh này phải được thực hiện ngay tại thời điểm 0 của chương trình dung môi và ở phần Định lượng.

Tiến hành sắc ký đẳng dòng với thành phần pha động như thời điểm bắt đầu của chương trình dung môi với dung dịch đối chiếu (2) và (3). Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi ở trên với dung dịch thử (2) và mẫu trắng là pha động A.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của ampicilin với pic của cefradin ít nhất là 3,0; nếu cần điều chỉnh tỷ lệ pha động A : B.

Giới hạn:

Tất cả các tạp chất: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1,0 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-amino-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic (acid 6-amino-penicilanic).

Tạp chất B: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*S*)-2-amino-2-phenylacetyl] amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic (L-ampicilin).

Tạp chất C: Acid (4*S*)-2-(3,6-dioxo-5-phenylpiperazin-2-yl)-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic (diketopiperazin của ampicilin).

Tạp chất D: Acid (4*S*)-2-[[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl] amino]carboxymethyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic (acid peniciloic của ampicilin).

Tạp chất F: Acid (2*RS*,4*S*)-2-[[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl] amino]methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic (acid peniloic của ampicilin).

Tạp chất E: Acid (2*S*)-2-[[[(2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-yl]carbonyl]amino]-2-phenylacetic (ampicilinyl-D-phenylglycin).

Tạp chất G: (3*R*,6*R*)-3,6-Diphenylpiperazin-2,5-dion.

Tạp chất H: 3-Phenylpyrazin-2-ol.

Tạp chất I: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl]amino]-2phenylacetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic (D-phenylglycylampicilin).

Tạp chất J: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[(2,2-dimethylpropanoyl) amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo [3.2.0]heptan-2-carboxylic.

Tạp chất K: Acid (2*R*)-2-[(2,2-dimethylpropanoyl)amino]-2-phenylacetic.

Tạp chất L: Acid (2*R*)-2-amino-2-phenylacetic (D-phenylglycin).

Tạp chất M: Các co-oligomer của ampicilin và của acid peniciloic của ampicilin.

N,N- Dimethylanilin

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16, phương pháp 2).

Nước

Từ 12,0 % đến 15,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,100 g chế phẩm.

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.

Pha động: Tỷ lệ ban đầu của pha động A và B. Điều chỉnh nếu cần.

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

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic ampicilin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) thu được từ 6 lần tiêm không được lớn hơn 1,0.

Tính hàm lượng của $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng của $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ trong ampicilin khan chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để ở nhiệt độ dưới 30 °C.

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm beta-lactam.

Chế phẩm

Nang, viên nén, bột pha hỗn dịch.

NANG AMPICILIN

Capsulae Ampicillini

Là nang cứng có chứa ampicilin khan hoặc ampicilin trihydrat.

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

Hàm lượng ampicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

A. Lấy một lượng bột thuốc đã nghiền mịn tương ứng khoảng 10 mg ampicilin, thêm 10 ml *nước*, lắc kỹ, lọc. Thêm vào dịch lọc 2 ml *thuốc thử Fehling (TT)*, xuất hiện ngay màu tím đỏ.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Aceton - dung dịch amoni acetat 15,4 % được điều chỉnh tới pH 5,0 bằng *acid acetic băng* (10 : 90).
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột thuốc trong nang tương ứng 125 mg ampicilin với 50 ml *dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT)*, lọc.
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch ampicilin trihydrat chuẩn 0,25 % pha trong *dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT).*
Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch chứa 0,25 % ampicilin trihydrat chuẩn và 0,25 % amoxicilin trihydrat chuẩn, pha trong *dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT).*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 2 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, đặt bản mỏng vào bình có hơi iod đến khi xuất hiện các vết, quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Trên sắc ký đồ thu được, vết chính của dung dịch thử và vết chính của dung dịch đối chiếu (1) phải giống nhau về vị trí, màu sắc và kích thước. Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách biệt nhau rõ ràng.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Thời gian: 60 min.
Cách tiến hành:
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, dung dịch chuẩn và *điều kiện sắc ký*: thực hiện như trong phần Định lượng.
Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Lấy chính xác một thể tích dịch lọc, pha trong pha động A để có nồng độ ampicilin chính xác khoảng 0,006 %.
Yêu cầu: Không được ít hơn 80 % (Q) lượng ampicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 min.

Mất khối lượng do làm khô
Cân chính xác khoảng 500 mg bột thuốc, sấy trong chân không dưới áp suất 5 mmHg ở 60 °C trong 3 h.
Lượng mất đi phải từ 10,0 % đến 15,0 % khi chế phẩm chứa ampicilin trihydrat. Lượng mất đi không được lớn hơn 4 % khi chế phẩm chứa ampicilin khan.

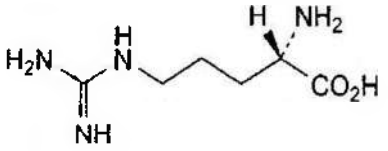
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Hỗn hợp gồm 1 thể tích *dung dịch acid acetic 10 % (TT)*, 100 thể tích *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)*, 100 thể tích *acetonitril (TT)* và *nước* vừa đủ 2000 thể tích.
Pha động B: Hỗn hợp gồm 1 thể tích *dung dịch acid acetic 10 % (TT)*, 100 thể tích *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)*, 800 thể tích *acetonitril (TT)* và *nước* vừa đủ 2000 thể tích.
Pha động: Pha động A - pha động B (85 : 15).
Dung dịch chuẩn: Dung dịch ampicilin chuẩn 0,006 % trong pha động A.
Dung dịch phân giải: Dung dịch chứa 0,025 % ampicilin chuẩn và 0,002 % cefradin chuẩn, pha trong pha động A.
Dung dịch thử: Cân thuốc trong 20 nang, tính khối lượng trung bình, trộn đều và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột tương ứng với 60 mg ampicilin, lắc trong 15 min với 80 ml pha động A rồi thêm pha động A đến vừa đủ thể tích 100,0 ml. Lọc, lấy 5,0 ml dịch lọc pha loãng thành 50,0 ml bằng pha động A.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (cột Nucleosil C18 là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiêm dung dịch phân giải, độ phân giải giữa pic ampicilin và pic cefradin phải không nhỏ hơn 3,0; có thể điều chỉnh thành phần pha động để đạt yêu cầu trên.
Tiêm lần lượt dung dịch thử và dung dịch chuẩn.
Tính hàm lượng ampicilin, $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, trong viên từ diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ trong ampicilin chuẩn.

Bảo quản
Để nơi mát, trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm beta-lactam.

Hàm lượng thường dùng
250 mg, 500 mg, tính theo ampicilin khan.

ARGININ
Argininum



$C_6H_{14}N_4O_2$ P.t.l: 174,2

Arginin là acid (*S*)-2-amino-5-guanidinopentanoic, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_6H_{14}N_4O_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng hay tinh thể không màu. Dễ tan trong nước, rất khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, C.
Nhóm II: B, C, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của arginin chuẩn. Chuẩn bị mẫu đo dưới dạng đĩa nén.
B. Trong phần Các chất dương tính với ninhydrin, vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải tương tự về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
C. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Góc quay cực riêng.
D. Dung dịch S phải có pH lớn hơn 10 (Phụ lục 6.2).
E. Hòa tan khoảng 25 mg chế phẩm trong 2 ml *nước*. Thêm 1 ml *dung dịch α-naphthol (TT)* và 2 ml hỗn hợp đồng thể tích của *dung dịch natri hypoclorit (TT)* và *nước*, sẽ xuất hiện màu đỏ.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực riêng
Từ +25,5° đến +28,5°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 2,00 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Các chất dương tính với ninhydrin
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel.
Dung môi khai triển: Amoniac - 2-propanol (30 : 70).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 50 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg arginin chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5 ml dung dịch thử (2) thành 20 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10 mg arginin chuẩn và 10 mg lysin hydroclorid chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Để khô bản mỏng ngoài không khí. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được 15 cm. Sấy bản mỏng ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C đến khi amoniac bay hơi hết. *Phun dung dịch ninhydrin 0,2 % (TT)* và sấy bản mỏng ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C trong 15 min. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), bất kỳ vết phụ nào ngoài vết chính không được có màu đậm hơn vết chính của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) cho hai vết tách biệt rõ ràng.

Clorid
Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.5).
Lấy 5 ml dung dịch S, thêm 0,5 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)* và pha loãng bằng *nước* thành 15 ml để tiến hành thử.

Sulfat
Không được quá 0,03 % (Phụ lục 9.4.14).
Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 1,7 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và pha loãng bằng *nước cất* thành 15 ml để tiến hành thử.

Amoni
Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.1).
Lấy 50 mg chế phẩm tiến hành theo phương pháp B. Dùng 0,1 ml *dung dịch amoni mẫu 100 phần triệu NH_4 (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*. Chiết 3 lần, mỗi lần với 10 ml *methyl isobutyl keton (TT_1)* và lắc trong 3 min. Tập trung dịch chiết hữu cơ, thêm 10 ml *nước*, lắc 3 min. Lấy lớp nước và tiến hành thử.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Lấy 12 ml dung dịch thu được tiến hành theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9), phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong 50 ml *nước* và chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 N (CĐ)*, dùng 0,2 ml *dung dịch hỗn hợp đỏ methyl (TT)* làm chỉ thị, đến khi màu chuyển từ xanh lục sang đỏ tím.
1 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 N (CĐ)* tương đương với 17,42 mg $C_6H_{14}N_4O_2$.

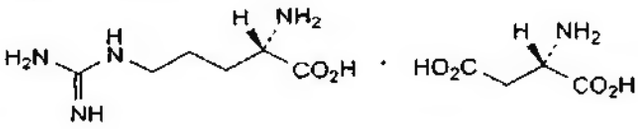
Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Acid amin.

Chế phẩm
Nang.

ARGININ ASPARTAT

Arginini aspartas



$C_6H_{14}N_4O_2.C_4H_7NO_4$ P.t.l: 307,3

Arginin aspartat là acid (2*S*)-2-amino-5-guanidino pentanoic (2*S*)-2-aminobutandioat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_6H_{14}N_4O_2.C_4H_7NO_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột hay cốm màu trắng hoặc gần như trắng. Rất tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 % và methylen clorid.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của arginin aspartat chuẩn.

B. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Góc quay cực riêng.

C. Trong phần Các chất dương tính với ninhydrin, 2 vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải tương tự về vị trí, màu sắc và kích thước với 2 vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu V_7 (Phụ lục 9.3), phương pháp 2).

pH

Từ 6,0 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Dùng dung dịch S để đo.

Góc quay cực riêng

Từ +25° đến +27°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Các chất dương tính với ninhydrin

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Amoniac - propanol (36 : 64).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg *arginin (TT)* và 25 mg *acid aspartic (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 50 ml bằng *nước*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Để khô bản mỏng ngoài không khí. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được 2/3 chiều dài bản mỏng. Sấy bản mỏng ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C trong 10 min. Phun *dung dịch ninhydrin 0,2 % (TT)* và sấy bản mỏng ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C trong 10 min. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), bất kỳ vết phụ nào ngoài 2 vết chính không được có màu đậm hơn màu của mỗi vết chính của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho hai vết tách biệt rõ ràng.

Clorid

Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.5).

Lấy 2,5 ml dung dịch S và pha loãng thành 15 ml bằng *nước* để tiến hành thử.

Sulfat

Không được quá 0,03 % (Phụ lục 9.4.14).

Cân 0,5 g chế phẩm, thêm 2,5 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và pha loãng thành 15 ml bằng *nước cất*. Sau 30 min tiến hành thử.

Amoni

Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.4.1).

Dùng 100 mg chế phẩm.

Kim loại nặng

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

Lấy 12 ml dung dịch S để tiến hành theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 60 °C; 24 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 80,0 mg chế phẩm trong 2 ml *acid formic khan (TT)*, thêm 50 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). 1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 10,24 mg $C_{10}H_{21}N_5O_6$.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

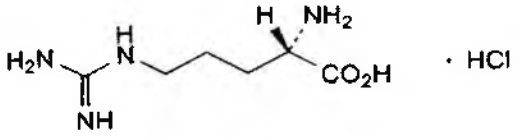
Acid amin.

Chế phẩm

Nang.

ARGININ HYDROCLORID

Arginini hydrochloridum



$C_6H_{14}N_4O_2.HCl$ P.t.l: 210,7

Arginin hydroclorid là acid (*S*)-2-amino-5-guanidino pentanoic hydroclorid, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_6H_{14}N_4O_2.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hay gần như trắng hoặc tinh thể không màu. Dễ tan trong nước, rất khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B, E.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của arginin hydroclorid chuẩn. Chuẩn bị mẫu đo dưới dạng đĩa nén và ghi phổ.

B. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Góc quay cực riêng.

C. Trong phần Các chất dương tính với ninhydrin, vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (2) phải giống về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1).

D. Hòa tan khoảng 25 mg chế phẩm trong 2 ml *nước*. Thêm 1 ml *dung dịch α-naphtol (TT)* và thêm 2 ml hỗn hợp đồng thể tích của *dung dịch natri hypoclorit mạnh (3 % Cl) (TT)* và *nước*. Màu đỏ xuất hiện.

E. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước cất* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực riêng

Từ +21,0° đến +23,5°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 2,00 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Các chất dương tính với ninhydrin

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Amoniac - 2-propanol (30 : 70).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 50 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg arginin hydroclorid chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5 ml dung dịch thử (2) thành 20 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10 mg arginin hydroclorid chuẩn và 10 mg lysin hydroclorid chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Để khô bản mỏng ngoài không khí. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra, làm khô bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C cho đến khi hết amoniac. Phun lên bản mỏng *dung dịch ninhydrin 0,2 % (TT)* và sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 15 min. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (1), bất kỳ vết phụ nào ngoài vết chính không được đậm màu hơn vết chính thu được trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3) cho hai vết tách biệt rõ ràng.

Sulfat

Không được quá 300 phần triệu (Phụ lục 9.4.14).

Pha loãng 10 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước cất* và tiến hành thử.

Amoni

Không được quá 200 phần triệu (Phụ lục 9.4.1).

Dùng 50 mg chế phẩm và tiến hành thử theo phương pháp B. Dùng 0,1 ml *dung dịch amoni mẫu 100 phần triệu NH_4 (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).

Trong một bình gạn, hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*. Chiết hỗn hợp trên 3 lần, mỗi lần lắc với 10 ml *4-methylpentan-2-on (TT_1)* trong 3 min, gạn lấy lớp dung môi hữu cơ ở trên. Tập trung dịch chiết 4-methylpentan-2-on vào một bình gạn khác, thêm *10 ml nước* và lắc trong 3 min. Gạn lấy lớp nước để tiến hành thử.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Lấy 12 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g, 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp chuẩn độ trong môi trường khan (Phụ lục 10.6). Hòa tan 0,180 g chế phẩm trong 3 ml *acid formic khan (TT)*, thêm 30 ml *acid acetic khan (TT)*. Dùng 0,1 ml *dung dịch naphtholbenzein* làm chỉ thị. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* cho đến khi màu chuyển từ vàng nâu sang xanh lục. Song song tiến hành làm mẫu trắng.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 21,07 mg $C_6H_{15}ClN_4O_2$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Acid amin, chất dinh dưỡng.

Chế phẩm
Viên nén, nang, thuốc tiêm truyền, hỗn dịch uống.

NANG ARGININ
Capsulae Arginini

Là nang cứng chứa arginin hoặc arginin hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng arginin, $C_6H_{14}N_4O_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic arginin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Isopropanol - amoniac (7 : 3).
Dung dịch thử: Lấy một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với khoảng 150 mg arginin, thêm 80 ml *nước* và lắc siêu âm trong 15 min, thêm *nước* vừa đủ 100 ml, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch arginin chuẩn hoặc arginin hydroclorid chuẩn có nồng độ arginin 1,5 mg/ml trong *nước*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra, sấy ở 105 °C cho đến khi không còn amoniac. Phun *dung dịch ninhydrin 0,2 % trong hỗn hợp butanol - dung dịch acid acetic 2 M* (95 : 5), tiếp tục sấy ở 105 °C trong 15 min. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 60 min.
Cách tiến hành:
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với pha động và điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Định lượng.
Dung dịch thử: Lấy một phần dịch hòa tan, lọc.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng arginin hoặc arginin hydroclorid chuẩn, hòa tan trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ arginin tương đương với nồng độ arginin của dung dịch thử.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng arginin, $C_6H_{14}N_4O_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 min.

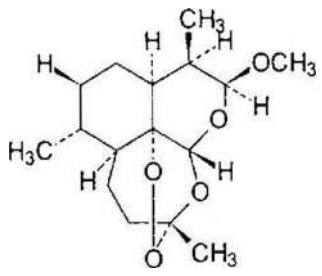
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm: Dung dịch *natri dihydrophosphat (TT)* 0,69 % trong *nước*, chỉnh đến pH 3,5 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch A: Dung dịch *natri octansulfonat (TT)* 0,05 % trong dung dịch đệm.
Pha động: Dung dịch A - acetonitril (95 : 5).
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng arginin chuẩn hoặc arginin hydroclorid chuẩn trong dung dịch đệm để thu được dung dịch có nồng độ arginin khoảng 1,5 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân 20 nang, xác định khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 150 mg arginin vào bình định mức 100 ml, thêm 80 ml dung dịch đệm và lắc siêu âm trong 15 min, thêm dung dịch đệm đến định mức, lắc đều, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.
Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn, số đĩa lý thuyết phải không nhỏ hơn 1500, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic arginin từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng arginin, $C_6H_{14}N_4O_2$, có trong nang dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_6H_{14}N_4O_2$ của arginin chuẩn hoặc hàm lượng $C_6H_{14}N_4O_2.HCl$ của arginin hydroclorid chuẩn. Hệ số chuyển đổi từ arginin hydroclorid sang arginin là 0,8269.

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

Loại thuốc
Acid amin.

Hàm lượng thường dùng
200 mg, 400 mg, 500 mg.

ARTEMETHER
Artemetherum



$C_{16}H_{26}O_5$ P.t.l: 298,4

Artemether là (3*R*,5a*S*,6*R*,8a*S*,9*R*,10*S*,12*R*,12a*R*)-decahydro-10-methoxy-3,6,9-trimethyl-3,12-epoxy-12*H*-pyrano[4,3-*j*]-1,2-benzodioxepin, phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{26}O_5$ tính theo chế phẩm đã làm khô khi định lượng bằng phương pháp sắc ký lỏng; từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{26}O_5$ tính theo chế phẩm đã làm khô khi định lượng bằng phương pháp quang phổ.

Tính chất
Tinh thể màu trắng hoặc bột kết tinh màu trắng.
Dễ tan trong ethyl acetat và ethanol, rất tan trong dicloromethan và aceton, thực tế không tan trong nước.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của artemether chuẩn hoặc phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của artemether.
B. Trong phần Tạp chất liên quan bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải tương ứng về vị trí, kích thước và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3). Hoặc trong phần Định lượng bằng phương pháp sắc ký lỏng, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho pic chính tương ứng về thời gian lưu với pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
C. Lấy khoảng 30 mg chế phẩm, thêm khoảng 1 ml *ethanol (TT)* và khoảng 0,1 g *kali iodid (TT)*. Đun nóng hỗn hợp trên cách thủy, sẽ tạo thành màu vàng.
D. Hòa tan 30 mg chế phẩm trong 6 ml *ethanol (TT)*. Nhỏ vài giọt dung dịch thu được lên một khay sứ màu trắng, thêm một giọt *dung dịch vanilin 5 % trong acid sulfuric (TT)*, sẽ xuất hiện màu hồng.

Khoảng nóng chảy
Từ 86,0 °C đến 90,0 °C (Phụ lục 6.7).

Góc quay cực riêng
Từ +166° đến +173°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Dùng dung dịch chế phẩm có nồng độ 10 mg/ml trong *ethanol (TT)*.

Tạp chất liên quan
Có thể áp dụng một trong hai phương pháp.
A. Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Định lượng (Phương pháp A).
Dung dịch thử: Hòa tan 100,0 mg chế phẩm trong vừa đủ 10,0 ml pha động.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 200,0 ml bằng pha động.
Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (0,5 %). Không được quá một pic phụ có diện tích pic lớn hơn một nửa diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (0,25 %) và tổng diện tích của tất cả các pic phụ trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn hai lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %). Loại bỏ các pic phụ có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Ether dầu hỏa (40 °C đến 60 °C) - ethyl acetat* (7 : 3).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 100,0 mg chế phẩm trong *aceton (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 100 ml bằng *aceton (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 200,0 ml bằng *aceton (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 10,0 ml bằng *aceton (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10 mg artemether chuẩn trong vừa đủ 100 ml *aceton (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl các dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Làm khô bản mỏng ngoài không khí. Phun *dung dịch vanilin 5 % trong acid sulfuric (TT)* và kiểm tra các vết dưới ánh sáng ban ngày. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), bất kỳ vết phụ nào không được đậm màu hơn vết chính của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %) và không được có quá một vết phụ đậm màu hơn vết chính của dung dịch đối chiếu (2) (0,25 %).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; áp suất không quá 2,67 kPa; phosphor pentoxyd).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 1).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Có thể áp dụng một trong hai phương pháp.
A. Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Acetonitril - nước* (62 : 38).
Dung dịch thử: Hòa tan khoảng 100,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan khoảng 100,0 mg artemether chuẩn trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 216 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính toán hàm lượng của $C_{16}H_{26}O_5$ dựa vào diện tích pic đáp ứng trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn.
B. Phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến (Phụ lục 4.1).
Cân chính xác khoảng 0,050 g chế phẩm, hòa tan trong vừa đủ 100,0 ml *ethanol (TT)*. Hút chính xác 2,0 ml dung dịch thu được cho vào bình định mức dung tích 100,0 ml; thêm *dung dịch acid hydrocloric 1 M trong ethanol (TT)* vừa đủ đến vạch. Đậy kín bình và để trong cách thủy ở 55 °C trong 5 h, làm nguội đến nhiệt độ phòng. Đo độ hấp thụ của dung dịch này tại bước sóng cực đại khoảng 254 nm trong cốc đo có bề dày 1 cm.
Tính toán hàm lượng $C_{16}H_{26}O_5$ bằng cách so sánh với độ hấp thụ của dung dịch chuẩn được chuẩn bị như dung dịch thử.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng và ở nhiệt độ mát.

Loại thuốc
Kháng ký sinh trùng sốt rét.

Chế phẩm
Thuốc tiêm, nang.

NANG ARTEMETHER
Capsulae Artemetheri

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

Hàm lượng artemether, $C_{16}H_{26}O_5$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Cân một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 80 mg artemether, thêm 10 ml *ethanol (TT)*, lắc kỹ khoảng 5 đến 10 min, lọc (dịch lọc A). Lấy 3 ml dịch lọc A, thêm 0,1 g *kali iodid (TT)*, lắc cho tan và đun trong nồi cách thủy, xuất hiện màu vàng nhạt.
B. Lấy vài giọt dịch lọc A cho vào chén sứ trắng, thêm 1 giọt *dung dịch anisaldehyd 1 % trong acid sulfuric (TT)*, xuất hiện màu hồng.
C. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic artemether trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Hệ dung môi khai triển: *Ether dầu hỏa (khoảng sôi 40 °C đến 60 °C) - ethyl acetat* (7 : 3).
Dung dịch thử: Cân một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 50 mg artemether, thêm 5 ml *aceton (TT)*, lắc 10 phút, lọc. Sử dụng dịch lọc.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử thành 200 thể tích với *aceton (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5 thể tích dung dịch đối chiếu (1) thành 10 thể tích với *aceton (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, phun *dung dịch vanilin 5 % trong acid sulfuric (TT)* và quan sát dưới ánh sáng ban ngày.
Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %). Ngoài ra, chỉ được có một vết đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,25 %).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 500 ml *nước* đối với nang 40 mg và 1000 ml đối với nang 100 mg.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 60 min.
Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Lấy 5,0 ml dịch lọc vào bình định mức 25 ml, thêm *dung dịch acid hydrocloric 1 M trong ethanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 40 mg artemether chuẩn vào bình định mức 200 ml, hòa tan với *ethanol (TT)*, thêm *ethanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lấy 5,0 ml dung dịch thu được vào bình định mức 50 ml, thêm 5 ml *nước* và pha loãng với *dung dịch acid hydrocloric 1 M trong ethanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Làm nóng dung dịch thử và dung dịch chuẩn trong nồi cách thủy ở nhiệt độ 70 °C ± 1 °C trong 90 min. Làm nguội tới nhiệt độ phòng. Đo độ hấp thụ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn ở bước sóng 254 nm (Phụ lục 4.1) trong cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch acid hydrocloric 1 M*

trong ethanol (TT) làm mẫu trắng. Dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ $C_{16}H_{26}O_5$ của dung dịch chuẩn, tính hàm lượng artemether, $C_{16}H_{26}O_5$, đã hòa tan trong mỗi nang.

Yêu cầu: Không được ít hơn 65 % (Q) lượng artemether, $C_{16}H_{26}O_5$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 min.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - nước (55 : 45).

Dung dịch chuẩn: Dung dịch artemether chuẩn trong pha động, có nồng độ chính xác khoảng 4 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình bột thuốc trong nang và nghiền thành bột mịn, trộn đều. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 100 mg artemether vào bình định mức 25 ml, thêm 20 ml pha động, lắc siêu âm 10 min, làm nguội, thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Dùng dịch lọc.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

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

Tính hàm lượng artemether, $C_{16}H_{26}O_5$, trong nang dựa vào diện tích (hay chiều cao) pic artemether trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và nồng độ $C_{16}H_{26}O_5$ của dung dịch chuẩn.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chống sốt rét.

Hàm lượng thường dùng

40 mg; 100 mg.

VIÊN NÉN ARTEMETHER

Tabellae Artemetheri

Là viên nén chứa artemether

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

Hàm lượng artemether, $C_{16}H_{26}O_5$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

A. Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 80 mg artemether, thêm 10 ml *ethanol (TT)*, lắc kỹ khoảng 5 đến 10 min, lọc (dịch lọc A). Lấy 3 ml dịch lọc A, thêm 0,1 g *kali iodid (TT)*, lắc cho tan và đun trong nồi cách thủy, xuất hiện màu vàng nhạt.

B. Lấy vài giọt dịch lọc A cho vào chén sứ trắng, thêm 1 giọt *dung dịch anisaldehyd 1 % trong acid sulfuric (TT)*, xuất hiện màu hồng.

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

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Hệ dung môi khai triển: *Ether dầu hỏa (khoảng sôi 40 °C đến 60 °C) - ethyl acetat* (7 : 3).

Dung dịch thử: Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg artemether, thêm 5 ml *aceton (TT)*, lắc 10 min, lọc. Sử dụng dịch lọc.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử thành 200 thể tích với *aceton (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5 thể tích dung dịch đối chiếu (1) thành 10 thể tích với *aceton (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, phun *dung dịch vanilin 5 % trong acid sulfuric (TT)* và quan sát dưới ánh sáng ban ngày.

Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %). Ngoài ra, chỉ được có một vết đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,25 %).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 500 ml *nước* đối với nang 40 mg và 1000 ml đối với nang 100 mg.

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 60 min.

Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Lấy 5,0 ml dịch lọc vào bình định mức 25 ml, thêm *dung dịch acid hydrocloric 1 M trong ethanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 40 mg artemether chuẩn vào bình định mức 200 ml, hòa tan với *ethanol (TT)*, thêm *ethanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lấy 5,0 ml dung dịch thu được vào bình định mức 50 ml, thêm 5 ml *nước* và pha loãng với *dung dịch acid hydrocloric 1 M trong ethanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Làm nóng dung dịch thử và dung dịch chuẩn trong cách thủy ở nhiệt độ 70 °C ± 1 °C trong 90 min. Làm nguội tới nhiệt độ phòng. Đo độ hấp thụ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn ở bước sóng 254 nm (Phụ lục 4.1) trong cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch acid hydrocloric 1 M trong ethanol (TT)* làm mẫu trắng. Dựa vào độ hấp thụ

đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ $C_{16}H_{26}O_5$ của dung dịch chuẩn, tính hàm lượng artemether, $C_{16}H_{26}O_5$, đã hòa tan trong mỗi nang.
Yêu cầu: Không được ít hơn 65 % (Q) lượng artemether, $C_{16}H_{26}O_5$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - nước (55 : 45).
Dung dịch chuẩn: Dung dịch artemether chuẩn trong pha động, có nồng độ chính xác khoảng 4 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 100 mg artemether vào bình định mức 25 ml, thêm 20 ml pha động, siêu âm 10 min, làm nguội, thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Dùng dịch lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng artemether, $C_{16}H_{26}O_5$, trong viên dựa vào diện tích (hay chiều cao) pic artemether trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và nồng độ $C_{16}H_{26}O_5$ của dung dịch chuẩn.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống sốt rét.

Hàm lượng thường dùng
40 mg; 100 mg.

VIÊN NÉN ARTEMETHER VÀ LUMEFANTRIN
Tabellae Artemetheri et Lumefantrini

Là viên nén chứa artemether và lumefantrin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "**Thuốc viên nén**" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng artemether, $C_{16}H_{26}O_5$, và **lumefantrin,** $C_{30}H_{32}Cl_3NO$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa (40 °C - 60 °C) - ethyl acetat - acid acetic băng (40 : 10 : 5).
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với khoảng 10 mg artemether (khoảng 60 mg lumefantrin) với 10 ml *aceton (TT)*, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch chứa 1 mg artemether và 6 mg lumefantrin trong 1 ml *aceton (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được khoảng 3/4 bản mỏng, làm khô ngay bản mỏng bằng một luồng khí mát. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại 254 nm, sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết chính tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, kích thước và màu sắc (định tính lumefantrin). Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric 10 % trong methanol (TT)* và sấy ở 140 °C trong 10 min, quan sát dưới ánh sáng ban ngày, sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết chính tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, kích thước, màu sắc (định tính artemether, có thể thấy vết rất nhạt của lumefantrin).
B. Trong phần Định lượng, sắc ký đồ của dung dịch thử phải có hai pic chính tương ứng với pic artemether và pic lumefantrin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn hỗn hợp.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa (khoảng sôi 40 °C đến 60 °C) - ethyl acetat - acid acetic băng (40 : 10 : 5).
Hỗn hợp dung môi: Nước - acetonitril (1 : 1).
Dung dịch thử: Cân một lượng bột viên tương ứng với 100 mg artemether, thêm 20 ml hỗn hợp dung môi, lắc siêu âm trong 15 min và ly tâm, lấy dịch trong lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg artemether chuẩn, 5 mg artenimol chuẩn và 5 mg α-artemether chuẩn trong 50 ml hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 3,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (5): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 2 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (6): Pha loãng 3,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 4 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (2), (3), (4), (5) và (6). Làm khô vết chấm bằng một luồng khí mát. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được khoảng 12 cm. Làm khô bản mỏng bằng một luồng khí mát. Phun *dung dịch vanilin trong ethanol 96 % (TT)*. Sấy bản mỏng ở 140 °C trong 10 min. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày, giá trị R_f của artemether và các tạp chất như sau: tạp chất A khoảng 0,25; tạp chất B (artenimol) khoảng 0,3; tạp chất C khoảng 0,35; tạp chất D (α-artemether) khoảng 0,4; artemether

khoảng 0,55. Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 3 vết tách rõ rệt.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:
Vết tương ứng với tạp chất A không được đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6) (1,5 %).
Vết tương ứng với tạp chất B không được đậm hơn vết artenimol trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5) (1,0 %).
Vết tương ứng với tạp chất C không được đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch (4) (0,5 %).
Vết tương ứng với tạp chất D không được đậm hơn vết α-artemether trên sắc ký đồ của dung dịch (3) (0,3 %).
Bất kỳ vết phụ nào khác không được đậm hơn vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %). Bỏ qua các vết ở vạch chấm sắc ký.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Artemether
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 1000 ml *nước*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 60 min và 180 min.
Cách tiến hành:
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)
Pha động: Acetonitril - nước - 1-propanol - acid trifluoroacetic (500 : 400 : 100 : 1).
Dung dịch thử: Hút 10 ml dịch hòa tan thời điểm 60 min và khoảng 20 ml dịch hòa tan thời điểm sau 180 min hòa tan, lọc. Sau khi rút dịch hòa tan ở thời điểm 60 min phải bù đủ lại lượng dung môi đã lấy ra.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 20 mg artemether chuẩn và chuyển vào bình định mức 100 ml, thêm 20 ml *acetonitril (TT)* và lắc để hòa tan, thêm *nước* đến vạch. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *nước*.
Điều kiện sắc ký
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 100 µl.
Tính phù hợp của hệ thống: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không lớn hơn 2,0 %. Hệ số đối xứng của pic chính không lớn hơn 2.
Tính lượng artemether hòa tan trong mỗi viên từ diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{26}O_5$ trong artemether chuẩn.
Yêu cầu:
Không ít hơn 45 % (Q) lượng artemether, $C_{16}H_{26}O_5$, so với lượng ghi trên nhãn được hoà tan trong 60 min.
Không ít hơn 65 % (Q) lượng artemether, $C_{16}H_{26}O_5$, so với lượng ghi trên nhãn được hoà tan trong 180 min.
Lumefantrin
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 1000 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* chứa 1 % *benzalkonium clorid (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Lấy một phần môi trường sau khi hòa tan, lọc. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 25,0 ml bằng môi trường hòa tan.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 24 mg lumefantrin chuẩn và chuyển vào bình định mức 200 ml, thêm 20 ml hỗn hợp *2-propanol - tetrahydrofuran* (3 : 2), hòa tan bằng cách làm nóng trong cách thủy ở 60 °C, lắc siêu âm nếu cần. Để nguội và thêm môi trường hòa tan vừa đủ đến vạch, lắc đều. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml bằng môi trường hòa tan.
Đo độ hấp thụ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử ở bước sóng 342 nm (Phụ lục 4.1) trong cốc đo dày 1 cm, dùng môi trường hòa tan làm mẫu trắng. Tính hàm lượng lumefantrin, $C_{30}H_{32}Cl_3NO$, đã hòa tan trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{30}H_{32}Cl_3NO$ trong lumefantrin chuẩn.
Không ít hơn 60 % (Q) lượng lumefantrin, $C_{30}H_{32}Cl_3NO$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Dung dịch tạo cặp ion - acetonitril (700 : 300).
Pha động B: Dung dịch tạo cặp ion - acetonitril (300 : 700).
Dung dịch tạo cặp ion: Hòa tan 5,65 g *natri hexansulfonat (TT)* và 2,75 g *natri dihydrophosphat (TT)* trong 900 ml *nước*, chỉnh pH dung dịch đến 2,3 bằng *dung dịch acid phosphoric 10 % (TT)*. Thêm *nước* vừa đủ 1000 ml, lọc.
Dung môi pha mẫu: Trộn đều 200 ml dung dịch tạo cặp ion, 60 ml *nước*, 200 ml *propanol (TT)*, thêm *acetonitril (TT)* vừa đủ 1000 ml, trộn đều.
Dung dịch chuẩn gốc artemether: Cân chính xác khoảng 50 mg artemether chuẩn vào bình định mức 50 ml, thêm dung môi pha mẫu, lắc để hòa tan, pha loãng đến định mức bằng cùng dung môi.
Dung dịch chuẩn hỗn hợp: Cân chính xác khoảng 60 mg lumefantrin vào bình định mức 100 ml, thêm 10,0 ml dung dịch chuẩn gốc artemether và 75 ml dung môi pha mẫu và lắc siêu âm đến khi hòa tan hoàn toàn. Để nguội và thêm dung môi pha mẫu đến vạch, lắc đều.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 10 mg artemether (khoảng 60 mg lumefantrin) vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 85 ml dung môi pha mẫu và lắc siêu âm 20 min. Để nguội, thêm dung môi pha mẫu đến vạch, lắc đều, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại, từ 0 đến 28 min đặt ở bước sóng 210 nm, từ 28 min đặt ở bước sóng 380 nm.

Tốc độ dòng: 1,3 ml/min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Điều kiện rửa giải
0 - 28	60	40	Đẳng dòng
28 - 29	60 → 0	40 → 100	Gradient tuyến tính
29 - 45	0	100	Đẳng dòng
45 - 46	0 → 60	100 → 40	Gradient tuyến tính
46 - 55	60	40	Cân bằng lại

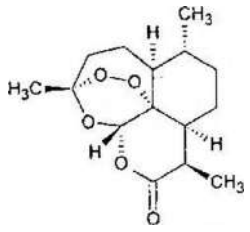
Với các điều kiện sắc ký như trên, thời gian lưu của artemether khoảng 19 min, của lumefantrin khoảng 34 min. Tính hàm lượng artemether, $C_{16}H_{26}O_5$, và hàm lượng lumefantrin, $C_{30}H_{32}Cl_3NO$, trong mỗi viên từ diện tích pic artemether và lumefantrin trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{26}O_5$ và $C_{30}H_{32}Cl_3NO$ trong artemether chuẩn và lumefantrin chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống sốt rét.

Hàm lượng thường dùng
20 mg artemether và 120 mg lumefantrin.

ARTEMISININ
Artemisininum



$C_{15}H_{22}O_5$ P.t.l: 282,3

Artemisinin là (3*R*,5a*S*,6*R*,8a*S*,9*R*,12*S*,12a*R*)-3,6,9 trimethyl-octahydro-3,12-epoxypyrano[4,3-j]-1,2benzodioxepin-10 (3*H*)-on, phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % $C_{15}H_{22}O_5$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc tinh thể hình kim không màu.
Thực tế không tan trong nước, rất tan trong dicloromethan, dễ tan trong aceton và ethylacetat, tan trong acid acetic băng, methanol và ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của artemisinin chuẩn hoặc phổ đối chiếu của artemisinin.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Ether dầu hoả (40 °C đến 60 °C) - ether (1 : 1).
Dung dịch thử: Chứa 0,10 mg chế phẩm trong 1 ml *toluen (TT).*
Dung dịch đối chiếu: Chứa 0,10 mg artemisinin chuẩn trong 1 ml *toluen (TT).*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí hoặc làm khô dưới dòng khí mát, phun lên bản mỏng *dung dịch anisaldehyd trong acid sulfuric (TT)* và sấy bản mỏng ở 105 °C trong 7 min. Quan sát sắc ký đồ dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về vị trí, kích thước và màu sắc với vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
C. Hòa tan 5 mg chế phẩm trong 0,5 ml *ethanol (TT)*, thêm 0,5 ml *dung dịch hydroxylamin hydroclorid (TT)* và 0,25 ml *dung dịch natri hydroxyd 8 %*. Đun hỗn hợp thu được trên cách thủy đến sôi, để nguội, thêm 5 giọt *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, màu tím đậm xuất hiện ngay.
D. Hòa tan 5 mg chế phẩm trong khoảng 0,5 ml *ethanol (TT)*, thêm 1,0 ml *dung dịch kali iodid 8 %*, 2,5 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* để yên 1 min và 4 giọt *dung dịch hồ tinh bột (TT)*; màu tím sẽ xuất hiện ngay.

Góc quay cực riêng
Từ +75° đến +78°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Dùng dung dịch chế phẩm 1,0 % trong *ethanol (TT)* để đo.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - nước (50 : 50).
Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 10,0 ml pha động.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50 mg artemisinin chuẩn (chứa artemisinin và tạp chất A) trong 10,0 ml pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 1,5 lần thời gian lưu của artemisinin.
Trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (1), thời gian lưu tương

đối so với artemisinin (thời gian lưu khoảng 10 min) của tạp chất A khoảng 0,79. Trên sắc ký đồ dung dịch thử, thời gian lưu tương đối so với artemisinin (thời gian lưu khoảng 10 min) của tạp chất B khoảng 0,85.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của artemisinin với pic của tạp chất A ít nhất là 4.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất A với 0,027.
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A đã hiệu chỉnh không được lớn hơn 0,15 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,15 %).
Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B không được lớn hơn 0,3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %).
Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn 0,15 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,15 %).
Tổng diện tích pic của các tạp chất và diện tích pic tạp chất A đã hiệu chỉnh, trừ pic chính, không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: (3*R*,5a*S*,6*R*,8a*S*,12*S*,12a*R*)-3,6-Dimethyl-9-methylidenoctahydro-3,12-epoxypyrano[4,3-j]-1,2-benzodioxepin-10(3*H*)-on (artemisiten).
Tạp chất B: (3*R*,5a*S*,6*R*,8a*S*,9*S*,12*S*,12a*R*)-3,6,9-Trimethyl-octahydro-3,12-epoxypyrano[4,3-j]-1,2-benzodioxepin-10(3*H*)-on (9-*epi*-artemisinin).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 80 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 1).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

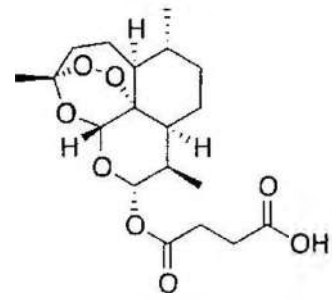
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).
Trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (1) thời gian lưu tương đối so với artemisinin (thời gian lưu khoảng 10 min) của tạp chất A khoảng 0,79.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của artemisinin với pic của tạp chất A ít nhất là 4.
Tính hàm lượng phần trăm của $C_{15}H_{22}O_5$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng của $C_{15}H_{22}O_5$ trong artemisinin chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng và để ở nơi mát.

Loại thuốc
Điều trị bệnh sốt rét.

Chế phẩm
Viên nén, thuốc đạn, phối hợp với các thuốc chống sốt rét khác.

ARTESUNAT
Artesunatum



$C_{19}H_{28}O_8$ P.t.l: 384,4

Artesunat là (3*R*,5a*S*,6*R*,8a*S*,9*R*,10*S*,12*R*,12a*R*)-decahydro-3,6,9-trimethyl-3,12-epoxy-12*H*-pyrano [4,3-*j*]-1,2-benzodioxepin-10-ol hydrogen succinat, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{19}H_{28}O_8$ (định lượng bằng phương pháp A) và phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{19}H_{28}O_8$ (định lượng bằng phương pháp B), tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh trắng, mịn. Rất khó tan trong nước, rất tan trong diclorometan, dễ tan trong aceton và ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của artesunat chuẩn hoặc phổ đối chiếu của artesunat.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silicagel G.
Dung môi khai triển: Ethanol - toluen - amoniac (70 : 30 : 1,5).
Dung dịch thử: Chứa 1,0 mg chế phẩm trong 1 ml *methanol (TT).*
Dung dịch đối chiếu: Chứa 1,0 mg artesunat chuẩn trong 1 ml *methanol (TT).*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi khai triển, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Phun lên bản mỏng *dung dịch anisaldehyd trong methanol (TT)* và sấy ở 120 °C trong 5 min. Quan sát sắc ký đồ dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về vị trí, hình dạng và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

C. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 40 ml *ethanol (TT)*, lắc đều và lọc. Lấy 1/2 thể tích dịch lọc (phần còn lại để làm phản ứng D) thêm 0,5 ml *dung dịch hydroxylamin hydroclorid trong ethanol (TT)* và 0,25 ml *dung dịch natri hydroxyd 8 %*. Đun hỗn hợp đến sôi trong cách thủy, để nguội, thêm 2 giọt *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, xuất hiện màu nâu đỏ.

D. Bay hơi trên cách thủy phần dịch lọc còn lại ở phép thử C đến khi còn khoảng 5 ml. Nhỏ vài giọt dung dịch thu được lên đĩa sứ trắng, thêm một giọt *dung dịch vanilin 5 % trong acid sulfuric (TT)*, xuất hiện màu đỏ.

pH

Từ 3,5 đến 4,5.

Dùng hỗn dịch chế phẩm 10 mg/ml trong *nước* để đo.

Góc quay cực riêng

Từ +4,5° đến +6,5°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch chế phẩm 1,0 % trong *dicloromethan (TT)* để đo ở 20 °C.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Acetonitril - dung dịch đệm pH 3,0* (44 : 56).

Dung dịch đệm pH 3,0: Hòa tan 1,36 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 900 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 3,0 bằng *acid phosphoric (TT)* và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 40 mg chế phẩm, hoà tan trong *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 10 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan khoảng 1 mg artenimol chuẩn, 1 mg artemisinin chuẩn và 10 mg artesunat chuẩn vào 10 ml *acetonitril (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng *acetonitril (TT)*.

Điều kiện sắc ký:

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

Nhiệt độ cột: 30 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 216 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 4 lần thời gian lưu của artesunat.

Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1): Thời gian lưu tương đối so với artesunat (thời gian lưu khoảng 9 min): 10-*epi*-artenimol khoảng 0,58; artenimol khoảng 0,91; tạp chất B (artemisinin) khoảng 1,30.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tỷ số đỉnh - hõm (H_p/H_v) ít nhất là 5,0; trong đó H_p là chiều cao đỉnh pic β-artenimol so với đường nền và H_v là chiều cao tính từ đường nền lên đến điểm thấp nhất của đường cong tách pic artenimol khỏi pic artesunat. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, thời gian lưu tương đối của tạp chất C so với thời gian lưu của artesunat khoảng 2,7.

Giới hạn:

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất C với 0,07.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:

Tổng diện tích của tất cả các pic tương ứng với pic của 10-*epi*-artenimol và artenimol (tạp chất A) không được lớn hơn diện tích pic chính ở sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %).

Diện tích của bất kỳ pic nào tương ứng với pic của tạp chất B (artemisinin) không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính ở sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).

Diện tích đã hiệu chỉnh của bất kỳ pic nào tương ứng với pic của tạp chất C không được lớn hơn 0,2 lần diện tích pic chính ở sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).

Diện tích của bất kỳ pic tạp chất nào khác không được lớn hơn 0,2 lần diện tích pic chính ở sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).

Tổng diện tích pic bao gồm diện tích pic đã hiệu chỉnh của tạp chất C và diện tích của các pic khác (trừ pic chính) không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (2,0 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: Artenimol.

Tạp chất B: Artemisinin.

Tạp chất C: (3*R*,5a*S*,6*R*,8a*S*,12*R*,12a*R*)-3,6,9-trimethyl-3,4,5,5a,6,7,8,8a-octahydro-12*H*-3,12-epoxy-pyrano[4,3-j]-1,2-benzodioxepin.

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 1).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Nước

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 2,000 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn

Không được quá 2,5 EU/mg.

Nếu chế phẩm dự định để sản xuất thuốc tiêm thì phải thử nội độc tố vi khuẩn theo phép thử nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2).

Thử vô khuẩn

Nếu chế phẩm dự định để sản xuất thuốc tiêm mà không có phương pháp hữu hiệu nào khác để tiệt khuẩn thì phải đáp ứng phép thử "Thử vô khuẩn" (Phụ lục 13.7).

Định lượng

Có thể chọn một trong hai phương pháp sau:

A. Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Tiến hành như phần Tạp chất liên quan.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 40 mg artesunat chuẩn trong *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 10 ml bằng cùng dung môi.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (3).
Kiểm tra tính phù hợp hệ thống: Như phần Tạp chất liên quan.
Tính hàm lượng $C_{19}H_{28}O_8$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (3) và hàm lượng $C_{19}H_{28}O_8$ trong artesunat chuẩn.
B. Hòa tan chính xác khoảng 0,25 g artesunat trong 25 ml ethanol đã được trung hòa và chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,05 N (CĐ)*, dùng 2 giọt *dung dịch phenolphtalein (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,05 N (CĐ)* tương đương với 19,22 mg $C_{19}H_{28}O_8$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng và để ở nơi mát. Ghi rõ nếu chế phẩm không có nội độc tố vi khuẩn hoặc vô khuẩn.

Loại thuốc
Điều trị bệnh sốt rét.

Chế phẩm
Thuốc tiêm.

BỘT PHA TIÊM ARTESUNAT
Artesunati pulvis ad injectionem

Bột pha tiêm artesunat là bột kết tinh vô khuẩn của artesunat, đựng trong lọ thủy tinh kín vô khuẩn.
Chế phẩm phải đạt các yêu cầu quy định trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng artesunat, $C_{19}H_{28}O_8$, phải từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột kết tinh trắng.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C, D.
A. Chế phẩm phải có phổ hấp thụ hồng ngoại phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của artesunat (Phụ lục 4.2).
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Ethanol - toluen - amoniac (70 : 30 : 1,5).
Dung dịch thử: Hòa tan một lượng bột thuốc trong *methanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ artesunat 1 mg/ml.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch artesunat chuẩn trong *methanol (TT)* nồng độ 1 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 3/4 bản mỏng. Lấy bản mỏng ra và để khô ngoài không khí. Phun *dung dịch anisaldehyd (TT)* và làm nóng bản mỏng ở 120 °C trong 5 min. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, kích thước, màu sắc với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
C. Hòa tan một lượng bột thuốc tương đương 0,1 g artesunat trong 40 ml *ethanol (TT)*, lắc đều, lọc. Thêm vào một nửa dịch lọc (phần còn lại dùng cho phép thử D) 0,5 ml *dung dịch hydroxylamin hydroclorid trong ethanol (TT)*, 0,25 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*. Đun hỗn hợp trong cách thủy đến sôi, để nguội, thêm 2 giọt *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, xuất hiện màu tím đỏ.
D. Bốc hơi trên cách thủy phần dịch lọc còn lại ở phép thử C đến khi thể tích còn khoảng 5 ml. Lấy vài giọt cho vào một đĩa sứ trắng, thêm một giọt *dung dịch vanilin 5 % trong acid sulfuric (TT)*, xuất hiện màu nâu đỏ.

Độ trong của dung dịch
Dung dịch tạo thành pha theo hướng dẫn sử dụng phải trong (Phụ lục 9.2) và không có tiểu phân nhìn thấy bằng mắt thường (Phụ lục 11.8, mục B).

pH
Lắc kỹ 0,50 g chế phẩm trong 50 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* và lọc. pH của dịch lọc phải từ 3,5 đến 5,0 (Phụ lục 6.2).

Clorid
Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4).
Lắc kỹ 0,50 g chế phẩm với 30 ml *nước* và lọc qua giấy lọc đã rửa hết ion clorid. Bỏ khoảng 5 ml dịch lọc đầu, lấy 15 ml dịch lọc tiến hành thử.

Nước
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 2,000 g bột thuốc.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động và điều kiện sắc ký: Thực hiện như mô tả trong phần Định lượng.
Dung dịch thử: Dùng dung dịch thử trong phần Định lượng.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 100 ml với *acetonitril (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan khoảng 1 mg artenimol chuẩn, 1 mg artemisinin chuẩn và 10 mg artesunat chuẩn trong 10 ml *acetonitril (TT)*.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (2), ghi lại sắc ký đồ trong khoảng thời gian gấp 4 lần thời gian lưu của artesunat.

Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2), các pic có thời gian lưu tương đối so với artesunat (thời gian lưu khoảng 9 min) như sau: α-artenimol khoảng 0,58; β-artenimol (tạp chất A) khoảng 0,91 và artemisinin (tạp chất B) khoảng 1,30. Phép thử chỉ có giá trị khi tỷ số đỉnh - hõm (H_p/H_v) không nhỏ hơn 5,0 (H_p là chiều cao trên đường nền của pic β-artenimol và H_v là chiều cao trên đường nền của đáy hõm tách pic β-artenimol và pic artesunat). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử có thể có một pic (tạp chất C) có thời gian lưu tương đối khoảng 2,7 so với pic artesunat.

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

Tổng diện tích đáp ứng của pic α-artenimol và β-artenimol không được lớn hơn diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %).

Diện tích của pic tương ứng với tạp chất B (artemisinin) không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).

Diện tích của pic tương ứng với tạp chất C, sau khi nhân với 0,07 (hệ số hiệu chỉnh), không được lớn hơn 0,3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).

Diện tích của bất kỳ pic nào khác, ngoài pic chính, không được lớn hơn 0,3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).

Tổng diện tích hiệu chỉnh của bất cứ pic nào tương ứng với tạp chất C và diện tích của tất cả các pic khác ngoài pic chính không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (2,0 %). Bỏ qua pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).

Nội độc tố vi khuẩn

Không được quá 2,5 EU/mg artesunat.

Tiến hành thử theo chuyên luận "Phép thử nội độc tố vi khuẩn" (Phụ lục 13.2).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - dung dịch đệm phosphat pH 3,0 (44 : 56).

Dung dịch đệm phosphat pH 3,0: Hòa tan 1,36 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 900 ml *nước*, điều chỉnh tới pH 3,0 bằng *acid phosphoric đậm đặc (TT)* và pha loãng thành 1000 ml *với nước*.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 100 mg chế phẩm (từ hỗn hợp 20 đơn vị chế phẩm đã được làm đồng đều) vào bình định mức 25 ml, thêm khoảng 15 ml *acetonitril (TT)*, lắc để hòa tan và thêm *acetonitril (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch artesunat chuẩn trong *acetonitril (TT)* có nồng độ chính xác khoảng 4 mg/ml.

Điều kiện sắc ký:

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

Nhiệt độ cột: 30 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 216 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký riêng biệt 6 lần dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích đáp ứng từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.

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

Tính hàm lượng artesunat, $C_{19}H_{28}O_8$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{19}H_{28}O_8$ của artesunat chuẩn.

Bảo quản

Bột pha tiêm artesunat được bảo quản trong lọ kín, để ở nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

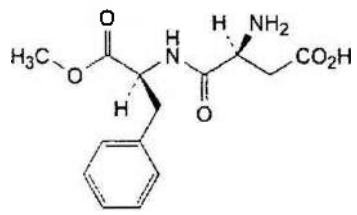
Thuốc chống sốt rét.

Hàm lượng thường dùng

Lọ 60 mg.

ASPARTAM

Aspartamum



$C_{14}H_{18}N_2O_5$ P.t.l: 294,3

Aspartam là acid (3*S*)-3-amino-4-[[(2*S*)-1-methoxy-1-oxo-3-phenylpropan-2-yl]amino]-4-oxobutanoic (methyl α-L-aspartyl-L-phenylalaninat), phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{14}H_{18}N_2O_5$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng, hơi hút ẩm.

Khó tan hoặc hơi tan trong nước và ethanol 96 %, thực tế không tan trong hexan và dicloromethan.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của aspartam chuẩn.

B. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Đo phổ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng từ bước sóng 230 nm đến 300 nm. Dung dịch phải có

các cực đại hấp thụ tại bước sóng 247 nm, 252 nm, 258 nm và 264 nm.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Nước - acid formic khan - methanol - dicloromethan (2 : 4 : 30 : 64).

Dung dịch thử: Hòa tan 15 mg chế phẩm trong 2,5 ml *nước*, pha loãng thành 10 ml bằng *acid acetic (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 15 mg aspartam chuẩn trong 2,5 ml *nước* và pha loãng thành 10 ml bằng *acid acetic (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl các dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Làm khô bản mỏng ngoài không khí. Phun *dung dịch ninhydrin (TT)* và sấy bản mỏng ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C trong 15 min. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, kích thước và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

D. Hòa tan khoảng 20 mg chế phẩm trong 5 ml *methanol (TT)*, thêm 1 ml *dung dịch hydroxylamin kiềm (TT)*. Đun nóng trên cách thủy trong 15 min. Để nguội, điều chỉnh đến pH 2 bằng *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*. Thêm 0,1 ml *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)*, màu đỏ nâu xuất hiện.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,8 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn dung dịch màu mẫu VL_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Độ dẫn điện

Không được quá 30 $mS{\cdot}cm^{-1}$ (Phụ lục 6.10).

Xác định độ dẫn điện của dung dịch S (C_1) và của nước đã dùng để chuẩn bị dung dịch S (C_2). Các kết quả đọc được phải ổn định, chỉ được lệch 1 % trong khoảng thời gian 30 s. Tính độ dẫn điện của dung dịch S bằng công thức:

$$C_1 - 0{,}992C_2$$

Góc quay cực riêng

Từ +14,5° đến +16,5°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 2,00 g chế phẩm trong *dung dịch acid formic khan 69,0 %* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Đo góc quay cực của dung dịch thu được.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - dung dịch kali dihydrophosphat 0,68 % (TT) đã được điều chỉnh đến pH 3,7 bằng acid phosphoric (TT) (10 : 90).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,60 g chế phẩm trong hỗn hợp *acid acetic băng - nước* (1,5 : 98,5) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 9,0 mg diketopiperazin chuẩn trong hỗn hợp *acid acetic băng - nước* (1,5 : 98,5) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 30,0 mg *phenylalanin (TT)* trong hỗn hợp *acid acetic băng - nước* (15 : 85) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử thành 10,0 ml bằng *nước*. Pha loãng 3,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 30,0 mg *L-aspartyl-L-phenylalanin (TT)* trong hỗn hợp *acid acetic băng - nước* (15 : 85) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng *nước*. Trộn 1,0 ml dung dịch thu được với 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2).

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm đến 10 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp hai lần thời gian lưu của aspartam.

Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu (3), điều chỉnh độ nhạy của thang đo sao cho chiều cao của pic chính không thấp hơn 50 % của toàn thang đo.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa hai pic của phenylalanin và L-aspartyl-L-phenylalanin ít nhất là 3,5.

Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của pic tương ứng với diketopiperazin không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,5 %) và diện tích của pic tương ứng với phenylalanin không được lớn hơn pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0.5 %). Tổng diện tích của tất cả các pic phụ, ngoài pic chính, trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1,5 %), loại bỏ các pic của dung môi pha mẫu.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 3. Dùng 1 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 4,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Cân chính xác khoảng 0,250 g chế phẩm, hòa tan trong hỗn hợp gồm 1,5 ml *acid formic khan (TT)* và 60 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 29,43 mg $C_{14}H_{18}N_2O_5$.

Bảo quản
Trong đồ bao gói kín.

Loại thuốc
Chất làm ngọt.

Chế phẩm
Viên nén, thuốc bột gói.

THUỐC BỘT ASPARTAM
Pulveres Aspartami

Là thuốc bột chứa aspartam.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận Thuốc bột (Phụ lục 1.7) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng aspartam, $C_{14}H_{18}N_2O_5$, từ 90 % đến 110 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột màu trắng, có vị ngọt.

Định tính
A. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *ethanol (TT)* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi, lắc đều, lọc. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 200 đến 300 nm, phải cho các cực đại hấp thụ tại 247 nm, 252 nm, 258 nm và 264 nm.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Nước - acid formic - methanol - methylen clorid (2 : 4 : 30 : 64).
Dung dịch thử: Hòa tan một lượng bột chế phẩm tương ứng với 15 mg aspartam trong 2,5 ml *nước*, thêm *acid acetic (TT)* vừa đủ 10 ml.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch aspartam chuẩn 0,15 % trong hỗn hợp gồm 2,5 thể tích *nước* và 7,5 thể tích *acid acetic (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản sắc ký ra, để khô ngoài không khí, phun *dung dịch ninhydrin 2 % (TT)* và sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 15 min. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ mịn
Thuốc bột phải đạt yêu cầu Bột rất mịn (Phụ lục 3.5).

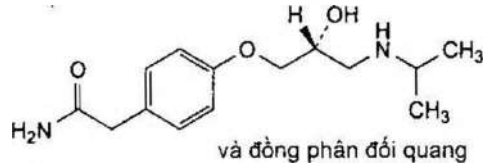
Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 9,0 % (Phụ lục 9.6).
(1 g; 80 °C).

Định lượng
Cân 20 đơn vị chế phẩm, xác định khối lượng trung bình, trộn đều. Cân chính xác một lượng chế phẩm tương ứng 40 mg aspartam vào bình định mức 100 ml, hòa tan bằng *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và thêm đến định mức với cùng một dung môi, lắc đều. Lọc, bỏ dịch lọc đầu. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dịch lọc thu được ở bước sóng 258 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*. So sánh với dung dịch aspartam chuẩn 0,040 % trong *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*.
Tính hàm lượng aspartam, $C_{14}H_{18}N_2O_5$, trong chế phẩm dựa vào hàm lượng $C_{14}H_{18}N_2O_5$ trong aspartam chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Hàm lượng thường dùng
1 g.

ATENOLOL
Atenololum



và đồng phân đối quang

$C_{14}H_{22}N_2O_3.HCl$ P.t.l: 266,3

Atenolol là 2-[4-[(2*RS*)-2-Hydroxy-3-[(1-methylethyl)-amino]propoxy]phenyl]acetamid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{14}H_{22}N_2O_3$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng, hơi tan trong nước, tan trong ethanol khan, khó tan trong methylen clorid.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của atenolol chuẩn.
B. Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 100 ml bằng cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100 ml bằng *methanol (TT)*. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) trong khoảng bước sóng từ 230 nm đến 350 nm. Phổ hấp thụ tử ngoại phải có hai cực đại hấp thụ ở bước sóng 275 nm và 282 nm. Tỉ số độ hấp thụ ở bước sóng 275 nm và bước sóng 282 nm từ 1,15 đến 1,20.

C. Điểm chảy: Từ 152 °C đến 155 °C (Phụ lục 6.7).
D. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel đã được silan hóa F_{254}.
Dung môi khai triển: Amoniac 18 M - methanol (1 : 99).
Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong 1 ml *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg atenolol chuẩn trong 1 ml *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí và kích thước.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn dung dịch màu chuẩn tương tự ở mức 6 (Phụ lục 9.3), phương pháp 2).

Góc quay cực
Từ +0,10° đến -0,10° (Phụ lục 6.4).
Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 1,0 g *natri octansulfonat (TT)* và 0,4 g *tetrabutylamoni hydrosulfat (TT)* trong 1 L hỗn hợp dung môi gồm: *Tetrahydrofuran - methanol (TT_2) - dung dịch kali dihydrophosphat 0,34 %* (20 : 180 : 800); điều chỉnh đến pH 3,0 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong 20,0 ml pha động và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2 mg atenolol chuẩn để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa các tạp chất: B, F, G, I và J) bằng 1,0 ml pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (12,5 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 226 nm.
Tốc độ dòng: 0,6 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 5 lần thời gian lưu của atenolol.
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo atenolol chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) để xác định pic các tạp chất B, F, G, I và J.
Thời gian lưu tương đối so với atenolol (thời gian lưu khoảng 8 min): Tạp chất B khoảng 0,3; tạp chất J khoảng 0,7; tạp chất I khoảng 0,8; tạp chất F khoảng 2,0 (gồm hai pic); tạp chất G khoảng 3,5.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất J (tạp chất chưa định danh) với pic của tạp chất I ít nhất là 1,4.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất J với 1,5.
Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).
Tạp chất F, G, I: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu cần, không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,15 %).
Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 2-(4-Hydroxyphenyl)acetamid.
Tạp chất B: 2-[4-[(2*RS*)-2,3-Dihydroxypropoxy]phenyl]acetamid.
Tạp chất D: 2-[4-[(2*RS*)-3-Cloro-2-hydroxypropoxy]phenyl]acetamid.
Tạp chất E: 2,2'-[(2-Hydroxypropan-1,3-diyl)bis(oxy-4,1-phenylen)] diacetamid.
Tạp chất F: 2,2'-[[(1-Methylethyl)imino]bis[(2-hydroxypropan-3,1-diyl)oxy-4,1- phenylen]]diacetamid.
Tạp chất G: Acid 2-[4-[(2*RS*)-2-hydroxy-3-[(1-methylethyl) amino]propoxy]phenyl]acetic.
Tạp chất H: 2-[4-[(2*RS*)-2-Hydroxy-3-[(1-methylethyl)amino] propoxy]phenyl]acetonitril.
Tạp chất I: 2-[4-[(2*RS*)-3-(Ethylamino)-2-hydroxypropoxy]phenyl] acetamid.

Clorid
Không được quá 0,1 %.
Hòa tan 50 mg chế phẩm trong hỗn hợp gồm 1 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)* và 15 ml *nước*. Dùng dung dịch thu được để thử (không thêm tiếp dung dịch acid nitric loãng) (Phụ lục 9.4.5).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 80 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CD)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 26,63 mg $C_{14}H_{22}N_2O_3$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chẹn đối giao cảm beta.

Chế phẩm
Viên nén, thuốc tiêm, dung dịch uống.

VIÊN NÉN ATENOLOL
Tabellae Atenololi

Là viên nén, hay viên bao chứa atenolol.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng atenolol, $C_{14}H_{22}N_2O_3$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử trong khoảng 230 nm đến 350 nm có các hấp thụ cực đại ở khoảng 276 nm và 283 nm.
B. Trong phần Tạp chất liên quan, thời gian lưu của pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch (1) phải tương ứng với thời gian lưu của pic atenolol trong sắc ký đồ thu được của dung dịch (3).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm phosphat: Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*, điều chỉnh pH tới 3,0 với *acid phosphoric (TT)*.
Pha động: Hòa tan 1,30 g *natri octansulfonat (TT)* trong hỗn hợp 700 ml dung dịch đệm phosphat và 300 ml *methanol (TT)*.
Dung dịch (1): Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 50 mg atenolol, thêm 40 ml pha động, siêu âm 20 min, pha loãng thành 50,0 ml với pha động, lọc. Sử dụng dịch lọc.
Dung dịch (2): Pha loãng 1 ml dung dịch (1) thành 100 ml với pha động.
Dung dịch (3): Dung dịch atenolol chuẩn 0,1 % trong pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 275 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành: Tiêm dung dịch (2), điều chỉnh sao cho chiều cao của pic chính bằng 20 % thang đo. Tiêm dung dịch (1), tiến hành sắc ký trong khoảng thời gian gấp ba lần thời gian lưu của pic chính.
Tổng diện tích của các pic phụ trong sắc ký đồ thu được của dung dịch (1) không được lớn hơn diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch (2).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 9 ml *acid hydrocloric (TT)* pha loãng thành 1000 ml với *nước*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan mẫu thử, lọc. Pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 10 mg atenolol/ml. Pha dung dịch atenolol chuẩn trong môi trường hòa tan để có nồng độ chính xác khoảng 10 mg/ml. Đo độ hấp thụ của các dung dịch ở bước sóng 224 nm (Phụ lục 4.1) trong cốc đo dày 1 cm, dùng môi trường hòa tan làm mẫu trắng. Dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ $C_{14}H_{22}N_2O_3$ của dung dịch chuẩn, tính hàm lượng atenolol, $C_{14}H_{22}N_2O_3$, đã hòa tan trong mỗi viên.
Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % (Q) lượng atenolol, $C_{14}H_{22}N_2O_3$, so với hàm lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng
Cân 20 viên (đã loại bỏ lớp vỏ bao, nếu là viên bao), nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 35 mg atenolol vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml *ethanol (TT)*, làm nóng hỗn dịch tới 60 °C và lắc trong 15 min, để nguội, thêm *ethanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Lấy 5,0 ml dịch lọc, pha loãng thành 50,0 ml với *ethanol (TT)*.
Pha dung dịch atenolol chuẩn trong *ethanol (TT)* có nồng độ chính xác khoảng 0,07 mg/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch chuẩn và dung dịch thử ở bước sóng khoảng 276 nm trong cốc đo dày 1 cm, so với mẫu trắng là *ethanol (TT)*.
Tính hàm lượng atenolol, $C_{14}H_{22}N_2O_3$, trong viên dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ $C_{14}H_{22}N_2O_3$ của dung dịch chuẩn.

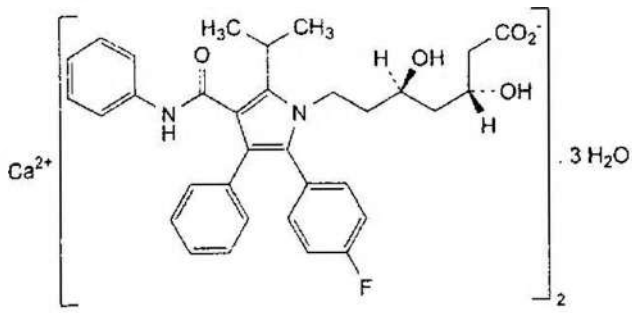
Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống tăng huyết áp.

Hàm lượng thường dùng
25 mg; 50 mg; 100 mg.

ATORVASTATIN CALCI TRIHYDRAT

Atorvastatinum calcium trihydricum



$C_{66}H_{68}CaF_2N_4O_{10}.3H_2O$ P.t.l: 1209

Atorvastatin calci trihydrat là calci (3*R*,5*R*)-7-[2-(4-fluorophenyl)-5-(1-methylethyl)-3-phenyl-4-(phenylcarbamoyl)-1*H*-pyrrol-1-yl]-3,5-dihydroxyheptanoat trihydrat, phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % $C_{66}H_{68}CaF_2N_4O_{10}$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột màu trắng hoặc gần như trắng, đa hình.

Rất khó tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong methylen clorid.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của atorvastatin calci trihydrat chuẩn. Nếu phổ hồng ngoại của mẫu thử và mẫu chuẩn ở trạng thái rắn khác nhau thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và atorvastatin calci trihydrat chuẩn trong *methanol (TT)*, bốc hơi đến khô. Ghi phổ mới của các cắn thu được.

B. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Tạp chất đồng phân đối quang.

C. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Nước.

D. Cắn sau khi nung chế phẩm phải cho phản ứng (A) của calci (Phụ lục 8.1). Nếu cắn không hòa tan hoàn toàn thì có thể lọc lấy dịch lọc làm phản ứng.

Tạp chất đồng phân đối quang

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acid trifluoroacetic - ethanol khan - hexan (0,1 : 6 : 94).

Dung môi pha mẫu: Ethanol khan - methanol (50 : 50).

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong 4 ml dung môi pha mẫu và pha loãng thành 10,0 ml với *hexan (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2 mg tạp chất E chuẩn của atorvastatin trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi (dung dịch A). Hòa tan 10 mg chế phẩm trong 1,25 ml *methanol (TT)*, thêm 0,75 ml dung dịch A và 2 ml *ethanol khan (TT)* rồi pha loãng thành 10,0 ml với *hexan (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (2): Lấy 2,0 ml dung dịch thử, thêm 40,0 ml dung môi pha mẫu và pha loãng thành 100,0 ml với *hexan (TT)*. Lấy 3,0 ml dung dịch thu được, thêm 5 ml dung môi pha mẫu và pha loãng thành 20,0 ml với *hexan (TT)*.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi *dẫn xuất amylose của silica gel dùng cho sắc ký* (10 µm).

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 244 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 1,2 lần thời gian lưu của pic atorvastatin.

Thời gian lưu tương đối của pic tạp chất E so với pic atorvastatin (thời gian lưu khoảng 44 min) là khoảng 0,8.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic tương ứng với tạp chất E và pic atorvastatin không nhỏ hơn 2,0.

Giới hạn:

Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của pic tương ứng với pic tạp chất E không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Tetrahydrofuran - acetonitril - dung dịch amoni acetat 0,39 % đã được điều chỉnh đến pH 5,0 bằng acetic acid băng (12 : 21 : 67).

Pha động B: Tetrahydrofuran - acetonitril - dung dịch amoni acetat 0,39 % đã được điều chỉnh đến pH 5,0 bằng acetic acid băng (12 : 61 : 27).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 40,0 mg chế phẩm trong *dimethylformamid (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *dimethylformamid (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hoà tan 40,0 mg atorvastatin calci trihydrat chuẩn trong *dimethylformamid (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (2) thành 100,0 ml với *dimethylformamid (TT)*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml với *dimethylformamid (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 2,5 mg tạp chất A chuẩn của atorvastatin; 2,5 mg tạp chất B chuẩn của atorvastatin; 2,5 mg tạp chất C chuẩn của atorvastatin; 2,5 mg tạp chất D chuẩn của atorvastatin và 2,5 mg chế phẩm trong *dimethylformamid (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).

Nhiệt độ cột: 35 °C.

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 244 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl mỗi dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (2), dung dịch đối chiếu (3).
Cách tiến hành:
Tiến hành chạy sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 40	100	0
40 - 70	100 → 20	0 → 80
70 - 85	20 → 0	80 → 100

Dựa trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3) để xác định vị trí các pic tương ứng với các tạp chất A, B, C, D của atorvastatin.
Thời gian lưu tương đối của các pic tạp chất so với pic atorvastatin (thời gian lưu khoảng 33 min) là: Tạp chất A khoảng 0,8; tạp chất B khoảng 0,9; tạp chất C khoảng 1,2; tạp chất D khoảng 2,1.
Nếu cần thiết, có thể điều chỉnh pha động bằng cách tăng hoặc giảm tỷ lệ acetonitril hoặc pH của dung dịch amoni acetat sao cho thời gian lưu của atorvastatin khoảng 33 min. Ví dụ, tăng giá trị pH có thể làm giảm thời gian lưu của atorvastatin.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic tương ứng với tạp chất B và pic atorvastatin không nhỏ hơn 1,5.
Giới hạn:
Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (2):
Tạp chất A, B: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 3 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %)
Tạp chất C, D: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 1,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,15 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).
Tổng các tạp chất: Tổng diện tích các pic tạp không được lớn hơn 15 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (1,5 %).
Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %) và pic tương ứng với dimetnylformamid.
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid (3*R*,5*R*)-3,5-dihydroxy-7-[5-(1-methylethyl)-2,3-diphenyl-4-(phenylcarbamoyl)-1*H*-pyrrol-1-yl]heptanoic (desfluoroatorvastatin).
Tạp chất B: Acid (3*RS*,5*SR*)-7-[2-(4-fluorophenyl)-5-(1-methylethyl)-3-phenyl-4-(phenylcarbamoyl)-1*H*-pyrrol-1-yl]-3,5-dihydroxyheptanoic.
Tạp chất C: Acid (3*R*,5*R*)-7-[2,3-bis(4-fluorophenyl)-5-(1-methylethyl)-4-(phenylcarbamoyl)-1*H*-pyrrol-1-yl]-3,5-dihydroxyheptanoic (fluoroatorvastatin).
Tạp chất D: 3-[(4-fluorophenyl)carbonyl]-2-(2-methylpropanoyl)-*N*,3-diphenyloxiran-2-carboxamid.
Tạp chất E: Acid (3*S*,5*S*)-7-[2-(4-fluorophenyl)-5-(1-methylethyl)-3-phenyl-4-(phenylcarbamoyl)-1*H*-pyrrol-1-yl]-3,5-dihydroxyheptanoic (*ent*-atorvastatin).
Tạp chất F: Acid (3*R*,5*R*)-7-[[(3*R*,5*R*)-7-[2-(4-fluorophenyl)-5-(1-methylethyl)-3-phenyl-4-(phenylcarbamoyl)-1*H*-pyrrol-1-yl]-3,5-dihydroxyheptanoyl]amino]-3,5-dihydroxyheptanoic.
Tạp chất G: Acid (3*R*,5*R*)-7-[2-(4-fluorophenyl)-5-(1-methylethyl)-3-phenyl-4-(phenylcarbamoyl)-1*H*-pyrrol-1-yl]-5-hydroxy-3-methoxyheptanoic (3-*O*-methylatorvastatin).
Tạp chất H: (4*R*,6*R*)-6-[2-[2-(4-fluorophenyl)-5-(1-methylethyl)-3-phenyl-4-(phenylcarbamoyl)-1*H*-pyrrol-1-yl]ethyl]-4-hydroxytetrahydro-2*H*-pyran-2-on.

Natri
Không được quá 0,4 % (tính theo chế phẩm khan).
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung môi pha mẫu: Acid hydrocloric - nước - methanol (2 : 25 : 75).
Dung dịch thử: Hòa tan 5,0 mg chế phẩm trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Các dung dịch chuẩn: Từ *dung dịch natri mẫu 50 phần triệu Na (TT)*, pha loãng bằng dung môi pha mẫu để thu được các dung dịch chuẩn có nồng độ phù hợp.
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 589,0 nm, dùng đèn cathod rỗng natri làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - acetylen.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8, phương pháp 8).
Dung môi pha mẫu: Nước - methanol (10 : 90).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 30 ml dung môi pha mẫu.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 0,5 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* thành 30 ml bằng dung môi pha mẫu.
Dung dịch mẫu trắng: 30 ml dung môi pha mẫu.

Nước
Từ 3,5 % đến 5,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,130 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (1).
Tính hàm lượng phần trăm atorvastatin calci, $C_{66}H_{68}CaF_2N_4O_{10}$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic atorvastatin thu được trên sắc ký đồ dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng $C_{66}H_{68}CaF_2N_4O_{10}$ trong atorvastatin calci trihydrat chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Ức chế HMG Co-A reductase; chống tăng lipid máu.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN ATORVASTATIN
Tabellae Atorvastatini

Là viên nén hoặc viên nén bao phim chứa atorvastatin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng atorvastatin, $C_{33}H_{35}FN_2O_5$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lấy lượng bột viên tương ứng 10 mg atorvastatin, thêm 50 ml *methanol (TT)*, lắc kỹ, ly tâm. Lấy 2,5 ml dịch trong pha loãng với *methanol (TT)* vừa đủ 50 ml. Phổ hấp thu tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được phải có cực đại trong khoảng bước sóng từ 244 nm đến 248 nm.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic atorvastatin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy dịch hòa tan, lọc. Pha loãng dịch lọc với *nước* nếu cần để được dung dịch có nồng độ atorvastatin khoảng 6 µg/ml.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng atorvastatin calci chuẩn tương tương với 30 mg atorvastatin, hòa tan trong 100,0 ml *methanol (TT)*. Hút chính xác 5 ml dung dịch thu được và pha loãng thành 250,0 ml bằng *nước*.
Định lượng dược chất hòa tan bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với pha động, điều kiện sắc ký tương tự phần Định lượng.
Tiến hành sắc ký lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính lượng atorvastatin, $C_{33}H_{35}FN_2O_5$, trong mỗi viên đã hòa tan dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{33}H_{35}FN_2O_5$ trong atorvastatin calci chuẩn.
Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng atorvastatin, $C_{33}H_{35}FN_2O_5$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Acetonitril - tetrahydrofuran (92,5 : 7,5).
Pha động B: Dung dịch amoni dihydrophosphat 0,05 M - pha động A (58 : 42).
Pha động C: Dung dịch amoni dihydrophosphat 0,05 M - pha động A - methanol (20 : 20 : 60).
Hỗn hợp dung môi: Acetonitril - nước (40 : 60).
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng 50 mg atorvastatin, hòa trong 10 ml *methanol (TT)*, thêm 20 ml hỗn hợp dung môi, lắc siêu âm để hòa tan (nếu cần), thêm hỗn hợp dung môi vừa đủ 100,0 ml. Lọc.
Dung dịch đối chiếu (1): Cân chính xác một lượng atorvastatin calci chuẩn tương đương với 25 mg atorvastatin, hòa tan trong 5 ml *methanol (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 246 nm.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Thời gian chờ tiêm: 10 min.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Tốc độ dòng (ml/min)	Pha động B (% tt/tt)	Pha động C (% tt/tt)
0 - 20	1,8	100	0
20 - 35	1,8	100 → 25	0 → 75
35 - 40	1,5	25	75
40 - 55	1,5	25 → 0	75 → 100
55 - 60	1,8	0 → 100	100 → 0

Tiêm dung dịch đối chiếu (1). Phép thử có giá trị khi hiệu lực cột không ít hơn 5000 đĩa lý thuyết, hệ số đối xứng của pic atorvastatin không lớn hơn 1,5.
Tiêm dung dịch đối chiếu (2) và dung dịch thử. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất cứ pic phụ nào cũng không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %) và tổng diện tích của tất cả các pic phụ không được lớn hơn 4 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (4,0 %). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)
Áp dụng đối với viên có hàm lượng atovastatin bằng hoặc nhỏ hơn 10 mg.
Xác định hàm lượng atorvastatin trong mỗi viên bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với pha động, dung dịch chuẩn, điều kiện sắc ký tương tự trong phần Định lượng.
Dung dịch thử: Cho một viên vào bình định mức 50 ml, thêm 3 ml *nước*, để viên rã và phân tán trong *nước*, thêm 20 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm, thêm *methanol (TT)* đến vạch, lắc đều và lọc. Pha loãng 10,0 ml dịch lọc thành 25,0 ml bằng dung môi pha mẫu.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Acetonitril - tetrahydrofuran (92,5 : 7,5).
Dung dịch đệm: Hòa tan 1,54 g *amoni acetat (TT)* trong 1000 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 4,0 bằng *acid acetic (TT)*.

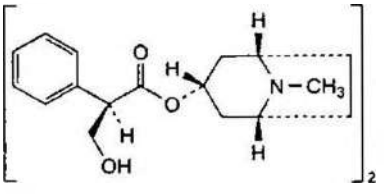
Pha động: Dung dịch đệm - pha động A (50 : 50).
Dung môi pha mẫu: Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 0,9 g *natri hydroxyd (TT)* trong 1000 ml *nước*, điều chỉnh pH dung dịch đến 6,8 bằng *acid phosphoric (TT)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 0,2 M (TT)*.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng 40 mg atorvastatin cho vào bình định mức 50 ml, thêm 40 ml *methanol (TT)*, lắc kỹ, siêu âm để hòa tan, để nguội, thêm *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch. Lọc. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 50,0 ml bằng dung môi pha mẫu.
Dung dịch chuẩn: Cân một lượng atorvastatin calci chuẩn tương đương với 40 mg atorvastatin cho vào bình định mức 50 ml, hòa tan trong *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lấy 5,0 ml dung dịch thu được pha loãng thành 50,0 ml bằng dung môi pha mẫu.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 246 nm.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch chuẩn. Phép thử có giá trị khi hiệu lực cột không nhỏ hơn 2000 đĩa lý thuyết, hệ số đối xứng không lớn hơn 1,5; độ lệch chuẩn tương đối của pic atorvastatin không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng atorvastatin, $C_{33}H_{35}FN_2O_5$, trong chế phẩm dựa vào vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{33}H_{35}FN_2O_5$ trong atorvastatin calci chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng, để nơi khô mát hoặc ở nhiệt độ phòng.

Loại thuốc
Chống tăng lipid máu.

Hàm lượng thường dùng
10 mg, 20 mg, 40 mg, 80 mg.

ATROPIN SULFAT
Atropini sufas



. H_2SO_4 . H_2O

và đồng phân đối quang

$C_{34}H_{46}N_2O_6.H_2SO_4.H_2O$ P.t.l: 695

Atropin sulfat là bis[(1*R*,3*r*,5*S*)-8-methyl-8-azabicyclo [3.2.1]oct-3-yl (2*RS*)-3-hydroxy-2-phenyl propanoat] sulfat monohydrat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{34}H_{46}N_2O_6.H_2SO_4$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Tinh thể không màu hay bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng. Rất tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B, E.
Nhóm II: C, D, E, F.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của atropin sulfat chuẩn.
B. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử Góc quay cực.
C. Hòa tan khoảng 50 mg chế phẩm trong 5 ml *nước*, thêm 5 ml *dung dịch acid picric 1 % (TT)*. Lọc, rửa tủa bằng *nước* và sấy khô ở 100 °C đến 105 °C trong 2 h. Tủa chảy ở nhiệt độ từ 174 °C đến 179 °C (Phụ lục 6.7).
D. Thêm 0,2 ml *acid nitric bốc khói (TT)* vào khoảng 1 mg chế phẩm và bốc hơi trong cách thủy tới khô. Hòa tan cắn trong 2 ml *aceton (TT)*, thêm 0,1 ml *dung dịch kali hydroxyd 3 % trong methanol (TT)*. Màu tím xuất hiện.
E. Chế phẩm phải cho phản ứng của sulfat (Phụ lục 8.1).
F. Chế phẩm phải cho phản ứng của alcaloid (Phụ lục 8.1).

pH
Hòa tan 0,60 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 30 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải có pH từ 4,5 đến 6,2 (Phụ lục 6. 2).

Góc quay cực
Từ -0,50° đến +0,05° (Phụ lục 6.4).
Cân chính xác khoảng 2,5 g chế phẩm, hòa tan trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. Đo trong ống dài 2 dm.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Hòa tan 3,5 g *natri dodecylsulfat (TT)* trong 606 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,7 %* đã được điều chỉnh đến pH 3,3 bằng *dung dịch acid phosphoric 0,05 M (TT)*, trộn dung dịch thu được với 320 ml *acetonitril (TT_1)*.
Pha động B: *Acetonitril (TT_1)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 24 mg chế phẩm vào pha động A và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động A. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động A.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg tạp chất B chuẩn của atropin vào dung dịch thử và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml bằng pha động A.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan atropin chuẩn dùng để định tính pic (chứa các tạp chất A, D, E, F, G và H) có trong một lọ chuẩn bằng 1 ml pha động A.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 5 mg *acid tropic (TT)* (tạp chất C) vào pha động A và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 100 ml bằng pha động A. Tiếp tục pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động A.

Điều kiện sắc ký:

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

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

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 2	95	5
2 - 20	95 → 70	5 → 30

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo atropin chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của các tạp chất A, D, E, F, G và H. Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất B. Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của tạp chất C. Thời gian lưu tương đối so với atropin (thời gian lưu khoảng 11 min): Tạp chất C khoảng 0,2; tạp chất E khoảng 0,67; tạp chất D khoảng 0,73; tạp chất F khoảng 0,8; tạp chất B khoảng 0,89; tạp chất H khoảng 0,93; tạp chất G khoảng 1,1; tạp chất A khoảng 1,7.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất B với pic atropin ít nhất là 2,5.

Giới hạn:

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng: Tạp chất A là 0,6; tạp chất C là 0,6.

Tạp chất E, H: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).

Tạp chất A, B, C, D, F, G: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu cần, không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).

Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: (1*R*,3*r*,5*S*)-8-Methyl-8-azabicyclo[3.2.1]oct-3-yl 2-phenylpropenoat (apoatropin).

Tạp chất B: (1*R*,3*r*,5*S*)-8-Azabicyclo[3.2.1]oct-3-yl (2*RS*)-3-hydroxy-2-phenylpropanoat (noratropin).

Tạp chất C: Acid (2*RS*)-3-hydroxy-2-phenylpropanoic (aicd tropic).

Tạp chất D: (1*R*,3*S*,5*R*,6*RS*)-6-Hydroxy-8-methyl-8-azabicyclo [3.2.1]oct-3-yl (2*S*)-3-hydroxy-2-phenylpropanoat (6-hydroxy-hyoscyamin).

Tạp chất E: (1*S*,3*R*,5*S*,6*RS*)-6-Hydroxy-8-methyl-8-azabicyclo [3.2.1]oct-3-yl (2*S*)-3-hydroxy- 2-phenylpropanoat (7-hydroxy-hyoscyamin).

Tạp chất F: (1*R*,2*R*,4*S*,5*S*,7*s*)-9-Methyl-3-oxa-9-azatricyclo [3.3.1.0^{2,4}]non-7-yl (2*S*)-3- hydroxy-2-phenylpropanoat (hyoscin).

Tạp chất G: (1*R*,3*r*,5*S*)-8-Methyl-8-azabicyclo[3.2.1]oct-3-yl (2*RS*)-2-hydroxy-3- phenylpropanoat (littorin).

Tạp chất H: Chưa rõ cấu trúc.

Nước

2,0 % đến 4,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,500 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9), phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,500 g chế phẩm vào 30 ml *acid acetic khan (TT)*, làm ấm dung dịch nếu cần. Để nguội. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* và xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 67,68 mg $C_{34}H_{38}N_2O_{10}S$.

Bảo quản

Trong lọ nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc ức chế đối giao cảm.

Chế phẩm

Thuốc nhỏ mắt dạng thuốc nước và thuốc mỡ, thuốc tiêm, viên nén.

THUỐC TIÊM ATROPIN SULFAT

Injectio Atropini sulfatis

Là dung dịch vô khuẩn của atropin sulfat trong nước để pha thuốc tiêm.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng atropin sulfat, $(C_{17}H_{23}NO_3)_2.H_2SO_4.H_2O$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cloroform - aceton - diethylamin (50 : 40 : 10).
Dung dịch thử: Bốc hơi trên cách thủy một thể tích tương đương 5 mg atropin sulfat, rồi hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol 96 % (TT).*
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch atropin sulfat chuẩn 0,5 % trong *ethanol 96 % (TT).*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, sấy bản mỏng ở 105 °C trong 20 min, để nguội, phun *thuốc thử kali iodobismuthat loãng (TT)* và quan sát. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về vị trí, hình dạng, màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic atropin sulfat trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

pH
Từ 3,0 đến 5,0 (Phụ lục 6.2).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch chứa *natri acetat 0,01 M (TT)* và *dioctyl natri sulfosuccinat 0,005 M (TT)* trong *methanol 60 % (TT)*, điều chỉnh đến pH 5,5 bằng *acid acetic băng (TT).*
Đối với chế phẩm có hàm lượng atropin sulfat nhỏ hơn 0,1 %
Dung dịch thử : Dung dịch chế phẩm.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch atropin sulfat chuẩn có nồng độ tương đương với dung dịch thử pha trong *nước.*
Dung dịch phân giải: Dung dịch có chứa atropin sulfat chuẩn và homatropin hydrobromid chuẩn trong pha động, cả hai chất có nồng độ tương đương với dung dịch thử.
Thể tích tiêm: 100 µl.
Đối với chế phẩm có hàm lượng atropin sulfat bằng hoặc lớn hơn 0,1 %
Dung dịch thử: Pha loãng chế phẩm bằng *nước* (nếu cần) để được dung dịch atropin sulfat 0,1 %.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch atropin sulfat chuẩn 0,1 % pha trong *nước.*
Dung dịch phân giải: Dung dịch có chứa atropin sulfat chuẩn 0,1 % và homatropin hydrobromid chuẩn 0,1 % trong pha động.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 257 nm.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch phân giải, thử nghiệm chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa pic atropin sulfat và homatropin hydrobromid trên sắc ký đồ không nhỏ hơn 2,5.
Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng của atropin sulfat, $(C_{17}H_{23}NO_3)_2.H_2SO_4.H_2O$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn và hàm lượng $(C_{17}H_{23}NO_3)_2.H_2SO_4.H_2O$ trong atropin sulfat chuẩn.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Điều trị đau do co thắt đường tiêu hóa và tiết niệu, ngộ độc phosphor hữu cơ.

Hàm lượng thường dùng
0,25 mg/ml; 0,5 mg/ml.

VIÊN NÉN ATROPIN SULFAT
Tabellae Atropini sulfatis

Là viên nén chứa atropin sulfat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng atropin sulfat, $(C_{17}H_{23}NO_3)_2.H_2SO_4.H_2O$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: *Cloroform - aceton - diethylamin* (50 : 40 : 10).
Dung dịch thử: Cân một lượng bột viên tương ứng với 5 mg atropin sulfat, thêm 10 ml *ethanol 96 % (TT)*, lắc 10 min đến 15 min, lọc. Bốc hơi dịch lọc trên cách thủy cho đến khô. Hòa tan cắn thu được trong 1 ml *ethanol 96 % (TT).*
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch atropin sulfat chuẩn 0,5 % trong *ethanol 96 % (TT).*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản sắc ký ra, sấy ở 105 °C trong 20 min, để nguội và phun *thuốc thử kali iodobismuthat loãng (TT).* Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.
B. Trong phần Đồng đều hàm lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic atropin sulfat trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
C. Cân một lượng bột viên tương ứng với 5 mg atropin sulfat, thêm 5 ml *nước*, lắc kỹ 10 min đến 15 min, lọc. Thêm vào dịch lọc 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và 0,5 ml *dung dịch bari clorid 5 % (TT)*, xuất hiện tủa trắng, không tan trong các acid.

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch chứa *natri acetat 0,01 M (TT)* và *dioctyl natri sulfosuccinat 0,005 M (TT)* trong *methanol 60 % (TT)*, điều chỉnh đến pH 5,5 bằng *acid acetic băng (TT)*.
Dung dịch thử: Lấy 1 viên, thêm 2,0 ml pha động lắc siêu âm đến khi viên rã hoàn toàn, lọc.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch atropin sulfat chuẩn trong pha động có nồng độ tương đương nồng độ atropin sulfat trong dung dịch thử.
Dung dịch phân giải: Dung dịch atropin sulfat chuẩn và homatropin hydrobromid chuẩn trong pha động có nồng độ tương đương nồng độ atropin sulfat trong dung dịch thử.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 257 nm.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch phân giải, hệ số phân giải giữa pic atropin sulfat và homatropin hydrobromid trên sắc ký đồ không nhỏ hơn 2,5.
Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng của atropin sulfat, $(C_{17}H_{23}NO_3)_2.H_2SO_4.H_2O$, trong mỗi viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $(C_{17}H_{23}NO_3)_2.H_2SO_4.H_2O$ trong atropin sulfat chuẩn.

Định lượng
Lấy giá trị trung bình hàm lượng của 10 viên ở mục Đồng đều hàm lượng.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống co thắt.

Hàm lượng thường dùng
0,5 mg.

ATTAPULGIT
Attapulgitum

Attapulgit là magnesi nhôm silicat hydrat thiên nhiên tinh khiết, thành phần chủ yếu của một loại đất sét vô cơ.

Tính chất
Bột rất mịn, màu vàng sẫm hoặc màu kem sáng, không có hoặc hầu như không có sạn.

Định tính
A. Nung 0,5 g chế phẩm với 2 g *natri carbonat khan (TT)* trong 20 min, để nguội và chiết bằng 25 ml *nước* sôi. Để nguội, lọc, rửa cắn bằng *nước* và gộp nước rửa và dịch lọc. Giữ cắn để dùng cho phép thử định tính B. Acid hóa cẩn thận dịch thu được bằng *acid hydrocloric (TT)*, bay hơi tới khô, làm ẩm cắn bằng 0,2 ml *acid hydrocloric (TT)*, thêm 10 ml *nước* và khuấy đều. Xuất hiện tủa sền sệt màu trắng.
B. Rửa cắn thu được trong phép thử A bằng *nước* và hòa tan trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*. Lấy 2 ml dung dịch thu được, thêm *dung dịch amoni thiocyanat 10 % (TT)*. Xuất hiện màu đỏ đậm.
C. Lấy 2 ml dung dịch thu được trong phép thử B, thêm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 42 % (TT)*, lọc. Thêm 3 ml *dung dịch amoni clorid 10,7 %* vào dịch lọc. Xuất hiện tủa sền sệt màu trắng.
D. Lấy 2 ml dung dịch thu được trong phép thử B, thêm *amoni clorid (TT)* và thêm một lượng dư *amoniac (TT)* và lọc. Lấy dịch lọc thu được, thêm 0,15 ml *thuốc thử magneson (TT)* và một lượng dư *dung dịch natri hydroxyd 5 M (TT)*. Xuất hiện tủa màu xanh dương.

pH
Từ 7,0 đến 9,5 (Phụ lục 6.2).
Lắc 5 g chế phẩm trong 100 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* trong 5 min. Dùng hỗn dịch thu được để đo.

Khả năng hấp phụ
Khả năng hút ẩm từ 5 % đến 14 %.
Nghiền một lượng chế phẩm đã làm khô trong không khí và rây qua rây số 150. Trải 0,5 g bột chế phẩm thu được thành một lớp mỏng trên một lá nhôm có kích thước 60 mm × 50 mm, dày 17,5 µm đã được làm khô và cân xác định khối lượng. Để lá nhôm có chứa chế phẩm vào một bình hút ẩm có đĩa chứa natri clorid tinh thể nhúng ngập một phần trong dung dịch natri clorid bão hòa ở 25 °C. Sau 4 h, lấy lá nhôm ra và cân lại ngay. Sau đó, sấy trong tủ sấy ở 110 °C trong 4 h, để nguội trong bình hút ẩm và cân. Khả năng hút ẩm là khối lượng tăng thêm của chế phẩm tính theo phần trăm so với khối lượng chế phẩm đã làm khô trong tủ sấy.

Arsenic
Không được quá 8 phần triệu (Phụ lục 9.4.2, phương pháp A).
Lấy 0,13 g chế phẩm, thêm 5 ml *nước*, 2 ml *acid sulfuric (TT)* và 10 ml *dung dịch sulfur dioxyd (TT)*. Bay hơi trên cách thủy đến khi hết sulfur dioxyd và thể tích dung dịch còn lại khoảng 2 ml. Dùng 5 ml *nước* để chuyển hết dung dịch còn lại vào bình chứa mẫu thử của bộ dụng cụ thử arsen.

Kim loại nặng
A. Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8, phương pháp 1).
Lắc 6,0 g chế phẩm với 40 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,5 M (TT)* ở 37 °C trong 30 min, để nguội và lọc. Rửa cắn bằng *nước*, gộp dịch lọc và dịch rửa và pha loãng thành

50 ml bằng *nước*. Hòa tan 2 g *amoni clorid (TT)* và 2 g *amoni thiocyanat (TT)* trong 20 ml dung dịch thu được. Lắc dung dịch này với 80 ml hỗn hợp đồng thể tích của *ether (TT)* và *alcohol isoamyl (TT)*, để phân lớp, lấy lớp nước. Tiếp tục chiết lớp nước với 80 ml hỗn hợp dung môi trên. Lấy lớp nước và thêm *2 g acid citric (TT)*, trung hòa bằng *amoniac 13,5 M (TT)* và pha loãng thành 25 ml bằng *nước*. Lấy 12 ml dung dịch thu được để tiến hành thử. Dùng *dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

B. Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8, phương pháp 1).

Lắc 6,0 g chế phẩm với 40 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,5 M (TT)* ở 37 °C trong 30 min, để nguội và lọc. Rửa cặn bằng *nước*, gộp dịch lọc và dịch rửa và pha loãng thành 50 ml bằng *nước*. Trung hòa 20 ml dung dịch thu được bằng *acid hydrocloric (TT)* và pha loãng thành 25 ml bằng *nước*. Lấy 12 ml dung dịch thu được để tiến hành thử. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Chất tan trong acid

Đun sôi 2 g chế phẩm trong 100 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,2 M (TT)* dưới sinh hàn hồi lưu trong 5 min, để nguội và lọc. Bay hơi 50 ml dịch lọc tới cắn khô. Khối lượng cắn sau khi nung ở 600 °C trong 30 min không được quá 0,25 g.

Chất tan trong nước

Đun sôi 10 g chế phẩm trong 100 ml *nước* dưới sinh hàn hồi lưu trong 5 min, để nguội và lọc. Bay hơi 50 ml dịch lọc tới cắn khô. Khối lượng cắn sau khi nung ở 600 °C trong 30 min không được quá 50 mg.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 17,0 % (Phụ lục 9.6).
(1 g, 105 °C).

Mất khối lượng sau khi nung

Từ 15,0 % đến 27,0 %.
Nung 1 g chế phẩm ở 600 °C đến khối lượng không đổi.

Bảo quản

Trong bao bì kín.

Loại thuốc

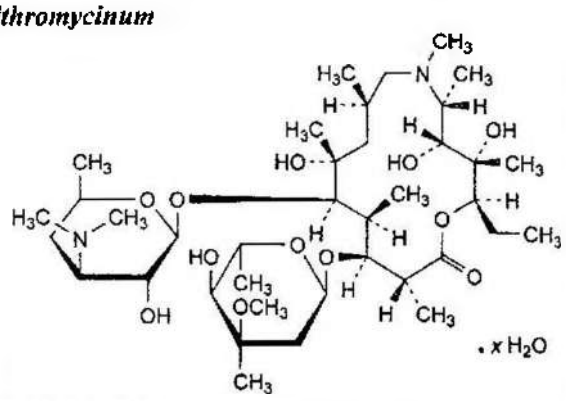
Chất hấp phụ, bảo vệ niêm mạc dạ dày, ruột.

Chế phẩm

Bột pha hỗn dịch.

AZITHROMYCIN

Azithromycinum



$C_{38}H_{72}N_2O_{12}.xH_2O$ (x = 1 hoặc x = 2) P.t.l: 749,0 (Dạng khan)

Azithromycin là (2*R*,3*S*,4*R*,5*R*,8*R*,10*R*,11*R*,12*S*,13*S*,14*R*)-13-[(2,6-Dideoxy-3-*C*-methyl-3-*O*-methyl-α-L-*ribo*-hexopyranosyl)oxy]-2-ethyl-3,4,10-trihydroxy-3,5,6,8,10,12,14-heptamethyl-11-[[3,4,6-trideoxy-3-(dimethyl-amino)-β-D-*xylo*-hexopyranosyl]oxy]-1-oxa-6-azacyclopentadecan-15-on, ngậm một hoặc hai phân tử nước phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$, tính theo chế phẩm khan.

Sản phẩm bán tổng hợp từ một sản phẩm lên men.

Tính chất

Bột trắng hoặc gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong ethanol tuyệt đối và methylen clorid.

Định tính

Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của azithromycin chuẩn.

Nếu so sánh phổ có sự sai khác khi đo ở dạng rắn, chuẩn bị dung dịch thử và dung dịch chuẩn trong *methylen clorid (TT)* có nồng độ 9,0 % và tiến hành đo phổ.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong *ethanol (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Từ 9,0 đến 11,0 (Phụ lục 6.2).

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 25,0 ml *methanol (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với *nước không có carbon dioxyd (TT)*.

Góc quay cực riêng

Từ -45° đến -49°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Hòa tan 1,8 g *dinatri hydrophosphat khan (TT)* vào 1000 ml *nước* và điều chỉnh đến pH 8,9 bằng *dung dịch acid phosphoric loãng (TT)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*.

Pha động B: Methanol (TT_1) - acetonitril (TT_1) (250 : 750).
Hỗn hợp dung môi: Dung dịch đệm pH 10,0 - acetonitril (TT_1) - methanol (TT_1) (350 : 300 : 350).
Dung dịch đệm pH 10,0: Dung dịch amoni dihydrophosphat 0,173 % được điều chỉnh đến pH 10,0 bằng *amoniac (TT).*
Dung dịch thử: Hòa tan 0,200 g chế phẩm bằng hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan azithromycin chuẩn dùng để đánh giá tính phù hợp của hệ thống (chứa các tạp chất F, H và J) có trong một lọ chuẩn bằng 1,0 ml hỗn hợp dung môi, siêu âm trong 5 min.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 8,0 mg azithromycin chuẩn dùng để định tính pic (chứa các tạp chất A, B, C, E, F, G, I, J, L, M, N, O và P) bằng 1,0 ml hỗn hợp dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl amorphous organosilica polymer dùng cho phổ khối* (5 µm).
Nhiệt độ cột: 60 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 25	50 → 45	50 → 55
25 - 30	45 → 40	55 → 60
30 - 80	40 → 25	60 → 75
80 - 81	25 → 50	75 → 50
81 - 93	50	50

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo azithromycin chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của các tạp chất A, B, C, E, F, G, I, J, L, M, N, O và P. Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo azithromycin chuẩn dùng để đánh giá tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất H.
Thời gian lưu tương đối so với azithromycin (thời gian lưu khoảng 45 min đến 50 min): Tạp chất L khoảng 0,29; tạp chất M khoảng 0,37; tạp chất E khoảng 0,43; tạp chất F khoảng 0,51; tạp chất D khoảng 0,54; tạp chất J khoảng 0,54; tạp chất I khoảng 0,61; tạp chất C khoảng 0,73; tạp chất N khoảng 0,76; tạp chất H khoảng 0,79; tạp chất A khoảng 0,83; tạp chất P khoảng 0,92; tạp chất O khoảng 1,23; tạp chất G khoảng 1,26; tạp chất B khoảng 1,31.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), tỷ số đỉnh - hõm (H_p/H_v) ít nhất là 1,4; trong đó H_p là chiều cao của đỉnh pic tạp chất J so với đường nền và H_v là chiều cao của đáy hõm tách hai pic tạp chất J và tạp chất F so với đường nền.

Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng: Tạp chất F là 0,3; tạp chất G là 0,2; tạp chất H là 0,1; tạp chất L là 2,3; tạp chất M là 0,6; tạp chất N là 0,7.
Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (2,0 %).
Tạp chất A, C, E, F, H, I, L, M, N, O, P: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh (nếu cần) không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Tổng diện tích pic tạp chất D và J không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0.5 %).
Tạp chất G: Diện tích pic tạp chất G đã hiệu chỉnh không được lớn hơn 0,2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn 0,2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (3,0 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %); bỏ qua những pic rửa giải ra trước tạp chất L và ra sau tạp chất B.
Ghi chú:
Tạp chất A: 6-Demethylazithromycin.
Tạp chất B: 3-Deoxyazithromycin (azithromycin B).
Tạp chất C: 3''-*O*-demethylazithromycin (azithromycin C).
Tạp chất D: 14-Demethyl-14-(hydroxymethyl)azithromycin (azithromycin F).
Tạp chất E: 3'-(*N*,*N*-didemethyl)azithromycin (aminoazithromycin).
Tạp chất F: 3'-*N*-demethyl-3'-*N*-formylazithromycin.
Tạp chất G: 3'-*N*-demethyl-3'-*N*-[(4-methylphenyl)sulphonyl] azithromycin.
Tạp chất H: 3'-*N*-[[4-(acetylamino)phenyl]sulfonyl]-3'-*N*-demethyl-azithromycin.
Tạp chất I: 3'-*N*-demethylazithromycin.
Tạp chất J: 13-*O*-decladinosylazithromycin.
Tạp chất K: C^{14},1''-epoxyazithromycin (azithromycin E).
Tạp chất L: Azithromycin 3'-*N*-oxid.
Tạp chất M: 3'-(*N*,*N*-didemethyl)-3'-*N*-formylazithromycin.
Tạp chất N: 3'-De(dimethylamino)-3'-oxoazithromycin.
Tạp chất O: 2-Desethyl-2-propylazithromycin.
Tạp chất P: Chưa biết cấu trúc.

Kim loại nặng
Không được quá 25 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong hỗn hợp *nước - ethanol khan* (15 : 85), pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.
Lấy 12 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo phương pháp 2. Pha loãng *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb*

(TT) với hỗn hợp *nước - ethanol khan* (15 : 85) để thu được dung dịch chì mẫu 2,5 phần triệu Pb. Dùng *dung dịch chì mẫu 2,5 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Từ 1,8 % đến 6,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,200 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.9), phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril (TT_1) - dung dịch đệm pH 11,0 (60 : 40).
Dung dịch đệm pH 11,0: Hòa tan 6,7 g *dikali hydrophosphat (TT)* vào 1000 ml *nước* và điều chỉnh pH đến 11,0 bằng *dung dịch kali hydroxyd 56 %*.
Dung dịch A: Acetonitril (TT_1) - dung dịch dikali hydrophosphat 0,67 % được điều chỉnh đến pH 8,0 bằng acid phosphoric (TT) (60 : 40).
Dung dịch thử: Hòa tan 53,0 mg chế phẩm trong 2 ml *acetonitril (TT_1)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng dung dịch A.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 53,0 mg azithromycin chuẩn trong 2 ml *acetonitril (TT_1)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng dung dịch A.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5,0 mg chế phẩm và 5,0 mg tạp chất chuẩn A của azithromycin trong 0,5 ml *acetonitril (TT_1)* và pha loãng thành 10,0 ml bằng dung dịch A.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *octadecylsilyl vinyl polymer dùng cho sắc ký lỏng* (5 µm).
Nhiệt độ cột: 40 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 1,5 lần thời gian lưu của azithromycin.
Thời gian lưu của azithromycin khoảng 10 min.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất A với pic của azithromycin ít nhất là 3,0.
Tính hàm lượng $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$ của azithromycin chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Kháng sinh.

Chế phẩm
Nang, viên nén, hỗn dịch uống.

NANG AZITHROMYCIN
Capsulae Azithromycini

Là nang cứng chứa azithromycin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng azithromycin, $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

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

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch đệm phosphat pH 6,0*.
Dung dịch đệm phosphat pH 6,0: Pha 6 L *dung dịch dinatri hydrophosphat 0,1 M* và điều chỉnh tới pH 6,0 ± 0,1 bằng khoảng 40 ml *acid hydrocloric (TT)*, thêm vào 600 mg *trypsin (TT)*, trộn đều.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Xác định lượng azithromycin hòa tan bằng phương pháp sắc ký lỏng với điều kiện sắc ký và pha động như mô tả ở mục Định lượng.
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng thích hợp azithromycin chuẩn hòa tan trong môi trường hòa tan và pha loãng từng bước nếu cần với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ tương đương với dung dịch thử.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng azithromycin, $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Nước
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,3 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - nước - amoniac (80 : 19,9 : 0,1).
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng azithromycin chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ azithromycin khoảng 1,0 mg trong 1 ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg azithromycin vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml pha động và lắc siêu âm 15 min. Pha loãng bằng pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng azithromycin, $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic của azithromycin thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$ trong azithromycin chuẩn.

Bảo quản
Trong vỉ nhôm hay trong chai lọ nút kín.
Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng sinh nhóm macrolid.

Hàm lượng thường dùng
250 mg; 500 mg.

BỘT PHA HỖN DỊCH AZITHROMYCIN
Pulveres Azithromycini ad suspensionum peroralum

Là thuốc bột dùng để pha hỗn dịch uống chứa azithromycin. Có thể có thêm các tá dược thích hợp tạo mùi vị, tạo màu, chất bảo quản, chất ổn định hỗn dịch....
Hỗn dịch tạo thành sau khi pha theo hướng dẫn trên nhãn thuốc phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Hỗn dịch thuốc" (Phụ lục 1.5).
Bột pha hỗn dịch phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc bột" (Phụ lục 1.7) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng azithromycin, $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột khô tơi, không bị ẩm, vón, màu sắc đồng nhất.

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

Nước
Không được quá 1,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,5 g chế phẩm.

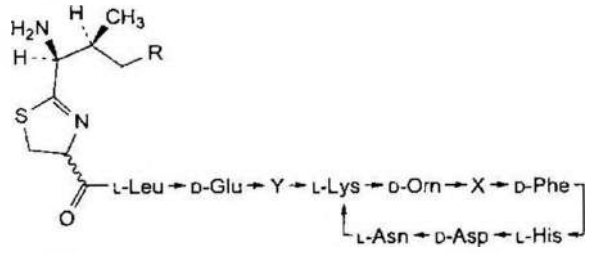
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - nước - amoniac (80 : 19,9 : 0,1).
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng azithromycin chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ azithromycin khoảng 1,0 mg trong 1 ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột thuốc (thu được từ phép thử Đồng đề khối lượng) tương ứng với khoảng 50 mg azithromycin vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml pha động và lắc siêu âm 15 min. Pha loãng bằng pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng azithromycin, $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic của azithromycin thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$ trong azithromycin chuẩn.

Bảo quản
Trong gói giấy nhôm hoặc polyethylen kín.
Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
125 mg; 250 mg.

BACITRACIN
Bacitracinum



Tên	Công thức	X	Y	R
Bacitracin A	$C_{66}H_{103}N_{17}O_{16}S$	L-Ile	L-Ile	CH_3
Bacitracin B1	$C_{65}H_{101}N_{17}O_{16}S$	L-Ile	L-Ile	H
Bacitracin B2	$C_{65}H_{101}N_{17}O_{16}S$	L-Val	L-Ile	CH_3
Bacitracin B3	$C_{65}H_{101}N_{17}O_{16}S$	L-Ile	L-Val	CH_3

Bacitracin là hỗn hợp các polypeptid kháng khuẩn được tạo ra bởi một số loài *Bacillus licheniformis* hoặc *Bacillus subtilis*, thành phần chủ yếu là bacitracin A, B_1, B_2 và B_3. Phải chứa ít nhất 60 IU/mg (tính theo chế phẩm đã làm khô).

Tính chất
Bột trắng hoặc gần như trắng. Hút ẩm. Dễ tan trong nước và trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: B, C.
Nhóm II: A, C.
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel.

Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng azithromycin, $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic của azithromycin thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$ trong azithromycin chuẩn.

Bảo quản
Trong vỉ nhôm hay trong chai lọ nút kín.
Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng sinh nhóm macrolid.

Hàm lượng thường dùng
250 mg; 500 mg.

BỘT PHA HỖN DỊCH AZITHROMYCIN
Pulveres Azithromycini ad suspensionum peroralum

Là thuốc bột dùng để pha hỗn dịch uống chứa azithromycin. Có thể có thêm các tá dược thích hợp tạo mùi vị, tạo màu, chất bảo quản, chất ổn định hỗn dịch....
Hỗn dịch tạo thành sau khi pha theo hướng dẫn trên nhãn thuốc phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Hỗn dịch thuốc" (Phụ lục 1.5).
Bột pha hỗn dịch phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc bột" (Phụ lục 1.7) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng azithromycin, $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột khô tơi, không bị ẩm, vón, màu sắc đồng nhất.

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

Nước
Không được quá 1,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,5 g chế phẩm.

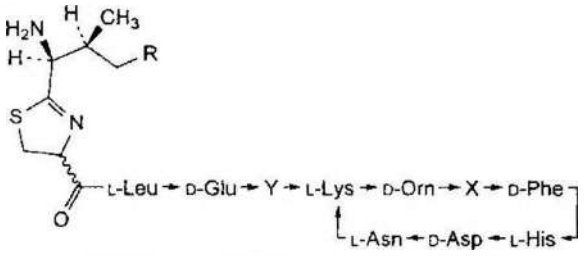
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - nước - amoniac (80 : 19,9 : 0,1).
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng azithromycin chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ azithromycin khoảng 1,0 mg trong 1 ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột thuốc (thu được từ phép thử Đồng đề khối lượng) tương ứng với khoảng 50 mg azithromycin vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml pha động và lắc siêu âm 15 min. Pha loãng bằng pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng azithromycin, $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic của azithromycin thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{38}H_{72}N_2O_{12}$ trong azithromycin chuẩn.

Bảo quản
Trong gói giấy nhôm hoặc polyethylen kín.
Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
125 mg; 250 mg.

BACITRACIN
Bacitracinum



Tên	Công thức	X	Y	R
Bacitracin A	$C_{66}H_{103}N_{17}O_{16}S$	L-Ile	L-Ile	CH_3
Bacitracin B1	$C_{65}H_{101}N_{17}O_{16}S$	L-Ile	L-Ile	H
Bacitracin B2	$C_{65}H_{101}N_{17}O_{16}S$	L-Val	L-Ile	CH_3
Bacitracin B3	$C_{65}H_{101}N_{17}O_{16}S$	L-Ile	L-Val	CH_3

Bacitracin là hỗn hợp các polypeptid kháng khuẩn được tạo ra bởi một số loài *Bacillus licheniformis* hoặc *Bacillus subtilis*, thành phần chủ yếu là bacitracin A, B_1, B_2 và B_3. Phải chứa ít nhất 60 IU/mg (tính theo chế phẩm đã làm khô).

Tính chất
Bột trắng hoặc gần như trắng. Hút ẩm. Dễ tan trong nước và trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: B, C.
Nhóm II: A, C.
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel.

Dung môi khai triển: Acid acetic băng - nước - butanol (1 : 2 : 4).
Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 1,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg bacitracin kẽm chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 1,0 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký đồ cho đến khi dung môi đi được một khoảng bằng nửa chiều dài bản mỏng. Sấy khô bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C. Phun lên bản mỏng *dung dịch ninhydrin (TT)* và sấy ở 110 °C trong 5 min. Các vết trên sắc ký đồ của dung dịch thử có vị trí, kích thước và màu sắc tương tự các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu phép thử Thành phần cấu trúc.
C. Nung 0,2 g chế phẩm. Cắn còn lại không đáng kể, nó không có màu vàng ở nhiệt độ cao. Để nguội. Hòa tan cắn trong 0,1 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*. Thêm 5 ml *nước* và 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 42 % (TT)*. Không tạo tủa trắng.

Độ trong của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)*, pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2).

pH

Từ 6,0 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).
Dùng dung dịch S để đo.

Thành phần cấu trúc

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Dùng phương pháp chuẩn hóa diện tích pic. Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.
Pha động: Lấy 520 thể tích *methanol (TT)*, 40 thể tích *acetonitril (TT)* và 300 thể tích *nước* cho vào 100 thể tích *dung dịch dikali hydrophosphat* 3,48 % đã điều chỉnh pH tới 6,0 bằng *dung dịch kali dihydrophosphat* 2,72 %.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 50,0 ml pha động.
Dung dịch đối chiếu (1): Lắc 20,0 mg bacitracin kẽm chuẩn trong *nước*. Thêm 0,2 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong 25,0 ml *dung dịch Trilon B 4,0 %* đã được điều chỉnh đến pH 7.0 bằng *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*. Đun trong nồi cách thủy đang sôi 30 min. Để nguội đến nhiệt độ phòng.
Dung dịch mẫu trắng: Dung dịch Trilon B 4,0 % đã được điều chỉnh đến pH 7,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Thể tích tiêm: 100 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của bacitracin A.
Tiến hành sắc ký mẫu trắng, dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1) và (3).
Thời gian lưu tương đối so với bacitracin A (thời gian lưu từ 15 min đến 25 min): Bacitracin B_1 khoảng 0,6; bacitracin B_3 khoảng 0,8; tạp chất E khoảng 2,5. Nếu cần, điều chỉnh thành phần pha động bằng cách thay đổi thể tích dung môi hữu cơ nhưng vẫn giữ nguyên tỷ lệ methanol và acetonitril.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tỷ số đỉnh - hõm (peak-valley) tối thiểu bằng 1,2 trong đó H_p = chiều cao trên đường nền của pic do bacitracin B_1 và H_v = chiều cao trên đường nền của điểm thấp nhất của đường cong tách pic này khỏi pic của bacitracin B_2 trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
Giới hạn: Bacitracin A tối thiểu 40,0 %; tổng bacitracin A, B_1, B_2 và B_3 tối thiểu 70,0 %.
Bỏ qua các pic tương ứng với các pic của dung môi mẫu trắng và bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn hoặc bằng diện tích pic của bacitracin A trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,5 %).

Các peptid liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Thành phần cấu trúc.
Giới hạn: Tổng diện tích tất cả các pic xuất hiện trước pic bacitracin B_1, không được lớn hơn 20,0 %.

Tạp chất E

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Thành phần cấu trúc.
Detector quang phổ đặt ở bước sóng 300 nm đối với dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của tạp chất E.
Tiến hành sắc ký dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2) và (4).
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, pic của tạp chất E không quá 1,2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (6,0 %).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g, 60 °C, phosphor pentoxyd, áp suất không quá 0,1 kPa, 3 h).

Tro sulfat
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2). Dùng 1,0 g chế phẩm.

Thử vô khuẩn
Nếu chế phẩm dự định để điều chế thuốc nhỏ mắt mà không hấp tiệt trùng khi pha chế thì phải vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

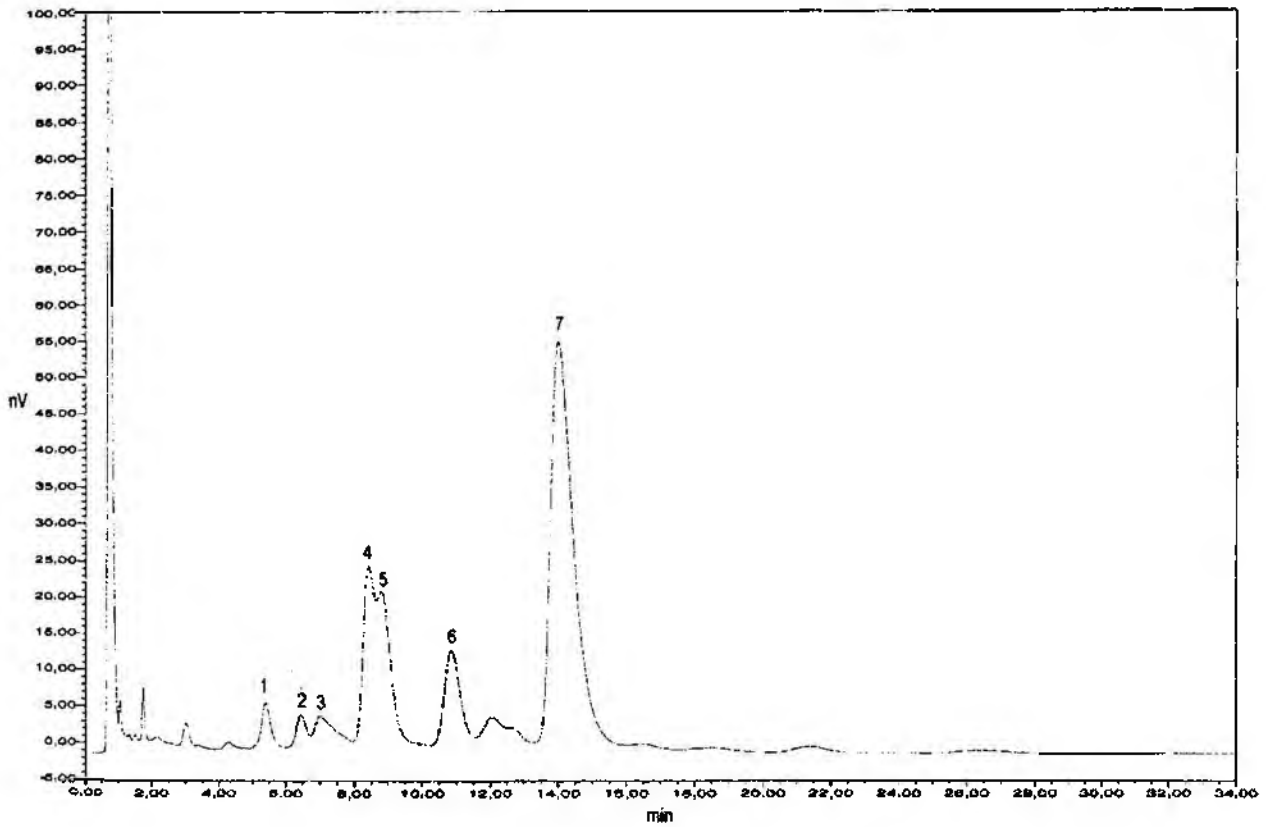
Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 0,8 EU/mg (Phụ lục 13.2) nếu định dùng chế phẩm pha thuốc nhỏ mắt mà không tiến hành loại trừ nội độc tố khi pha chế.

Định lượng
Tiến hành định lượng kháng sinh bằng phương pháp vi sinh vật (Phụ lục 13.9). Dùng bacitracin kẽm chuẩn làm chất đối chiếu.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để ở 2 °C đến 8 °C. Nếu chế phẩm vô khuẩn, bảo quản trong bao bì kín, vô khuẩn.

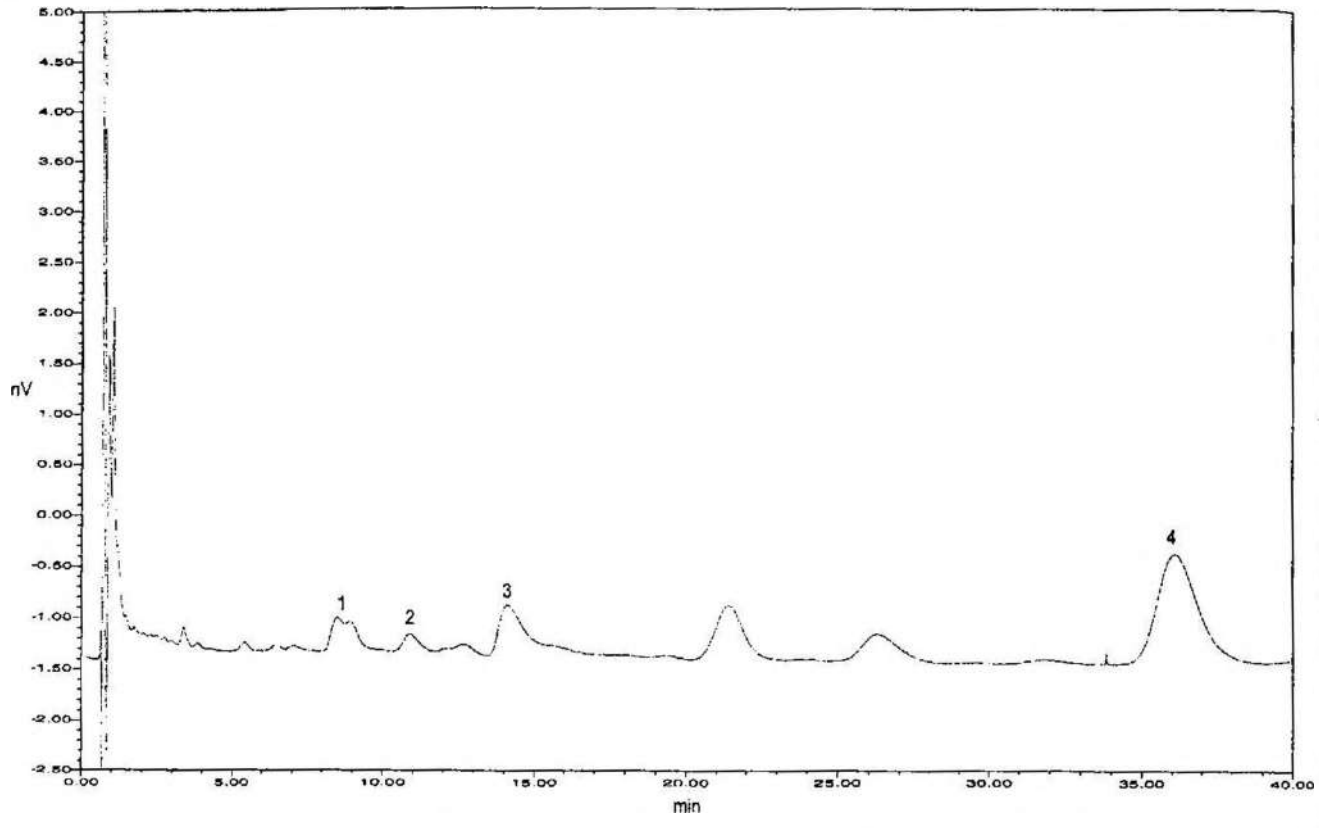
Loại thuốc
Kháng sinh.

Sau đây là các sắc ký đồ có tính chất minh họa



1. Tạp chất A
2. Tạp chất B
3. Tạp chất C
4. Bacitracin B_1
5. Bacitracin B_2
6. Bacitracin B_3
7. Bacitracin A

Sắc ký đồ của dung dịch thử trong phép thử Thành phần của bacitracin đo ở 254 nm



1. Bacitracin B_1
2. Bacitracin B_3
3. Bacitracin A
4. Tạp chất E

Sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) trong phép thử Tạp chất E đo ở 300 nm

Ghi chú:
Tạp chất A: Bacitracin C_1
Tạp chất B: Bacitracin C_2
Tạp chất C: Bacitracin C_3
Tạp chất D: Bacitracin E
Tạp chất E: Bacitracin F
Tạp chất F: Bacitracin H_1
Tạp chất G: Bacitracin H_2
Tạp chất H: Bacitracin H_3
Tạp chất I: Bacitracin I_1
Tạp chất J: Bacitracin I_2
Tạp chất K: Bacitracin I_3

BẠC NITRAT
Argenti nitras

$AgNO_3$ P.t.l: 169,9

Bạc nitrat phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % $AgNO_3$.

Tính chất
Tinh thể trong suốt không màu hoặc bột kết tinh màu trắng. Rất dễ tan trong nước, tan trong ethanol 96 %.

Định tính
A. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 5 ml *nước*. Thêm 3 giọt *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)* sẽ có tủa trắng lớn nhỏn, tủa này không tan trong *dung dịch acid nitric 16 % (TT)*, nhưng tan trong *dung dịch amoniac loãng (TT)*.

B. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 2 ml *nước*, thêm 2 ml *acid sulfuric (TT)*. Lắc đều và để nguội. Cho cẩn thận dọc theo thành ống nghiệm 1 ml *dung dịch sắt (II) sulfat 8 %*. Ở vùng tiếp giáp giữa hai lớp có một vòng màu nâu.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Lấy 2 ml dung dịch S, thêm 0,1 ml *dung dịch lục bromocresol (TT)*. Dung dịch phải có màu xanh.
Lấy 2 ml dung dịch S, thêm 0,1 ml *dung dịch đỏ phenol (TT)*. Dung dịch phải có màu vàng.

Các muối lạ
Không được quá 0,3 %.
Thêm 7,5 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* vào 30 ml dung dịch S. Lắc mạnh. Đun nóng trên nồi cách thủy 5 min. Lọc. Bốc hơi 20 ml dịch lọc trên nồi cách thủy đến khô. Sấy cắn ở 100 °C đến 105 °C tới khối lượng không đổi. Cắn thu được không quá 2 mg.

Nhôm, bismuth, đồng và chì
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 4 ml *amoniac đậm đặc (TT)* và 6 ml *nước*. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Định lượng
Hòa tan khoảng 0,300 g chế phẩm trong 50 ml *nước*. Thêm 2 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* và 1 ml *dung dịch sắt (III) amoni sulfat (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch amoni sulfocyanid 0,1 N (CĐ)* đến màu vàng hơi đỏ.
1 ml *dung dịch amoni sulfocyanid 0,1 N (CĐ)* tương đương với 16,99 mg $AgNO_3$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, phi kim loại, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Khử trùng.

Chế phẩm
Dung dịch bạc nitrat vô trùng.

BẠC VITELINAT
Argentum vitellinicum
Argyrol

Bạc vitelinat là hợp chất của bạc với vitelin (phosphoprotein), phải chứa ít nhất 20,0 % Ag.

Tính chất
Mảnh hoặc phiến màu nâu thẫm hay lục đen bóng, dễ hỏng ngoài không khí, dễ hút ẩm. Tan trong nước và trong glycerin, tan chậm và hoàn toàn trong ethanol 70 %, không tan trong ethanol 96 % và trong ether.

Định tính
A. Nung khoảng 0,5 g chế phẩm, hòa tan cắn trong 5 ml *dung dịch acid nitric 16 % (TT)*, thêm 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)* sẽ có tủa trắng lổn nhổn, tủa tan trong *amoniac (TT)*.
B. Đem đốt, chế phẩm sẽ cháy thành than và tỏa ra mùi khét của sừng hay lông cháy.
C. Dung dịch chế phẩm trong dung dịch natri clorid đẳng trương vững bền (khác với protargol).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong 10 ml *nước*. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu đỏ nâu. Nhìn xuyên qua, dung dịch có hiện tượng lưỡng sắc nhẹ. Nhìn ở ánh sáng phản chiếu, dung dịch có màu lục. Để yên 2 h, dung dịch không được có cặn.

Giới hạn kiềm
Không được quá 3,2 % biểu thị bằng natri hydroxyd.
Cân chính xác khoảng 1,000 g chế phẩm trong chén sứ, đốt rồi nung. Sau khi để nguội, chiết cắn nhiều lần, mỗi lần 10 ml *nước* sôi cho đến khi dịch chiết không còn màu hồng với *dung dịch phenolphtalein (TT)*. Gộp dịch chiết, thêm 2 giọt đến 3 giọt *dung dịch phenolphtalein (TT)*, chuẩn độ bằng *dung dịch acid sulfuric 0,1 N (CĐ)* đến khi mất màu hồng.
1 ml *dung dịch acid sulfuric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 4,0 mg NaOH.

Định lượng
Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 10 ml *nước* trong một bình nón dung tích 200 ml đến 250 ml. Thêm từ từ đến hết 10 ml *dung dịch acid sulfuric 1 N*. Để nguội. Thêm 2 g *kali permanganat (TT)* đã tán nhỏ, cho từ từ từng ít một và khuấy luôn tay. Đun sôi nhẹ hỗn hợp trong khoảng 5 min. Thêm từ từ từng giọt *dung dịch sắt (II) sulfat (TT)* cho đến khi dung dịch chuyển sang màu vàng nhạt. Thêm 50 ml *nước*, 5 ml *dung dịch acid nitric 25 % (TT)*. Để nguội. Thêm 1 ml *dung dịch sắt (III) amoni sulfat (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch amoni sulfocyanid 0,1 N (CĐ)* tới màu đỏ.
1 ml *dung dịch amoni sulfocyanid 0,1 N (CĐ)* tương đương với 10,79 mg Ag.

Bảo quản
Trong lọ thủy tinh khô, có màu, nút kín, tránh ánh sáng, tránh ẩm.

Tương kỵ
Alcaloid, adrenalin, tanin.

BARI SULFAT
Barii sulfas

$BaSO_4$ P.t.l: 233,4

Tính chất
Bột mịn, trắng hoặc gần như trắng, không lẫn sạn. Thực tế không tan trong nước và các dung môi hữu cơ, rất khó tan trong các dung dịch acid và hydroxyd kiềm.

Định tính
A. Đun sôi 0,2 g chế phẩm với 5 ml *dung dịch natri carbonat 50 %* trong 5 min. Thêm 10 ml *nước* vào hỗn hợp và lọc. Acid hóa dịch lọc bằng *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*, thêm tiếp vài giọt *dung dịch bari clorid 5 % (TT)* sẽ có tủa trắng xuất hiện.
B. Rửa cắn còn lại trên phễu ở phép thử A 3 lần, mỗi lần với một ít *nước*. Hòa cắn với 5 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và lọc, thêm vào dịch lọc 0,3 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)*, tủa trắng được tạo thành. Tủa này không tan trong *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*.

Giới hạn acid - kiềm
Đun trên cách thủy 5,0 g chế phẩm với 20 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* trong 5 min và lọc. Thêm 2 giọt *dung dịch xanh bromothymol (TT)* vào 10 ml dung dịch lọc. Dung dịch phải chuyển màu khi thêm không quá 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* hoặc 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)*.

Muối bari hòa tan
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Dung dịch S: Đun sôi 20,0 g chế phẩm với một hỗn hợp gồm 40 ml *nước cất* và 60 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)* trong 5 min, lọc và pha loãng dịch lọc đã để nguội thành 100 ml bằng *nước cất*.
Lấy 2,5 ml dung dịch 0,002 % *bari nitrat (TT)* trong hỗn hợp dung môi *ethanol 96 % - nước* (30 : 70) và 10 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)* lắc đều, sau đó để yên 5 min (Dung dịch A).
Dung dịch thử: Trộn 1 ml dung dịch A và 10 ml dung dịch S.
Dung dịch đối chiếu: Trộn 1 ml dung dịch A và 10 ml *dung dịch bari mẫu 2 phần triệu Ba (TT)*.
Sau 10 min dung dịch thử không được đục hơn dung dịch đối chiếu.

Chất tan trong acid
Không được quá 0,3 %.
Bốc hơi trên cách thủy 25 ml dung dịch S và sấy cắn ở 100 °C đến 105 °C đến khối lượng không đổi. Lượng cắn sau khi sấy khô không được nhiều hơn 15 mg.

Hợp chất sulfur dễ bị oxy hóa
Lắc 1,0 g chế phẩm với 5 ml *nước* trong 30 s và lọc. Thêm vào dịch lọc 0,1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)*, thêm 0,1 g *kali iodid (TT)* và lắc cho tan, thêm tiếp 1,0 ml *dung dịch kali iodat 0,36 %* mới pha và 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*, lắc mạnh. Dung dịch thu được phải có màu đậm hơn dung dịch đối chiếu pha song song, trong cùng điều kiện như trên nhưng không có dung dịch kali iodat.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Pha loãng 10,0 ml dung dịch S thành 20 ml bằng *nước*. Lấy 12 ml dung dịch thu được để thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng sau khi nung
Không được quá 2,0 %.
(1,0 g; 600 °C ± 50 °C đến khối lượng không đổi).

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Chất cản quang, dùng trong X quang chẩn đoán.

Chế phẩm
Bari sulfat pha hỗn dịch uống.

BARI SULFAT PHA HỖN DỊCH
Barii sulfas pro suspensio

Bari sulfat pha hỗn dịch là hỗn hợp khô của bari sulfat với chất phân tán thích hợp, có thể chứa các chất thơm và các chất bảo quản, kháng khuẩn thích hợp.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc bột" (Phụ lục 1.7) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng bari sulfat, $BaSO_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột mịn, màu trắng hay trắng ngà.

Định tính
A. Đốt, rồi nung 1 g chế phẩm tới khối lượng không đổi. Lấy 0,2 g cắn thu được, thêm 5 ml *dung dịch natri carbonat 50 %* và đun sôi trong 5 min. Thêm 10 ml *nước* vào hỗn hợp và lọc. Cắn trên phễu dùng cho phép thử B. Acid hóa dịch lọc bằng *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*, thêm tiếp vài giọt *dung dịch bari clorid 5 % (TT)* sẽ có tủa trắng xuất hiện.
B. Rửa cắn còn lại trên phễu ở phép thử A 3 lần, mỗi lần với một ít *nước*. Hòa cắn với 5 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và lọc, thêm vào dịch lọc 0,3 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)*, tủa trắng được tạo thành. Tủa này không tan trong *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*.

pH
Từ 3,5 đến 8,5 (Phụ lục 6.2).
Dùng hỗn dịch chế phẩm trong nước có nồng độ bari sulfat 60 % (kl/kl) hay thấp hơn, như nồng độ dự kiến sử dụng để thử.

Bari hòa tan
Cân chính xác một lượng chế phẩm tương ứng với 7,5 g bari sulfat, thêm 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và 90 ml *nước*, trộn đều. Đun sôi hỗn hợp trong 10 min, để nguội và lọc, rửa cắn bằng *nước*, gộp dịch lọc và dịch rửa và thêm *nước* vừa đủ 100 ml. Bốc hơi 50 ml dung dịch thu được, chú ý tránh để cháy. Thêm vào cắn 0,1 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*, 10 ml *nước* nóng, lọc. Thêm vào dịch lọc 0,5 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* và để yên 30 min, dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(1 g; 105 °C; 4 h)

Định lượng
Cân chính xác một lượng chế phẩm tương ứng với khoảng 0,6 g bari sulfat vào chén platin (bạch kim), thêm 5 g *natri carbonat khan (TT)* và 5 g *kali carbonat (TT)*, trộn đều. Nung tới 1000 °C và duy trì ở nhiệt độ này 15 min. Để nguội, dùng 150 ml *nước* chuyển cắn sang cốc dung tích

200 ml. Rửa chén với 2 ml *dung dịch acid acetic 6 M (TT)*, gộp nước rửa vào hỗn dịch trong cốc. Làm lạnh trong nước đá, gạn bỏ lớp dịch ở trên, chuyển toàn bộ cắn vào giấy lọc. Rửa cắn nhiều lần với *dung dịch natri carbonat 2 %* cho tới khi nước rửa hết sulfat, loại bỏ nước rửa. Thêm 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* vào giấy lọc, dùng nước chuyển toàn bộ cắn vào cốc chứa, thêm 5 ml *acid hydrocloric (TT)* và pha loãng thành 100 ml với *nước*. Thêm 10 ml *dung dịch amoni acetat 40 % (TT)*, 25 ml *dung dịch kali dicromat 10 %* và 10 g *ure (TT)*. Đậy cốc và để trong tủ sấy ở nhiệt độ 80 °C đến 85 °C trong 16 h. Lọc dung dịch khi còn đang nóng qua phễu xốp thủy tinh số 4. Đầu tiên rửa cắn với *dung dịch kali dicromat 0,5 %*, cuối cùng với 2 ml *nước*. Sấy cắn thu được ở 105 °C tới khối lượng không đổi.
1 g cắn tương ứng với 0,9213 g $BaSO_4$.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chất cản quang (không phối hợp) đường tiêu hóa.

BENZALKONIUM CLORID
Benzalkonii chloridum

Benzalkonium clorid là hỗn hợp các muối alkylbenzyldimethylamoni clorid; mạch alkyl có từ 8 đến 18 carbon. Chế phẩm phải chứa từ 95,0 % đến 104,0 % các muối alkylbenzyldimethylamoni clorid, tính theo $C_{22}H_{40}ClN$ (p.t.l: 354,0) đối với chế phẩm khan.

Tính chất
Bột trắng hoặc trắng hơi vàng hoặc các mảnh trắng hơi vàng như gelatin, hút ẩm, sờ giống xà phòng. Rất dễ tan trong nước và ethanol. Khi đun nóng, tạo thành một khối nóng chảy trong. Dung dịch trong nước, lắc lên, tạo rất nhiều bọt.

Định tính
A. Hòa tan 80 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng bằng *nước* thành 100 ml. Phổ hấp thụ tử ngoại của dung dịch (Phụ lục 4.1) đo từ 220 nm đến 350 nm có 3 cực đại hấp thụ ở 257 nm; 263 nm và 269 nm và một vai ở khoảng 250 nm.
B. Lấy 2 ml dung dịch S (xem Độ trong và màu sắc của dung dịch), thêm 0,1 ml *acid acetic băng (TT)* và thêm từng giọt một cho đến hết 1 ml *dung dịch natri tetraphenylborat 1 % (TT)*. Tạo tủa trắng. Lọc. Hòa tan tủa trong một hỗn hợp gồm 1 ml *aceton (TT)* và 5 ml *ethanol 96 % (TT)* bằng cách đun nóng không quá 70 °C. Thêm *nước* từng giọt một vào dung dịch đang nóng cho đến khi dung dịch hơi đục. Đun nóng nhẹ cho đến khi dung dịch trong và để nguội. Tạo tủa tinh thể trắng. Lọc. Rửa các tinh thể này 3 lần, mỗi lần 10 ml *nước* và làm khô trong chân không trên *diphosphor pentoxyd (TT)* hoặc *silica gel khan (TT)* ở nhiệt độ không quá 50 °C. Các tinh thể này nóng chảy ở 127 °C đến 133 °C (Phụ lục 6.7).
C. Lấy 5 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*, thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromophenol (TT)* và 5 ml *cloroform (TT)*. Lắc. Lớp cloroform không màu. Thêm 0,1 ml dung dịch S và lắc. Lớp cloroform có màu xanh.
D. Lấy 2 ml dung dịch S (xem Độ trong và màu sắc của dung dịch), thêm 1 ml *dung dịch acid nitric 12,5 % (TT)*. Tạo tủa trắng, thêm 5 ml *ethanol 96 % (TT)*, tủa tan. Dung dịch này cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu V_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Lấy 50 ml dung dịch S, thêm 0,1 ml *dung dịch đỏ tía bromocresol (TT)*. Lượng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* để làm thay đổi màu của chỉ thị không quá 0,1 ml.

Amin và các muối amin
Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 20 ml hỗn hợp gồm 3 thể tích *dung dịch acid hydrocloric 1 N* và 97 thể tích *methanol (TT)* bằng cách đun nóng. Thêm 100 ml *2-propanol (TT)*. Cho khí nitơ sục chậm qua dung dịch. Thêm từ từ 12,0 ml *dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,1 M (CĐ)* và ghi đường cong chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Nếu đường cong chuẩn độ có hai điểm uốn thì thể tích dung dịch chuẩn độ thêm vào giữa hai điểm uốn không được lớn hơn 5,0 ml. Nếu đường cong chuẩn độ không có điểm uốn nào, có nghĩa chế phẩm không đạt yêu cầu của phép thử. Nếu đường cong chuẩn độ có một điểm uốn, làm lại phép thử, nhưng thêm 3,0 ml *dung dịch dimethyldecylamin 2,5 % trong 2-propanol* trước khi chuẩn độ. Nếu sau khi thêm 12,0 ml dung dịch chuẩn độ mà đường cong chuẩn độ chỉ có một điểm uốn thì chế phẩm không đạt yêu cầu của phép thử.

Nước
Không được quá 10 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,300 g chế phẩm.

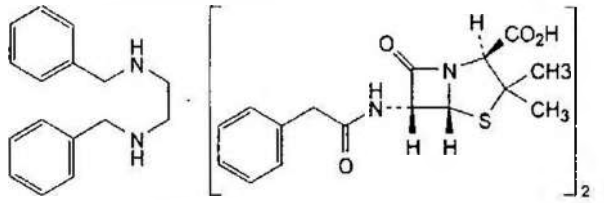
Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 2,00 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng bằng *nước* thành 100,0 ml. Lấy 25 ml dung dịch thu được cho vào một bình gạn, thêm 25 ml *cloroform (TT)*, 10 ml

dung dịch natri hydroxyd 0,1 N và 10,0 ml *dung dịch kali iodid 5,0 %* vừa mới pha. Lắc kỹ. Để yên phân lớp, bỏ lớp cloroform. Lắc lớp nước với *cloroform (TT)* 3 lần, mỗi lần 10 ml. Loại bỏ các lớp cloroform. Cho vào lớp nước 40 ml *acid hydrocloric (TT)*. Để nguội và chuẩn độ bằng *dung dịch kali iodat 0,05 M (CĐ)* cho đến khi màu nâu đậm gần như biến mất. Thêm 2 ml *cloroform (TT)* và tiếp tục vừa lắc mạnh vừa chuẩn độ cho đến khi lớp cloroform không có thay đổi màu. Tiến hành chuẩn độ mẫu trắng [hỗn hợp gồm 10,0 ml *dung dịch kali iodid 5,0 %* vừa mới pha, 20 ml *nước* và 40 ml *acid hydrocloric (TT)*].
1 ml *dung dịch kali iodat 0,05 M (CĐ)* tương đương với 35,4 mg $C_{22}H_{40}ClN$.

Loại thuốc
Tẩy rửa sát trùng.

BENZATHIN BENZYLPENICILIN
Benzathinum benzylpenicillinum



$(C_{16}H_{18}N_2O_4S)_2C_{16}H_{20}N_2$ P.t.l: 909,0

Benzathin benzylpenicilin là phức hợp theo tỷ lệ (1 : 2) của N,N'-dibenzylethan-1,2-diamin với acid (2*S*,5*R*,6*R*)-3,3-dimethyl-7-oxo-6-[(phenylacetyl)amino]-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $(C_{16}H_{18}N_2O_4S)_2C_{16}H_{20}N_2$ và từ 24,0 % đến 27,0 % *N,N'*-dibenzylethylendiamin (benzathin $C_{16}H_{20}N_2$; p.t.l. 240,3) tính theo chế phẩm khan.
Chế phẩm có chứa hàm lượng nước thay đổi và có thể chứa các tác nhân phân tán hoặc tác nhân tạo hỗn dịch.

Tính chất
Bột màu trắng.
Rất khó tan trong nước, dễ tan trong dimethylformamid và formamid, khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của benzathin benzylpenicilin chuẩn.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* đã được silan hóa.
Dung môi khai triển: *Aceton* - dung dịch *amoni acetat* 15,4 % (30 : 70), được điều chỉnh đến pH 7,0 bằng *amoniac (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong 5 ml *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 25 mg benzathin benzylpenicilin chuẩn trong 5 ml *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl các dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Làm khô bản mỏng ngoài không khí, để bản mỏng trong hơi iod đến khi các vết xuất hiện. Kiểm tra dưới ánh sáng tự nhiên, hai vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, kích thước và màu sắc với hai vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu cho hai vết tách ra rõ ràng.
C. Cho khoảng 2 mg chế phẩm vào một ống nghiệm có chiều dài 150 mm và đường kính 15 mm. Làm ẩm với 0,05 ml *nước* và thêm 2 ml *dung dịch formaldehyd trong acid sulfuric (TT)*. Lắc để trộn đều, dung dịch không màu. Đặt ống nghiệm vào trong cách thủy trong 1 min, màu nâu đỏ xuất hiện.
D. Thêm vào 0,1 g chế phẩm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, lắc đều trong 2 min. Lắc hỗn hợp trên hai lần, mỗi lần với 3 ml *ether (TT)*, lấy lớp ether. Gộp các dịch ether, bay hơi đến khô và hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol 50 % (TT)*. Thêm 5 ml *dung dịch acid picric (TT)*, đun nóng ở 90 °C trong 5 min và làm nguội từ từ. Lọc lấy tinh thể thu được, kết tinh lại trong *ethanol 25 %* có chứa 1 % *acid picric (TT)*. Nhiệt độ nóng chảy của tinh thể thu được khoảng 214 °C (Phụ lục 6.7).

Giới hạn acid - kiềm
Cân 0,50 g chế phẩm, thêm 100 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* và lắc trong 5 min. Lọc qua phễu lọc xốp. Thêm vào 20 ml dịch lọc 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)*. Dung dịch có màu xanh lá hoặc vàng. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)* để chuyển màu của chỉ thị sang màu xanh da trời không quá 0,2 ml.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Các dung dịch được chuẩn bị ngay trước khi dùng. Dùng máy lắc siêu âm để hòa tan mẫu thử (khoảng 2 min), tránh để tăng nhiệt độ của mẫu thử.
Pha động A: Hỗn hợp *dung dịch kali dihydrophosphat 3,4 %* đã được chỉnh đến pH 3,5 bằng *acid phosphoric - methanol - nước* (10 : 30 : 60).
Pha động B: Hỗn hợp *dung dịch kali dihydrophosphat 3,4 %* đã được chỉnh đến pH 3,5 bằng *acid phosphoric - nước - methanol* (10 : 30 : 60).
Dung dịch thử: Hòa tan 70,0 mg chế phẩm trong 25 ml *methanol (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng *dung dịch có chứa kali dihydrophosphat 0,68 % và dinatri hydrophosphat 0,102 %*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 70,0 mg benzathin benzylpenicilin chuẩn trong 25 ml *methanol (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng *dung dịch có chứa kali dihydrophosphat 0,68 % và dinatri hydrophosphat 0,102 %*.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml bằng pha động A.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh là *end-capped octadecylsilyl silica gel* (5 µm).
Nhiệt độ cột: 40 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 10	75	25
10 - 20	75 → 0	25 → 100
20 - 55	0	100
55 - 70	75	25

Tiến hành sắc ký dung dịch thử, các dung dịch đối chiếu.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), thời gian lưu tương đối so với benzylpenicilin của benzathin khoảng 0,3 đến 0,4 và của tạp chất C (acid benzylpeniciloic benzathid) khoảng 2,4. Điều chỉnh tỷ lệ methanol trong pha động nếu cần thiết.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:
Diện tích của pic tương ứng với tạp chất C không được lớn hơn hai lần tổng diện tích hai pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (2,0 %).
Bất kỳ pic phụ nào khác không được lớn hơn tổng diện tích hai pic chính của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %).
Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần tổng diện tích hai pic chính của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Nước
Từ 5,0 % đến 8,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,300 g chế phẩm.

Thử vô khuẩn
Nếu chế phẩm dự định dùng để sản xuất thuốc tiêm mà không tiến hành tiệt khuẩn nữa thì phải đạt phép thử về độ vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

Nội độc tố vi khuẩn
Lắc 20 mg chế phẩm với 20 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (TT)* đã được pha loãng 1 thành 100, lắc kỹ và ly tâm. Lấy dịch trong tiến hành thử (Phụ lục 13.2, phương pháp E).
Nội độc tố vi khuẩn phải ít hơn 0,13 EU/ml. Nếu chế phẩm dự định dùng để pha thuốc tiêm mà không tiến hành các biện pháp loại nội độc tố vi khuẩn thì phải đáp ứng yêu cầu này.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Các dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và cột sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Pha động: Hỗn hợp *dung dịch đệm phosphat pH 3,5 - methanol - nước* (10 : 35 : 55).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1). Dựa vào diện tích pic đáp ứng, tính toán hàm lượng của benzathin và benzathin benzylpenicilin. Hàm lượng benzathin benzylpenicilin bằng hàm lượng của benzylpenicilin nhân với hệ số 1,36.

Bảo quản
Trong đồ bao gói kín.
Nếu là nguyên liệu vô khuẩn: Trong đồ bao gói kín, vô khuẩn và tránh sự xâm nhập của vi khuẩn.

Nhãn
Phải quy định rõ thời hạn sử dụng và điều kiện bảo quản.
Ghi rõ tên và hàm lượng của tác nhân phân tán hoặc tác nhân tạo hỗn dịch.
Ghi rõ nếu nguyên liệu vô khuẩn hoặc không có nội độc tố vi khuẩn.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm penicilin.

Chế phẩm
Thuốc tiêm.

BỘT PHA TIÊM BENZATHIN BENZYLPENICILIN
Benzathini benzylpenicillini ad injectionem

Là bột vô khuẩn của benzathin benzylpenicilin đóng trong lọ thủy tinh nút kín. Chế phẩm có thể chứa một lượng thích hợp chất đệm, chất tạo hỗn dịch và các tá dược khác.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng benzathin benzylpenicilin,
$(C_{16}H_{18}N_2O_4S)_2.C_{16}H_{20}N_2$, phải từ 95,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột kết tinh trắng, hầu như không mùi.

Định tính
A. Cân khoảng 0,1 g chế phẩm, thêm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, lắc kỹ khoảng 2 min. Thêm 2 ml *ether (TT)*, lắc trong 1 min và để yên để tách lớp. Bay hơi 1 ml dịch chiết ether đến khô và hòa tan cắn thu được trong 2 ml *acid acetic băng (TT)*. Thêm 1 ml *dung dịch kali dicromat 5 % (TT)*, xuất hiện tủa vàng.
B. Cân khoảng 0,1 g chế phẩm, thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, lắc kỹ khoảng 2 min. Chiết 2 lần, mỗi lần với 3 ml *ether (TT)*. Tập hợp dịch chiết thu được, bay

hơi đến cắn. Hòa tan cắn thu được trong 1 ml *ethanol 50 % (TT)*. Thêm 5 ml *dung dịch bão hòa acid picric (TT)*, đun nóng ở 90 °C trong 5 min. Để nguội, xuất hiện các tinh thể. Kết tinh lại bằng *ethanol 25 %* có chứa một lượng nhỏ *acid picric (TT)*. Điểm chảy của tinh thể thu được ở khoảng 214 °C (Phụ lục 6.7).

C. Trong mục Định lượng, sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải cho các pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của các pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

pH

Từ 5,0 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).

Đo pH của hỗn dịch sau khi pha như hướng dẫn ghi trên nhãn.

Nước

Từ 5,0 % đến 8,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,3 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2)

Không được quá 0,13 EU trong 1 ml dung dịch được chuẩn bị như sau: Lắc 20 mg chế phẩm trong 20 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M đã được pha loãng 100 lần*. Lắc mạnh và li tâm. Sử dụng dịch trong.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Chuẩn bị dung dịch thử và các dung dịch đối chiếu ngay trước khi sử dụng. Chú ý tránh làm nóng trong quá trình chuẩn bị mẫu.

Dung dịch đệm phosphat pH 3,5: Hòa tan 34,0 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 1000 ml với *nước*. Điều chỉnh đến pH 3,5 bằng *acid phosphoric (TT)*.

Dung môi pha mẫu: Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 1,02 g *dinatri hydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*.

Pha động A: Dung dịch đệm phosphat pH 3,5 - methanol - nước (10 : 30 : 60).

Pha động B: Dung dịch đệm phosphat pH 3,5 - methanol - nước (10 : 60 : 30).

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng chế phẩm tương ứng với khoảng 70 mg benzathin benzylpenicilin vào bình định mức 50 ml, thêm 25 ml *methanol (TT)* và lắc siêu âm khoảng 2 min để hòa tan. Pha loãng vừa đủ đến vạch với dung môi pha mẫu, lắc đều.

Dung dịch đối chiếu (1): Cân chính xác khoảng 70 mg benzathin benzylpenicilin chuẩn vào bình định mức 50 ml, thêm 25 ml *methanol (TT)* và lắc siêu âm khoảng 2 min để hòa tan. Pha loãng vừa đủ đến vạch với dung môi pha mẫu, lắc đều.

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

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm)

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Chương trình pha động:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 10	75	25
10 - 20	75 → 0	25 → 100
20 - 55	0	100
55 - 70	75	25

Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu (1). Thời gian lưu tương đối so với pic benzylpenicilin: 0,3 đến 0,4 đối với benzathin, 2,4 đối với acid benzylpeniciloic benzathid. Điều chỉnh tỉ lệ methanol trong pha động nếu cần. Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2).

Yêu cầu:

Diện tích của bất cứ pic tạp chất nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử tương ứng với pic acid benzylpeniciloic benzathid không được lớn hơn 2 lần tổng diện tích của 2 pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (2,0%).

Diện tích của bất cứ pic tạp chất nào khác trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn tổng diện tích của 2 pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0%).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn hoặc bằng 0,05 lần tổng diện tích của 2 pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05%).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với điều kiện sắc ký, dung dịch đệm phosphat pH 3,5, dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1) như ở mục Tạp chất liên quan.

Pha động:Dung dịch đệm phosphat pH 3,5 - methanol - nước (10 : 35 : 55).

Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu (1). Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic benzylpenicilin thu được từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1). Từ diện tích pic thu được của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1), hàm lượng của benzylpenicilin trong benzathin benzylpenicilin chuẩn, tính hàm lượng benzylpenicilin trong chế phẩm.

Tính hàm lượng benzathin benzylpenicilin bằng cách nhân hàm lượng benzylpenicilin với 1,36.

1 mg benzathin benzylpenicilin tương ứng với 1330 đơn vị penicilin.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

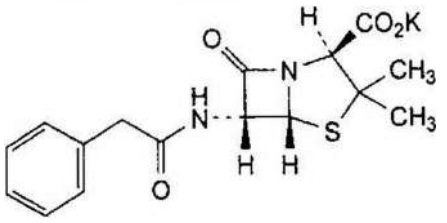
Loại thuốc

Kháng sinh nhóm penicilin.

Hàm lượng thường dùng

300 000 IU; 600 000 IU; 1200 000 IU.

BENZYLPENICILIN KALI
Benzylpenicilinum kalicum



$C_{16}H_{17}KN_2O_4S$ P.t.l: 372,5

Benzylpenicilin kali là kali (2*S*,5*R*,6*R*)-3,3-dimethyl-7-oxo-6-[(phenylacetyl)amino]-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0] heptan-2-carboxylat, được sản xuất bằng cách nuôi cấy chủng *Penicilium notatum* hoặc các chủng cùng họ hay điều chế bằng các phương pháp khác; phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{17}KN_2O_4S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng. Rất tan trong nước, thực tế không tan trong dầu béo và dầu parafin.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm 1: A, D.
Nhóm 2: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của benzylpenicilin kali chuẩn.
B. Tiến hành sắc ký lớp mỏng theo định tính các penicilin (Phụ lục 8.2).
C. Chế phẩm phải cho phản ứng B trong phép thử phản ứng màu của các penicilin và cephalosporin (Phụ lục 8.3).
D. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của kali (Phụ lục 8.1).

pH
Từ 5,5 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Góc quay cực riêng
Từ +270° đến +300°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Độ hấp thụ
Hòa tan 94,0 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Đo độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được tại các bước sóng 325 nm, 280 nm và tại cực đại hấp thụ 264 nm, pha loãng dung dịch nếu cần thiết để đo độ hấp thụ tại bước sóng 264 nm.
Độ hấp thụ tại bước sóng 325 nm và 280 nm không được lớn hơn 0,10 và tại cực đại hấp thụ 264 nm phải từ 0,80 đến 0,88 tính theo dung dịch không pha loãng (1,88 g/l).
Kiểm tra độ phân giải của máy quang phổ (Phụ lục 4.1), tỷ lệ các độ hấp thụ ít nhất phải bằng 1,7.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.
Pha động A: *Dung dịch đệm pH 3,5 - methanol - nước* (10 : 30 : 60).
Pha động B: *Dung dịch đệm pH 3,5 - nước - methanol* (10 : 40 : 50).
Dung dịch đệm pH 3,5: *Dung dịch kali dihydrophosphat 6,8 % (TT)* được điều chỉnh đến pH 3,5 bằng dung dịch có chứa 500 g/l *dung dịch acid phosphoric 2 M (TT)*.
Dung dịch thử (1): Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Hòa tan 80,0 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50,0 mg benzylpenicilin natri chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg benzylpenicilin natri chuẩn và 10,0 mg *acid phenylacetic (TT)* (tạp chất B) trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 4,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml bằng *nước*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 225 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Tiến hành sắc ký đẳng dòng với thành phần pha động như thời điểm 0 của chương trình dung môi với dung dịch đối chiếu (2) và (3). Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi ở trên với dung dịch thử (2) và với mẫu trắng là *nước*.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (tt/tt)	Pha động B (tt/tt)
0 - t_R	70	30
t_R - (t_R + 20)	70 → 0	30 → 100
(t_R + 20) - (t_R + 35)	0	100
(t_R + 35) - (t_R + 50)	70	30

t_R = Thời gian lưu của benzylpenicilin được xác định ở sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3).
Nếu phải điều chỉnh các thành phần của pha động để đạt độ phân giải như yêu cầu thì việc điều chỉnh sẽ được áp dụng tại thời điểm 0 của chương trình dung môi và trong mục Định lượng.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất B với pic của benzylpenicilin ít nhất là 6,0; điều chỉnh tỷ lệ pha động A : B nếu cần.

Giới hạn:
Tất cả các tạp chất: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-amino-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic (acid 6-aminopenicilanic).
Tạp chất B: Acid phenylacetic.
Tạp chất C: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(4-hydroxyphenyl)acetyl] amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1- azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic.
Tạp chất D: Acid (3*S*,7*R*,7a*R*)-5-benzyl-2,2-dimethyl-2,3,7,7a-tetrahydroimidazo[5,1-b]thiazol-3,7-dicarboxylic (acid penilic của benzylpenicilin).
Tạp chất E: Acid (4*S*)-2-[carboxy[(phenylacetyl)amino]methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic (các acid peniciloic của benzylpenicilin).
Tạp chất F: Acid (2*RS*,4*S*)-2-[[(phenylacetyl)amino]methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic (các acid peniloic của benzylpenicilin).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Nội độc tố vi khuẩn
Phải nhỏ hơn 0,16 EU/mg (Phụ lục 13.2; phương pháp đo màu tại điểm dừng). Nếu chế phẩm dùng để pha thuốc tiêm mà không có phương pháp hữu hiệu để loại bỏ nội độc tố vi khuẩn thì phải đạt yêu cầu này.

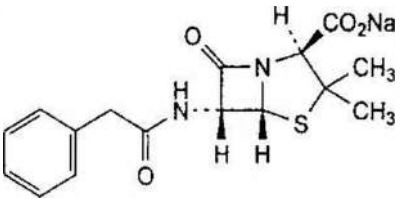
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Pha động: Dùng dòng với thành phần pha động A và B như thời điểm 0 của chương trình dung môi, có thể điều chỉnh nếu cần.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1).
Tính hàm lượng của $C_{16}H_{17}KN_2O_4S$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng của benzylpenicilin natri chuẩn.
Hàm lượng của $C_{16}H_{17}KN_2O_4S$ bằng hàm lượng benzylpenicilin natri nhân với 1,045.

Bảo quản
Trong bao bì kín. Nếu chế phẩm là vô khuẩn, bảo quản trong bao bì kín và vô khuẩn.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm penicilin.

Chế phẩm
Thuốc tiêm.

BENZYLPENICILIN NATRI
Benzylpenicilinum natricum



$C_{16}H_{17}N_2NaO_4S$ P.t.l: 356,4

Benzylpenicilin natri là natri (2*S*,5*R*,6*R*)-3,3-dimethyl-7-oxo-6-[(phenylacetyl)amino]-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0] heptan-2-carboxylat, được sản xuất bằng cách nuôi cấy chủng *Penicilium notatum* hoặc các chủng cùng họ hoặc bằng các phương pháp khác, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{17}N_2NaO_4S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng. Rất tan trong nước, thực tế không tan trong dầu béo và dầu parafin.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của benzylpenicilin natri chuẩn.
B. Tiến hành sắc ký lớp mỏng theo định tính các penicilin (Phụ lục 8.2).
C. Chế phẩm phải cho phản ứng B trong phép thử phản ứng màu của các penicilin và cephalosporin (Phụ lục 8.3).
D. Chế phẩm phải cho phản ứng của natri (Phụ lục 8.1).

pH
Từ 5,5 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Góc quay cực riêng
Từ +285° đến +310°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Độ hấp thụ
Hòa tan 90,0 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Đo độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được tại các bước sóng 325 nm, 280 nm và tại cực đại hấp thụ 264 nm, pha loãng dung dịch nếu cần thiết để đo độ hấp thụ tại 264 nm.
Độ hấp thụ tại bước sóng 325 nm và 280 nm không được lớn hơn 0,10 và tại cực đại hấp thụ 264 nm phải từ 0,80 đến 0,88 tính theo dung dịch không pha loãng (1,80 g/l).
Kiểm tra độ phân giải của máy quang phổ (Phụ lục 4.1), tỷ lệ các độ hấp thụ ít nhất phải bằng 1,7.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.

Pha động A: *Dung dịch đệm pH 3,5 - methanol - nước* (10 : 30 : 60).

Pha động B: *Dung dịch đệm pH 3,5 - nước - methanol* (10 : 40 : 50).

Dung dịch đệm pH 3,5: Dung dịch *kali dihydrophosphat* 6,8 % được điều chỉnh đến pH 3,5 bằng dung dịch có chứa 500 g/l *dung dịch acid phosphoric 2 M (TT)*.

Dung dịch thử (1): Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 80,0 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50,0 mg benzylpenicilin natri chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg benzylpenicilin natri chuẩn và 10,0 mg *acid phenylacetic (TT)* (tạp chất B) trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 4,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml bằng *nước*.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 225 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Tiến hành sắc ký đẳng dòng với thành phần pha động như thời điểm 0 của chương trình dung môi với dung dịch đối chiếu (2) và (3). Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi ở trên với dung dịch thử (2) và với mẫu trắng là *nước*.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (tt/tt)	Pha động B (tt/tt)
0 - t_R	70	30
t_R - (t_R + 20)	70 → 0	30 → 100
(t_R + 20) - (t_R + 35)	0	100
(t_R + 35) - (t_R + 50)	70	30

t_R = Thời gian lưu của benzylpenicilin được xác định ở sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3).

Nếu phải điều chỉnh các thành phần của pha động để đạt độ phân giải như yêu cầu thì việc điều chỉnh sẽ được áp dụng tại thời điểm 0 của chương trình dung môi và trong mục Định lượng.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất B với pic của benzylpenicilin ít nhất là 6,0; điều chỉnh tỷ lệ A : B trong pha động nếu cần.

Giới hạn:

Tất cả các tạp chất: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-amino-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic (acid 6-amino-penicilanic).

Tạp chất B: Acid phenylacetic.

Tạp chất C: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(4-hydroxyphenyl)acetyl] amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1- azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic.

Tạp chất D: Acid (3*S*,7*R*,7a*R*)-5-benzyl-2,2-dimethyl-2,3,7,7a-tetrahydroimidazo[5,1-b]thiazol-3,7-dicarboxylic (acid penilic của benzylpenicilin).

Tạp chất E: Acid (4*S*)-2-[carboxy[(phenylacetyl)amino]methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic (các acid peniciloic của benzylpenicilin).

Tạp chất F: Acid (2*RS*,4*S*)-2-[[(phenylacetyl)amino]methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic (các acid peniloic của benzylpenicilin).

Acid 2-ethylhexanoic

Không được quá 0,5 % (kl/kl) (Phụ lục 10.17).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 105 °C).

Nội độc tố vi khuẩn

Phải nhỏ hơn 0,16 EU/mg (Phụ lục 13.2; phương pháp đo màu tại điểm dừng). Nếu chế phẩm dùng để pha thuốc tiêm mà không có phương pháp hữu hiệu để loại bỏ nội độc tố vi khuẩn thì phải đạt yêu cầu này.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.

Pha động: Đẳng dòng với thành phần pha động A và B như thời điểm 0 của chương trình dung môi, có thể điều chỉnh nếu cần.

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

Tính hàm lượng của $C_{16}H_{17}N_2NaO_4S$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng $C_{16}H_{17}N_2NaO_4S$ trong benzylpenicilin natri chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín. Nếu chế phẩm là vô khuẩn, bảo quản trong bao bì kín và vô khuẩn.

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm penicilin.

Chế phẩm

Thuốc tiêm.

BỘT PHA TIÊM BENZYLPENICILIN
Benzylpenicillini pro injectione

Bột pha tiêm benzylpenicilin là bột kết tinh vô khuẩn của benzylpenicilin kali hoặc benzylpenicilin natri đóng trong ống thủy tinh hàn kín hoặc lọ thủy tinh nút kín. Chỉ pha với "Nước vô khuẩn để tiêm" ngay trước khi dùng.
Chế phẩm phải đạt các yêu cầu quy định trong chuyên luận chung về "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng benzylpenicilin kali, $C_{16}H_{17}N_2KO_4S$, hoặc **benzylpenicilin natri,** $C_{16}H_{17}N_2NaO_4S$, phải từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột kết tinh trắng, vị hơi đắng, hơi có mùi đặc biệt.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải tương ứng với phổ hồng ngoại của benzylpenicilin kali chuẩn hoặc benzylpenicilin natri chuẩn.
B. Chế phẩm có phản ứng đặc trưng của ion kali hoặc natri (Phụ lục 8.1) và phản ứng của benzylpenicilin (Phụ lục 8.2).

Giới hạn acid - kiềm
Dung dịch 10 % chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* có pH từ 5,5 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).

Độ trong và màu sắc dung dịch
Thêm *nước* vào 5 lọ hoặc ống tiêm (tùy theo cách đóng gói) để tạo dung dịch chứa 60 mg/ml (theo lượng ghi trên nhãn), dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
Dùng 1 g chế phẩm, sấy ở 100 °C đến khối lượng không đổi.

Chất gây sốt
Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu về thử chất gây sốt (Phụ lục 13.4).
Tiêm 1 ml dung dịch có chứa 1,5 mg chế phẩm pha trong *nước để pha thuốc tiêm* cho 1 kg thỏ thí nghiệm.

Thử vô khuẩn
Chế phẩm phải vô khuẩn (Phụ lục 13.7).
Dùng 120 mg chế phẩm, làm mất hoạt tính bằng penicilinase rồi thử theo phương pháp màng lọc.

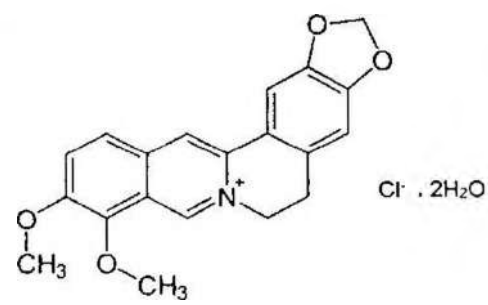
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Hỗn hợp 10 thể tích *dung dịch kali dihydrophosphat 6,8 %* đã được điều chỉnh tới pH 3,5 với *dung dịch acid phosphoric 50 % (TT)*, 30 thể tích *methanol (TT)* và 60 thể tích *nước*.
Pha động B: Hỗn hợp 10 thể tích *dung dịch kali dihydrophosphat 6,8 %* đã được điều chỉnh tới pH 3,5 với *dung dịch acid phosphoric 50 % (TT)*, 50 thể tích *methanol (TT)* và 40 thể tích *nước*.
Pha động: Hỗn hợp pha động A và pha động B (70 : 30).
Dung dịch chuẩn: Dung dịch chứa benzylpenicilin natri chuẩn hoặc benzylpenicilin kali chuẩn, nồng độ 0,10 % trong *nước*.
Dung dịch phân giải: Chứa benzylpenicilin natri chuẩn (hoặc benzylpenicilin kali chuẩn) 0,020 % và acid phenylacetic chuẩn 0,020 % trong *nước*.
Dung dịch thử: Cân nhanh thuốc trong từng đơn vị chế phẩm của 10 đơn vị chế phẩm (lọ), trộn đều. Cân chính xác một lượng chế phẩm tương ứng khoảng 80 mg benzylpenicilin pha trong 20,0 ml *nước*, lọc. Pha loãng 1 thể tích dịch lọc với *nước* thành 4 thể tích.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) chứa pha tĩnh C (5 µm) (Hypersil ODS là thích hợp).
Detector hấp thụ tử ngoại đặt ở bước sóng 225 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch phân giải, độ phân giải giữa 2 pic chính thu được phải không nhỏ hơn 6,0. Nếu cần, điều chỉnh tỷ lệ của pha động A và pha động B để đạt yêu cầu trên.
Tiêm riêng biệt dung dịch thử và dung dịch chuẩn.
Tính toán hàm lượng benzylpenicilin trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic chính thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng muối benzylpenicilin để pha dung dịch chuẩn.
Hoạt lực lý thuyết của 1 mg benzylpenicilin natri là 1670 đơn vị.
Hoạt lực lý thuyết của 1 mg benzylpenicilin kali là 1600 đơn vị.

Bảo quản
Để ở nơi khô mát, nhiệt độ không quá 30 °C.

Loại thuốc
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
0,125 g; 0,312 g; 0,625 g hoặc 200 000 đơn vị; 500 000 đơn vị và 1 000 000 đơn vị.

BERBERIN CLORID
Berberini chloridum



$C_{20}H_{18}NO_4Cl.2H_2O$ P.t.l: 407,9

Berberin clorid là 9,10-dimethoxy-5,6-dihydro[1,3]dioxolo [4,5-*g*]isoquino[3,2-*a*]isoquinolin-7-ium clorid dihydrat, phải chứa từ 95,0 % đến 102,0 % $C_{20}H_{18}NO_4Cl$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Tinh thể hay bột kết tinh màu vàng, không mùi, có vị rất đắng. Tan trong nước nóng, khó tan trong ethanol và nước, rất khó tan trong cloroform, không tan trong ether.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của berberin clorid chuẩn.

B. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 20 ml *nước* bằng cách đun nóng. Thêm 0,5 ml *acid nitric đậm đặc (TT)*, làm lạnh, để yên 10 min, lọc. Lấy 3 ml dịch lọc và thêm 1 ml *dung dịch bạc nitrat 2 % (TT)*, sẽ xuất hiện tủa trắng. Tủa này không tan trong *acid nitric loãng (TT)*, nhưng tan được trong *dung dịch amoniac (TT)* quá thừa.

C. Hòa tan 5 mg chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)*. Lắc đều, thêm một ít bột *cloramin B (TT)* sẽ có màu đỏ anh đào.

Giới hạn acid

Lắc 0,10 g chế phẩm với 30 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, lọc. Thêm vào dịch lọc 2 giọt *dung dịch phenolphtalein (TT)* và 0,10 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*, màu vàng phải chuyển sang vàng cam rồi đến màu đỏ.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Định lượng.

Dung dịch thử: Hòa tan chính xác 0,010 g chế phẩm trong 100,0 ml pha động.

Dung dịch đối chiếu: Hút chính xác 4 ml dung dịch thử pha loãng với pha động thành 100,0 ml.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu, điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic berberin thu được từ sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu bằng khoảng 10 % thang đo.

Tiến hành sắc ký dung dịch thử với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của berberin.

Yêu cầu: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, tổng diện tích các pic phụ không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Sulfat

Không được quá 0,048 %.

Dung dịch thử: Lắc 1,0 g chế phẩm với 48 ml *nước* và 2 ml *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)* trong 1 min, lọc. Bỏ 5 ml dịch lọc đầu, lấy 25 ml dịch lọc tiếp theo và thêm *nước* đến 50 ml trong ống Nessler.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,50 ml *dung dịch acid sulfuric 0,01 N (TT)*, thêm 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)*, thêm 5 giọt đến 10 giọt *dung dịch xanh bromophenol 0,1 % trong ethanol 50 %* và thêm *nước* đến 50 ml trong ống Nessler.

Cho vào mỗi ống 2 ml *dung dịch bari clorid 0,5 M (TT)*, lắc kỹ, để yên 10 min. So sánh độ đục tạo thành trong ống thử và ống đối chiếu, dung dịch thử không được đục hơn dung dịch đối chiếu.

Kim loại nặng

Không được quá 30 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 3. Dùng 3 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Từ 8 % đến 12 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,1 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,10 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 3,4 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 1,7 g *natri lauryl sulfat (TT)* trong hỗn hợp *nước - acetonitril* (1 : 1) và pha loãng thành 1000 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,010 g chế phẩm, hòa tan trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 0,010 g berberin clorid chuẩn, hòa tan trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 1 mg berberin clorid chuẩn và 1 mg palmatin clorid chuẩn trong 10 ml pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 345 nm.

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Tốc độ dòng: Điều chỉnh tốc độ dòng sao cho thời gian lưu của berberin khoảng 10 min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký dung dịch phân giải, thứ tự rửa giải lần lượt là pic palmatin và pic berberin, độ phân giải giữa hai pic không nhỏ hơn 1,5. Tiêm riêng biệt 5 lần dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic berberin không lớn hơn 1,5 %. Tiến hành sắc ký các dung dịch thử và dung dịch chuẩn.

Tính hàm lượng berberin clorid, $C_{20}H_{18}NO_4Cl$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{20}H_{18}NO_4Cl$ trong berberin clorid chuẩn.

Bảo quản
Đóng gói kín, để chỗ thoáng mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng khuẩn.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN BERBERIN CLORID
Tabellae Berberini chloridi

Là viên nén hay viên bao phim chứa berberin clorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng berberin clorid, $C_{20}H_{18}ClNO_4.2H_2O$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 100 mg berberin clorid, thêm 10 ml *nước*, đun nóng nhẹ, lắc kỹ, lọc. Lấy 5 ml dịch lọc, thêm 2 giọt *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, xuất hiện màu đỏ cam. Để nguội, thêm 4 giọt *aceton (TT)*, dung dịch vẩn đục ngay lập tức, để yên, xuất hiện tủa vàng. Gạn lớp dịch trong ở trên, thêm từng giọt *aceton (TT)* cho tới khi alcaloid kết tủa hoàn toàn, lọc. Dịch lọc cho phản ứng A của ion clorid (Phụ lục 8.1).
Lấy 0,5 ml dịch lọc, thêm 2 ml *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)*, lắc đều. Thêm một ít *cloramin B (TT)*, xuất hiện màu đỏ anh đào.
B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic berberin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 1000 ml *nước*.
Tốc độ quay: 120 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Pha loãng dịch lọc bằng *nước* nếu cần. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 263 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *nước*. Tính hàm lượng berberin clorid ($C_{20}H_{18}ClNO_4.2H_2O$) hòa tan từ mỗi viên theo A (1 %, 1 cm), lấy 724 là giá trị A (1 %, 1 cm) của berberin clorid ở bước sóng 263 nm.
Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng berberin clorid, $C_{20}H_{18}ClNO_4.2H_2O$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

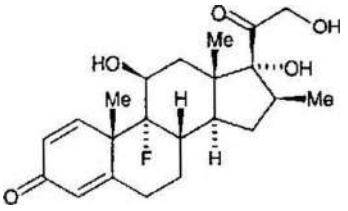
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 3,4 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 1,7 g *natri laurylsulfat (TT)* trong hỗn hợp *nước - acetonitril* (1 : 1) và pha loãng thành 1000 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương đương với khoảng 10 mg berberin clorid, thêm 70 ml pha động, lắc siêu âm trong 15 min, để nguội, thêm pha động vừa đủ 100,0 ml.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 0,010 g berberin clorid chuẩn, hòa tan trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch phân giải: Hòa tan 1 mg berberin clorid chuẩn và 1 mg palmatin clorid chuẩn trong 10 ml pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột thép không gỉ (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 345 nm.
Nhiệt độ cột: 40 °C.
Tốc độ dòng: Điều chỉnh tốc độ dòng sao cho thời gian lưu của berberin khoảng 10 min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký dung dịch phân giải, thứ tự rửa giải lần lượt là pic palmatin và pic berberin, độ phân giải giữa hai pic không nhỏ hơn 1,5.
Tiêm riêng biệt 5 lần dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic berberin không lớn hơn 1,5 %.
Tiến hành sắc ký các dung dịch thử và dung dịch chuẩn.
Tính hàm lượng berberin clorid, $C_{20}H_{18}NO_4Cl.2H_2O$, trong viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{20}H_{18}NO_4Cl.2H_2O$ trong berberin clorid chuẩn.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng khuẩn.

Hàm lượng thường dùng
10 mg; 50 mg; 100 mg.

BETAMETHASON
Betamethasonium



$C_{22}H_{29}FO_5$ P.t.l: 392,5

Betamethason là 9-fluoro-11β,17,21-trihydroxy-16β-methylpregna-1,4-dien-3,20-dion, phải chứa từ 97,0 % đến 103,0 % $C_{22}H_{29}FO_5$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hay gần như trắng.
Thực tế không tan trong nước, ít tan trong ethanol, rất ít tan trong methylen clorid.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, C.
Nhóm II: B, C, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của betamethason chuẩn. Nếu phổ hồng ngoại của mẫu thử và mẫu chuẩn ở trạng thái rắn khác nhau, thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và betamethason chuẩn trong một lượng tối thiểu *methylen clorid (TT)*, bốc hơi đến khô trên nồi cách thủy. Ghi phổ mới của các cắn thu được.
B. Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong *ethanol (TT* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Lấy 2,0 ml dung dịch cho vào ống nghiệm có nút mài, thêm 10,0 ml *dung dịch phenylhydrazin trong acid sulfuric (TT)*, trộn đều và đun trong cách thủy ở 60 °C trong 20 min. Làm nguội ngay. Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được đo ở bước sóng 419 nm không được lớn hơn 0,10.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Butanol đã bão hòa với nước - toluen - ether (5 : 10 : 85).
Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (1 : 9) và pha loãng thành 10 ml với cùng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg betamethason chuẩn trong hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (1 : 9) và pha loãng thành 20 ml với cùng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg dexamethason chuẩn trong dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành:
Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương tự về vị trí, kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT)*. Sấy bản mỏng ở 120 °C trong 10 min hoặc tới khi các vết xuất hiện. Để nguội. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày và ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính thu được trong sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc trong ánh sáng ban ngày, huỳnh quang trong đèn tử ngoại ở bước sóng 365 nm và kích thước với vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết, tuy nhiên có thể chưa tách hoàn toàn.
D. Trộn khoảng 5 mg chế phẩm với 45 mg *magnesi oxyd nặng (TT)* và nung trong chén nung đến khi cắn hầu như trắng hoàn toàn (thường ít hơn 5 min). Để nguội, thêm 1 ml *nước*, 0,05 ml *dung dịch phenolphtalein* (TT_1) và khoảng 1 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* để làm cho dung dịch mất màu. Lọc. Thêm 1,0 ml dịch lọc vào một hỗn hợp mới pha gồm 0,1 ml *dung dịch alizarin S (TT)* và 0,1 ml *dung dịch zirconyl nitrat (TT)*. Trộn đều, để yên 5 min và so sánh màu của dung dịch thu được với màu của mẫu trắng được chuẩn bị trong cùng điều kiện. Dung dịch thử có màu vàng và dung dịch mẫu trắng có màu đỏ.
E. Thêm khoảng 2 mg chế phẩm vào 2 ml *acid sulfuric (TT)* và lắc cho tan. Trong vòng 5 min, màu nâu đỏ xuất hiện. Thêm dung dịch trên vào 10 ml *nước* và trộn đều. Màu biến mất và dung dịch vẫn trong.

Góc quay cực riêng
Hòa tan 0,125 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Góc quay cực riêng phải từ +118° đến +126°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Trong một bình định mức dung tích 1000 ml trộn 250 ml *acetonitril (TT)* với 700 ml *nước* và để cân bằng, điều chỉnh thể tích đến 1000 ml bằng *nước* và lại trộn đều.
Pha động B: Acetonitril (TT).
Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong một hỗn hợp đồng thể tích *acetonitril (TT)* và *methanol (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2 mg betamethason chuẩn và 2 mg methylprednisolon chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 100,0 ml với cùng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với pha động A.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột: 45 °C.
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 2,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Ghi chú
0	100	0	Đẳng dòng
15	100	0	Bắt đầu gradient
40	0	100	Kết thúc chương trình sắc ký, quay về 100 % pha động A
41	100	0	Bắt đầu cân bằng cột với pha động A
46 = 0	100	0	Kết thúc cân bằng cột, bắt đầu chương trình sắc ký với mẫu tiếp theo

Cân bằng cột với pha động B trong thời gian ít nhất là 30 min và sau đó với pha động A trong 5 min. Đối với các lần sắc ký tiếp theo, dùng các điều kiện đã mô tả từ 40 min đến 46 min.
Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống để chiều cao của pic chính trong sắc ký đồ thu được với dung dịch đối chiếu (2) ít nhất bằng 50 % thang đo.
Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu (1), thời gian lưu của methylprednisolon khoảng 11,5 min và betamethason khoảng 12,5 min. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa các pic tương ứng với methylprednisolon và betamethason không nhỏ hơn 1,5; nếu cần điều chỉnh nồng độ acetonitril trong pha động A.
Tiêm riêng biệt mẫu trắng là hỗn hợp đồng thể tích *acetonitril (TT)* và *methanol (TT)*, dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2).
Giới hạn: Trong sắc ký đồ thu được của dung dịch thử:
Diện tích của bất kỳ pic phụ nào, ngoài pic chính không được lớn hơn diện tích pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %) và chỉ được phép có 1 pic có diện tích lớn hơn một nửa diện tích pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).
Tổng diện tích các pic, ngoài pic chính không được lớn hơn hai lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (2,0 %).
Bỏ qua pic tương ứng với mẫu trắng và pic nào có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(0,500 g, 100 °C đến 105 °C).

Định lượng
Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml với *ethanol 96 % (TT)*. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 238,5 nm. Tính hàm lượng $C_{22}H_{29}FO_5$, lấy giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 238,5 nm là 395.

Bảo quản
Trong lọ nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Corticosteroid.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN BETAMETHASON
Tabellae Betamethasoni

Là viên nén chứa betamethason.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng betamethason, $C_{22}H_{29}FO_5$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lắc một lượng bột viên đã nghiền mịn tương đương khoảng 25 mg betamethason với 150 ml *dicloromethan (TT)* trong 30 min, lọc, rửa dịch lọc bằng 20 ml *nước*, cho dịch lọc qua phễu chứa *natri sulfat khan (TT)*. Bốc hơi dịch lọc đến khô và sấy khô cắn thu được ở 105 °C trong 2 h. Phổ hấp thụ hồng ngoại của cắn (Phụ lục 4.2) phải tương ứng với phổ hấp thụ hồng ngoại của betamethason chuẩn.
B. Trong phần Định lượng, sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (1) phải có một pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic betamethason trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3), tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Pha động, điều kiện sắc ký và cách tiến hành thực hiện như mô tả ở phần Định lượng.
Dung dịch chuẩn: Là dung dịch có chứa betamethason chuẩn 0,0025 % và hydrocortison 0,002 % (chất chuẩn nội) pha trong *methanol 50 % (TT)*.
Dung dịch thử: Nghiền một viên chế phẩm, thêm 20,0 ml dung dịch hydrocortison 0,002 % pha trong *methanol 50 % (TT)*, lắc kỹ trong 10 min, lọc.

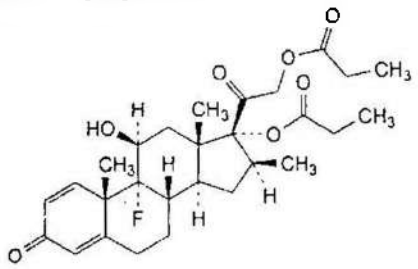
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Pha động: Nước - methanol (53 : 47).
Dung dịch chuẩn: Là dung dịch có chứa betamethason chuẩn 0,0125 % và hydrocortison 0,010 % (chất chuẩn nội) pha trong *methanol 50 % (TT)*.
Dung dịch chuẩn nội: Hydrocortison 0,010 % pha trong *methanol 50 % (TT)*.
Dung dịch thử (1): Cân 20 viên xác định khối lượng trung bình của viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 2,5 mg betamethason, lắc kỹ trong 10 min với *methanol 50 % (TT)* rồi thêm *methanol 50 % (TT)* vừa đủ 20 ml, lọc.
Dung dịch thử (2): Làm như dung dịch thử (1) nhưng thay dung môi *methanol 50 % (TT)* bằng *dung dịch chuẩn nội*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (20 cm × 5 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 - 10 µm) (Spherisorb ODS 1 là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 238 nm.
Tốc độ dòng: 1,4 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng betamethason, $C_{22}H_{29}FO_5$, trong viên dựa vào tỷ số các đáp ứng (diện tích hoặc chiều cao) của các pic betamethason và hydrocortison thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử (2) và hàm lượng $C_{22}H_{29}FO_5$ trong betamethason chuẩn.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng, ở nhiệt độ không quá 30 °C.

Loại thuốc
Corticosteroid.

Hàm lượng thường dùng
0,5 mg và 0,6 mg.

BETAMETHASON DIPROPIONAT
Betamethasoni dipropionas



$C_{28}H_{37}FO_7$ P.t.l: 504,6

Betamethason dipropionat là 9-fluoro-11β-hydroxy-16β-methyl-3,20-dioxopregna-1,4-dien-17,21-diyl dipropionat, phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % $C_{28}H_{37}FO_7$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, thực tế không tan trong nước, dễ tan trong aceton và trong methylen clorid, hơi tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của betamethason dipropionat chuẩn.
B. Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong *ethanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Lấy 2,0 ml dung dịch này cho vào một ống thủy tinh có nút mài, thêm 10,0 ml *dung dịch phenylhydrazin - acid sulfuric (TT)*. Trộn đều và đun nóng trong cách thủy ở 60 °C trong 20 min. Làm nguội ngay. Độ hấp thụ của dung dịch thu được đo ở bước sóng 419 nm (Phụ lục 4.1) không được lớn hơn 0,10.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel F_{254}.
Dung môi khai triển: Trộn hỗn hợp gồm 1,2 thể tích *nước* và 8 thể tích *methanol (TT)* với hỗn hợp gồm 15 thể tích *ether (TT)* và 77 thể tích *methylen clorid (TT)*.
Dung dịch thử (1): Hòa tan 25 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* bằng cách đun nóng nhẹ và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi (dung dịch A). Pha loãng 2 ml dung dịch A thành 10 ml bằng *methylen clorid (TT)*.
Dung dịch thử (2): Lấy 2 ml dung dịch A cho vào một ống nghiệm dung tích 15 ml có nút mài hoặc có nắp đậy bằng polytetrafluoroethylen. Thêm 10 ml *dung dịch bão hòa kali hydrocarbonat trong methanol (TT)*, sục ngay khí nitơ qua dung dịch trong 5 min. Đậy ống. Đun nóng trong cách thủy ở 45 °C trong 2 h, tránh ánh sáng. Để nguội.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg betamethason dipropionat chuẩn trong *methanol (TT)* bằng cách đun nóng nhẹ và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi (dung dịch B). Pha loãng 2 ml dung dịch B thành 10 ml bằng *methylen clorid (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Lấy 2 ml dung dịch B cho vào một ống nghiệm dung tích 15 ml có nút mài hoặc có nắp đậy bằng polytetrafluoroethylen. Thêm 10 ml *dung dịch bão hòa kali hydrocarbonat trong methanol (TT)* và cho sục ngay khí nitrogen qua dung dịch trong 5 min. Đậy ống nghiệm. Đun nóng trong cách thủy ở 45 °C, tránh ánh sáng, trong 2 h. Để nguội.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng mỗi dung dịch 5 µl. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và kiểm tra dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của mỗi dung dịch thử phải có vị trí và kích thước tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu tương ứng.
Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT)*. Sấy ở 120 °C trong 10 min hoặc cho đến khi xuất hiện các vết. Để nguội. Kiểm tra sắc ký đồ dưới ánh sáng ban ngày và dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của mỗi dung dịch thử có vị trí, màu sắc (khi quan sát dưới ánh sáng ban ngày) hoặc có huỳnh quang (dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm) và kích thước giống với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu tương ứng.
Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (2) có giá trị R_f thấp hơn hẳn giá trị R_f của các vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (1).
D. Lấy 2 mg chế phẩm cho vào 2 ml *acid sulfuric (TT)*, lắc cho tan. Trong vòng 5 min, xuất hiện màu nâu đỏ. Đổ dung dịch này vào 10 ml *nước* và trộn đều. Màu biến mất, dung dịch trong.
E. Trộn 5 mg chế phẩm với 45 mg *magnesi oxyd nặng (TT)* và nung trong chén cho đến khi tạo cặn gần như trắng (thường dưới 5 min). Để nguội, thêm 1 ml *nước*; 0,05 ml *dung dịch phenolphtalein (TT_1)* và khoảng 1 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* để làm cho dung dịch mất màu. Lọc. Lấy 1,0 ml dịch lọc cho vào một hỗn hợp vừa mới pha gồm 0,1 ml *dung dịch alizarin S (TT)* và 0,1 ml *dung dịch zirconyl nitrat (TT)*. Trộn đều, để yên trong 5 min. So sánh màu của dung dịch thu được với màu của mẫu trắng được tiến hành trong cùng điều kiện. Dung dịch thử có màu vàng, mẫu trắng có màu đỏ.

Góc quay cực riêng
Từ +84° đến +88°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *ethanol (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Trộn cẩn thận 35 ml *nước* với 56 ml *acetonitril (TT)*. Để yên cho hỗn hợp cân bằng. Thêm *nước* đủ 100 ml và trộn đều.

Dung dịch thử (1): Hòa tan 60,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg betamethason dipropionat chuẩn để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa các tạp chất B, C, D, E và G) trong pha động và pha loãng thành 2,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 60 mg betamethason dipropionat chuẩn trong pha động và pha loãng thành 25,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 5 mg betamethason dipropionat chuẩn dùng để định tính pic (chứa tạp chất H) trong pha động và pha loãng thành 2,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (10 cm × 2,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (2,5 µm).

Nhiệt độ cột: 20 °C ± 2 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 0,2 ml/min.

Thể tích tiêm: 5 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của betamethason dipropionat.

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo betamethason dipropionat chuẩn để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) để xác định pic của các tạp chất B, C, D, E và G. Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo betamethason dipropionat chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của tạp chất H.

Thời gian lưu tương đối so với betamethason dipropionat (thời gian lưu khoảng 10 min): Tạp chất B khoảng 0,4; tạp chất C khoảng 0,5; tạp chất D khoảng 0,7; tạp chất E khoảng 1,2; tạp chất H khoảng 1,7; tạp chất G khoảng 2,1.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), tỷ số đỉnh - hõm (H_p/H_v) ít nhất là 4,0; trong đó H_p là chiều cao đỉnh pic tạp chất E so với đường nền và H_v là chiều cao tính từ đường nền lên đến đáy hõm giữa pic tạp chất E và pic betamethason dipropionat.

Giới hạn:

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng: Tạp chất G là 1,3; tạp chất H là 1,4.

Tạp chất C: Diện tích pic tạp chất C không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).

Tạp chất B và H: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chuẩn, nếu cần, không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %).

Tạp chất D, E, G: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chuẩn, nếu cần, không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).

Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 10 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: 9-Fluoro-11β,17,21-trihydroxy-16β-methylpregna-1,4-dien-3,20-dion (betamethason).

Tạp chất B: 9-Fluoro-11β,21-dihydroxy-16β-methyl-3,20-dioxo-pregna-1,4-dien-17-yl propanoat (betamethason 17-propionat).

Tạp chất C: 9-Fluoro-11β,17-dihydroxy-16β-methyl-3,20-dioxo-pregna-1,4-dien-21-yl propanoat (betamethason 21-propionat).

Tạp chất D: 21-(Acetyloxy)-9-fluoro-11β-hydroxy-16β-methyl-3,20-dioxopregna-1,4-dien-17-yl propanoat (betamethason 21-acetat 17-propionat).

Tạp chất E: 9-Cloro-11β-hydroxy-16β-methyl-3,20 dioxopregna-1,4-dien-17,21-diyl dipropanoat (beclometason dipropionat).

Tạp chất F: 9,11β-Epoxy-16β-methyl-3,20-dioxo-9β-pregna-1,4-dien-17,21-diyl dipropanoat (9β,11β-epoxybetamethason dipropionat).

Tạp chất G: 9-Fluoro-16β-methyl-3,20-dioxopregna-1,4-dien-11β,17,21-triyl tripropanoat (betamethason tripropionat).

Tạp chất H: 6α-Bromo-9-fluoro-11β-hydroxy-16β-methyl- 3,20-dioxopregna-1,4-dien-17,21-diyl dipropanoat (6α-bromo-betamethason dipropionat).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.

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

Tính hàm lượng của $C_{28}H_{37}FO_7$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (3) và hàm lượng của $C_{28}H_{37}FO_7$ trong betamethason dipropionat chuẩn.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

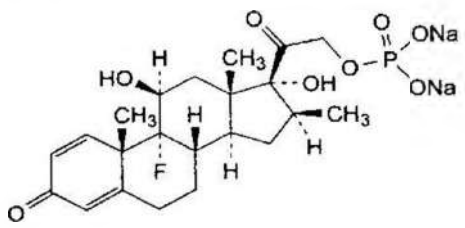
Corticosteroid.

Chế phẩm

Viên nén, kem thuốc.

BETAMETHASON NATRI PHOSPHAT

Betamethasoni natrii phosphas



$C_{22}H_{28}FNa_2O_8P$ P.t.l.: 516,4

Betamethason natri phosphat là 9-fluoro-11β,17-dihydroxy-16β-methyl-3,20-dioxopregna-1,4-dien-21-yl dinatri phosphat, phải chứa từ 96,0 % đến 103,0 % $C_{22}H_{28}FNa_2O_8P$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột trắng hay gần như trắng, rất hút ẩm.

Dễ tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong methylen clorid.

Định tính

Có thể chọn một trong 2 nhóm định tính sau:

Nhóm I: B, C

Nhóm II: A, C, D, E, F.

A. Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong 5 ml *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với *ethanol (TT)*. Lấy 2,0 ml dung dịch này cho vào ống nghiệm có nút mài, thêm 10,0 ml *dung dịch phenylhydrazin trong acid sulfuric (TT)*, trộn đều và đun trong cách thủy ở 60 °C trong 20 min. Làm nguội ngay. Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được đo ở bước sóng cực đại 450 nm không được lớn hơn 0,10.

B. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của betamethason natri phosphat chuẩn. Nếu phổ hấp thụ hồng ngoại của mẫu thử và mẫu chuẩn ở trạng thái rắn khác nhau, thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và betamethason natri phosphat chuẩn trong một lượng tối thiểu *ethanol 96 % (TT)*, bốc hơi đến khô trên nồi cách thủy. Ghi phổ hấp thụ hồng ngoại của các cắn thu được.

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

Bản mỏng: Silica gel F_{254}.

Dung môi khai triển: Acid acetic băng - nước - butanol (20 : 20 : 60).

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg betamethason natri phosphat chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg prednisolon natri phosphat chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5 ml dung dịch này thành 10 ml với dung dịch đối chiếu (1).

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải tương tự về vị trí và kích thước so với vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1). Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT)*. Sấy bản mỏng ở 120 °C trong 10 min hoặc tới khi các vết xuất hiện. Để nguội. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày và ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải tương tự về vị trí, màu sắc dưới ánh sáng ban ngày, huỳnh quang trong đèn tử ngoại ở bước sóng 365 nm và kích thước so với vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết, tuy nhiên có thể chưa tách hoàn toàn.

D. Cho khoảng 2 mg chế phẩm vào 2 ml *acid sulfuric (TT)* và lắc cho tan. Trong vòng 5 min, màu nâu đỏ đậm xuất hiện. Thêm dung dịch trên vào 10 ml *nước* và trộn đều. Màu biến mất và dung dịch vẫn trong.

E. Trộn khoảng 5 mg chế phẩm với 45 mg *magnesi oxyd nặng (TT)* và nung trong chén nung đến khi cắn hầu như trắng hoàn toàn (thường ít hơn 5 min). Để nguội, thêm 1 ml *nước*, 0,05 ml *dung dịch phenolphtalein (TT_1)* và khoảng 1 ml *acid hydrocloric loãng (TT)* để làm cho dung dịch mất màu. Lọc. Thêm 1,0 ml dịch lọc vào một hỗn hợp mới pha gồm 0,1 ml *dung dịch alizarin S (TT)* và 0,1 ml *dung dịch zirconyl nitrat (TT)*. Trộn đều, để yên 5 min và so sánh màu của dung dịch thu được với màu của mẫu trắng được chuẩn bị trong cùng điều kiện. Dung dịch thử có màu vàng và dung dịch mẫu trắng có màu đỏ.

F. Thêm 2 ml *acid sulfuric (TT)* vào khoảng 40 mg chế phẩm và đun nóng cẩn thận cho đến khi xuất hiện khói trắng. Thêm từng giọt *acid nitric (TT)*, tiếp tục đun nóng cho đến khi dung dịch gần như không màu và làm nguội. Thêm 2 ml *nước*, đun cho đến khi khói trắng xuất hiện lần nữa, để nguội, thêm 10 ml *nước* và trung hòa bằng *dung dịch amoniac loãng (TT)*, dùng giấy quỳ đỏ làm chỉ thị. Dung dịch thu được phải cho phản ứng của ion natri và phản ứng A của phosphat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu N_7 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Từ 7,5 đến 9,0 (Phụ lục 6.2).

Pha loãng 1 ml dung dịch S thành 5 ml với *nước không có carbon dioxyd (TT)*.

Góc quay cực riêng

Từ +98° đến +104°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Cân 1,360 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 0,600 g *hexylamin (TT)* vào một bình nón 250 ml, trộn đều và để yên trong 10 min, sau đó hòa tan trong 185 ml *nước*. Thêm 65 ml *acetonitril (TT)*, trộn đều và lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Dung dịch thử: Hòa tan 62,5 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 25,0 ml với cùng pha động.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg betamethason natri phosphat chuẩn và 25 mg dexamethason natri phosphat chuẩn trong pha động và pha loãng thành 25,0 ml với cùng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 25,0 ml với pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml với pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Cân bằng cột với pha động trong thời gian khoảng 45 min. Tiến hành sắc ký với khoảng thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của betamethason natri phosphat.
Với điều kiện sắc ký như trên, thời gian lưu của betamethason natri phosphat khoảng 14 min; thời gian lưu của dexamethason natri phosphat khoảng 15,5 min.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiêm dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của betamethason natri phosphat và pic của dexamethason natri phosphat ít nhất là 2,0. Nếu cần, có thể tăng nồng độ acetonitril hoặc tăng nồng độ nước trong pha động.
Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào ngoài pic chính không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (2 %) và không có quá 1 pic như vậy có diện tích lớn hơn 0,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (1 %). Tổng diện tích của tất cả các pic phụ ngoài pic chính không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (3 %). Bỏ qua tất cả các pic có diện tích bé hơn 0,025 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Phosphat vô cơ
Không được quá 1 %.
Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Lấy 10 ml dung dịch này, thêm 5 ml *thuốc thử molybdovanadic (TT)*, trộn đều và để yên trong 5 min. Dung dịch thu được nếu có bất kỳ màu vàng nào xuất hiện thì không được đậm màu hơn dung dịch chuẩn được chuẩn bị đồng thời và tương tự như dung dịch thử. Dùng 10 ml *dung dịch phosphat mẫu 5 phần triệu PO_4 (TT)* để chuẩn bị dung dịch chuẩn.

Nước
Không được quá 8,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,200 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 250,0 ml với *nước*. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch ở bước sóng cực đại 241 nm. Tính hàm lượng $C_{22}H_{28}FNa_2O_8P$, lấy giá trị A (1%, 1 cm) ở bước sóng 241 nm là 297.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Glucocorticoid.

Chế phẩm
Viên nén, thuốc tiêm, thuốc nhỏ mắt.

THUỐC NHỎ MẮT BETAMETHASON
Collyrium Betamethasoni

Thuốc nhỏ mắt betamethason là dung dịch vô khuẩn của betamethason natri phosphat trong nước. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nhỏ mắt" (Phụ lục 1.14) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng betamethason natri phosphat,
$C_{22}H_{28}FNa_2O_8P$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong suốt, không màu.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Butan-1-ol - anhydrid acetic - nước (60 : 20 : 20), chuẩn bị ngay trước khi dùng.
Dung dịch thử: Pha loãng (nếu cần) một thể tích chế phẩm với *nước* để được dung dịch có chứa betamethason natri phosphat 0,1 %.
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch betamethason natri phosphat chuẩn 0,1 % trong *nước*.
Dung dịch đối chiếu (2): Hỗn hợp đồng thể tích của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).
Dung dịch đối chiếu (3): Hỗn hợp đồng thể tích của dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch prednisolon natri phosphat chuẩn 0,1 % trong *nước*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí, sấy ở 110 °C trong 10 min và quan sát dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (2) đều có một vết chính, có giá trị R_f tương tự nhau. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) có 2 vết có giá trị R_f gần bằng nhau.

B. Trong mục Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (1) phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic betamethason natri phosphat trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn (2).

C. Lấy một thể tích chế phẩm có chứa khoảng 0,2 mg betamethason natri phosphat, thêm từ từ 1 ml *acid sulfuric (TT)* và để trong 2 min. Dung dịch có màu vàng nâu nhưng không được có màu đỏ hoặc có huỳnh quang màu xanh lục vàng.

pH

Từ 7,0 đến 8,5 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.

Pha động: Đệm citro - phosphat pH 5,0 - methanol (60 : 40).

Dung dịch thử: Pha loãng một thể tích chế phẩm (nếu cần) với *nước* để được dung dịch betamethason natri phosphat có nồng độ khoảng 0,10 %.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml với *nước*.

Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch chứa 0,0060 % betamethason natri phosphat chuẩn và 0,0060 % betamethason chuẩn trong *nước*.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (20 cm × 4,6 mm), nhồi pha tĩnh C (10 µm, cột Spherisorb ODS là phù hợp).

Nhiệt độ cột: 60 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 241 nm.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu (2), phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic betamethason natri phosphat và betamethason ít nhất là 3,5;

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1), ghi sắc ký đồ trong khoảng thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của pic chính.

Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic nào tương ứng với betamethason không được lớn hơn 1,3 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1); diện tích của bất cứ pic phụ nào khác không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1). Tổng diện tích của tất cả các pic phụ không được lớn hơn 2,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1). Bỏ qua tất cả các pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Đệm citro-phosphat pH 5 - methanol (55 : 45).

Dung dịch chuẩn nội: Dung dịch hydrocortison chuẩn 0,06 % trong *methanol (TT)*.

Dung dịch chuẩn (1): Dung dịch betamethason natri phosphat chuẩn 0,1 % trong *nước*.

Dung dịch chuẩn (2): Lấy chính xác 5,0 ml dung dịch chuẩn (1) vào bình định mức 25 ml, thêm 10,0 ml dung dịch chuẩn nội, trộn đều, thêm *nước* đến vạch.

Dung dịch thử (1): Lấy chính xác một thể tích chế phẩm có chứa khoảng 5 mg betamethason natri phosphat, thêm 10,0 ml *methanol (TT)*, trộn đều, pha loãng thành 25,0 ml với *nước*.

Dung dịch thử (2): Chuẩn bị giống như dung dịch thử (1) nhưng dùng 10,0 ml dung dịch chuẩn nội thay cho methanol.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (20 cm × 5 mm), nhồi pha tĩnh C (10 µm, cột Spherisorb ODS là phù hợp).

Nhiệt độ cột: 60 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 241 nm.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Xác định nồng độ betamethason natri phosphat, $C_{22}H_{28}FNa_2O_8P$, trong dung dịch chuẩn (1) bằng cách đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch pha loãng từ dung dịch chuẩn (1) với *nước* để có nồng độ betamethason natri phosphat khoảng 0,002 % ở bước sóng cực đại 241 nm. Lấy 297 là giá trị A (1 %, 1 cm) của betamethason natri phosphat ở cực đại hấp thụ 241 nm.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn (2), dung dịch thử (1) và (2).

Tính hàm lượng betamethason natri phosphat, $C_{22}H_{28}FNa_2O_8P$, trong thuốc nhỏ mắt, dựa vào nồng độ betamethason natri phosphat trong dung dịch chuẩn (1) và các diện tích pic trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (2), dung dịch chuẩn (2).

Bảo quản

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

Loại thuốc

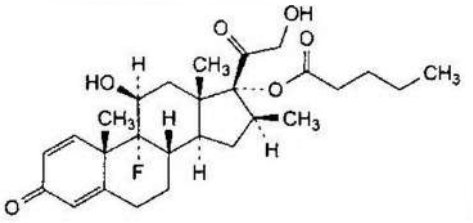
Glucocorticoid.

Hàm lượng thường dùng

0,1 %.

BETAMETHASON VALERAT

Betamethasoni valeras



$C_{27}H_{37}FO_6$ P.t.l: 476,6

Betamethason valerat là 9-fluoro-11β,21-dihydroxy-16β-methyl-3,20-dioxopregna-1,4-dien-17-yl pentanoat, phải chứa từ 97,0 % đến 103,0 % $C_{27}H_{37}FO_6$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong aceton và methylen clorid, tan trong ethanol 96 %. Chảy ở khoảng 192 °C kèm theo phân hủy.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của betamethason 17-valerat chuẩn. Nếu phổ hấp thụ của chế phẩm và betamethason valerat chuẩn ở trạng thái rắn có sự khác nhau thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và betamethason valerat chuẩn trong một lượng tối thiểu *methylen clorid (TT)*, bốc hơi đến khô trên cách thủy và ghi phổ mới của cặn thu được.

B. Trong phần Tạp chất liên quan, pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu và đáp ứng tương tự với pic chính thu được trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (2).

Góc quay cực riêng

Từ +77° đến +83°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *ethanol (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng và tránh ánh sáng.

Pha động: Acetonitril - nước (50 : 50).

Hỗn hợp dung môi: Acid acetic băng - pha động (1 : 1000).

Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 12,5 mg betamethason valerat chuẩn để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa tạp chất D và G) trong 5,0 ml hỗn hợp dung môi. Lấy 1,0 ml dung dịch thu được để hòa tan hỗn hợp tạp chất chuẩn của betamethason valerat (chứa tạp chất C, H và I) có trong 1 lọ chuẩn.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 6 mg betamethason chuẩn (tạp chất A) và 3 mg betamethason 21-valerat chuẩn (tạp chất E) trong 30,0 ml hỗn hợp dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).

Nhiệt độ cột: 20 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 239 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2,5 lần thời gian lưu của betamethason valerat.

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo betamethason valerat chuẩn để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của các tạp chất C, D, G, H và I. Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của tạp chất A và E.

Thời gian lưu tương đối so với betamethason valerat (thời gian lưu khoảng 20 min): Tạp chất A khoảng 0,3; tạp chất I khoảng 0,6; tạp chất C khoảng 0,8; tạp chất H khoảng 1,3; tạp chất D khoảng 1,4; tạp chất E khoảng 1,6; tạp chất G khoảng 2,0.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất H với pic của tạp chất D ít nhất là 1,7.

Giới hạn:

Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 7 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,7 %).

Tạp chất E và G: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).

Tạp chất C, H và I: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,15 %).

Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 15 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,5 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: 9-fluoro-11β,17,21-trihydroxy-16β- methylpregna-1,4-dien-3,20-dion (betamethason).

Tạp chất B: 9-fluoro-11β,17-dihydroxy-16β-methylpregna-1,4-dien-3,20-dion (21-deoxy-betamethason).

Tạp chất C: 9-fluoro-11β,21-dihydroxy-16α-methyl-3,20-dioxo-pregna1,4-dien-17-yl pentanoat (dexamethason 17-valerat).

Tạp chất D: 9-bromo-11β,21dihydroxy-16β-methyl-3,20-dioxo-pregna-1,4-dien-17-yl pentanoat (9-bromo-betamethason valerat).

Tạp chất E: 9-fluoro-11β,17-dihydroxy-16β-methyl-3,20-dioxopregna1,4-dien-21-yl pentanoat (betamethason 21-valerat).
Tạp chất F: 21-hydroxy-16β-methyl-3,20-dioxopregna-1,4,9 (11)-trien-17-yl pentanoat (betamethason valerat δ-9 (11)).
Tạp chất G: 6α-bromo-9-fluoro-11β,21-dihydroxy-16βmethyl-3,20-dioxopregna-1,4-dien-17-yl pentanoat (6α-bromo-betamethason valerat).
Tạp chất H: 9-cloro-11β,21-dihydroxy-16β-methyl-3,20-dioxopregna1,4-dien-17-yl pentanoat (beclomethason 17- valerat).
Tạp chất I: 9-fluoro-11β,21-dihydroxy-3,20-dioxopregna-1,4-dien-17-yl pentanoat (9-fluoro-prednisolon 17- valerat).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

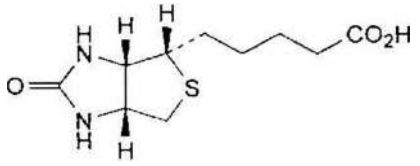
Định lượng
Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng *ethanol 96 % (TT)*.
Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở cực đại hấp thụ 240 nm.
Tính hàm lượng $C_{27}H_{37}FO_6$ theo độ hấp thụ riêng A (1 %, 1 cm) của betamethason valerat tại bước sóng 240 nm là 325.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Corticosteroid.

Chế phẩm
Viên nén, kem thuốc.

BIOTIN
Biotinum



$C_{10}H_{16}N_2O_3S$ P.t.l: 244,3

Biotin là acid 5-[(3aS,4S,6aR)-2-oxohexahydrothieno -[3,4-d]imidazol-4-yl]pentanoic, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{10}H_{16}N_2O_3S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc tinh thể không màu, rất khó tan trong nước và ethanol (96 %), thực tế không tan trong aceton, tan trong các dung dịch loãng của hydroxyd kim loại kiềm.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của biotin chuẩn.
B. Trong phần Tạp chất liên quan, trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (2) có một vết chính có vị trí và kích thước tương tự như vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
C. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 20 ml *nước* bằng cách đun nóng. Để nguội. Thêm 0,1 ml *nước brom (TT)*. Nước brom bị mất màu.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *dung dịch natri hydroxyd 0,4 % (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực riêng
Từ +89° đến +93°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel (5 µm).
Dung môi khai triển: Methanol - acid acetic băng - toluen (5 : 25 : 75).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *acid acetic băng (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng *acid acetic băng (TT)*
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg biotin chuẩn trong *acid acetic băng (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (2) thành 20 ml bằng *acid acetic băng (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (2) thành 40 ml bằng *acid acetic băng (TT)*.
Các dung dịch này pha ngay trước khi dùng và phải bảo quản tránh ánh sáng chói.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được một khoảng dài 15 cm. Làm khô bản mỏng trong luồng không khí ấm. Để nguội và phun lên bản mỏng *dung dịch 4-dimethylaminocinamaldehyd (TT)*. Kiểm tra ngay sắc ký đồ dưới ánh sáng ban ngày. Bất kỳ vết nào, trừ vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) cũng không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %) và tối đa chỉ có một vết đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,25 %).

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm và tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 10 ml *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Lắc 0,200 g chế phẩm trong 5 ml *dimethylformamid (TT)*. Đun nóng cho đến khi chế phẩm tan hoàn toàn. Thêm 50 ml *ethanol (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,1 M (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,1 M (CĐ)* tương đương với 24,43 mg $C_{10}H_{16}N_2O_3S$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Vitamin.

VIÊN NÉN BIOTIN
Tabellae Biotini

Là viên nén chứa biotin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng biotin, $C_{10}H_{16}N_2O_3S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic biotin trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn.
B. Lấy một lượng bột viên tương ứng với 10 mg biotin, thêm 20 ml *nước*, đun nóng để hòa tan, lọc và để nguội, thêm 0,1 ml *dung dịch nước brom (TT)*. Dung dịch phải làm mất màu nước brom.

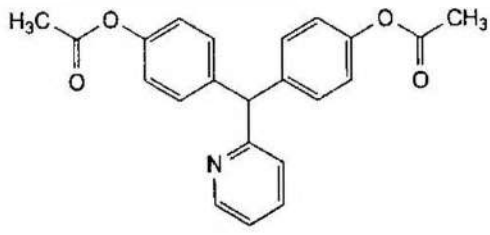
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Chuyển 85 ml *acetonitril (TT)*, 1 g *natri perclorat (TT)* và 1 ml *acid phosphoric (TT)* vào bình định mức 1000 ml, hòa loãng với *nước* vừa đủ tới vạch, trộn đều, lọc và đuổi khí. Điều chỉnh pha động nếu cần.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 67 mg biotin chuẩn vào bình định mức 200 ml, thêm *dimethyl sulfoxid (TT)* để hòa tan và pha loãng bằng *dimethyl sulfoxid (TT)* vừa đủ đến vạch, trộn đều. Lấy 3,0 ml dung dịch trên cho vào bình định mức 200 ml, hòa loãng với *nước* vừa đủ đến vạch và trộn đều.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình của viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 1 mg biotin vào bình định mức 200 ml. Thêm 3 ml *dimethyl sulfoxid (TT)*, lắc xoáy để làm ẩm bột thuốc. Đặt bình thử trong nồi cách thủy ở nhiệt độ từ 60 °C đến 70 °C trong 5 min. Tiếp tục lắc siêu âm 5 min, thêm *nước* đến vạch, trộn đều và lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (3 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 200 nm.
Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.
Thể tích tiêm: 100 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiêm và ghi sắc ký đồ của dung dịch chuẩn. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic trong 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 3 %.
Tiêm riêng biệt dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng biotin, $C_{10}H_{16}N_2O_3S$, trong viên dựa theo diện tích pic trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{10}H_{16}N_2O_3S$ của biotin chuẩn.

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

Loại thuốc
Vitamin nhóm B.

Hàm lượng thường dùng
0,3 mg; 0,6 mg và 5 mg.

BISACODYL
Bisacodylum



$C_{22}H_{19}NO_4$ P.t.l: 361,4

Bisacodyl là 4,4'-(pyridin-2-ylmethylen)diphenyl diacetat, phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $C_{22}H_{19}NO_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng, thực tế không tan trong nước, tan trong aceton, hơi tan trong ethanol 96 %, tan trong các acid vô cơ loãng.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của bisacodyl chuẩn. Nếu phổ hấp thụ hồng ngoại của chế phẩm khác với phổ hấp thụ hồng ngoại của bisacodyl chuẩn thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và bisacodyl chuẩn trong *cloroform (TT)*, bốc hơi tới cắn rồi tiến hành ghi phổ của các cắn thu được.

B. Hòa tan 10,0 mg chế phẩm vào *dung dịch kali hydroxyd 0,6 % trong methanol* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *dung dịch kali hydroxyd 0,6 % trong methanol*. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) trong khoảng bước sóng từ 220 nm đến 350 nm, dung dịch có một cực đại hấp thụ ở bước sóng 248 nm và một vai ở bước sóng 290 nm. Độ hấp thụ riêng tại cực đại hấp thụ từ 632 đến 672.

C. Điểm chảy: Từ 131 °C đến 135 °C (Phụ lục 6.7).

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

Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.

Dung môi khai triển: *Butan-2-on - xylen* (50 : 50).

Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong *aceton (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20 mg bisacodyl chuẩn trong *aceton (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí hoặc nếu cần có thể sấy khô ở nhiệt độ từ 100 °C đến 105 °C. Phun hỗn hợp *dung dịch iod 0,05 M - dung dịch acid sulfuric loãng* (50 : 50) lên bản mỏng và quan sát. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vị trí và kích thước giống với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 20 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* vào 1,0 g chế phẩm, lắc, đun sôi, để nguội và lọc. Thêm 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)* và 0,1 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)*. Dung dịch có màu vàng. Lượng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* dùng để chuyển màu của dung dịch từ màu vàng sang màu đỏ không quá 0,4 ml.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.

Pha động: *Acetonitril - Dung dịch đệm pH 5,0* (45 : 55).

Dung dịch đệm pH 5,0: *Dung dịch amoni format 0,158 % (TT)* được điều chỉnh đến pH 5,0 bằng *acid formic khan (TT)*.

Hỗn hợp dung môi: *Acid acetic băng - acetonitril - nước* (4 : 30 : 66).

Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm vào 25 ml *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 2,0 mg bisacodyl chuẩn để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa các tạp chất A, B, C, D và E) vào 1,0 ml *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 2,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5,0 mg bisacodyl chuẩn dùng để định tính pic (chứa tạp chất F) vào 2,5 ml *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 5,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 265 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 3,5 lần thời gian lưu của bisacodyl.

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo bisacodyl chuẩn để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của các tạp chất A, B, C, D và E.

Thời gian lưu tương đối so với bisacodyl (thời gian lưu khoảng 13 min): Tạp chất A khoảng 0,2; tạp chất B khoảng 0,4; tạp chất C khoảng 0,45; tạp chất D khoảng 0,8; tạp chất E khoảng 0,9; tạp chất F khoảng 2,6.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), tỷ số đỉnh - hõm (Hp/Hv) ít nhất là 1,5; trong đó Hp là chiều cao đỉnh pic tạp chất E so với đường nền và Hv là chiều cao tính từ đường nền lên đến đáy hõm giữa pic tạp chất E và pic bisacodyl.

Giới hạn:

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất A với 0,7.

Tạp chất A, B: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu cần, không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).

Tạp chất C, E: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).

Tạp chất D: Diện tích pic tạp chất D không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).

Tạp chất F: Diện tích pic tạp chất F không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).

Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 10 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Ghi chú:
Tạp chất A: 4,4'-(Pyridin-2-ylmethylen)diphenol.
Tạp chất B: 2-[(*RS*)-(4-Hydroxyphenyl)(pyridin-2-yl)methyl] phenol.
Tạp chất C: 4-[(*RS*)-(4-Hydroxyphenyl)(pyridin-2-yl)methyl] phenyl acetat.
Tạp chất E: 2-[(*RS*)-[4-(Acetyloxy)phenyl](pyridin-2-yl)methyl] phenyl acetat.
Tạp chất D và F: Chưa biết cấu trúc

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6)).
(0,500 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong 60 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2)).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 36,14 mg $C_{22}H_{19}NO_4$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Nhuận tràng.

Chế phẩm
Viên nén bao tan trong ruột, thuốc đạn.

VIÊN NÉN BAO TAN TRONG RUỘT BISACODYL
Tabellae Bisacodyli

Là viên nén bao tan trong ruột có chứa bisacodyl.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng bisacodyl, $C_{22}H_{19}NO_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lắc kỹ một lượng bột viên chứa khoảng 50 mg bisacodyl với *cloroform (TT)*, lọc,bay hơi dịch lọc tới khô. Hòa tan cắn thu được trong 10 ml *dung dịch acid sulfuric 0,5% (TT)* (dung dịch A). Lấy 2 ml dung dịch A, thêm 0,05 ml *dung dịch kali tetraiodomercurat (TT)*, xuất hiện tủa trắng.
B. Thêm *acid sulfuric (TT)* vào 2 ml dung dịch A, xuất hiện màu tím đỏ.
C. Đun sôi 2 ml dung dịch A với một ít *acid nitric (TT)*, xuất hiện màu vàng. Để nguội, thêm *dung dịch natri hydroxyd 5 M (TT)*, màu trở thành nâu vàng.
D. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic bisacodyl trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Giai đoạn trong môi trường acid
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hoà tan: 500 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 2 h.
Cách tiến hành:
Xác định lượng bisacodyl hòa tan bằng phương pháp sắc ký lỏng với pha động và điều kiện sắc ký như mục Định lượng.
Dung dịch thử: Sau 2 h, hút 10 ml dịch hòa tan, lọc.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác 25 mg bisacodyl chuẩn, hòa tan trong vừa đủ 100,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Tiếp tục pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Yêu cầu: Không được quá 5 % lượng bisacodyl so với lượng nghi trên nhãn hòa tan trong 2 h.
Giai đoạn trong môi trường đệm
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hoà tan: Thay thế môi trường hòa tan trong cốc thử ở giai đoạn 1 bằng 900 ml dung dịch đệm phosphat pH 7,4 đã được làm nóng đến nhiệt độ 37 °C ± 0,5 °C.
Dung dịch đệm phosphat pH 7,4: Hòa tan 1,56 g *natri hydroxyd (TT)* và 7,80 g *natri dihydrophosphat (TT)* trong *nước* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml. Thêm 5,00 g *natri dodecylsulfat (TT)* và đun nóng để hòa tan, điều chỉnh pH đến 7,4 nếu cần.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Xác định lượng bisacodyl hòa tan bằng phương pháp sắc ký lỏng với pha động và điều kiện sắc ký như mục Định lượng.
Dung dịch thử: Sau 45 min, hút dịch hòa tan, lọc.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 28 mg bisacodyl chuẩn vào bình định mức 100 ml, thêm 3 ml *acetonitril (TT)*, lắc cho tan hoàn toàn, thêm *dung dịch đệm phosphat pH 7,4* đến vạch, lắc đều. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng *dung dịch đệm phosphat pH 7,4*.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % lượng bisacodyl so với lượng nghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Butan-2-on - xylen (1 : 1).
Dung dịch thử. Cân một lượng bột viên tương ứng với 50 mg bisacodyl, thêm 5 ml *aceton (TT)*, lắc trong 10 min, ly tâm và sử dụng dịch trong ở trên.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 3 thể tích dung dịch thử (1) thành 100 thể tích với *aceton (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.
Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu.

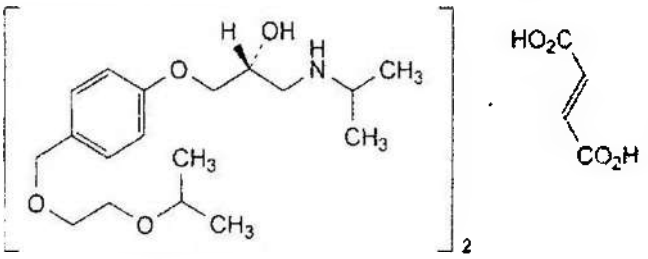
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - amoni format 0,025 M được điều chỉnh tới pH 5,0 bằng acid formic khan (45 : 55).
Hỗn hợp dung môi: Acid acetic khan - acetonitril - nước (4 : 30 : 66).
Dung dịch chuẩn: Dung dịch bisacodyl chuẩn 0,005 % trong hỗn hợp dung môi.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 10 mg bisacodyl vào bình định mức 50 ml, thêm 40 ml hỗn hợp dung môi và lắc kỹ, bổ sung hỗn hợp dung môi vừa đủ đến vạch. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng 25,0 ml dịch lọc thu được thành 100,0 ml với hỗn hợp dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 265 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic đáp ứng trong 6 lần tiêm lặp lại mẫu chuẩn không lớn hơn 2 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng bisacodyl, $C_{22}H_{19}NO_4$, trong viên dựa vào diện tích của pic bisacodyl trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{22}H_{19}NO_4$ trong bisacodyl chuẩn.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Nhuận tràng.

Hàm lượng thường dùng
5 mg.

BISOPROLOL FUMARAT
Bisoprololi fumaras



và đồng phân đối quang

$C_{40}H_{66}N_2O_{12}$ P.t.l: 767

Bisoprolol fumarat là (2*RS*)-1-[4-[[2-(1-methylethoxy) ethoxy]methyl]phenoxy]-3-[(1-methylethyl)amino] propan-2-ol fumarat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{40}H_{66}N_2O_{12}$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hay gần như trắng, hơi hút ẩm. Đa hình.
Rất tan trong nước, dễ tan trong methanol.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của bisoprolol fumarat chuẩn. Nếu phổ hồng ngoại ở trạng thái rắn của mẫu thử và bisoprolol fumarat chuẩn khác nhau thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và chuẩn trong *methanol (TT)*, bốc hơi dung môi và sấy khô cắn ở 60 °C và áp suất không quá 0,7 kPa rồi tiến hành ghi lại phổ của cắn thu được.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Dung dịch *acid phosphoric (TT)* 10 g/l.
Pha động B: Dung dịch *acid phosphoric (TT)* 10 g/l trong *acetonitril (TT_1)*.
Hỗn hợp dung môi: Acetonitril (TT_1) - nước dùng cho sắc ký (20 : 80).
Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan bisoprolol chuẩn dùng để định tính pic có trong một lọ chuẩn (chứa tạp chất A và E) trong 1,0 ml hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan bisoprolol chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống có trong một lọ chuẩn (chứa tạp chất G) trong 1,0 ml hỗn hợp dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột: 20 °C ± 2 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 225 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 4	95	5
4 - 8	95 → 80	5 → 20
8 - 15	80	20
15 - 34	80 → 20	20 → 80
34 - 36	20	80

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo bisoprolol chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của acid fumaric và tạp chất A, E. Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo bisoprolol chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của tạp chất G.
Thời gian lưu tương đối so với bisoprolol (thời gian lưu khoảng 18 min): Tạp chất A khoảng 0,5; tạp chất G khoảng 1,1; tạp chất E khoảng 1,2.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), tỷ số đỉnh - hõm (H_p/H_v) ít nhất là 2,5; trong đó H_p là chiều cao đỉnh pic tạp chất G so với đường nền và H_v là chiều cao tính từ đường nền lên đến đáy hõm giữa pic tạp chất G và pic bisoprolol.
Giới hạn:
Tạp chất G: Diện tích pic tạp chất G không được lớn hơn 2,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).
Tạp chất E: Diện tích pic tạp chất E không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 2,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,25 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %); bỏ qua pic của acid fumaric.
Ghi chú:
Tạp chất A: (2*RS*)-1-(4-hydroxymethyl-phenoxy)-3-isopropyl aminopropan-2-ol.
Tạp chất B: (2*RS*)-1-isopropylamino-3-[4-(2-propoxy-ethoxy-methyl) phenoxy]propan-2-ol.
Tạp chất C: 1-[4-[4-(2-hydroxy-3-isopropylamino-propoxy) benzyl] phenoxy]-3-isopropylaminopropan-2-ol.
Tạp chất D: 1-[4-[4-(2-hydroxy-3-isopropylaminopropoxy) benzyloxylmethyl]phenoxy]-3-isopropylaminopropan-2-ol.
Tạp chất E: (*EZ*)-[3-[4-(2-isopropoxy-ethoxymethyl)phenoxy] allyl]isopropylamin.
Tạp chất F: (2*RS*)-2-[4-(2-isopropoxy-ethoxymethyl)phenoxy]-3-isopropylaminopropan-2-ol.
Tạp chất G: (2*RS*)-1-[4-[[(2-isopropoxyethoxy)methoxy]methyl] phenoxy]-3-isopropylaminopropan-2-ol.
Tạp chất K: 2-isopropoxyethyl 4-[[(2*RS*)-2-hydroxy-3-(isopropylamino)propyl]oxy]benzoat.
Tạp chất L: 4-[[(2*RS*)-2-hydroxy-3-(isopropylamino)propyl]oxy]-benzaldehyd.
Tạp chất N: (2*RS*)-1-[4-[(2-ethoxyethoxy)methyl]phenoxy]-3-isopropylaminopropan-2-ol.
Tạp chất Q: (2*RS*)-1-(isopropylamino)-3-[4-(2-methoxyethoxy) methyl]phenoxypropan-2-ol.
Tạp chất R: (2*RS*)-1-(isopropylamino)-3-(4-methylphenoxy) propan-2-ol.
Tạp chất S: 4-hydroxybenzaldehyd.
Tạp chất T: 4-[(3-isopropyl-2-oxo-1,3-oxazolidin-5-yl)methoxy]-benzaldehyd.
Tạp chất U: 5-[[4-(hydroxymethyl)phenoxy]methyl]-3-isopropyl-1,3-oxazolidin-2-on.

Nước
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 1,000 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan khoảng 0,300 g chế phẩm trong 50 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 38,35 mg $C_{40}H_{66}N_2O_{12}$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chẹn β-adrenergic.

Chế phẩm
Viên nén.

BÔNG HÚT NƯỚC
Lanugo gossypii absorbens

Bông hút nước chế từ lông của hạt cây Bông (các loài trong chi *Gossypium L.*), họ Bông (Malvaceae), đã loại mỡ, tẩy trắng và làm tơi.

Tính chất
Là những sợi mảnh, mềm và trắng, không mùi, không vị và không có lẫn các mảnh lá hoặc vỏ hạt.

Định tính
A. Xác định bằng cách soi kính hiển vi, mỗi sợi giống như một tế bào đơn, dài tới 4 cm và rộng tới 40 µm, dạng hình ống bẹt, thành dày và thường bị xoắn.
B. Khi ngâm trong *dung dịch kẽm clorid - iod (TT)*, sợi chuyển màu tím.
C. Lấy 1 g chế phẩm thêm 10 ml *dung dịch kẽm clorid - acid formic (TT)*. Làm nóng ở 40 °C và để yên trong 2 h 30 min, thỉnh thoảng lắc. Chế phẩm phải không được hòa tan.

Giới hạn acid - kiềm
Thêm 150 ml *nước* mới đun sôi và để nguội vào 15,0 g bông, ngâm trong 2 h. Gạn lấy lớp nước, dùng đũa thủy tinh ép lấy nước còn lại và tập trung nước thu được, trộn đều. Để riêng 10 ml nước thu được để thử chất hoạt động bề mặt, lọc phần nước còn lại. Cho 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* vào 25 ml dịch lọc và 0,05 ml *dung dịch methyl da cam (TT)* vào 25 ml dịch lọc khác. Cả hai dung dịch không được có màu hồng.

Chất hoạt động bề mặt
Cho 10 ml nước để riêng ở phép thử giới hạn acid - kiềm vào một ống đong chia độ, nút mài có dung tích 25 ml, đường kính ngoài 18 mm đến 22 mm, đã được tráng trước bằng *acid sulfuric (TT)* và bằng *nước*. Lắc mạnh 30 lần trong 10 s, để yên 1 min và lắc lại 30 lần nữa. Sau 5 min, chiều cao của cột bọt phía trên bề mặt lớp nước không được quá 2 mm.

Tốc độ chìm
Chuẩn bị một rổ thử nghiệm làm từ sợi đồng có đường kính 0,44 mm, khoảng cách giữa các sợi đồng là 20 mm. Rổ hình trụ có đường kính 50,0 mm và sâu 80,0 mm, có khối lượng khoảng 3,0 g. Đặt 5 g bông vào rổ và giữ rổ cách mặt nước 12 mm. Nước được duy trì ở 24 °C đến 26 °C và có chiều sâu 200 mm. Thả rổ nhẹ nhàng xuống nước. Thời gian để rổ chìm xuống hoàn toàn không được quá 8 s.

Khả năng hút nước
Để rổ đã chìm trong phép thử Tốc độ chìm khoảng 3 min. Nhấc nhẹ nhàng rổ lên khỏi mặt nước, đặt rổ ở vị trí thẳng đứng trên rây có số rây thích hợp (1400 đến 2000) và để cho nước chảy 1 min. Sau đó đặt rổ vào cốc và cân. Khối lượng nước đã hút không ít hơn 100,0 g.

Các sợi khác
Nhúng 1,0 g bông vào *dung dịch iod 0,5 M* trong 1/2 min và rửa kỹ bằng *nước*. Không được tìm thấy sợi nào bị nhuộm màu.

Phát quang
Quan sát lớp bông dày khoảng 5 mm dưới ánh sáng từ ngoại ở 365 nm, chỉ được phát quang màu tím nâu nhạt và có một vài tiểu phân màu vàng. Chỉ được phép có một vài sợi đơn lẻ phát quang màu xanh lam đậm.

Chất màu chiết được
Thấm ướt 10,0 g bông bằng *ethanol 96 % (TT)*, để ngâm trong 4 h. Chuyển vào bình chiết ngâm nhỏ giọt, mở khóa vòi rút dịch chiết, thêm *ethanol 96 % (TT)* đến khi vài giọt dịch chiết chảy ra, đóng khóa và thêm *ethanol 96 % (TT)* đến khi ngập mặt bông. Để ngâm 24 h. Sau đó rút từ từ dịch chiết đến khi được khoảng 38 ml, ép lớp bông. Trộn dịch ép thu được với dịch chiết và thêm *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ 50 ml. Dung dịch thu được có màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2) không được đậm hơn màu mẫu V_5, VL_6 hay màu của dung dịch được chuẩn bị như sau: Lấy 3,0 ml dung dịch gốc màu xanh, thêm 7,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 % (TT)*. Pha loãng 0,5 ml dung dịch này thành 10,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 % (TT)*.

Chất tan trong ether
Không được quá 0,5 %.
Chiết 5,0 g bông với ether bằng thiết bị Soxhlet trong 4 h với tốc độ ít nhất 4 lần chiết trong 1 h. Bốc hơi dịch chiết ether đến cạn và sấy cắn đến khối lượng không đổi ở 105 °C.

Chất tan trong nước
Không được quá 0,5 %.
Đun sôi 5,0 g bông với 500 ml *nước* trong 30 min, khuấy thường xuyên và bù lượng nước mất đi do bay hơi. Gạn lấy lớp nước vào cốc, dùng đũa thủy tinh ép lấy nước còn lại, tập trung vào cốc và lọc nóng. Bốc hơi 400 ml dịch lọc đến cạn và sấy cắn đến khối lượng không đổi ở 105 °C.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 8,0 % (Phụ lục 9.6).
(5,000 g, 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,40 % (Phụ lục 9.9).
Cân 5,00 g chế phẩm vào một chén nung đã được nung nóng, để nguội và cân. Đun nóng cẩn thận trực tiếp trên ngọn lửa, sau đó nung từ từ âm i ở 600 °C. Để nguội, thêm vài giọt *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)*, sau đó lại đun nóng và nung đến khi không còn các tiểu phân màu đen. Để nguội, thêm vài giọt *dung dịch amoni carbonat 20 % (TT)*. Bốc hơi sau đó nung cẩn thận, để nguội và cân. Tiếp tục nung, để nguội, cân đến khối lượng không đổi, mỗi lần nung trong thời gian 5 min.

Bảo quản
Để nơi khô ráo, tránh bụi.

BÔNG HÚT NƯỚC TIỆT KHUẨN
Lanugo gossypii absorbens sterilis

Bông hút nước tiệt khuẩn phải đạt tất cả các yêu cầu trong chuyên luận "Bông hút nước". Đôi khi có màu hơi vàng do được tiệt khuẩn bằng nhiệt.

Thử vô khuẩn
Bông hút nước tiệt khuẩn phải đáp ứng yêu cầu của phép Thử vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

Bảo quản
Bảo quản trong đồ bao gói kín tránh nhiễm khuẩn, để nơi khô.

BỘT BÓ
Calci sulfat ustus
Calci sulfat khô

$CaSO_4.½ H_2O$ P.t.l: 145,1

Calci sulfat khô được điều chế bằng cách đun nóng bột thạch cao $CaSO_4.2H_2O$ ở nhiệt độ khoảng 150 °C. Chú ý kiểm soát quá trình đun để chuyển gần hết sang dạng hemihydrat, $CaSO_4.1/2H_2O$ và tạo ra rất ít calci sulfat khan. Chế phẩm có thể chứa một lượng thích hợp các chất làm tăng hoặc giảm tốc độ ngưng kết.

Tính chất
Bột trắng hoặc gần như trắng, không mùi hoặc gần như không mùi, dễ hút ẩm. Khó tan trong nước, dễ tan hơn trong các dung dịch acid vô cơ loãng, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Chế phẩm phải cho phản ứng định tính của calci và của sulfat (Phụ lục 8.1).

Đặc tính ngưng kết
Lấy 20 g chế phẩm trộn với 10 ml *nước* ở 15 °C đến 20 °C trong một cái khuôn hình trụ có đường kính khoảng 2,4 cm. Để yên 4 min đến 11 min. Bột sẽ đóng cứng lại, sau đó để yên trong 3 h, bột phải có độ cứng đủ để chịu được lực khi ấn các ngón tay vào mép mà vẫn duy trì được độ sắc cạnh ở đường viền phía ngoài và không bị vỡ vụn.

Mất khối lượng do nung
Từ 4,5 % đến 8,0 %.
(1,00 g, nung đỏ (khoảng 600 °C) đến khối lượng không đổi).

Bảo quản
Trong bao bì kín.

BỘT TALC
Talcum

Bột talc là magnesi silicat hydrat tự nhiên đã được lựa chọn và làm thành bột mịn. Bột talc tinh khiết có công thức phân tử là [$Mg_3Si_4O_{10}(OH)_2$; P.t.l: 379,3)]. Có thể chứa một lượng khác nhau các chất khoáng, trong đó nhiều nhất là các clorit (nhôm hydrat và magnesi silicat), magnesit (magnesi carbonat), calcit (calci carbonat) và dolomit (calci và magnesi carbonat).

Sản xuất
Bột talc được dẫn xuất từ các trầm tích (deposits) có chứa amiăng không được dùng trong dược dụng. Nhà sản xuất có trách nhiệm chứng minh sản phẩm không có amiăng bằng phép thử xác định amphibol và serpentin. Sự có mặt của amphibol và serpentin được phát hiện bằng phương pháp quang phổ hấp thụ hồng ngoại hoặc nhiễu xạ tia X (phép thử A hoặc B). Nếu thấy các chất trên, kiểm tra tiêu chuẩn hình thái học đặc trưng của amiăng bằng phương pháp soi kính hiển vi quang học thích hợp để xác định là tremolit hay là chrysolit.
A. Phương pháp quang phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2). Trong khoảng 740 cm^{-1} đến 760 cm^{-1}, dùng thang đo mở rộng, chế phẩm có thể có tremolit hoặc clorit nếu thấy bất cứ dải hấp thụ nào ở 758 ± 1 cm^{-1}. Chế phẩm có tremolit nếu dải hấp thụ không thay đổi sau khi nung chế phẩm ở 850 °C trong ít nhất 30 min. Trong khoảng 600 cm^{-1} đến 650 cm^{-1}, dùng thang đo mở rộng, chế phẩm có thể có serpentin, nếu xuất hiện bất cứ dải hấp thụ hoặc vai nào.
B. Tiến hành phương pháp nhiễu xạ tia X theo các điều kiện sau:
Tia bức xạ 40 kV đơn sắc Cu Kα, 24 mA đến 30 mA.
Khe tới: 1°
Khe phát hiện: 0,2°
Tốc độ máy đo góc: 1/10° 2θ/min.
Vùng quét: 10° đến 13°2θ và 24° tới 26°2θ.
Mẫu không định hướng.
Đặt mẫu thử vào trong giá đỡ mẫu; đóng lại và làm trơn bề mặt bằng phiến kính hiển vi thủy tinh đã được làm bóng.
Ghi phổ nhiễu xạ.
Mẫu thử chứa amphibol khi có pic nhiễu xạ ở 10,5 ± 0,1°2θ, và chứa serpentin khi có pic nhiễu xạ ở 24,3 ± 0,1°2θ và ở 12,1 ± 0,1°2θ.
Nếu một trong 2 phương pháp trên phát hiện thấy amphibol và/hoặc serpentin, thì tiến hành soi kính hiển vi để xác định tính chất của amiăng.
Khi soi kính hiển vi, amiăng được tìm thấy nếu có các tiêu chí sau:
Tỷ lệ giữa chiều dài và chiều rộng từ 20:1 đến 100:1, hoặc cao hơn với các sợi dài hơn 5 µm;
Có khả năng phân tách thành các sợi mảnh rất mỏng;
và nếu có 2 hoặc nhiều hơn trong 4 tiêu chí sau:
Các sợi song song xếp thành từng bó.
Các bó sợi bị xơ ở phía cuối.

Các sợi ở dạng hình kim mảnh.
Khối bết lại của các sợi riêng lẻ và/hoặc các sợi có dạng đường cong.

Tính chất
Bột trắng hoặc gần như trắng, nhẹ, đồng nhất, trơn tay (không ăn tay). Thực tế không tan trong nước, ethanol 96 % và trong các dung dịch acid loãng hay hydroxyd kiềm loãng.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B. C.
A. Phương pháp quang phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2), phổ cho dải hấp thụ ở 3677 ± 2 cm^{-1}, 1018 ± 2 cm^{-1} và 669 ± 2 cm^{-1}.
B. Đun nóng chảy hỗn hợp 0,2 g *natri carbonat khan (TT)* và 2,0 g *kali carbonat (TT)* trong chén platin. Thêm vào khối nóng chảy 0,1 g chế phẩm và đun nóng cho đến khi hỗn hợp nóng chảy hoàn toàn. Để nguội và chuyển khối đã nóng chảy vào đĩa bốc hơi bằng 50 ml *nước* nóng. Thêm *acid hydrocloric (TT)* cho đến khi hết sủi bọt. Thêm 10 ml *acid hydrocloric (TT)* và bốc hơi trên cách thủy tới khô. Để nguội. Thêm 20 ml *nước*, đun tới sôi và lọc (cắn được dùng cho phản ứng định tính C). Lấy 5 ml dịch lọc, thêm 1 ml *amoniac (TT)* và 1 ml *dung dịch amoni clorid 10,7 %*, lọc. Thêm 1 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 9 %* vào dịch lọc, tủa kết tinh trắng được tạo thành.
C. Cắn thu được trong phép thử định tính B cho phản ứng của silicat (Phụ lục 8.1).

Giới hạn acid - kiềm
Đun sôi 2,5 g chế phẩm với 50 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* dưới ống sinh hàn ngược. Lọc chân không. Thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT_1)* vào 10 ml dịch lọc, màu của dung dịch phải chuyển sang xanh lục khi thêm không quá 0,4 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*. Thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT_1)* vào 10 ml dịch lọc. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)* cần dùng để màu của dung dịch chuyển sang hồng không quá 0,3 ml.

Chất tan trong nước
Không được quá 0,2 %.
Lấy 10,0 g chế phẩm, thêm 50 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, đun tới sôi và duy trì sôi dưới ống sinh hàn ngược trong 30 min. Để nguội, lọc qua một giấy lọc có tốc độ lọc trung bình và pha loãng dịch lọc thành 50,0 ml bằng *nước không có carbon dioxyd (TT)*. Bốc hơi 25,0 ml dịch lọc tới khô và sấy ở 105 °C trong 1 h. Khối lượng cắn thu được không quá 10 mg.

Nhôm
Không được quá 2,0 %.
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch S_2: Các perclorat trộn với các kim loại nặng dễ gây nổ. Phải tiến hành thao tác cẩn thận khi chuẩn bị dung dịch này. Cân 0,5 g chế phẩm vào một đĩa làm bằng polytetrafluoroethylen có dung tích 100 ml, thêm 5 ml *acid hydrocloric (TT)*, 5 ml *acid nitric không có chì* và 5 ml *acid percloric (TT)*. Khuấy nhẹ, sau đó thêm 35 ml *acid hydrofluoric (TT)* và bốc hơi từ từ tới khô. Thêm 5 ml *acid hydrocloric (TT)* vào cắn, đậy đĩa bằng mặt kính đồng hồ, đun tới sôi và để nguội. Rửa mặt kính đồng hồ và đĩa bằng *nước*. Chuyển dịch thu được vào bình định mức 50 ml, rửa đĩa bằng *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử: Lấy 5,0 ml dung dịch S_2, thêm 10 ml *dung dịch cesi clorid 2,534 %*, 10,0 ml *acid hydrocloric (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*.
Các dung dịch đối chiếu: Lấy 4 bình định mức có dung tích 100 ml, mỗi bình có chứa 10,0 ml *acid hydrocloric (TT)* và 10 ml *dung dịch cesi clorid 2,534 %*, thêm lần lượt vào mỗi bình 5,0 ml, 10,0 ml, 15,0 ml và 20,0 ml *dung dịch nhôm mẫu 100 phần triệu Al (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*.
Đo phổ hấp thụ ở bước sóng 309,3 nm, dùng đèn cathod rỗng nhôm làm nguồn bức xạ và ngọn lửa nitro oxyd - acetylen.

Calci
Không được quá 0,9 %.
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Lấy 5,0 ml dung dịch S_2, thêm 10,0 ml *acid hydrocloric (TT)*, 10 ml *dung dịch lanthan clorid (TT)*, và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*.
Các dung dịch đối chiếu: Lấy 4 bình định mức có dung tích 100 ml, mỗi bình có chứa 10,0 ml *acid hydrocloric (TT)* và 10 ml *dung dịch lanthan clorid (TT)*, cho lần lượt vào mỗi bình 1,0 ml, 2,0 ml, 3,0 ml và 4,0 ml *dung dịch calci mẫu 100 phần triệu Ca (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*.
Đo phổ hấp thụ ở bước sóng 422,7 nm, dùng đèn cathod rỗng calci làm nguồn bức xạ và ngọn lửa nitro oxyd - acetylen.

Sắt
Không được quá 0,25 %.
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch S_1: Cân 10,0 g chế phẩm vào bình nón, vừa lắc vừa thêm từ từ 50 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,5 M (TT)*. Lắp ống sinh hàn ngược và đun nóng trên cách thủy trong 30 min. Để nguội, chuyển hỗn hợp thu được sang cốc có mỏ và để lắng các chất không hòa tan. Lọc lớp dịch phía trên qua một giấy lọc có tốc độ lọc trung bình vào một bình định mức dung tích 100 ml, giữ lại trong cốc các chất không tan nhiều nhất có thể. Rửa cắn còn lại và cốc 3 lần, mỗi lần với 10 ml *nước* nóng. Rửa giấy lọc bằng 15 ml *nước* nóng, để nguội dịch lọc và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử: Lấy 2,5 ml dung dịch S_1, thêm 50,0 ml

dung dịch acid hydrocloric 0,5 M (TT) và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*.
Các dung dịch đối chiếu: Lấy 4 bình định mức có dung tích 100 ml, mỗi bình có chứa 50,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,5 M*, cho lần lượt vào mỗi bình 2,0 ml, 2,5 ml, 3,0 ml và 4,0 ml *dung dịch sắt mẫu 250 phần triệu Fe (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*.
Đo phổ hấp thụ ở bước sóng 248,3 nm, dùng đèn cathod rỗng sắt làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - acetylen. Dùng đèn deuteriun để hiệu chỉnh.

Chì
Không được quá 10 phần triệu.
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Dùng dung dịch S_1.
Các dung dịch đối chiếu: Lấy 4 bình định mức có dung tích 100 ml, mỗi bình có chứa 50,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,5 M (TT)*, cho lần lượt vào mỗi bình 5,0 ml, 7,5 ml, 10,0 ml và 12,5 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT_1)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*.
Đo phổ hấp thụ ở bước sóng 217,0 nm, dùng đèn cathod rỗng chì làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - acetylen.

Magnesi
17,0 % đến 19,5 %.
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Pha loãng 0,5 ml dung dịch S_2 thành 100,0 ml bằng *nước*. Lấy 4,0 ml dung dịch thu được, thêm 10,0 ml *acid hydrocloric (TT)* và 10 ml *dung dịch lanthan clorid (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*.
Các dung dịch đối chiếu: Lấy 4 bình định mức 100 ml, mỗi bình có chứa 10,0 ml *acid hydrocloric (TT)* và 10 ml *dung dịch lanthan clorid (TT)*, thêm lần lượt vào mỗi bình 2,5 ml, 3,0 ml, 4,0 ml và 5,0 ml *dung dịch magnesi mẫu 10 phần triệu Mg (TT_1)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*.
Đo phổ hấp thụ ở bước sóng 285,2 nm, dùng đèn cathod rỗng magnesi làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - acetylen.

Mất khối lượng do nung
Không được quá 7,0 %.
(1,00 g, 1050 °C đến 1100 °C đến khối lượng không đổi).

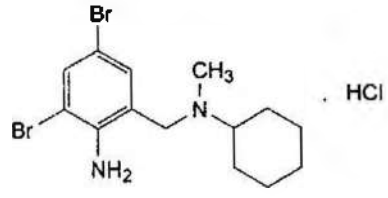
Giới hạn nhiễm khuẩn
Nếu chế phẩm dùng tại chỗ, tổng số vi sinh vật hiếu khí (Phụ lục 13.6) không được quá 10^2 CFU/g chế phẩm.
Nếu chế phẩm dùng đường uống, tổng số vi sinh vật hiếu khí (Phụ lục 13.6) không được quá 10^3 CFU/g chế phẩm và tổng số nấm không được quá 10^2 CFU/g chế phẩm.

Nhãn
Nhãn ghi rõ dùng đường uống hay dùng tại chỗ.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Tá dược.

BROMHEXIN HYDROCLORID
Bromhexini hydrochloridum



$C_{14}H_{21}Br_2ClN_2$ P.t.l: 412,6

Bromhexin hydroclorid là *N*-(2-amino-3,5-dibromobenzyl)-*N*-methylcyclohexanamin hydroclorid, phải chứa từ 98,5 % đến 101,5 % $C_{14}H_{21}Br_2ClN_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, đa hình, rất khó tan trong nước, khó tan trong ethanol và dicloromethan.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, E.
Nhóm II: B, C, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của bromhexin hydroclorid chuẩn.
Nếu phổ đo ở trạng thái rắn khác nhau thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và chất chuẩn trong *methanol (TT)*, bốc hơi đến khô và dùng cặn để ghi phổ mới.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel F_{254}.
Dung môi khai triển: Acid acetic băng - nước - butanol (17 : 17 : 66).
Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20 mg bromhexin hydroclorid chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký đến khi dung môi chạy được khoảng 3/4 chiều dài bản mỏng. Để bản mỏng khô ngoài không khí. Quan sát sắc ký đồ dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Một vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử có vị trí, kích thước tương tự vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
C. Hòa tan 25 mg chế phẩm trong hỗn hợp gồm 1 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* và 50 ml *nước*. Thêm 2 ml *dicloromethan (TT)* và 5 ml *dung dịch cloramin T 2 % (TT)* rồi lắc. Ở lớp dưới, xuất hiện màu vàng hơi nâu.

D. Hòa tan khoảng 1 mg chế phẩm trong 3 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Dung dịch thu được cho phản ứng của amin thơm bậc nhất (Phụ lục 8.1).

E. Hòa tan khoảng 20 mg chế phẩm trong 1 ml *methanol (TT)*, thêm 1 ml *nước*. Dung dịch thu được cho phản ứng (A) của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Trộn 0,5 ml *acid phosphoric (TT)* với 950 ml *nước*; điều chỉnh đến pH 7,0 bằng *triethylamin (TT)* (khoảng 1,5 ml); pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*. Trộn 20 thể tích của dung dịch này với 80 thể tích *acetonitril (TT)*.

Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg tạp chất chuẩn C của bromhexin hydroclorid trong *methanol (TT)*, thêm 1,0 ml dung dịch thử rồi pha loãng thành 10,0 ml với *methanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *methanol (TT)*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng *methanol (TT)*.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (12 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (3 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 248 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2,5 lần thời gian lưu của bromhexin.

Thời gian lưu tương đối so với bromhexin (thời gian lưu khoảng 11 min): Tạp chất A khoảng 0,1; tạp chất B khoảng 0,2; tạp chất C khoảng 0,4 và tạp chất D khoảng 0,5.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa các pic của tạp chất C và bromhexin ít nhất là 12,0.

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

Diện tích của bất kỳ pic nào ngoài pic chính cũng không được lớn hơn hai lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %); tối đa chỉ có một pic có diện tích lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %). Tổng diện tích của tất cả các pic, trừ pic chính, không được lớn hơn 3 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %); bỏ qua các pic có diện tích bằng và nhỏ hơn 0,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: (2-amino-3,5-dibromophenyl)methanol.

Tạp chất B: 2-amino-3,5-dibromobenzaldehyd.

Tạp chất C: *N*-(2-aminobenzyl)-*N*-methylcyclo-hexanamin.

Tạp chất D: *N*-(2-amino-5-bromobenzyl)-*N*-methyl-cyclohexanamin.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong 70 ml *ethanol 96% (TT)*, thêm 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Tiến hành chuẩn độ bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2), dùng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Tính thể tích của dung dịch chuẩn độ tiêu thụ giữa 2 điểm uốn của đường cong chuẩn độ.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 41,26 mg $C_{14}H_{21}Br_2ClN_2$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Long đờm.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN BROMHEXIN HYDROCLORID

Tabellae Bromhexini hydrochloridi

Là viên nén chứa bromhexin hydroclorid.

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

Hàm lượng bromhexin hydroclorid, $C_{14}H_{20}Br_2N_2.HCl$, từ 93,0 % đến 107,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

A. Trong phần Độ đồng đều hàm lượng, phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử trong khoảng bước sóng từ 230 nm đến 350 nm có các hấp thụ cực đại ở khoảng 249 nm và 310 nm.

B. Thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử trong phần Định lượng phải tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động và điều kiện sắc ký: Thực hiện như mô tả trong phần định lượng.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg bromhexin hydroclorid vào bình định mức 20 ml, thêm 15 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm để hòa tan bromhexin hydroclorid. Pha loãng bằng *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.

Dung dịch đối chiếu: Hút chính xác 1,0 ml dung dịch thử vào bình định mức 100 ml và pha loãng bằng *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu. Điều chỉnh độ nhạy của máy sao cho chiều cao của pic chính tương ứng với 20 % của thang đo.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử trong khoảng thời gian gấp ba lần thời gian lưu của pic bromhexin hydroclorid. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, tổng diện tích các pic tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %).

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)
Nghiền 1 viên trong cối với *ethanol 96 % (TT)*, dùng cùng dung môi chuyển vào bình định mức 50 ml, làm ấm trên cách thủy 15 min, thỉnh thoảng lắc, để nguội, pha loãng với *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu, pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 50,0 ml với *ethanol 96 % (TT)*. Đo độ hấp thụ của dung dịch thu được ở bước sóng 249 nm (Phụ lục 4.1) trong cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *ethanol 96 % (TT)*.
Tính hàm lượng bromhexin hydroclorid, $C_{14}H_{20}Br_2N_2.HCl$, trong viên theo A (1 %, 1 cm), lấy 270 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 249 nm.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động và điều kiện sắc ký: Thực hiện như mô tả trong phần Định lượng với thể tích tiêm là 50 µl.
Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 16 mg bromhexin hydroclorid chuẩn vào bình định mức 100 ml, thêm 4 ml *ethanol (TT)*, lắc để hòa tan, pha loãng với *nước* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Pha loãng dung dịch với *nước* để thu được dung dịch có nồng độ tương đương nồng độ của dung dịch thử.
Tính hàm lượng bromhexin hydroclorid, $C_{14}H_{20}Br_2N_2.HCl$, đã hòa tan trong mỗi viên dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{14}H_{20}Br_2N_2.HCl$ của bromhexin hydroclorid chuẩn.
Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % (Q) lượng bromhexin hydroclorid, $C_{14}H_{20}Br_2N_2.HCl$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

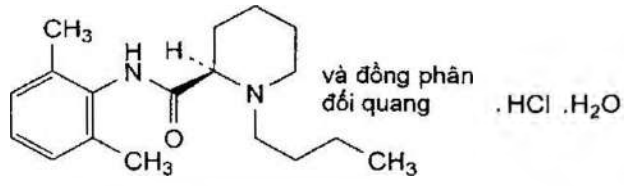
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm phosphat: Hòa tan 1,0 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 900 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 7,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,5 M (TT)*, pha loãng với *nước* vừa đủ 1000 ml.
Pha động:Dung dịch đệm phosphat - acetonitril (20 : 80). Có thể điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 12,5 mg bromhexin hydroclorid vào bình định mức 25 ml, thêm 20 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm để bromhexin hydroclorid hòa tan hết. Pha loãng bằng *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng bromhexin hydroclorid chuẩn trong *methanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ bromhexin hydroclorid khoảng 0,5 mg/ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột: 40 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 245 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn, độ phân giải giữa pic bromhexin hydroclorid và pic tạp liền kề (nếu có) không nhỏ hơn 1,5; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic bromhexin hydroclorid giữa các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng bromhexin hydroclorid, $C_{14}H_{20}Br_2N_2.HCl$, trong viên dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{14}H_{20}Br_2N_2.HCl$ của bromhexin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Long đờm, tiêu chất nhầy.

Hàm lượng thường dùng
8 mg.

BUPIVACAIN HYDROCLORID
Bupivacaini hydrochloridum



$C_{18}H_{28}N_2O.HCl.H_2O$ P.t.l.: 342,9

Bupivacain hydroclorid là (2*RS*)-1-butyl-*N*-(2,6-dimethylphenyl)piperidin-2-carboxamid hydroclorid monohydrat, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{18}H_{28}N_2O.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hay gần như trắng, hoặc tinh thể không màu. Tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %.

Điểm chảy: Khoảng 254 °C, kèm theo phân hủy.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của bupivacain hydroclorid chuẩn.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Amoniac - methanol (0,1 : 100).

Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 25 mg bupivacain hydroclorid chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 10 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí, sau đó phun lên bản mỏng *thuốc thử kali iodobismuthat loãng (TT)*. Vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

C. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 10 ml *nước*, thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* và chiết 2 lần, mỗi lần với 15 ml *ether (TT)*. Tập trung dịch chiết ether, làm khan bằng *natri sulfat khan (TT)* và lọc. Bốc hơi dịch chiết ether đến cắn, kết tinh lại cắn thu được bằng *ethanol 90 % (TT)* và sấy khô dưới áp suất giảm. Tinh thể thu được nóng chảy ở 105 °C đến 108 °C (Phụ lục 6.7).

D. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (CĐ)* vào 10 ml dung dịch S, dung dịch thu được có pH không nhỏ hơn 4,7. Thêm tiếp 0,4 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (CĐ)*, dung dịch thu được có pH không lớn hơn 4,7.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan 25 mg *methyl behenat (TT)* trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 500 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong 2,5 ml *nước*, thêm 2,5 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* và chiết 2 lần, mỗi lần với 5 ml dung dịch chuẩn nội. Lọc lớp dưới.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg chế phẩm, 10 mg tạp chất B chuẩn của bupivacain và 10 mg tạp chất E chuẩn của bupivacain trong 2,5 ml *nước*. Thêm 2,5 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* và chiết 2 lần, mỗi lần với 5 ml dung dịch chuẩn nội. Lọc lớp dưới và pha loãng thành 20 ml bằng dung dịch chuẩn nội.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với dung dịch chuẩn nội.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 10,0 ml với dung dịch chuẩn nội.

Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 10,0 ml với dung dịch chuẩn nội.

Điều kiện sắc ký:

Cột silica nung chảy (30 m × 0,32 mm) được phủ pha tĩnh *poly(dimethyl)(diphenyl)siloxan* (lớp phim dày 0,25 µm).

Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký khí*, lưu lượng dòng 2,5 ml/min.

Tỷ lệ chia dòng: 1 : 12.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0	180
	0 - 10	180 → 230
	10 -15	230
Buồng tiêm		250
Detector		250

Thể tích tiêm: 1 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký trong điều kiện như trên, thời gian lưu tương đối của các chất so với bupivacain (thời gian lưu khoảng 10 min) như sau: Tạp chất C khoảng 0,5; tạp chất A khoảng 0,6; tạp chất B khoảng 0,7; tạp chất D khoảng 0,8; tạp chất E khoảng 1,1; chất chuẩn nội khoảng 1,4.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiêm dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của bupivacain và pic của tạp chất E ít nhất là 3,0.

Giới hạn:

Tạp chất B: Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3), tính tỷ số (R_1) giữa diện tích của pic chính với diện tích pic của chất chuẩn nội. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, tính tỷ số giữa diện tích của pic tương ứng với tạp chất B với diện tích pic của chất chuẩn nội: Tỷ số này không được lớn hơn R_1 (0,5 %).

Các tạp chất khác: Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (4), tính tỷ số (R_2) giữa diện tích của pic chính với diện tích pic của chất chuẩn nội. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, tính tỷ số giữa diện tích của bất kỳ pic phụ nào ngoài pic chính, pic tương ứng với tạp chất B và pic tương ứng với chất chuẩn nội, với diện tích pic của chất chuẩn nội: Tỷ số này không được lớn hơn R_2 (0,1 %).

Tổng các tạp chất: Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2), tính tỷ số (R_3) giữa diện tích của pic chính với diện tích pic của chất chuẩn nội. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, tính tỷ số giữa tổng diện tích của tất cả các pic phụ ngoài pic chính và pic tương ứng với chất chuẩn nội, với diện tích pic của chất chuẩn nội: Tỷ số này không được lớn hơn R_3 (1,0 %). Bỏ qua tất cả các tỷ số có giá trị nhỏ hơn 0,01 lần R_3 (0,01 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: *N*-(2,6-dimethylphenyl)pyridin-2-carboxamid.

Tạp chất B: (2*RS*)-*N*-(2,6-dimethylphenyl)piperidin-2-carboxamid.

Tạp chất C: 1-(2,6-dimethylphenyl)-1,5,6,7-tetrahydro-2*H*-azepin-2-on.

Tạp chất D: (2*RS*)-2,6-dicloro-*N*-(2,6-dimethylphenyl)hexanamid.

Tạp chất E: 6-(butylamino)-*N*-(2,6-dimethylphenyl)hexanamid.

Tạp chất F: 2,6-dimethylanilin.

2,6-Dimethylanilin

Không được quá 0,01 %.

Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Thêm 1 ml *dung dịch dimethylaminobenzaldehyd 1,0 % trong methanol* vừa mới pha và 2 ml *acid acetic băng (TT)* vào 2 ml dung dịch thu được ở trên và để yên trong 10 min. Nếu dung dịch có màu vàng thì không được đậm màu hơn màu của dung dịch đối chiếu được chuẩn bị trong cùng điều kiện như dung dịch mẫu thử, dùng 2 ml dung dịch *2,6-dimethylanilin 0,0005 % trong methanol* thay cho dung dịch chế phẩm.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong hỗn hợp *nước - methanol* (15 : 85) và pha loãng thành 20 ml với cùng hỗn hợp dung môi. Lấy 12 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo phương pháp 2.

Dùng dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb, được chuẩn bị bằng cách pha loãng *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb (TT)* với hỗn hợp *nước - methanol* (15 : 85), để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Từ 4,5 % đến 6,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong một hỗn hợp gồm 20 ml *nước* và 25 ml *ethanol 96 % (TT)*. Thêm 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (CĐ)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N trong ethanol (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Đọc thể tích dung dịch chuẩn độ thêm vào giữa hai điểm uốn.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N trong ethanol (CĐ)* tương đương với 32,49 mg $C_{18}H_{28}N_2O.HCl$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

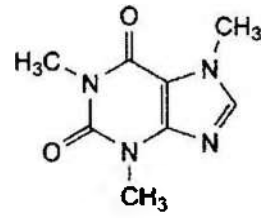
Thuốc gây tê tại chỗ.

Chế phẩm

Thuốc tiêm.

CAFEIN

Caffeinum



$C_8H_{10}N_4O_2$ P.t.l: 194,2

Cafein là 1,3,7-trimethyl-3,7-dihydro-1*H*-purin-2,6-dion, phải chứa từ 98,5 % đến 101,5 % $C_8H_{10}N_4O_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, mịn, hoặc tinh thể trắng hoặc gần như trắng. Dễ thăng hoa. Hơi tan trong nước, dễ tan trong nước sôi. Khó tan trong ethanol 96 %, tan trong các dung dịch đậm đặc của benzoat hay salicylat kiềm.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B, F.

Nhóm II: B, C, D, E, F.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của cafein chuẩn.

B. Điểm chảy: Từ 234 °C đến 239 °C (Phụ lục 6.7).

C. Cho 0,05 ml *dung dịch iod - iodid (TT)* vào 2 ml dung dịch bão hòa chế phẩm. Dung dịch vẫn trong. Thêm 0,1 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*. Có tủa nâu xuất hiện, tủa này tan khi trung hòa bằng *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*.

D. Hòa tan 10,0 mg chế phẩm bằng 0,25 ml hỗn hợp của 0,5 ml *acetylaceton (TT)* và 5 ml *dung dịch natri hydroxyl loãng (TT)* trong một ống thủy tinh có nút mài. Đun nóng trong cách thủy ở 80 °C trong 7 min. Để nguội và thêm 0,5 ml *dung dịch dimethylaminobenzaldehyd (TT_2)*. Tiếp tục đun nóng trong cách thủy ở 80 °C trong 7 min. Để nguội và thêm 10 ml *nước*, màu xanh lam đậm xuất hiện.

E. Chế phẩm phải cho phản ứng của nhóm xanthin (Phụ lục 8.1).

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

Tổng các tạp chất: Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2), tính tỷ số (R_3) giữa diện tích của pic chính với diện tích pic của chất chuẩn nội. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, tính tỷ số giữa tổng diện tích của tất cả các pic phụ ngoài pic chính và pic tương ứng với chất chuẩn nội, với diện tích pic của chất chuẩn nội: Tỷ số này không được lớn hơn R_3 (1,0 %). Bỏ qua tất cả các tỷ số có giá trị nhỏ hơn 0,01 lần R_3 (0,01 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: *N*-(2,6-dimethylphenyl)pyridin-2-carboxamid.

Tạp chất B: (2*RS*)-*N*-(2,6-dimethylphenyl)piperidin-2-carboxamid.

Tạp chất C: 1-(2,6-dimethylphenyl)-1,5,6,7-tetrahydro-2*H*-azepin-2-on.

Tạp chất D: (2*RS*)-2,6-dicloro-*N*-(2,6-dimethylphenyl)hexanamid.

Tạp chất E: 6-(butylamino)-*N*-(2,6-dimethylphenyl)hexanamid.

Tạp chất F: 2,6-dimethylanilin.

2,6-Dimethylanilin

Không được quá 0,01 %.

Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Thêm 1 ml *dung dịch dimethylaminobenzaldehyd 1,0 % trong methanol* vừa mới pha và 2 ml *acid acetic băng (TT)* vào 2 ml dung dịch thu được ở trên và để yên trong 10 min. Nếu dung dịch có màu vàng thì không được đậm màu hơn màu của dung dịch đối chiếu được chuẩn bị trong cùng điều kiện như dung dịch mẫu thử, dùng 2 ml dung dịch *2,6-dimethylanilin 0,0005 % trong methanol* thay cho dung dịch chế phẩm.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong hỗn hợp *nước - methanol* (15 : 85) và pha loãng thành 20 ml với cùng hỗn hợp dung môi. Lấy 12 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo phương pháp 2.

Dùng dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb, được chuẩn bị bằng cách pha loãng *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb (TT)* với hỗn hợp *nước - methanol* (15 : 85), để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Từ 4,5 % đến 6,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong một hỗn hợp gồm 20 ml *nước* và 25 ml *ethanol 96 % (TT)*. Thêm 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (CĐ)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N trong ethanol (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Đọc thể tích dung dịch chuẩn độ thêm vào giữa hai điểm uốn.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N trong ethanol (CĐ)* tương đương với 32,49 mg $C_{18}H_{28}N_2O.HCl$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

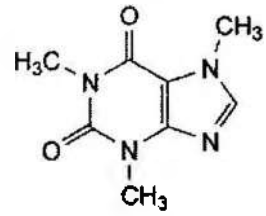
Thuốc gây tê tại chỗ.

Chế phẩm

Thuốc tiêm.

CAFEIN

Caffeinum



$C_8H_{10}N_4O_2$ P.t.l: 194,2

Cafein là 1,3,7-trimethyl-3,7-dihydro-1*H*-purin-2,6-dion, phải chứa từ 98,5 % đến 101,5 % $C_8H_{10}N_4O_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, mịn, hoặc tinh thể trắng hoặc gần như trắng. Dễ thăng hoa. Hơi tan trong nước, dễ tan trong nước sôi. Khó tan trong ethanol 96 %, tan trong các dung dịch đậm đặc của benzoat hay salicylat kiềm.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B, F.

Nhóm II: B, C, D, E, F.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của cafein chuẩn.

B. Điểm chảy: Từ 234 °C đến 239 °C (Phụ lục 6.7).

C. Cho 0,05 ml *dung dịch iod - iodid (TT)* vào 2 ml dung dịch bão hòa chế phẩm. Dung dịch vẫn trong. Thêm 0,1 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*. Có tủa nâu xuất hiện, tủa này tan khi trung hòa bằng *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*.

D. Hòa tan 10,0 mg chế phẩm bằng 0,25 ml hỗn hợp của 0,5 ml *acetylaceton (TT)* và 5 ml *dung dịch natri hydroxyl loãng (TT)* trong một ống thủy tinh có nút mài. Đun nóng trong cách thủy ở 80 °C trong 7 min. Để nguội và thêm 0,5 ml *dung dịch dimethylaminobenzaldehyd (TT_2)*. Tiếp tục đun nóng trong cách thủy ở 80 °C trong 7 min. Để nguội và thêm 10 ml *nước*, màu xanh lam đậm xuất hiện.

E. Chế phẩm phải cho phản ứng của nhóm xanthin (Phụ lục 8.1).

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

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan bằng cách đun nóng 0,5 g chế phẩm trong 50 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* được chuẩn bị từ *nước cất*, để nguội và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid
Thêm 0,05 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT_1)* vào 10 ml dung dịch S. Dung dịch có màu xanh lục hay vàng. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)* cần dùng để màu của dung dịch chuyển thành xanh lam không quá 0,2 ml.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Tetrahydrofuran - acetonitril - dung dịch đệm pH 4,5* (20 : 25 : 955).
Dung dịch đệm pH 4,5: *Dung dịch natri acetat 0,082 % (TT)* được điều chỉnh đến pH 4,5 bằng *acid acetic băng (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm vào pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 2,0 ml dung dịch thử thu được thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg cafein chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa các tạp chất A, C, D và F) vào pha động và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *base-deactivated end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 275 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 1,5 lần thời gian lưu của cafein.
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo cafein chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của các tạp chất A, C, D và F.
Thời gian lưu của cafein khoảng 8 min.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất C với pic của tạp chất D ít nhất là 2,5; độ phân giải giữa pic của tạp chất F với pic của tạp chất A ít nhất là 2,5.
Giới hạn:
Các tạp chất chưa xác định: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,25 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 1,3-Dimethyl-3,7-dihydro-1*H*-purin-2,6-dion (theophylin).
Tạp chất B: *N*-(6-Amino-1,3-dimethyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydropyrimidin-5-yl)formamid.
Tạp chất C: 1,3,9-Trimethyl-3,9-dihydro-1*H*-purin-2,6-dion (isocafein).
Tạp chất D: 3,7-Dimethyl-3,7-dihydro-1*H*-purin-2,6-dion (theobromin).
Tạp chất E: N,1-Dimethyl-4-(methylamino)-1*H*-imidazol-5-carboxamid (cafeidin).
Tạp chất F: 1,7-Dimethyl-3,7-dihydro-1*H*-purin-2,6-dion.

Sulfat
Không được quá 0,05 % (Phụ lục 9.4.14).
Lấy 15 ml dung dịch S tiến hành thử. Dùng hỗn hợp của 7,5 ml *dung dịch sulfat mẫu 10 phần triệu SO_4 (TT)* và 7,5 ml *nước cất* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C; 1 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9), phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 170 mg chế phẩm trong 5 ml *acetic khan (TT)* bằng cách đun nóng. Để nguội, thêm 10 ml *anhydrid acetic (TT)* và 20 ml *toluen (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 19,42 mg $C_8H_{10}N_4O_2$.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Kích thích thần kinh trung ương, lợi tiểu.

Chế phẩm
Viên nén kết hợp aspirin, thuốc tiêm.

THUỐC TIÊM CAFEIN VÀ NATRI BENZOAT
Injectio Coffeini et Natrii benzoas

Là dung dịch vô khuẩn có chứa cafein và natri benzoat trong nước để pha thuốc tiêm.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cafein, $C_8H_{10}N_4O_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng natri benzoat, $C_7H_5NaO_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được trong phần định lượng phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của cafein chuẩn đối chiếu.
B. Dùng một dây bạch kim hay đũa thủy tinh nhúng vào dung dịch chế phẩm, đưa vào ngọn lửa không màu, ngọn lửa sẽ nhuộm thành màu vàng.
C. Lấy 0,5 ml dung dịch chế phẩm, thêm vài giọt *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)*, sẽ xuất hiện tủa màu hồng.
D. Lấy 5 ml dung dịch chế phẩm, thêm 0,3 ml *acid hydrocloric (TT)*, sẽ xuất hiện tủa trắng.

pH
Từ 6,5 đến 8,5 (Phụ lục 6.2).

Nội độc tố vi khuẩn
Không quá 0,7 EU/mg, tính theo tổng số mg cafein và natri benzoat ghi trên nhãn (Phụ lục 13.2).

Định lượng
Cafein: Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương đương với khoảng 0,21 g cafein vào một bình gạn nhỏ, thêm 5 ml *nước*, 1 giọt *dung dịch phenolphtalein (TT)* làm chỉ thị và nhỏ từng giọt *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (TT)* tới màu hồng bền vững. Chiết hỗn hợp bằng *cloroform (TT)* ít nhất 3 lần, mỗi lần 20 ml, lọc mỗi dịch chiết cloroform qua phễu lọc đã thấm ướt trước bằng *cloroform (TT)*, cho vào một chén đã cân bì (giữ lại lớp nước để định lượng natri benzoat). Rửa bình gạn, phễu lọc trên với 10 ml *cloroform (TT)* nóng, tập trung vào chén rồi làm bay hơi cloroform trên cách thủy. Thêm 2 ml *ethanol (TT)* vào chén trước khi cloroform bay hơi hết. Tiếp tục làm bay hết dung môi, sấy cắn $C_8H_{10}N_4O_2$ ở 80 °C trong 4 h, để nguội và cân.
Natri benzoat: Cho 75 ml *ether (TT)* và 5 giọt *dung dịch methyl da cam (TT)* làm chỉ thị vào lớp nước thu được ở phần định lượng cafein, chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)*, vừa nhỏ vừa lắc mạnh đến khi xuất hiện màu hồng bền vững trong lớp nước.
1 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 14,41 mg $C_7H_5NaO_2$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng trực tiếp.

Loại thuốc
Kích thích thần kinh trung ương, lợi tiểu.

Hàm lượng thường dùng
250 mg cafein và 350 mg natri benzoat trong 1 ml chế phẩm.

CALCI CARBONAT
Calcii carbonas

$CaCO_3$ P.t.l: 100,1

Calci carbonat phải chứa từ 98,5 % đến 100,5 % $CaCO_3$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột trắng hoặc gần như trắng. Thực tế không tan trong nước.

Định tính
A. Chế phẩm phải cho phản ứng của carbonat (Phụ lục 8.1)
B. *Dung dịch S*: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 80 ml *acid acetic loãng (TT)*. Sau khi sủi hết bọt, đun sôi dung dịch trong 2 min. Để nguội và pha loãng thành 100 ml bằng *acid acetic loãng (TT)*, lọc qua phễu thủy tinh xốp, dịch lọc là dung dịch S.
0,2 ml dung dịch S phải cho phản ứng của calci (Phụ lục 8.1).
Cắn trên phễu để làm thử nghiệm "Chất không tan trong acid acetic".

Chất không tan trong acid acetic
Không được quá 0,2 %.
Rửa cắn trên phễu thu được khi chuẩn bị dung dịch S 4 lần, mỗi lần với 5 ml *nước* nóng và sấy khô ở nhiệt độ từ 100 °C đến 105 °C trong 1 h, khối lượng cắn còn lại không được lớn hơn 10 mg.

Clorid
Không được quá 0,033 % (Phụ lục 9.4.5).
Pha loãng 3 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Sulfat
Không được quá 0,25 % (Phụ lục 9.4.14).
Pha loãng 1,2 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước cất* và tiến hành thử.

Arsen
Không được quá 4 phần triệu. (Phụ lục 9.4.2).
Lấy 5,0 ml dung dịch S và tiến hành thử theo phương pháp A.

Bari
Thêm 10 ml *dung dịch calci sulfat (TT)* vào 10 ml dung dịch S. Sau ít nhất 15 min dung dịch thu được không được đục hơn độ đục của một hỗn hợp gồm 10 ml dung dịch S và 10 ml *nước cất*.

Sắt
Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.13).
Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 5 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và pha loãng thành 10 ml bằng *nước* để tiến hành thử.

Magnesi và các kim loại kiềm
Không được quá 1,5 %.
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 12 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*, đun sôi trong 2 min và thêm 20 ml *nước*, 1 g *amoni clorid (TT)* và 0,1 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)*. Thêm từng giọt *dung dịch amoniac 10 % (TT)* cho đến khi dung dịch chuyển màu và sau đó thêm tiếp 2,0 ml *dung dịch amoniac 10 % (TT)*. Đun đến sôi và thêm 50 ml *dung dịch amoni oxalat 4 % (TT)* nóng. Để yên 4 h, sau đó pha loãng thành 100 ml bằng *nước* và lọc qua phễu lọc phù hợp. Thêm 0,25 ml *acid sulfuric đậm đặc (TT)* vào 50 ml dịch lọc và bay hơi trên cách thủy đến khô. Nung cắn đến khối lượng không đổi ở nhiệt độ 600 °C ± 50 °C. Lượng cắn thu được không được lớn hơn 7,5 mg.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 12 ml dung dịch S và tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 2,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 200 °C ± 10 °C).

Định lượng
Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 3 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và 20 ml *nước*. Đun sôi 2 min, để nguội và pha loãng thành 50 ml bằng *nước*. Tiến hành chuẩn độ theo phương pháp định lượng calci bằng chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).
1 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 10,01 mg $CaCO_3$.

CÁC ĐẶC TÍNH LIÊN QUAN ĐẾN CÔNG DỤNG CỦA NGUYÊN LIỆU

Các đặc tính về Sự phân bố theo kích thước tiểu phân và Độ trơn chảy có thể liên quan đến việc sử dụng calci carbonat làm tá dược.

Bảo quản
Trong bao bì kín, ở nơi khô.

Loại thuốc
Kháng acid.

Chế phẩm
Viên nén. Viên nén kết hợp vitamin D.

VIÊN NÉN CALCI VÀ VITAMIN D_3

Tabellae Calcii carbonatis et Vitamini D_3

Là viên nén hay viên bao, chứa calci carbonat và colecalciferol.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng calci, Ca, từ 85,0 % đến 115,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng colecalciferol, $C_{27}H_{44}O$, từ 90,0 % đến 120,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Cân một lượng bột viên tương ứng với 40 mg calci, thêm 10 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)*, có sủi bọt khí. Thêm 10 ml *nước*, lắc kỹ, lọc. Dịch lọc cho các phản ứng đặc trưng của ion calci (Phụ lục 8.1).
B. Trong phần Định lượng colecalciferol, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic colecalciferol trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.

Định lượng
Định lượng calci: Cân 20 viên (đã loại bỏ lớp vỏ bao, nếu là viên bao), nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg calci, thêm 50 ml *nước* và 5 ml *acid hydrocloric (TT)*. Đun nhẹ tới sôi và tiếp tục đun sôi trong 2 min. Để nguội, thêm 50,0 ml *dung dịch natri edetat 0,05 M (CĐ)*. Trung hòa với *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, thêm 10 ml *dung dịch đệm amoniac pH 10,0 (TT)* và 50 ml *nước*. Chuẩn độ natri edetat thừa bằng *dung dịch kẽm clorid 0,05 M (CĐ)*, dùng *dung dịch đen eriocrom T (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch natri edetat 0,05 M (CĐ)* tương ứng với 2,004 mg Ca.
Định lượng colecalciferol
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Pha động: *Methanol - nước* (97 : 3).
Dung dịch chuẩn: Dung dịch colecalciferol chuẩn trong *methanol (TT)*, có nồng độ chính xác khoảng 20 đơn vị quốc tế/ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 2000 đơn vị quốc tế colecalciferol vào bình định mức 100 ml, thêm 80 ml *methanol 90 %*, lắc trong 5 min, rồi để siêu âm 5 min. Thêm *methanol 90 %* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Ly tâm và lọc. Sử dụng dịch lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 264 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng colecalciferol, $C_{27}H_{44}O$, trong viên dựa vào diện tích (hay chiều cao) pic colecalciferol trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và nồng độ $C_{27}H_{44}O$ của dung dịch chuẩn.
Ghi chú: Phương pháp này không áp dụng cho viên sản xuất từ nguyên liệu vi nang.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Bổ sung calci và vitamin D.

Hàm lượng thường dùng
Calci 500 mg và vitamin D 200 IU.

CALCI CLORID DIHYDRAT
Calcii chloridum dihydricum

$CaCl_2.2H_2O$ P.t.l: 147,0

Calci clorid dihydrat phải chứa từ 97,0 % đến 103,0 % $CaCl_2.2H_2O$.

Tính chất
Bột kết tinh trắng, dễ hút ẩm. Dễ tan trong nước, tan trong ethanol 96 %.

Định tính
A. Dung dịch S (xem Độ trong và màu sắc của dung dịch) cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).
B. Chế phẩm cho các phản ứng định tính của calci (Phụ lục 8.1).
C. Chế phẩm phải đáp ứng các chỉ tiêu giới hạn trong phần Định lượng.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 10,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu của dung dịch màu chuẩn V_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Lấy 10 ml dung dịch S mới pha, thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)*. Nếu dung dịch có màu đỏ, thêm 0,2 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (CĐ)*, dung dịch phải mất màu. Nếu dung dịch không màu, nó phải chuyển sang màu đỏ khi thêm không quá 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (CĐ)*.

Sulfat
Không được quá 0,03 % (Phụ lục 9.4.14).
Pha loãng 5 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước*.

Nhôm
Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 2 ml *dung dịch amoni clorid 10 % (TT)* và 1 ml *dung dịch amoniac loãng (TT)*. Đun sôi dung dịch. Dung dịch không được vẩn đục hay tạo tủa. Nếu chế phẩm dùng để pha các dung dịch thẩm tách thì nó phải đạt yêu cầu phép thử sau đây thay cho phép thử trên: Tối đa 1 phần triệu (Phụ lục 9.4.9).
Dung dịch thử: Hòa tan 4 g chế phẩm trong 100 ml *nước*, thêm 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0*.
Dung dịch đối chiếu: Trộn 2 ml *dung dịch nhôm mẫu 2 phần triệu Al (TT)*, 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0* và 98 ml *nước*.
Dung dịch mẫu trắng: Trộn 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0* với 100 ml *nước*.

Bari
Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 1 ml *dung dịch calci sulfat (TT)*. Sau ít nhất 15 min, dung dịch không được đục hơn dung dịch gồm 10 ml dung dịch S và 1 ml *nước*.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 12 ml dung dịch S thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).
Dùng 10 ml dung dịch S để thử.

Magnesi và các kim loại kiềm
Không được quá 0,5 %.
Lấy 20 ml dung dịch S, thêm 80 ml *nước*, 2 g *amoni clorid (TT)* và 2 ml *dung dịch amoniac 10 % (TT)*. Đun sôi. Rót vào dung dịch đang sôi này một dung dịch đang nóng gồm 5 g *amoni oxalat (TT)* đã hòa tan trong 75 ml *nước*. Để yên trong 4 h. Pha loãng thành 200 ml bằng *nước* rồi lọc. Lấy 100 ml dịch lọc, thêm 0,5 ml *acid sulfuric (TT)*. Bốc hơi cách thủy đến khô rồi nung ở 600 °C đến khối lượng không đổi. Lượng cặn không quá 5 mg.

Định lượng
Hòa tan 0,280 g chế phẩm trong 100 ml *nước* và tiến hành định lượng calci bằng phương pháp chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).
1 ml *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)* tương đương với 14,70 mg $CaCl_2.2H_2O$.

Loại thuốc
Khoáng chất.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Chế phẩm
Thuốc tiêm.

THUỐC TIÊM CALCI CLORID 10 %
Injectio Calcii chloridi 10 %

Là dung dịch vô khuẩn của calci clorid trong nước để pha thuốc tiêm.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng calci clorid, $CaCl_2.2H_2O$ từ 95,0 % đến 105,0 % so với hàm lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu. Nếu có màu, không được đậm hơn dung dịch màu mẫu VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Định tính
A. Lấy 1 ml chế phẩm, thêm vài giọt *dung dịch amoni oxalat 4 % (TT)*, tạo thành tủa trắng, tủa này ít tan trong *dung dịch acid acetic 6 M (TT)*, tan trong *acid hydrocloric (TT)*.
B. Dung dịch chế phẩm cho các phản ứng của clorid (Phụ lục 8.1).

pH
5,0 đến 8,0 (Phụ lục 6.2).

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 0,2 EU/mg calci clorid (Phụ lục 13.2).

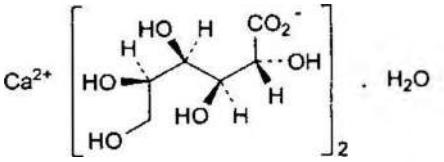
Định lượng
Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương đương với 0,3 g calci clorid, cho vào bình nón 500 ml, pha loãng với *nước* thành 300 ml. Thêm 6 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)*, 15 mg *hỗn hợp calcon (TT)* làm chỉ thị. Chuẩn độ bằng *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)* đến khi màu của dung dịch chuyển từ tím sang xanh hoàn toàn.
1 ml *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)* tương đương với 14,7 mg $CaCl_2.2H_2O$.

Bảo quản
Nơi khô mát.

Loại thuốc
Điều trị giảm calci huyết.

Hàm lượng thường dùng
Dung dịch tiêm 10 %.

CALCI GLUCONAT
Calcii gluconas



$C_{12}H_{22}CaO_{14}.H_2O$ P.t.l: 448,4

Calci gluconat là calci D-gluconat monohydrat, phải chứa từ 98,5 % đến 102,0 % $C_{12}H_{22}CaO_{14}.H_2O$.

Tính chất
Bột kết tinh hoặc dạng hạt trắng hoặc gần như trắng, hơi tan trong nước, dễ tan trong nước sôi.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G.*
Dung môi khai triển: Ethyl acetat - amoniac - nước - ethanol 96 % (10 : 10 : 30 : 50).
Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong 1 ml *nước*, nếu cần đun nóng trong cách thủy ở 60 °C.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20 mg calci gluconat chuẩn trong 1 ml *nước*, nếu cần đun nóng trong cách thủy ở 60 °C.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được một khoảng 10 cm. Lấy bản mỏng ra, sấy ở 100 °C trong 20 min. Để nguội. Phun lên bản mỏng *dung dịch kali dicromat 5 % trong dung dịch acid sulfuric 40 % (kl/kl)*. Sau 5 min, quan sát sắc ký đồ. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử có vị trí, màu sắc và kích thước tương tự vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. *Dung dịch S*: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước* đã được đun nóng đến 60 °C và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải cho các phản ứng của calci (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Ở 60 °C, màu của dung dịch S không được đậm hơn màu mẫu V_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2) và sau khi để nguội, dung dịch S không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu số II (Phụ lục 9.2).

Các tạp chất hữu cơ và acid boric
Lấy 0,5 g chế phẩm cho vào một chén sứ đã được tráng trước bằng *acid sulfuric (TT)* và đặt trong nước đá. Thêm 2 ml *acid sulfuric (TT)* đã làm lạnh trước và trộn đều. Không được xuất hiện màu vàng hoặc màu nâu. Thêm 1 ml *dung dịch chromotrop II B (TT)*. Xuất hiện màu tím và không được chuyển sang màu xanh đậm. Dung dịch này không được có màu đậm hơn màu của hỗn hợp gồm 1 ml *dung dịch chromotrop II B (TT)* và 2 ml *acid sulfuric (TT)* đã được làm lạnh trước.

Sacarose và các đường khử
Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong một hỗn hợp gồm 2 ml *dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT)* và 10 ml *nước*. Đun sôi trong 5 min. Để nguội. Thêm 10 ml *dung dịch natri carbonat 10 % (TT)* và để yên 10 min. Pha loãng với *nước* thành 25 ml và lọc. Lấy 5 ml dịch lọc, thêm 2 ml *thuốc thử Fehling (TT)* và đun sôi trong 1 min. Để yên 2 min. Không được tạo tủa đỏ.

Clorid
Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.5).
Pha loãng 12,5 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Sulfat
Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.4.14).
Hòa tan 10,0 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 10 ml *acid acetic (TT)* và 90 ml *nước cất* bằng cách đun nóng.

Magnesi và các kim loại kiềm thổ
Không được quá 0,4 % (Phụ lục 9.4.16).
Hòa tan 1,00 g chế phẩm trong 100 ml *nước* sôi, thêm 10 ml *dung dịch amoni clorid 10 % (TT)*, 1 ml *amoniac (TT)* và thêm từng giọt 50 ml *dung dịch amoni oxalat 4 % (TT)* nóng. Để yên 4 h, pha loãng thành 200 ml bằng *nước* và lọc. Bốc hơi 100 ml dịch lọc đến khô và nung. Khối lượng cắn thu được không được quá 2 mg.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 2,0 g chế phẩm, tiến hành theo phương pháp 4. Đun nóng dần dần và cẩn thận cho tới khi chế phẩm chuyển hoàn toàn thành khối màu trắng và sau đó nung.
Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Giới hạn nhiễm khuẩn
Tổng số vi sinh vật hiếu khí không được quá 10^3 CFU/g chế phẩm.
Tổng số nấm: Không được quá 10^2 CFU/g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,8000 g chế phẩm trong 20 ml *nước* nóng. Để nguội rồi pha loãng thành 300 ml bằng *nước*. Tiến hành định lượng calci bằng phương pháp chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).
1 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 44,84 mg $C_{12}H_{22}CaO_{14}.H_2O$.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Điều trị thiếu calci.

Chế phẩm
Viên nén, viên sủi bọt.

VIÊN NÉN SỦI CALCI GLUCONAT
Tabellae effervescenti Calcii gluconatis

Là viên nén chứa calci gluconat trong hỗn hợp tá dược và chất sủi bọt thích hợp.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng calci gluconat, $C_{12}H_{22}CaO_{14}.H_2O$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Hòa tan một lượng bột viên tương ứng với khoảng 1 g calci gluconat trong 20 ml *nước* nóng, để nguội và lọc. Lấy 0,5 ml dịch lọc, thêm 0,05 ml *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)*, xuất hiện màu vàng đậm.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Ethyl acetat - amoniac đậm đặc - nước - ethanol 96 % (10 : 10 : 30 : 50).
Dung dịch thử: Hòa tan một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,4 g calci gluconat trong 20 ml *nước*, đun nóng nếu cần trong nồi cách thủy ở 60 °C, để nguội, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20 mg calci gluconat chuẩn trong 1 ml *nước*, đun nóng nếu cần trong cách thủy ở 60 °C.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra, sấy ở 100 °C trong 20 min. Để nguội. Phun lên bản mỏng *dung dịch kali dicromat 5 % trong acid sulfuric 40 %* (theo khối lượng). Sau 5 min, quan sát sắc ký đồ. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vị trí, màu sắc và kích thước tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
C. Hòa tan một lượng bột viên tương ứng với khoảng 1 g calci gluconat trong 20 ml *nước* nóng, để nguội và lọc. Dịch lọc cho các phản ứng đặc trưng của ion calci (Phụ lục 8.1).
D. Viên nén sủi bọt khi thêm *nước*.

Định lượng
Cân 20 viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 500 mg calci gluconat vào một chén nung thích hợp. Đốt cẩn thận ở mức độ nhẹ sau đó nung cho đến khi vô cơ hóa hoàn toàn. Để nguội và hòa tan cắn trong 5 ml *acid hydrocloric 2 M (TT)* bằng cách đun nóng nhẹ. Lọc, rửa cắn trên phễu lọc với *nước* và pha loãng hỗn hợp dịch lọc và dịch rửa với *nước* thành 50 ml. Trung hòa với *dung dịch amoniac 5 M (TT)*, dùng *dung dịch đa cam methyl (TT)* làm chỉ thị, thêm 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 8 M (TT)* và định lượng với *dung dịch dinatri edetat 0,05 M (CĐ)*, sử dụng 300 mg *lam hydroxy naphtol (TT)* làm chỉ thị, đến khi dung dịch chuyển màu xanh lam.
1 ml *dung dịch dinatri edetat 0,05 M (CĐ)* tương ứng với 22,42 mg $C_{12}H_{22}CaO_{14}.H_2O$.

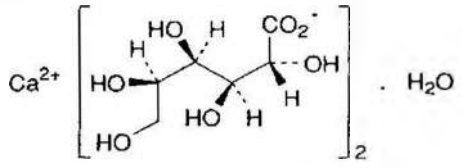
Bảo quản
Trong đồ đựng kín, nơi khô, thoáng, tránh ánh sáng.

Nhãn
Ghi rõ hòa tan với nước ngay trước khi sử dụng.

Loại thuốc
Thuốc bổ sung calci.

Hàm lượng thường dùng
600 mg.

CALCI GLUCONAT ĐỂ PHA THUỐC TIÊM
Calcii gluconas pro injectione



$C_{12}H_{22}CaO_{14}.H_2O$ P.t.l: 448,4

Calci gluconat để pha thuốc tiêm phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{12}H_{22}CaO_{14}.H_2O$.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc dạng hạt, hơi tan trong nước, dễ tan trong nước sôi.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Ethyl acetat - amoniac đậm đặc - nước - ethanol 96 % (10 : 10 : 30 : 50).
Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong 1 ml *nước*, đun nóng nếu cần trong nồi cách thủy ở 60 °C.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20 mg calci gluconat chuẩn trong 1 ml *nước*, đun nóng nếu cần trong cách thủy ở 60 °C.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được một khoảng 10 cm. Lấy bản mỏng ra, sấy ở 100 °C trong 20 min. Để nguội. Phun lên bản mỏng *dung dịch kali dicromat 5 %* trong *dung dịch acid sulfuric 40 %* (kl/kl). Sau 5 min, quan sát sắc ký đồ. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử có vị trí, màu sắc và kích thước tương tự vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Dung dịch S (xem Độ trong và màu sắc của dung dịch) cho phản ứng của calci (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Thêm 90 ml *nước* sôi vào 10,0 g chế phẩm và vừa đun sôi vừa khuấy trong vòng 10 s để chế phẩm tan hoàn toàn, pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Ở 60 °C, dung dịch S không được có màu đậm hơn màu của dung dịch mẫu N_7 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2). Sau khi làm lạnh đến 20 °C, dung dịch S không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2).

pH
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 20,0 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* bằng cách đun nóng trên cách thủy. pH của dung dịch từ 6,4 đến 8,3 (Phụ lục 6.2).

Các tạp chất hữu cơ và acid boric
Lấy 0,5 g chế phẩm cho vào một chén sứ đã được tráng trước bằng *acid sulfuric (TT)* và đặt trong nước đá. Thêm 2 ml *acid sulfuric (TT)* đã làm lạnh trước và trộn đều. Không được xuất hiện màu vàng hoặc màu nâu. Thêm 1 ml *dung dịch chromotrop II B (TT)*. Xuất hiện màu tím và không được chuyển sang màu xanh đậm. Dung dịch này không được có màu đậm hơn hỗn hợp gồm 1 ml *dung dịch chromotrop II B (TT)* và 2 ml *acid sulfuric (TT)* đã được làm lạnh trước.

Oxalat
Không được quá 100 phần triệu.
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 0,212 g *natri carbonat khan (TT)* và 63 mg *natri hydrocarbonat (TT)* trong *nước dùng cho sắc ký (TT)* và pha loãng thành 1000,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử: Hòa tan 1,00 g chế phẩm trong *nước dùng cho sắc ký (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan 1,00 g chế phẩm trong *nước dùng cho sắc ký (TT)*, thêm 0,5 ml *dung dịch natri oxalat 0,0152 % trong nước dùng cho sắc ký* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột bảo vệ kích thước (30 mm × 4 mm) được nhồi bằng nhựa trao đổi anion mạnh thích hợp (30 µm đến 50 µm).
Hai cột phân tích, mỗi cột kích thước (25 cm × 4 µm) được nhồi bằng nhựa trao đổi anion mạnh thích hợp (30 µm đến 50 µm).
Cột khử anion - vi màng được mắc nối tiếp với cột bảo vệ và các cột phân tích. Cột khử anion được gắn với vi màng để tách pha động khỏi dung dịch tái sinh chất khử; dung dịch này chảy ngược dòng với pha động với tốc độ 4 ml/min.
Dung dịch tái sinh chất khử là *dung dịch acid sulfuric 0,123 % trong nước dùng cho sắc ký.*
Detector: Điện dẫn.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch chuẩn 5 lần. Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic oxalat trên sắc ký đồ thu được không quá 2,0 %.
Tiêm dung dịch chuẩn, dung dịch thử, mỗi dung dịch 3 lần.
Tính hàm lượng oxalat (phần triệu) bằng công thức:

$$\frac{S_t \times 50}{S_s - S_t}$$

S_t là diện tích trung bình các pic oxalat trên sắc ký đồ của dung dịch thử.
S_s là diện tích trung bình các pic oxalat trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Sacarose và các đường khử
Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong một hỗn hợp gồm 2 ml *dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT)* và 10 ml *nước*. Đun sôi trong 5 min. Để nguội. Thêm 10 ml *dung dịch natri carbonat 10 % (TT)* và để yên 10 min. Pha loãng với *nước* thành 25 ml và lọc. Lấy 5 ml dịch lọc, thêm 2 ml *thuốc thử Fehling (TT)* và đun sôi trong 1 min. Để yên 2 min. Không được tạo tủa đỏ.

Clorid
Không được quá 50 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).
Thêm 5 ml *nước* vào 10 ml dung dịch S đã được lọc trước và tiến hành thử.

Phosphat
Không được quá 100 phần triệu (Phụ lục 9.4.12).
Pha loãng 1 ml dung dịch S thành 100 ml bằng *nước* để thử.

Sulfat
Không được quá 50 phần triệu (Phụ lục 9.4.14).
Lấy 15 ml dung dịch S đã được lọc để thử. Dùng hỗn hợp gồm 7,5 ml *dung dịch sulfat mẫu 10 phần triệu SO_4 (TT)* và 7,5 ml *nước* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt
Không được quá 5 phần triệu.
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Lấy 2,0 g chế phẩm cho vào cốc có mỏ polytetrafluoroethylen dung tích 100 ml. Thêm 5 ml *acid nitric (TT)*. Đun sôi, bay hơi đến gần khô. Thêm 1 ml *dung dịch hydrogen peroxyd đậm đặc (TT)* và lại bay hơi đến gần khô. Lặp lại quá trình xử lý bằng hydrogen peroxyd đến khi thu được dung dịch trong. Dùng 2 ml *acid nitric (TT)* để chuyển toàn bộ dung dịch trên vào bình định mức dung tích 25 ml. Pha loãng thành 25,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*.
Dung dịch mẫu trắng: Chuẩn bị giống như dung dịch thử nhưng dùng 0,65 g *calci clorid tetrahydrat (TT)* thay cho chế phẩm.
Các dung dịch chuẩn: Từ *dung dịch sắt mẫu 20 phần triệu Fe (TT)*, pha loãng bằng *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* để thu được các dung dịch chuẩn.
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 248,3 nm, dùng đèn sắt cathod rỗng làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - acetylen. Dùng đèn deuterium để tiến hành hiệu chỉnh đường nền.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 12 ml dung dịch S, tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị dung dịch đối chiếu.

Magnesi và các kim loại kiềm
Không được quá 0,4 %.

Lấy 0,5 g chế phẩm, thêm 10 ml *nước* và 1,0 ml *acid acetic loãng (TT)*. Đun sôi nhanh, vừa đun vừa lắc cho đến khi tan hoàn toàn. Thêm vào dung dịch đang sôi 5,0 ml *dung dịch amoni oxalat 4 % (TT)* rồi để yên ít nhất 6 h. Lọc qua phễu lọc thủy tinh xốp (độ xốp 1,6) vào một chén sứ. Bốc hơi cẩn thận dịch lọc đến khô rồi nung. Khối lượng cặn không được quá 2 mg.

Giới hạn nhiễm khuẩn
Tổng số vi sinh vật hiếu khí không quá 10^2 CFU/g chế phẩm, xác định bằng phương pháp đĩa thạch.
Chế phẩm không được có *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* và *Staphylococcus aureus* (Phụ lục 13.6).

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 167 EU trong 1 g chế phẩm (Phụ lục 13.2).

Định lượng
Hòa tan 0,350 g chế phẩm trong 20 ml *nước* nóng. Để nguội rồi pha loãng thành 300 ml với *nước*. Tiến hành định lượng calci bằng phương pháp chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5). Dùng 50 mg *hỗn hợp calcon (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)* tương đương với 44,84 mg $C_{12}H_{22}CaO_{14}.H_2O$.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Thuốc bổ sung calci.

Chế phẩm
Dùng để pha các chế phẩm thuốc tiêm có chứa calci gluconat.

THUỐC TIÊM CALCI GLUCONAT
Injectio Calcii gluconatis

Là dung dịch vô khuẩn của calci gluconat để pha thuốc tiêm trong nước để pha thuốc tiêm. Không quá 5,0 % lượng calci gluconat có thể được thay thế bằng các muối calci thích hợp làm chất ổn định.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng calci, Ca, từ 8,5 % đến 9,4 % so với lượng calci gluconat, $C_{12}H_{22}O_{14}Ca.H_2O$, ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Ethyl acetat - amoniac đậm đặc nước - ethanol 96 % (10 : 10 : 30 : 50).
Dung dịch thử: Pha loãng chế phẩm với *nước* để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 20 mg calci gluconat/ml.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20 mg calci gluconat chuẩn trong 1 ml *nước*, đun nóng nếu cần trong cách thủy ở 60 °C.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được một khoảng 10 cm. Lấy bản mỏng ra, sấy ở 100 °C trong 20 min. Để nguội. Phun lên bản mỏng *dung dịch kali dicromat 5 %* trong *dung dịch acid sulfuric 40 %* (kl/kl). Sau 5 min, quan sát sắc ký đồ. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử có vị trí, màu sắc và kích thước tương tự vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Lấy 1 ml chế phẩm, thêm 0,05 ml *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)*, xuất hiện màu vàng đậm.
C. Chế phẩm cho các phản ứng đặc trưng của ion calci (Phụ lục 8.1).

pH
Từ 6,0 đến 8,2 (Phụ lục 6.2).

Nội độc tố vi khuẩn
Phải đạt yêu cầu thử nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2). Nếu cần, pha loãng chế phẩm với *nước BET* để thu được dung dịch có nồng độ 100 mg calci gluconat/ml (dung dịch A). Nồng độ giới hạn nội độc tố của dung dịch A là 16,7 EU/ml.

Định lượng
Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương ứng với khoảng 0,5 g calci gluconat, tiến hành định lượng calci bằng phương pháp chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Bổ sung calci.

Hàm lượng thường dùng
10 %.

CALCI GLYCEROPHOSPHAT
Calcii glycerophosphas

$C_3H_7CaO_6P$ P.t.l: 210,1

Calci glycerophosphat là hỗn hợp với tỷ lệ thay đổi của calci (*RS*)-2,3-dihydroxypropyl phosphat và calci 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)ethyl phosphat có thể được ngậm nước, phải chứa từ 18,6 % đến 19,4 % Ca, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột trắng, dễ hút ẩm, hơi tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96%.

Định tính
A. Trộn 1 g chế phẩm với 1 g *kali hydrosulfat (TT)* trong một ống nghiệm được nối với ống thủy tinh. Đun nóng mạnh và dẫn khói trắng bay ra cho tiếp xúc với một mẩu giấy lọc đã được tẩm *dung dịch natri nitroprusiat 1 %* vừa mới pha. Giấy lọc này sẽ xuất hiện màu xanh khi tiếp xúc với *piperidin (TT)*.
B. Nung 0,1 g chế phẩm trong một chén nung. Tẩm ướt cắn bằng 5 ml *acid nitric (TT)* và đun nóng trên cách thủy 1 min. Lọc. Dịch lọc cho phản ứng của ion phosphat (Phụ lục 8.1).
C. Chế phẩm phải cho phản ứng (B) của ion calci (Phụ lục 8.1).

Độ trong của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 1,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 150 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu III (Phụ lục 9.2).

Giới hạn acid - kiềm
Thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* vào 100 ml dung dịch S. Không được dùng quá 1,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* hoặc 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* để làm thay đổi màu của chỉ thị.

Acid citric
Lắc 5,0 g chế phẩm với 20 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* và lọc. Thêm 0,15 ml *acid sulfuric (TT)* vào dịch lọc và lọc tiếp. Thêm 5 ml *dung dịch thủy ngân (II) sulfat (TT)* vào dịch lọc, đun cho đến sôi. Thêm 0,5 ml *dung dịch kali permanganat 0,32 %* và lại đun đến sôi. Không được có tủa tạo thành.

Glycerin và các chất tan trong ethanol 96 %
Không được quá 0,5 %.
Lắc 1,000 g chế phẩm với 25 ml *ethanol 96 % (TT)* trong 1 min. Lọc. Làm bay hơi dịch lọc cho đến khô trên nồi cách thủy và sấy cắn ở 70 °C trong 1 h. Cắn thu được không được quá 5 mg.

Clorid
Không được quá 0,05 % (Phụ lục 9.4.5).
Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 2 ml *acid acetic (TT)* và 8 ml *nước*, pha loãng thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Phosphat
Không được quá 0,04 % (Phụ lục 9.4.12).
Pha loãng 2,5 ml dung dịch S thành 100 ml bằng *nước* để thử.

Sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.4.14).
Dùng 15 ml dung dịch S.

Arsen
Không được quá 3 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).
Hòa tan 0,33 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi. Thử theo phương pháp A.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 3,5 (TT)* và pha loãng với *nước* vừa đủ 20 ml. Lấy 12 ml dung dịch thu được thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt
Không được quá 50 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).
Dùng 0,2 g chế phẩm.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 12,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 150 °C; 4 h).

Định lượng
Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong *nước* và tiến hành định lượng calci bằng phương pháp chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).
1 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 4,008 mg Ca.

Bảo quản
Trong lọ kín.

Loại thuốc
Bổ sung calci.

CALCI HYDROXYD
Calcii hydroxydum

$Ca(OH)_2$ P.t.l: 74,09

Calci hydroxyd phải chứa từ 95,0 % đến 100,5 % $Ca(OH)_2$.

Tính chất
Bột mịn, trắng, thực tế không tan trong nước.

Định tính
A. Thêm 10 ml *nước* và 0,5 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* vào 0,80 g chế phẩm trong cối, trộn đều. Hỗn dịch thu được có màu đỏ. Thêm 17,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*, hỗn dịch trở thành không màu và không sủi bọt. Màu đỏ xuất hiện trở lại khi hỗn hợp trên được nghiền trong 1 min. Thêm tiếp 6 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* và nghiền, dung dịch này lại trở thành không màu.
B. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và pha loãng thành 10 ml bằng *nước*. 5 ml dung dịch thu được cho phản ứng của ion calci (Phụ lục 8.1).

Chất không tan trong acid hydrocloric
Không được quá 0,5 %.
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong 30 ml *acid hydrocloric (TT)*. Đun sôi dung dịch và lọc. Rửa cắn với *nước* nóng và nung cắn đến khối lượng không đổi, cân. Khối lượng cắn không được quá 10 mg.

Carbonat
Không được quá 5,0 % $CaCO_3$.
Thêm 5,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 N (CĐ)* vào dung dịch đã được chuẩn độ ở phần Định lượng và chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ)*, dùng 0,5 ml *dung dịch da cam methyl (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 N (CĐ)* tương đương với 50,05 mg $CaCO_3$.

Clorid
Không được quá 0,033 % (Phụ lục 9.4.5).
Hòa tan 0,30 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 2 ml *acid nitric (TT)* và 10 ml *nước*, sau đó pha loãng thành 30 ml bằng *nước*. Lấy 15 ml dung dịch thu được tiến hành thử.

Sulfat
Không được quá 0,4 % (Phụ lục 9.4.14).
Hòa tan 0,15 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 5 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và 10 ml *nước*, sau đó pha loãng thành 60 ml bằng *nước*. Lấy 15 ml dung dịch thu được tiến hành thử.

Arsen
Không được quá 4 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).
Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong 5 ml *dung dịch acid hydrocloric đã brom hóa (TT)* và pha loãng thành 50 ml bằng *nước*. Lấy 25 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo phương pháp A.

Magnesi và các kim loại kiềm
Không được quá 4,0 % (tính theo sulfat).
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 10 ml *acid hydrocloric (TT)* và 40 ml *nước*. Đun sôi, thêm 50 ml *dung dịch acid oxalic 6,3 % (TT)*. Trung hòa với *amoniac (TT)* và pha loãng thành 200 ml bằng *nước*. Để yên 1 h và lọc qua dụng cụ lọc thích hợp. Lấy 100 ml dịch lọc, thêm 0,5 ml *acid sulfuric (TT)*, bốc hơi cẩn thận đến khô và nung đến khối lượng không đổi. Khối lượng cắn không được quá 20 mg.

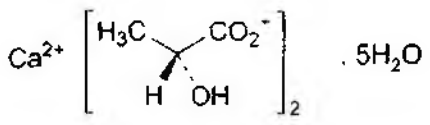
Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT)* và bốc hơi đến khô trên cách thủy. Hòa tan cắn trong 20 ml *nước* và lọc.
Lấy 12 ml dịch lọc tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch ion chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Định lượng
Cân 1,500 g chế phẩm chuyển vào cối, thêm 25 ml *nước* và 0,5 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)*. Vừa nghiền đều chế phẩm trong cối vừa chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 N (CĐ)* cho đến khi màu đỏ biến mất. Dung dịch sau khi định lượng được dùng để thử carbonat.
1 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 N (CĐ)* tương đương với 37,05 mg $Ca(OH)_2$.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc
Kháng acid.

CALCI LACTAT PENTAHYDRAT
Calcii lactas pentahydricus



và đồng phân đối quang

$C_6H_{10}CaO_6.5H_2O$ P.t.l (dạng khan): 218,2

Calci lactat pentahydrat là calci bis-2-hydroxy-propanoat hoặc hỗn hợp của calci (2*R*)-, (2*S*)- và (2*RS*)-2-hydroxypropanoat pentahydrat, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_6H_{10}CaO_6$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột dạng hạt hoặc tinh thể trắng hoặc gần như trắng, lên hoa nhẹ. Tan trong nước, dễ tan trong nước sôi, rất khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính
A. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Mất khối lượng do làm khô.
B. Chế phẩm phải cho phản ứng của ion lactat và phản ứng (B) của ion calci (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 7,1 g chế phẩm (tương đương với 5,0 g chế phẩm đã làm khô) trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* bằng cách đun nóng, để nguội và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* và 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CD)* vào 10 ml dung dịch S. Dung dịch thu được phải không màu. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CD)* để làm chuyển màu của chỉ thị sang hồng không quá 2,0 ml.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 0,75 g *calci phosphat monohydrat (TT)* trong 20 ml *nước*. Thêm 1,0 ml *acid phosphoric (TT)* và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*. pH của dung dịch là 2,2. Nếu cần, điều chỉnh pH bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 200,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch phân giải: Hòa tan 25 mg *calci lactat (TT)* và 25 mg *2-hydroxybutyrat natri (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (30 cm × 7,8 mm) được nhồi nhựa trao đổi cation mạnh dùng cho sắc ký (dạng calci) (8 µm).
Nhiệt độ cột: 85 °C.
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 215 nm.
Tốc độ dòng: 0,4 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp hai lần thời gian lưu của acid lactic.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối phân giải, độ phân giải giữa pic của acid lactic (thời gian lưu khoảng 24,3 min) và pic của tạp chất acid (2*RS*)-2-hydroxybutanoic (thời gian lưu tương đối so với pic của acid lactic là 1,16) ít nhất là 4.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:
Diện tích của pic tương ứng với tạp chất acid (2*RS*)-2-hydroxybutanoic sau khi nhân với hệ số hiệu chỉnh là 0,6 không được quá 0,4 lần diện tích của pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (0,2 %).
Diện tích của bất cứ pic phụ nào không được quá 0,2 lần diện tích của pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (0,1 %).
Tổng diện tích của các pic phụ ngoài pic của acid lactic không được vượt quá diện tích của pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %).
Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích của pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (0,05 %) và các pic có thời gian lưu nhỏ hơn 14 min.

Clorid
Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.5).
Pha loãng 5 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Sulfat
Không được quá 0,04 % (Phụ lục 9.4.14).
Pha loãng 7,5 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Bari
Thêm 1 ml *dung dịch calci sulfat (TT)* vào 10 ml dung dịch S. Để yên 15 min. Dung dịch trên không được đục hơn dung dịch chứa 1 ml *nước* và 10 ml dung dịch S.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan một lượng chế phẩm tương đương với 2,0 g chế phẩm đã làm khô trong *nước* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.
Lấy 12 ml dung dịch thu được thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt
Không được quá 50 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).
Pha loãng 4,0 ml dung dịch S thành 10 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Muối magnesi và các kim loại kiềm
Không được quá 1 %.
Thêm 20 ml *nước*, 2 g *amoni clorid (TT)* và 2 ml *dung dịch amoniac loãng (TT)* vào 20 ml dung dịch S. Đun đến sôi và thêm nhanh 40 ml *dung dịch amoni oxalat 4 % (TT)* đang nóng. Để yên trong 4 h, pha loãng đến 100 ml bằng *nước* và lọc. Thêm 0,5 ml *acid sulfuric (TT)* vào 50,0 ml dịch lọc, bốc hơi đến khô và nung cắn đến khối lượng không đổi ở 600 °C. Cắn thu được không quá 5 mg.

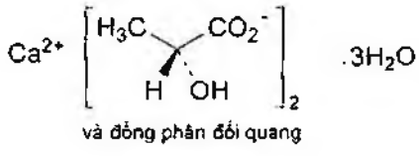
Mất khối lượng do làm khô
Từ 22,0 % đến 27,0 % (Phụ lục 9.6).
(0,500 g; 125 °C).

Định lượng
Hòa tan một lượng chế phẩm tương đương với 0,200 g chế phẩm đã làm khô trong *nước* và pha loãng thành 300 ml bằng *nước*. Tiến hành định lượng calci bằng phương pháp chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).
1 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 21,82 mg $C_6H_{10}CaO_6$.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc
Điều trị thiếu calci.

CALCI LACTAT TRIHYDRAT
Calcii lactas trihydricus



và đồng phân đối quang

$C_6H_{10}CaO_6.3H_2O$ P.t.l (dạng khan): 218,2

Calci lactat trihydrat là calci bis-2-hydroxypropanoat hoặc hỗn hợp của calci (2*R*)-, (2*S*)- và (2*RS*)-2-hydroxypropanoat trihydrat, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_6H_{10}CaO_6$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột dạng hạt hoặc tinh thể trắng hoặc gần như trắng. Tan trong nước, dễ tan trong nước sôi, rất khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính
A. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Mất khối lượng do làm khô.
B. Chế phẩm phải cho phản ứng của ion lactat và phản ứng (B) của ion calci (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 6,2 g chế phẩm (tương đương với 5,0 g chế phẩm đã làm khô) trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* bằng cách đun nóng, để nguội và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* và 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* vào 10 ml dung dịch S. Dung dịch thu được phải không màu. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)* để làm chuyển màu của chỉ thị sang hồng không quá 2,0 ml.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 0,75 g *calci phosphat monohydrat* trong 20 ml *nước*. Thêm 1,0 ml *acid phosphoric (TT)* và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*. pH của dung dịch là 2,2. Nếu cần, điều chỉnh pH bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 200,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch phân giải: Hòa tan 25 mg *calci lactat (TT)* và 25 mg *natri 2-hydroxybutyrat (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (30 cm × 7,8 mm) được nhồi *nhựa trao đổi cation mạnh dùng cho sắc ký* (dạng calci) (8 µm).
Nhiệt độ cột: 85 °C.
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 215 nm.
Tốc độ dòng: 0,4 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của acid lactic.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa pic của acid lactic (thời gian lưu khoảng 24,3 min) và pic của tạp acid (2RS)-2-hydroxybutanoic (thời gian lưu tương đối so với pic của acid lactic là 1,16) ít nhất là 4.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:
Diện tích của pic tương ứng với tạp chất acid (2RS)-2-hydroxybutanoic sau khi nhân với hệ số hiệu chỉnh là 0,6 không được quá 0,4 lần diện tích của pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (0,2 %).
Diện tích của bất cứ pic phụ nào khác đều không được quá 0,2 lần diện tích của pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (0,1 %).
Tổng diện tích của các pic phụ ngoài pic của acid lactic không được vượt quá diện tích của pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích của pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (0,05 %) và các pic có thời gian lưu nhỏ hơn 14 min.

Clorid
Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.5).
Pha loãng 5 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Sulfat
Không được quá 0,04 % (Phụ lục 9.4.14).
Pha loãng 7,5 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Bari
Thêm 1 ml *dung dịch calci sulfat (TT)* vào 10 ml dung dịch S. Để yên 15 min. Dung dịch trên không được đục hơn dung dịch chứa 1 ml *nước* và 10 ml dung dịch S.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan một lượng chế phẩm tương đương với 2,0 g chế phẩm đã làm khô trong vừa đủ 20 ml *nước*.
Lấy 12 ml dung dịch thu được thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt
Không được quá 50 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).
Pha loãng 4,0 ml dung dịch S thành 10 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Muối của magnesi và các kim loại kiềm
Không được quá 1 %.
Thêm 20 ml *nước (TT)*, 2 g *amoni clorid (TT)* và 2 ml *dung dịch amoniac loãng (TT)* vào 20 ml dung dịch S. Đun đến sôi và thêm nhanh 40 ml *dung dịch amoni oxalat 4 % (TT)* đang nóng. Để yên trong 4 h, pha loãng thành 100 ml bằng *nước* và lọc. Thêm 0,5 ml *acid sulfuric (TT)* vào 50,0 ml dịch lọc, bốc hơi đến khô và nung cắn đến khối lượng không đổi ở 600 °C. Cắn thu được không quá 5 mg.

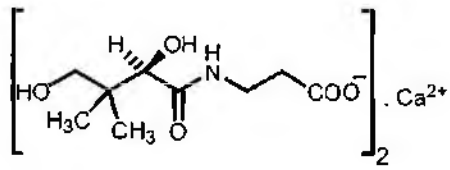
Mất khối lượng do làm khô
Từ 15,0 % đến 20,0 % (Phụ lục 9.6).
(0,500 g; 125 °C).

Định lượng
Hòa tan một lượng chế phẩm tương đương với 0,200 g chế phẩm đã làm khô trong *nước* và pha loãng thành 300 ml bằng *nước*. Tiến hành định lượng calci bằng phương pháp chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).
1 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 21,82 mg $C_6H_{10}CaO_6$.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc
Điều trị thiếu calci.

CALCI PANTOTHENAT
Calcii pantothenas



$C_{18}H_{32}CaN_2O_{10}$ P.t.l: 476,5

Calci pantothenat là calci bis[(*R*)-3-(2,4-dihydroxy-3,3-dimethylbutyramido)propionat], phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $C_{18}H_{32}CaN_2O_{10}$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột trắng, hơi hút ẩm. Dễ tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong ether.

Định tính
A. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Góc quay cực riêng.
B. Trong phần Acid 3-aminopropionic, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải giống về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
C. Thêm 1 ml dung *dịch natri hydroxyd loãng (TT)* và 0,1 ml *dung dịch đồng sulfat 12,5 % (TT)* vào 1 ml dung dịch S. Màu xanh xuất hiện.
D. Chế phẩm phải cho phản ứng của ion calci (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
pH của dung dịch S phải từ 6,8 đến 8,0 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng
Từ +25,5° đến +27,5°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Dùng dung dịch S để đo.

Acid 3-aminopropionic
Không được quá 0,5 %.
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Nước - ethanol* (35 : 65).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg calci pantothenat chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg *acid 3-aminopropionic (TT)* trong *nước* và thêm *nước* vừa đủ 50 ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên và triển khai bản mỏng tới khi dung dịch đi được 12 cm. Làm khô bản mỏng ngoài không khí và phun *dung dịch ninhydrin (TT)*. Sấy ở 110 °C trong 10 min. Bất kỳ vết phụ nào tương ứng với acid 3-aminopropionic trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) cũng không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Clorid
Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.5).
Pha loãng 5 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 12 ml dung dịch S tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 3,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Định lượng
Hòa tan 0,180 g chế phẩm trong 50 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 6.12).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 23,83 mg $C_{18}H_{32}CaN_2O_{10}$.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín.

CALCI PHOSPHAT
Calcii phosphas

Chế phẩm là hỗn hợp các loại calci phosphat, chứa từ 35,0 % đến 40,0 % Ca.

Tính chất
Bột trắng hay gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, tan trong *acid hydrocloric loãng (TT)* và *acid nitric loãng (TT)*.

Định tính
A. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 5 ml *dung dịch acid nitric 25 % (tt/tt) (TT)*. Lấy 2 ml dung dịch thu được, thêm 2 ml *dung dịch amoni molybdat (TT)*, sẽ xuất hiện tủa vàng.
B. Nung 0,2 g chế phẩm trong chén sứ, để nguội. Thêm 0,5 ml *dung dịch bạc nitrat 4,25 % (TT)*, hỗn hợp sẽ có màu vàng.
C. Chế phẩm cho phản ứng (A) của ion calci (Phụ lục 8.1). Lọc trước khi thêm *dung dịch kali ferocyanid (TT)*.

Clorid
Không được quá 0,15 % (Phụ lục 9.4.5).
Hòa tan 0,22 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 1 ml *acid nitric đậm đặc (TT)* và 10 ml *nước*, pha loãng thành 100 ml bằng *nước*. Lấy 15 ml dung dịch thu được và tiến hành thử.

Fluorid
Không được quá 75 phần triệu.
Phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2) dùng điện cực chỉ thị chọn lọc fluorid và điện cực so sánh bạc - bạc clorid.
Dung dịch thử: Trong bình định mức 50 ml, hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, thêm 5,0 ml *dung dịch fluorid mẫu 1 phần triệu F (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Lấy 20,0 ml dung dịch trên, thêm 20,0 ml *đệm hiệu chỉnh lực ion toàn phần (TT)* và 3 ml *dung dịch natri acetat khan 8,2 %*. Điều chỉnh đến pH 5,2 bằng *amoniac đậm đặc (TT)* và thêm *nước* thành 50,0 ml.
Các dung dịch chuẩn: Lấy 5,0 ml; 2,0 ml; 1,0 ml, 0,5 ml và 0,25 ml *dung dịch fluorid mẫu 10 phần triệu F (TT)*, thêm 20,0 ml *đệm hiệu chỉnh lực ion toàn phần (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng *nước*.
Tiến hành đo trên 20,0 ml mỗi dung dịch. Tính nồng độ fluorid bằng cách sử dụng đường cong chuẩn có tính đến lượng fluorid đã cho thêm vào dung dịch thử.

Sulfat
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.4.14).
Dung dịch S: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong 20 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*. Nếu dung dịch không trong, lọc. Thêm từng giọt *dung dịch amoniac 10 % (TT)* đến khi có tủa tạo thành. Hòa tan tủa bằng cách thêm *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và pha loãng thành 50 ml bằng *nước*.
Pha loãng 1 ml dung dịch S thành 25 ml bằng *nước*. Lấy 15 ml dung dịch thu được tiến hành thử.

Arsen
Không được quá 4 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).
Lấy 5 ml dung dịch S tiến hành thử theo phương pháp A.

Kim loại nặng
Không được quá 30 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Pha loãng 13 ml dung dịch S thành 20 ml bằng *nước*. Lấy 12 ml dung dịch thu được thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt
Không được quá 0,04 % (Phụ lục 9.4.13).
Pha loãng 0,5 ml dung dịch S thành 10 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Chất không tan trong acid
Không được quá 0,2 %.

Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 10 ml *acid hydrocloric đậm đặc (TT)* và 30 ml *nước*. Lọc, rửa cắn bằng *nước* và sấy cắn đến khối lượng không đổi ở 100 °C đến 105 °C. Cắn thu được không được quá 10 mg.

Mất khối lượng do nung

Không được quá 8,0 %.

Lấy 1,000 g chế phẩm, nung ở 800 °C ± 50 °C trong 30 min.

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 1 ml *acid hydrocloric 25% (TT)* và 5 ml *nước*. Thêm 25,0 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* và pha loãng thành 200 ml bằng *nước*. Điều chỉnh đến pH 10,0 bằng *amoniac đậm đặc (TT)*. Thêm 10 ml *dung dịch đệm amoni clorid pH 10,0 (TT)* và vài miligam *hỗn hợp đen eriocrom T (TT)*. Chuẩn độ natri edetat thừa bằng *dung dịch kẽm sulfat 0,1 M (CĐ)* đến khi màu chuyển từ xanh lam sang tím.

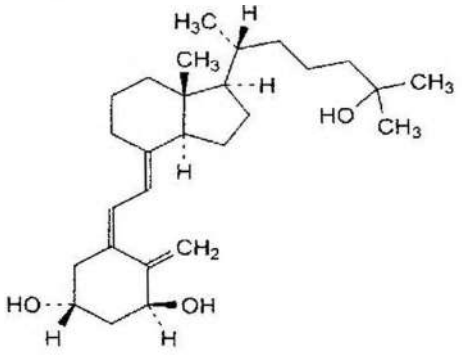
1 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 4,008 mg Ca.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín.

CALCITRIOL

Calcitriolum



$C_{27}H_{44}O_3$ P.t.l: 416,6

Calcitriol là (5*Z*,7*E*)-9,10 secocolesta-5,7,10(19)-trien-1α-3β,25-triol, phải chứa từ 97,0 % đến 103,0 % $C_{27}H_{44}O_3$.

Tính chất

Tinh thể trắng hoặc gần như trắng, dễ biến đổi khi tiếp xúc với không khí, nhiệt độ và ánh sáng. Trong dung dịch, tùy thuộc vào nhiệt độ và thời gian mà có thể xảy ra hiện tượng đồng phân hóa thuận nghịch thành pre-calcitriol. Dễ tan trong ethanol 96 %, tan trong dầu béo, thực tế không tan trong nước.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của calcitriol chuẩn.

B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Tiến hành nhanh, tránh ánh sáng trực tiếp và không khí.

Pha động: *Dung dịch tris(hydroxymethyl)aminomethan 0,1 %* đã được điều chỉnh đến pH từ 7,0 đến 7,5 bằng hỗn hợp *acid phosphoric - acetonitril* (45 : 55).

Dung dịch thử: Hòa tan (không đun nóng) 1,00 mg chế phẩm trong 10,0 ml pha động.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan (không đun nóng) 1,00 mg calcitriol chuẩn trong 10,0 ml pha động.

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

Dung dịch đối chiếu (3): Đun nóng 2 ml dung dịch đối chiếu (1) ở nhiệt độ 80 °C trong 30 min.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 230 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 50 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của calcitriol.

Thời gian lưu tương đối so với pic calcitriol (thời gian lưu khoảng 14 min): Tạp chất C khoảng 0,4; pic pre-calcitriol khoảng 0,88; tạp chất A khoảng 0,95; tạp chất B khoảng 1,1.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), số đĩa lý thuyết tính trên pic calcitriol không được nhỏ hơn 10 000. Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic pre-calcitriol và pic calcitriol ít nhất là 3,5.

Giới hạn:

Áp dụng quy trình chuẩn hóa để tính phần trăm các tạp chất nếu có.

Tạp chất A, B, C: Với mỗi tạp chất, không được quá 0,5 %.

Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, không được quá 0,10 %.

Tổng tạp: Không được quá 1,0 %.

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %) và pic pre-calcitriol.

Ghi chú:

Tạp chất A: (5*E*,7*E*)-9,10-secocolesta-5,7,10(19)-trien-1α,3β,25-triol (*trans*-calcitriol).

Tạp chất B: (5*Z*,7*E*)-9,10-secocolesta-5,7,10(19)-trien-1β,3β,25-triol (1β-calcitriol).

Tạp chất C: (6a*R*,7*R*,9a*R*)-11-[(3*S*,5*R*)-3,5-dihydroxy-2-methylcyclohex-1-enyl]-7-[(1*R*)-5-hydroxy-1,5-dimethylhexyl]-6a-methyl-2-phenyl-5,6,6a,7,8,9,9a,11-octahydro-1*H*,4a*H*-cyclopenta[*f*][1,2,4]triazolo[1,2-*a*]cinnolin-1,3(2*H*)-dion (sản phẩm cộng triazolin của pre-calcitriol).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với pha động, điều kiện sắc ký, dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1). Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic calcitriol trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (1) thu được từ 6 lần tiêm không được lớn hơn 1,0 %.
Tính hàm lượng phần trăm của $C_{27}H_{44}O_3$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng của $C_{27}H_{44}O_3$ trong calcitriol chuẩn.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín chứa khí nitrogen, tránh ánh sáng và ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.
Khi đã mở phải dùng ngay.

Loại thuốc
Vitamin D.

Chế phẩm
Nang.

NANG MỀM CALCITRIOL
Molles capsulae calcitrioli

Là nang mềm chứa dung dịch calcitriol trong dầu không bay hơi.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng calcitriol, $C_{27}H_{44}O_3$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Trong phần Định lượng, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic calcitriol của dung dịch chuẩn.

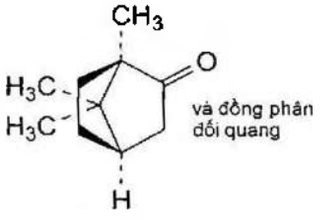
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: hexan - tetrahydrofuran - ethanol (59: 40 : 1).
Dung dịch thử: Trộn đều dung dịch thuốc trong nang của ít nhất 20 nang. Cân chính xác một lượng dung dịch thuốc trong nang tương ứng với 5 µg calcitriol và chuyển vào bình định mức nâu dung tích 10 ml, thêm pha động vừa đủ và lắc đều.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch 0,5 µg/ml của calcitriol chuẩn trong pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) nhồi pha tĩnh A (5 µm) (Lichrosorb Si60 là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 265 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 100 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng calcitriol, $C_{27}H_{44}O_3$, trong nang dựa vào diện tích pic calcitriol thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{27}H_{44}O_3$ của calcitriol chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Vitamin D.

Hàm lượng thường dùng
0,25 µg; 0,5 µg.

CAMPHOR RACEMIC
Camphora racemica
Long não racemic



$C_{10}H_{16}O$ P.t.l: 152,2

Camphor là (1*RS*,4*RS*)-1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]hexan-2-on.

Tính chất
Bột kết tinh hoặc phiến trắng hoặc gần như trắng, khối kết tinh không màu. Thăng hoa ngay ở nhiệt độ thường. Khó tan trong nước, rất tan trong ethanol 96 % và ether dầu hỏa (khoảng sôi từ 50 °C đến 70 °C). Dễ tan trong dầu béo, rất khó tan trong glycerol.
Khi tiến hành các phép thử sau đây phải cân chế phẩm nhanh.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của camphor racemic chuẩn. Chuẩn bị mẫu trong dầu parafin.
B. Điểm chảy: Từ 172 °C đến 180 °C (Phụ lục 6.7).
C. Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 30 ml *methanol (TT)*. Thêm 1,0 g *hydroxylamin hydroclorid (TT)* và 1,0 *natri acetat khan (TT)*. Đun sôi hồi lưu trong 2 h. Để nguội và thêm 100 ml *nước*, tủa tạo thành. Lọc và rửa tủa với 10 ml *nước* và kết tinh lại bằng 10 ml hỗn hợp *ethanol 96 % - nước* (4 : 6). Nhiệt độ nóng chảy của tinh thể thu

được, sau khi đã được sấy khô trong chân không, phải từ 118 °C đến 121 °C.
D. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Góc quay cực.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong 10 ml *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT_1)* vào 10 ml dung dịch S, dung dịch phải không màu. Màu phải chuyển sang hồng, khi thêm không quá 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ).*

Góc quay cực
Từ -0,15° đến +0,15° (Phụ lục 6.4).
Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).
Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *hexan (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50 mg chế phẩm và 50 mg *bornyl acetat (TT)* trong *hexan (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 200,0 ml bằng *hexan (TT).*
Điều kiện sắc ký:
Cột (2 m × 2 mm) được nhồi *diatomit dùng cho sắc ký khí* đã được tẩm 10 % (kl/kl) *macrogol 20 000.*
Khí mang: *Nitrogen dùng cho sắc ký.*
Tốc độ dòng: 30 ml/min.
Nhiệt độ cột là 130 °C. Nhiệt độ buồng tiêm và detector là 200 °C.
Detector: Ion hóa ngọn lửa.
Thể tích tiêm: 1 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký gấp 3 lần thời gian lưu của camphor.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của camphor và pic của bornyl acetat ít nhất là 1,5. Trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (2), tỷ số tín hiệu trên nhiễu ít nhất là 5 đối với pic chính.
Giới hạn:
Tạp chất bất kỳ: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 2 % diện tích pic chính.
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 4 % diện tích pic chính.
Bỏ qua những pic có diện tích bằng diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Halogen
Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.4.5).
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *2-propanol (TT)* trong bình chưng cất. Thêm 1,5 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT),* 50 mg *hợp kim nhôm - nickel (TT).* Đun trên cách thủy đến khi 2-propanol bay hơi hoàn toàn. Để nguội và thêm 5 ml *nước.* Khuấy đều và lọc qua giấy lọc ướt đã được rửa bằng *nước* đến khi hết clorid. Pha loãng dịch lọc thành 10,0 ml bằng *nước.* Thêm từng giọt *acid nitric (TT)* vào 5,0 ml dung dịch thu được đến khi tủa tạo thành tan trở lại và pha loãng thành 15 ml bằng *nước.* Dung dịch thu được phải đáp ứng phép thử giới hạn clorid.

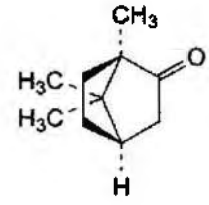
Nước
Hòa tan 1 g chế phẩm trong 10 ml *ether dầu hỏa (50 °C đến 70 °C) (TT).* Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2).

Cắn sau khi bay hơi
Không được quá 0,05 %.
Để bay hơi 2,0 g chế phẩm trên cách thủy và sấy khô ở 100 °C đến 105 °C trong 1 h. Khối lượng cắn còn lại không được quá 1 mg.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát.

Loại thuốc
Thuốc kích thích da, giảm đau, chống ngứa.

CAMPHOR THIÊN NHIÊN
Camphora
Long não thiên nhiên



$C_{10}H_{16}O$ P.t.l: 152,2

Camphor là (1*R*,4*R*)-1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]heptan-2-on.

Tính chất
Bột kết tinh hoặc phiến trắng hoặc gần như trắng, khối kết tinh không màu. Thăng hoa ngay ở nhiệt độ thường. Khó tan trong nước, rất tan trong ethanol 96 % và ether dầu hỏa (khoảng sôi từ 50 °C đến 70 °C). Dễ tan trong dầu béo, rất khó tan trong glycerol.
Khi tiến hành các phép thử sau phải cân chế phẩm nhanh.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của camphor racemic chuẩn.
B. Điểm chảy từ 175 °C đến 179 °C (Phụ lục 6.7).

C. Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 30 ml *methanol (TT)*. Thêm 1,0 g *hydroxylamin hydroclorid (TT)* và 1,0 *natri acetat khan (TT)*. Đun sôi hồi lưu trong 2 h. Để nguội và thêm 100 ml *nước*. Tủa tạo thành, lọc và rửa tủa với 10 ml *nước* và kết tinh lại bằng 10 ml hỗn hợp *ethanol 96 % - nước* (4 : 6). Sấy khô tinh thể trong chân không. Nhiệt độ nóng chảy của tinh thể thu được phải từ 118 °C đến 121 °C.
D. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Góc quay cực riêng.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong 10 ml *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT_1)* vào 10 ml dung dịch S, dung dịch phải không màu. Màu phải chuyển sang hồng, khi thêm không quá 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*

Góc quay cực riêng
Từ +41,0° đến +44,0° (Phụ lục 6.4).
Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).
Dung dịch thử: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong *heptan (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *heptan (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 10,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20,0 ml bằng *heptan (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 0,50 g *borneol (TT)* trong *heptan (TT)* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với *heptan (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 50 mg *linalol (TT)* và 50 mg *bornyl acetat (TT)* trong *heptan (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột (30 m × 0,25 mm) được phủ pha tĩnh *macrogol 20 000* (0,25 µm).
Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký*.
Tỷ lệ chia dòng: 1 : 70.
Tốc độ dòng: 45 cm/s.
Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 10	50
	10 - 35	50 → 100
	35 - 45	100 → 200
	45 - 55	200
Buồng tiêm		220
Detector		250

Detector: Ion hóa ngọn lửa.
Thể tích tiêm: 1 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu (4), độ phân giải giữa pic của bornyl acetat với pic của linalol ít nhất là 3,0.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và các dung dịch đối chiếu (1), (2) và (3).
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:
Borneol: Diện tích pic borneol không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (2,0 %).
Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất khác không được lớn hơn 4 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (4,0 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1]hept-2-en (β-pinen).
Tạp chất B: 2,2-Dimethyl-3-methylenebicyclo[2.2.1]heptan (camphen).
Tạp chất C: 6,6-Dimethyl-2-methylenebicyclo[3.1.1]heptan (β-pinen).
Tạp chất D: 1,3,3-Trimethyl-2-oxabicyclo[2.2.2]octan (cineol).
Tạp chất E: 1,3,3-Trimethylbicyclo[2.2.1]heptan-2-on (fenchon).
Tạp chất F: *exo*-1,3,3-Trimethylbicyclo[2.2.1]heptan-2-ol (fenchol).
Tạp chất G: *exo*-2,3,3-Trimethylbicyclo[2.2.1]heptan-2-ol (camphen hydrat).
Tạp chất H: *endo*-2,3,3-Trimethylbicyclo[2.2.1]heptan-2-ol (methylcamphenilol).
Tạp chất I: *exo*-1,7,7-Trimethylbicyclo[2.2.1]heptan-2-ol (*exo*-borneol).
Tạp chất J: *endo*-1,7,7-Trimethylbicyclo[2.2.1]heptan-2-ol (*endo*-borneol).

Halogen
Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.4.5).
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *2-propanol (TT)* trong bình chưng cất. Thêm 1,5 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*, 50 mg *hợp kim nhôm - nickel (TT)*. Đun trên cách thủy đến khi 2-propanol bay hơi hoàn toàn. Để nguội và thêm 5 ml *nước*. Khuấy đều và lọc qua giấy lọc ướt đã được rửa bằng *nước* đến khi hết clorid. Pha loãng dịch lọc thành 10,0 ml bằng *nước*. Thêm từng giọt *acid nitric (TT)* vào 5,0 ml dung dịch thu được đến khi tủa tạo thành tan trở lại và pha loãng thành 15 ml bằng *nước*. Dung dịch thu được phải đáp ứng phép thử giới hạn clorid.

Nước
Hòa tan 1 g chế phẩm trong 10 ml *ether dầu hỏa (50 °C đến 70 °C) (TT)*. Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2).

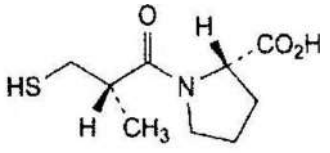
Cắn sau khi bay hơi
Không được quá 0,05 %.
Để bay hơi 2,0 g chế phẩm trên cách thủy và sấy khô ở nhiệt độ từ 100 °C đến 105 °C trong 1 h. Cắn còn lại không được quá 1 mg.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát.

Ghi chú
Tương kỵ: Tạo hỗn hợp chảy lỏng (hỗn hợp lỏng, đặc sệt, trong suốt) với phenol, menthol, thymol, salol, naphthol, resorcin, pyrocatechol, pyrogalol, acid salicylic, phenylsalicylat, cloral hydrat, antipirin ...

Loại thuốc
Thuốc kích thích da, giảm đau, chống ngứa.

CAPTOPRIL
Captoprilum



$C_9H_{15}NO_3S$ P.t.l: 217,3

Captopril là acid (2*S*)-1-[(2*S*)-2-methyl-3-sulphanyl-propanoyl]pyrrolidin-2-carboxylic, phải chứa từ 98,0 % đến 101,5 % $C_9H_{15}NO_3S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, tan trong nước, dễ tan trong methanol và methylen clorid, tan trong các dung dịch hydroxyd kiềm loãng.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của captopril chuẩn.
B. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Góc quay cực riêng.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Từ 2,0 đến 2,6 (Phụ lục 6.2).
Dùng dung dịch S để đo.

Góc quay cực riêng
Từ -132° đến -127°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *ethanol (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất F
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).
Dung dịch thuốc thử: Thêm từng giọt 2,8 ml *acetyl clorid (TT)* vào 17,2 ml *methanol khan (TT)* ở 0 °C và trộn đều. Để ở nhiệt độ phòng 20 min trước khi sử dụng.
Dung dịch thử: Thêm 1,0 ml dung dịch thuốc thử vào một lọ chứa 20,0 mg chế phẩm. Trộn đều và đun nóng ở 60 °C trong 30 min. Bay hơi đến khô dưới luồng khí nitơ. Hòa tan cắn trong 0,5 ml *ethyl acetat (TT)*, thêm 0,5 ml *anhydrid pentafluoropropionic (TT)*. Trộn đều và đun nóng ở 60 °C trong 30 min. Bốc hơi đến khô dưới luồng khí nitrogen và hòa tan cắn trong 1,0 ml *butyl acetat (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan captopril chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa tạp chất F) có trong một lọ chuẩn trong 1,0 ml dung dịch thuốc thử. Tiến hành như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu (2): Trộn 0,25 ml dung dịch đối chiếu (1) và 0,75 ml *butyl acetat (TT)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột silica nung chảy (25 m × 0,32 mm) được phủ pha tĩnh *poly(dimethyl)(diphenyl)siloxan* (độ dày phim 1 µm).
Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký.*
Tỷ lệ chia dòng: 1 : 20.
Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.
Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 10	200
	10 - 14	200 → 240
	14 - 34	240
Buồng tiêm		270
Detector		300

Detector: Ion hóa ngọn lửa.
Thể tích tiêm: 1 µl.
Cách tiến hành:
Thời gian lưu tương đối so với captopril (thời gian lưu khoảng 6 min): tạp chất F khoảng 0,96.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất F với pic của captopril ít nhất là 1,5. Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), tỷ số tín hiệu trên nhiễu của pic tạp chất F ít nhất là 10.
Tính hàm lượng phần trăm tạp chất F theo công thức sau:

$$\frac{A}{A+B} \times 100$$

Trong đó:
A là diện tích pic của tạp chất F;
B là diện tích pic của captopril trong sắc ký đồ của dung dịch thử.
Giới hạn:
Tạp chất F: Không được quá 0,2 %.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Acid phosphoric - nước (0,08 : 100).

Pha động B: Acid phosphoric - acetonitril (TT_1) - nước (0,08 : 50 : 50).

Hỗn hợp dung môi: Acid phosphoric - acetonitril (TT_1) - nước (0,08 : 10 : 90).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,125 g chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 4,0 mg tạp chất J chuẩn của captopril; 5,0 mg tạp chất B chuẩn của captopril; 5,0 mg tạp chất C chuẩn của captopril và 5,0 mg tạp chất D chuẩn của captopril trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Chuẩn bị dung dịch ngay trước khi dùng.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg chế phẩm và 5 mg tạp chất E chuẩn của captopril trong *actonitril (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 4,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Lấy 1,0 ml dung dịch thử vào bình định mức và thêm 230 µl *dung dịch iod 0,05 M (TT)*. Nếu dung dịch vẫn có màu, nhỏ từng giọt *dung dịch natri thiosulfat 0,1 M (TT)* đến khi dung dịch thành không màu và pha loãng thành 50,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng hỗn hợp dung môi (dung dịch thu được có chứa tạp chất A).

Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (30 cm × 3,9 mm) được nhồi *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (10 µm).

Nhiệt độ cột: 50 °C.

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

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 25 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 5	90	10
5 - 20	90 → 50	10 → 50
20 - 45	50	50

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) để xác định pic các tạp chất B, C, D và J; sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic tạp chất E; sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic tạp chất A.

Thời gian lưu tương đối so với captopril (thời gian lưu khoảng 15 min): Tạp chất C khoảng 0,6; tạp chất D khoảng 0,8; tạp chất E khoảng 0,9; tạp chất B khoảng 1,17; tạp chất J khoảng 1,22; tạp chất A khoảng 1,7.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất B với pic của tạp chất J ít nhất là 1,5; trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất E với pic của captopril ít nhất là 2,0.

Giới hạn:

Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 10 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (1,0 %).

Tạp chất J: Diện tích pic tạp chất J không được lớn hơn 2,5 lần diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).

Tạp chất B, C, D: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,15 %).

Tạp chất E: Diện tích pic tạp chất E không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,15 %).

Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,10 %).

Tổng tất cả các tạp chất không được quá 1,2 %.

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: Acid 1,1'-[disulfandiylbis[(2*S*)-2-methyl-1-oxopropan-3,1-diyl]]bis[(2*S*)-pyrolidin-2-carboxylic] (captopril disulfid).

Tạp chất B: Acid (2*S*)-1-[(2*S*)-3-bromo-2-methylpropanoyl] pyrolidin-2-carboxylic.

Tạp chất C: Acid (2*RS*)-2-methyl-3-sulfanylpropanoic.

Tạp chất D: Acid (2*RS*)-3-bromo-2-methylpropanoic.

Tạp chất E: Acid (2*S*)-1-(2-methylpropanoyl)pyrolidin-2-carboxylic.

Tạp chất F: (2*S*)-1-[(2*R*)-2-methyl-3-sulfanylpropanoyl]pyrolidin-2-carboxylic (*epi*-captopril).

Tạp chất G: Acid (2*RS*)-3-(acetylsulfanyl)-2-methylpropanoic.

Tạp chất H: Acid (2*S*)-1-[(2*S*)-3-[[(2*R*)-3-(acetylsulfanyl)-2-methylpropanoyl]sulfanyl]-2-methylpropanoyl]pyrolidin-2-carboxylic.

Tạp chất I: Acid (2*S*)-1-[(2*S*)-3-[[[(2*S*)-1-[(2S)-2-methyl-3-sulfanylpropanoyl]pyrolidin-2-yl]carbonyl]sulfanyl]-2-methylpropanoyl]pyrolidin-2-carboxylic.

Tạp chất J: Acid (2*S*)-1-[(2*S*)-3-(acetylsulfanyl)-2-methylpropanoyl]pyrolidin-2-carboxylic (acetylcaptopril).

Tạp chất L: Acid 1,1'-[methylenbis[sulfandiyl[(2*S*)-2-methyl-1-oxopropan-3,1-diyl]]]bis[(2*S*)- pyrolidin-2-carboxylic].

Tạp chất M: Acid (2*S*)-1-[(2*S*)-3-[[(2S)-2-carboxypropyl] disulfanyl]-2-methylpropanoyl]pyrolidin-2-carboxylic.

Tạp chất N: Acid 3,3'-disulfandiylbis[(2*S*)-2-methylpropanoic].

Tạp chất O: Acid 1,1'-[propan-2,2-diylbis[sulfandiyl[(2*S*)-2-methyl-1-oxopropan-3,1-diyl]]]bis[(2*S*)-pyrolidin-2-carboxylic].

Kim loại nặng

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

Dung môi: *Nước*.

Lấy 0,5 g chế phẩm và tiến hành thử theo phương pháp 8. Dùng 1 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6, phương pháp 2). (1,000 g; trong chân không; 60 °C; 3 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.9).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong 30 ml *nước*. Chuẩn độ bằng *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Dùng điện cực kết hợp platin.
1 ml *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)* tương đương với 21,73 mg $C_9H_{15}NO_3S$.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Chất ức chế men chuyển angiotensin.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN CAPTOPRIL
Tabellae Captoprili

Là viên nén hay viên nén bao chứa captopril.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng captopril, $C_9H_{15}NO_3S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Cân một lượng bột viên tương ứng với 50 mg captopril, thêm 5 ml *ethanol 96 % (TT)*, lắc kỹ 5 min, lọc. Lấy 2 ml dịch lọc, thêm một vài tinh thể *natri nitrat (TT)* và 10 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*, lắc mạnh, xuất hiện màu đỏ.
B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic captopril trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Chú ý: Đuổi khí môi trường hòa tan để giảm đến mức tối thiểu tiếp xúc của captopril với không khí và phân tích mẫu ngay.
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 20 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan để được dung dịch có nồng độ thích hợp. Đo độ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 205 nm, dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* làm mẫu trắng. So sánh với dung dịch captopril chuẩn có nồng độ tương đương pha trong môi trường hòa tan. Tính hàm lượng captopril, $C_9H_{15}NO_3S$, dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_9H_{15}NO_3S$ trong captopril chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng captopril $C_9H_{15}NO_3S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 20 min.

Captopril disulfid
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động và *điều kiện sắc ký* được thực hiện như mô tả trong mục Định lượng.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 25 mg captopril vào ống ly tâm, thêm 25,0 ml *methanol (TT)* và ly tâm 15 min. Sử dụng dịch trong ở trên.
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch captopril disulfid chuẩn 0,0030 % trong *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử thành 100 thể tích với dung dịch đối chiếu (1).
Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa pic captopril và pic captopril disulfid trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) ít nhất là 2,0.
Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic nào tương ứng với captopril disulfid không được lớn hơn diện tích của pic trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) (3 %).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hỗn hợp methanol - nước - acid phosphoric (550 : 450 : 0,5).
Dung dịch chuẩn: Dung dịch có nồng độ captopril chuẩn 0,01 % và captopril disulfid chuẩn 0,0005 % trong pha động.
Dung dịch thử: Cân 20 viên (đã loại bỏ lớp vỏ bao, nếu là viên bao), xác định khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 25 mg captopril vào ống ly tâm, thêm 25,0 ml pha động, để siêu âm 15 min và ly tâm. Pha loãng 5 ml dịch trong ở trên thành 50,0 ml với pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa pic captopril và pic captopril disulfid trên sắc ký đồ thu được ít nhất là 2,0.

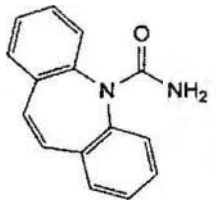
Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic đáp ứng trong 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng captopril, $C_9H_{15}NO_3S$, trong viên dựa vào diện tích (hay chiều cao) của pic captopril trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_9H_{15}NO_3S$ của captopril chuẩn.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống tăng huyết áp.

Hàm lượng thường dùng
12,5 mg; 25 mg.

CARBAMAZEPIN
Carbamazepinum



$C_{15}H_{12}N_2O$ P.t.l: 236,3

Carbamazepin là 5*H*-dibenzo[*b,f*]azepin-5-carboxamid, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{15}H_{12}N_2O$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, đa hình, dạng tinh thể được chấp nhận tương tự như carbamazepin chuẩn. Rất khó tan trong nước, dễ tan trong methylen clorid, hơi tan trong aceton và ethanol 96 %.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của carbamazepin chuẩn. Đo dưới dạng đĩa, không phải xử lý mẫu trước khi đo.
B. Điểm chảy: Từ 189 °C đến 193 °C (Phụ lục 6.7).

Giới hạn acid - kiềm
Lấy 1,0 g chế phẩm, thêm 20 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, lắc 15 min rồi lọc. Lấy 10 ml dịch lọc, thêm 0,05 ml *dung dịch phenolphtalein (TT_1)* và 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)*. Dung dịch có màu đỏ. Thêm 1,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*, dung dịch mất màu. Thêm 0,15 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)*, dung dịch có màu đỏ.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Tetrahydrofuran - methanol (TT_2) - nước (3 : 12 : 85). Thêm 0,2 ml *acid formic khan (TT)* và 0,5 ml *triethylamin (TT)* vào 1000 ml hỗn hợp trên.
Dung dịch thử (1): Hòa tan 60,0 mg chế phẩm trong *methanol (TT_2)* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi. Siêu âm. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 10,0 ml dung dịch thử (1) thành 50,0 ml bằng hỗn hợp *methanol (TT_2) - nước* (50 : 50).
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 7,5 mg carbamazepin chuẩn; 7,5 mg tạp chất A chuẩn của carbamazepin và 7,5 mg *iminodibenzyl (TT)* (tạp chất E) trong *methanol (TT_2)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng hỗn hợp *methanol (TT_2) - nước* (50 : 50).
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 60,0 mg carbamazepin chuẩn trong *methanol (TT_2)* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi. Siêu âm. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng hỗn hợp *methanol (TT_2) - nước* (50 : 50).
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *nitril silica gel dùng cho sắc ký (TT_1)* (10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (1).
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 8 lần thời gian lưu của carbamazepin.
Thời gian lưu tương đối so với carbamazepin (thời gian lưu khoảng 10 min): Tạp chất A khoảng 0,9; tạp chất E khoảng 3,5.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất A với pic của carbamazepin ít nhất là 1,7.
Giới hạn:
Tạp chất A, E: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,15 %).
Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn diện tích pic carbamazepin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic carbamazepin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0.05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*b,f*]azepin-5-carboxamid (10,11-dihydrocarbamazepin).
Tạp chất B: 9-methylacridin.
Tạp chất C: (5*H*-dibenzo[*b,f*]azepin-5-ylcarbonyl)ure (*N*-carbamoylcarbamazepin).

Tạp chất D: 5*H*-dibenzo[*b,f*]azepin (iminostilben).
Tạp chất E: 10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*b,f*]azepin (imi-nodibenzyl).
Tạp chất F: 5*H*-dibenzo[*b,f*]azepin-5-carbonyl clorid (5-cloro-carbonyliminostilben).
Tạp chất G: 10-bromo-5*H*-dibenzo[*b,f*]azepin-5-carboxamid (10-bromocarbamazepin).

Clorid
Không được quá 140 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).
Lắc kỹ 0,715 g chế phẩm với 20 ml *nước*, đun sôi trong 10 min. Để nguội và pha loãng thành 20 ml bằng *nước*. Lọc qua màng (cỡ lỗ lọc 0,8 µm). Pha loãng 10 ml dịch lọc thu được thành 15 ml bằng *nước*. Dùng dung dịch thu được làm dung dịch thử.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm và tiến hành thử theo phương pháp 3. Lấy 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C; 2 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (2).
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tính độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic carbamazepin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).
Tính hàm lượng phần trăm của carbamazepin trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (2) và hàm lượng của $C_{15}H_{12}N_2O$ trong carbamazepin chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Chống động kinh.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN CARBAMAZEPIN
Tabellae Carbamazepini

Là viên nén chứa carbamazepin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng carbamazepin, $C_{15}H_{12}N_2O$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử trong khoảng 220 đến 350 nm có các hấp thụ cực đại ở khoảng 238 nm và 285 nm.
B. Trong phần Tạp chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) về vị trí, màu sắc và kích thước.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Toluen - methanol* (95 : 5).
Dung dịch thử (1): Cân một lượng bột viên tương ứng với 0,2 g carbamazepin, chiết ba lần, mỗi lần với 10 ml *cloroform (TT)*. Tập trung các dịch chiết cloroform và lọc. Cho dịch lọc bay hơi đến khô, hòa cắn thu được trong 10,0 ml *cloroform (TT)*.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử (1) thành 10 thể tích với *cloroform (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch iminodibenzyl chuẩn 0,006 % trong *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch carbamazepin chuẩn 0,2 % trong *cloroform (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí trong 15 min, phun *dung dịch kali dicromat 0,5 %* trong *dung dịch acid sulfuric 20 % (tt/tt)*. Để khô ngoài không khí, quan sát dưới ánh sáng ban ngày, hoặc dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm.
Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (1) không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 24 ml *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)* pha loãng thành 1000 ml với *nước*.
Tốc độ quay: 150 r/min.
Thời gian: 60 min.
Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc. Pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 6 - 15 µg carbamazepin/ml. Đo độ hấp thụ của dung dịch ở bước sóng 285 nm (Phụ lục 4.1) trong cốc đo dày 1 cm, dùng môi trường hòa tan làm mẫu trắng. Tính hàm lượng carbamazepin, $C_{15}H_{12}N_2O$, đã hòa tan trong mỗi viên theo A (1 %, 1 cm), lấy 518 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 285 nm.
Yêu cầu: Không được ít hơn 65 % (Q) lượng carbamazepin, $C_{15}H_{12}N_2O$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 min.

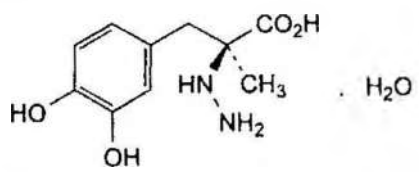
Định lượng
Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg carbamazepin vào bình định mức 100 ml, thêm 60 ml *ethanol 96 % (TT)*, làm nóng trên cách thủy 15 min, lắc liên tục, để nguội, pha loãng đến định mức với *ethanol 96 % (TT)*, lắc đều. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 250,0 ml với *ethanol 96 % (TT)*, lắc đều. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng khoảng 285 nm trong cốc đo dày 1 cm, so với mẫu trắng là *ethanol 96 % (TT)*. Tính hàm lượng carbamazepin, $C_{15}H_{12}N_2O$, trong viên theo A (1 %, 1 cm). Lấy 490 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 285 nm.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống động kinh.

Hàm lượng thường dùng
200 mg.

CARBIDOPA
Carbidopum



$C_{10}H_{14}N_2O_4.H_2O$ P.t.l.: 244,2

Carbidopa là acid (2*S*)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-hydrazino-2-methylpropanoic monohydrat, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{10}H_{14}N_2O_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột trắng hoặc trắng ngà. Hơi tan trong methanol, khó tan trong nước, rất khó tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong dicloromethan và diethyl ether, tan trong các dung dịch acid vô cơ loãng.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, C.
Nhóm II: B, C, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của carbidopa chuẩn.
B. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1)
Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 8,5 g/l trong methanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml với *dung dịch acid hydrocloric 8,5 g/l trong methanol (TT)*. Phổ tử ngoại của dung dịch thử trong khoảng từ 230 nm đến 350 nm có cực đại hấp thụ ở 283 nm và A (1%, 1 cm) ở cực đại 283 nm từ 135 đến 150, tính theo chế phẩm đã làm khô.
C. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Góc quay cực riêng.
D. Lắc mạnh khoảng 5 mg chế phẩm với 10 ml *nước* trong 1 min và thêm 0,3 ml *dung dịch sắt (III) clorid 1,3 % (TT)*. Màu xanh lục đậm xuất hiện và nhanh chóng chuyển sang màu nâu đỏ.
E. Phân tán khoảng 20 mg chế phẩm trong 5 ml *nước* và thêm 5 ml *thuốc thử Fehling (TT)*. Đun nóng, màu của dung dịch biến thành màu nâu sẫm và xuất hiện tủa màu đỏ.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong 25 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*.
Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu VN_6 hoặc N_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực riêng
Từ -22,5° đến -26,5°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *dung dịch nhôm clorid (TT)* bằng cách lắc siêu âm cho đến khi tan hoàn toàn, pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Methyldopa và methylcarbidopa
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch kali dihydrophosphat 1.4 % - methanol (2 : 98).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 1 mg methyldopa chuẩn và 1 mg methylcarbidopa chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch phân giải: Hòa tan 5 mg carbidopa chuẩn và 5 mg methyldopa chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 282 nm.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành: Tiêm dung dịch phân giải. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic methyldopa và carbidopa ít nhất là 4,0.
Giới hạn methyldopa và methylcarbidopa: Diện tích pic của mỗi tạp chất thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn diện tích pic tương ứng của dung dịch đối chiếu (0,5%).

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

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Từ 6,9 % đến 7,9 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1.0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,15 g chế phẩm trong 75 ml *acid acetic khan (TT)*, bằng cách đun nóng nhẹ. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 22,62 mg $C_{10}H_{14}N_2O_4$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc trị Parkinson, chống loạn vận động.

Chế phẩm
Viên nén (phối hợp với levodopa).

CARBOMER
Carbomera

Carbomer là polymer có khối lượng phân tử lớn của acid acrylic liên kết chéo với alkenyl ether của đường và polyalcol, phải chứa từ 56,0 % đến 68,0 % nhóm acid carboxylic (-COOH) tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột trắng hoặc gần như trắng, mịn, dễ hút ẩm. Trương nở trong nước và các dung môi phân cực khác sau khi phân tán và trung hòa bằng dung dịch natri hydroxyd.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm có các dải hấp thụ chính tại 1710 ± 5 cm^{-1}, 1454 ± 5 cm^{-1}, 1414 ± 5 cm^{-1}, 1245 ± 5 cm^{-1}, 1172 ± 5 cm^{-1}, 1115 ± 5 cm^{-1} và 801 ± 5 cm^{-1}, với dải hấp thụ mạnh nhất tại 1710 ± 5 cm^{-1}.
B. Phân tán 10 g chế phẩm trong 1 L *nước*, điều chỉnh pH đến 7,5 bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*. Gel có độ nhớt cao tạo thành.
C. Thêm 2 ml *dung dịch calci clorid 10 % (TT)* vào 10 ml gel thu được ở phép thử B, vừa thêm vừa khuấy liên tục, ngay lập tức xuất hiện tủa trắng.
D. Thêm 0,5 ml *dung dịch xanh thymol (TT)* vào 10 ml dịch phân tán 1 % trong *nước*. Màu cam xuất hiện. Thêm 0,5 ml *dung dịch đỏ cresol (TT)* vào 10 ml dịch phân tán 1 % trong *nước*. Màu vàng xuất hiện.

Acid acrylic tự do
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Dung dịch kali dihydrophosphat 1,361 g/l, điều chỉnh đến pH 2,5 bằng *dung dịch acid phosphoric 10 % (TT)*.
Pha động B: Hỗn hợp *dung dịch kali dihydrophosphat 1,361 g/l - acetonitril dùng trong phương pháp sắc ký* (50 : 50).
Dung dịch thử: Trộn 0,125 g chế phẩm với *dung dịch phèn chua 2,5 %* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. Đun nóng hỗn dịch thu được, đồng thời lắc, ở 50 °C trong 20 min. Sau đó lắc hỗn dịch ở nhiệt độ phòng trong 60 min. Ly tâm lấy dịch trong.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 62,5 mg acid acrylic chuẩn vào *dung dịch phèn chua 2,5 %* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 50 ml với *dung dịch phèn chua 2,5 %*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (12 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 205 nm.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 8	100	0
8 - 9	100 → 0	0 → 100
9 - 20	0	100

Thời gian lưu của acid acrylic: khoảng 6 min.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, pic tương ứng với acid acrylic không được có diện tích lớn hơn diện tích pic tương ứng trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (0,25 %).

Benzen
Xác định dung môi tồn dư (Phụ lục 10.14, hệ sắc ký A).
Dung dịch A: Hòa tan 0,100 g *benzen (TT)* trong *dimethyl sulfoxid (TT)* và pha loãng đến 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với *nước*. Tiếp tục pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với *nước*.
Dung dịch thử: Cân 50,0 mg chế phẩm vào lọ đựng mẫu tiêm rồi thêm 5,0 ml *nước* và 1,0 ml *dimethyl sulfoxid (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Cân 50,0 mg chế phẩm vào lọ đựng mẫu tiêm rồi thêm 4,0 ml *nước* và 1,0 ml *dimethyl sulfoxid chuẩn* và 1,0 ml dung dịch A.

Đậy kín các lọ bằng nút cao su phủ polytetrafluoroethylen và xiết chặt bằng chụp nhôm. Lắc các lọ để thu được dịch phân tán đồng nhất.
Cách tiến hành:
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2) áp dụng kỹ thuật tiêm pha hơi tĩnh với điều kiện như sau:
Nhiệt độ cân bằng: 80 °C.
Thời gian cân bằng: 60 min.
Nhiệt độ đường dẫn mẫu: 90 °C.
Tiêm 1 ml pha khí của dung dịch thử và 1 ml pha khí của dung dịch đối chiếu (mỗi mẫu tiêm lặp lại 3 lần).
Tính phù hợp của hệ thống: Độ lệch chuẩn tương đối của hiệu diện tích pic của chất phân tích trên sắc đồ tương ứng của dung dịch đối chiếu và dung dịch thử từ 3 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 15 %.
Giới hạn: Diện tích pic trung bình của benzen trên sắc đồ của dung dịch thử không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic trung bình của benzen trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (2 phần triệu).

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Dùng 1,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 3,0 % (Phụ lục 9.6).
Dùng 1,000 g chế phẩm; trong chân không ở 80 °C trong 60 min.

Tro sulfat
Không được quá 4,0 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,000 g chế phẩm.

Định lượng
Thêm từ từ 50 ml *nước* vào 0,120 g chế phẩm đồng thời khuấy và đun nóng ở 60 °C trong 15 min. Ngừng đun, thêm 150 ml *nước* và tiếp tục khuấy trong 30 min. Thêm 2 g *kali clorid (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,2 N (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,2 N (CĐ)* tương đương với 9,0 mg nhóm acid carboxylic (-COOH).

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Tá dược.

CÁC ĐẶC TÍNH LIÊN QUAN ĐẾN CÔNG DỤNG CỦA NGUYÊN LIỆU

Các đặc tính sau có thể liên quan đến việc sử dụng carbomer làm chất tăng độ nhớt và tạo gel:

Độ nhớt biểu kiến
Phụ lục 6.3, phương pháp III.

Độ nhớt biểu kiến danh định thông thường từ 300 mPa·s đến 115 000 mPa·s. Với các chế phẩm có độ nhớt biểu kiến danh định từ 20 000 mPa·s trở lên thì độ nhớt biểu kiến thông thường bằng 70 % đến 130 % giá trị danh định, còn với các chế phẩm có độ nhớt biểu kiến định danh nhỏ hơn 20 000 mPa·s thì độ nhớt biểu kiến thông thường bằng 50 % đến 150 % giá trị danh định.
Làm khô chế phẩm trong chân không ở 80 °C trong 1 h. Thêm cẩn thận 2,50 g chế phẩm đã làm khô vào 500 ml *nước* đựng trong cốc 1000 ml đồng thời khuấy liên tục ở tốc độ (1000 ± 50) r/min với trục que khuấy nghiêng 60° so với thành cốc (thêm chế phẩm với tốc độ hằng định trong vòng 45 s đến 90 s để tránh vón cục). Tiếp tục khuấy ở tốc độ (1000 ± 50) r/min trong 15 min. Gỡ bỏ que khuấy và đặt cốc có chứa dịch phân tán trong bể ổn nhiệt ở (25 ± 1) °C trong 30 min. Nhúng que khuấy vào dịch phân tán tới độ sâu cần thiết để đảm bảo bọt khí không xâm nhập rồi khuấy ở tốc độ (300 ± 25) r/min, sử dụng hệ thống điện cực thủy tinh-calomel để chuẩn độ tới pH 7,3 đến 7,8 bằng cách thêm *dung dịch natri hydroxyd 18 %* vào dưới bề mặt của dịch, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo thế (Phụ lục 10.2). Tổng thể tích *dung dịch natri hydroxyd 18 %* sử dụng khoảng 6,2 ml. Để yên dịch phân tán từ 2 min đến 3 min trước khi đo pH lần cuối. Nếu giá trị pH vượt quá 7,8, thì phải loại bỏ và chuẩn bị lại dịch phân tán khác với thể tích *dung dịch natri hydroxyd 18 %* sử dụng ít hơn. Đặt dịch đã trung hòa trở lại bể ổn nhiệt cách thủy ở (25 ± 1) °C trong 1 h rồi ngay lập tức xác định độ nhớt để tránh sự thay đổi nhỏ độ nhớt của hệ (xuất hiện khoảng 75 min sau khi trung hòa). Xác định độ nhớt sử dụng nhớt kế quay với tốc độ quay 20 r/min và sử dụng trục quay phù hợp với độ nhớt biểu kiến dự kiến.

Nhóm acid carboxylic
Xem phần Định lượng.

CARMELOSE CALCI
Carmelosum calcicum

Carmelose calci là muối calci của celulose được *O*-carboxymethylat hóa một phần.

Tính chất
Bột màu trắng hoặc trắng hơi vàng nhạt, dễ hút ẩm sau khi làm khô.
Thực tế không tan trong aceton, ethanol 96 % và toluen. Trương nở trong nước tạo thành hỗn dịch.

Định tính
A. Lắc kỹ 0,1 g chế phẩm với 10 ml *nước*. Thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* và để yên trong 10 min (dung dịch A). Pha loãng 1 ml dung dịch A thành 5 ml bằng *nước*. Lấy 0,05 ml dung dịch thu được, thêm vào 0,5 ml dung dịch *muối natri của acid cromotropic (TT)*

0,05 % trong dung dịch *acid sulfuric (TT)* 75 % (kl/kl) và đun nóng trên cách thủy trong 10 min. Xuất hiện màu tím đỏ.
B. Lắc 5 ml dung dịch A thu được trong phép thử A với 10 ml *aceton (TT)*. Xuất hiện tủa bông màu trắng.
C. Lắc 5 ml dung dịch A thu được trong phép thử A với 1 ml *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)*. Tủa bông màu nâu tạo thành.
D. Nung 1 g chế phẩm và hòa tan cắn trong hỗn hợp gồm 5 ml *acid acetic (TT)* và 10 ml *nước*. Lọc (nếu cần), đun sôi dịch lọc trong vài phút. Để nguội và trung hòa bằng *dung dịch amoniac loãng (TT)*. Dung dịch thu được cho phản ứng (A) của calci (Phụ lục 8.1).

Giới hạn kiềm
Lắc kỹ 1,0 g chế phẩm với 50 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* và thêm 0,05 ml *dung dịch phenolphthalein (TT)*. Không được xuất hiện màu đỏ.

Clorid
Không được quá 0,36 % (Phụ lục 9.4.5).
Dung dịch S: Lắc 1,0 g chế phẩm với 50 ml *nước cất*, thêm 5 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* và pha loãng thành 100 ml bằng *nước cất*.
Đun trên cách thủy 28 ml dung dịch S với 10 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)* cho tới khi tủa bông được tạo thành. Để nguội, ly tâm tách lấy dịch ở trên. Rửa tủa 3 lần bằng cách ly tâm, mỗi lần với 10 ml *nước*. Gộp dịch ly tâm, dịch rửa và pha loãng thành 100 ml bằng *nước*. Lấy 25 ml dung dịch thu được, thêm 6 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)* và pha loãng thành 50 ml bằng *nước*. Pha loãng 10 ml dung dịch thu được thành 15 ml bằng *nước* để tiến hành thử.

Sulfat
Không được quá 1 % (Phụ lục 9.4.14).
Đun trên cách thủy 20 ml dung dịch S với 1 ml *acid hydrocloric (TT)* cho tới khi xuất hiện tủa bông. Để nguội, ly tâm tách lấy dịch ở trên. Rửa tủa 3 lần bằng cách ly tâm, mỗi lần với 10 ml *nước*. Gộp dịch ly tâm, dịch rửa và pha loãng thành 100 ml bằng *nước cất*. Lấy 25 ml dung dịch thu được, thêm 1 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và pha loãng thành 50 ml bằng *nước cất* để tiến hành thử.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 4.
Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 10,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C; 4 h).

Tro sulfat
Từ 10,0 % đến 20,0 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm, nung trong chén platin.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Tá dược.
Thuốc nhuận tràng.

CARMELOSE NATRI
Carmellosum natricum

Carmelose natri (natri carboxymethylcelulose) là muối natri của celulose được *O*-carboxymethylat hóa một phần, có chứa từ 6,5 % đến 10,8 % natri (Na), tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột hoặc hạt màu trắng hoặc gần như trắng, dễ hút ẩm sau khi làm khô.
Thực tế không tan trong aceton, ethanol và toluen. Dễ phân tán trong nước tạo thành dung dịch keo.

Định tính
Dung dịch S: Cân chính xác khoảng 1,0 g chế phẩm đã làm khô, rắc từ từ vào 90 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* ở nhiệt độ từ 40 °C đến 50 °C, khuấy mạnh. Tiếp tục khuấy cho tới khi thu được dung dịch keo, để nguội và pha loãng thành 100 ml bằng *nước không có carbon dioxyd (TT)*.
A. Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 1 ml *dung dịch đồng sulfat 10 % (TT)*. Xuất hiện tủa bông màu xanh.
B. Đun sôi 5 ml dung dịch S trong vài phút. Không được có tủa tạo thành.
C. Dung dịch thu được trong phép thử Kim loại nặng cho các phản ứng của ion natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu III (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn màu mẫu V_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
pH của dung dịch S từ 6,0 đến 8,0 (Phụ lục 6.2).

Độ nhớt biểu kiến
Từ 75 % đến 140 % giá trị ghi trên nhãn (Phụ lục 6.3)
Vừa khuấy vừa cho một lượng chính xác bột tương ứng với 2,00 g chế phẩm đã làm khô vào 50 ml *nước* đã được làm nóng đến 90 °C. Để nguội, pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*, khuấy cho đến khi hòa tan hoàn toàn. Xác định độ nhớt bằng nhớt kế quay ở 20 °C và tốc độ trượt là 10 s^{-1}. Nếu không thể đạt được tốc độ trượt chính xác là 10 s^{-1} thì dùng một tốc độ hơi lớn hơn, một tốc độ hơi nhỏ hơn và dùng phép nội suy. Đối với sản phẩm có độ nhớt thấp, dùng một lượng chế phẩm cần thiết để chuẩn bị dung dịch có nồng độ ghi trên nhãn.

Natri glycolat
Không được quá 0,4 %.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng chế phẩm tương ứng với 0,500 g chế phẩm đã làm khô vào một cốc thủy tinh, thêm 5 ml *acid acetic (TT)* và 5 ml *nước*. Khuấy cho đến khi hòa tan hoàn toàn (khoảng 30 min). Thêm 80 ml *aceton (TT)* và 2 g *natri clorid (TT)*. Lọc qua giấy lọc đã thấm ướt bằng *aceton (TT)*, rửa cốc và giấy lọc với *aceton (TT)*, pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Để yên 24 h không được lắc. Dùng lớp chất lỏng trong ở trên.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,310 g *acid glycolic (TT)* (đã được làm khan trước bằng phosphor pentoxyd trong chân không) vào *nước* trong bình định mức, thêm *nước* vừa đủ 1000,0 ml. Lấy 5,0 ml dung dịch thu được, thêm 5 ml *acid acetic (TT)* và để yên trong 30 min. Thêm 80 ml *aceton (TT)* và 2 g *natri clorid (TT)*, pha loãng thành 100,0 ml bằng *aceton (TT)*.
Lấy riêng biệt 2,0 ml dung dịch thử và dung dịch đối chiếu, cho vào bình định mức dung tích 25 ml. Đun nóng trên cách thủy để loại aceton. Để nguội tới nhiệt độ phòng và thêm 5,0 ml *dung dịch 2,7-dihydroxynaphthalen (TT)* vào mỗi bình. Lắc và thêm 15,0 ml *dung dịch 2,7-dihydroxynaphthalen (TT)*. Đậy bình bằng giấy nhôm và đun nóng trên cách thủy trong 20 min. Làm nguội dưới vòi nước và pha loãng thành 25,0 ml với *acid sulfuric (TT)*. Trong vòng 10 min, lấy 10,0 ml mỗi dung dịch vào ống nghiệm có đáy bằng. Khi so màu, quan sát dọc theo trục ống nghiệm. Màu của dung dịch thử không được đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu.

Clorid
Không được quá 0,25 % (Phụ lục 9.4.5)
Lấy 2 ml dung dịch S, pha loãng thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy cắn thu được từ phép thử tro sulfat, thêm 1 ml *acid hydrocloric (TT)* và bốc hơi trên cách thủy.
Hòa cắn trong 20 ml *nước*. Lấy 12 ml dung dịch thu được và tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 10,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

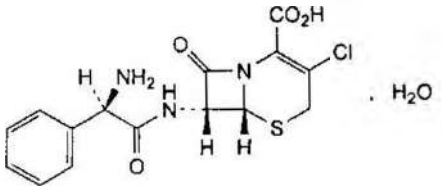
Tro sulfat
Từ 20,0 % đến 33,3 %, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 9.9, phương pháp 2). Giới hạn này tương ứng với hàm lượng natri (Na) từ 6,5 % đến 10,8 %.
Dùng 1,0 g chế phẩm tính theo chế phẩm đã làm khô, trộn với một hỗn hợp đồng thể tích *acid sulfuric (TT)* và *nước*.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Nhãn
Trên nhãn ghi độ nhớt biểu kiến tính theo milipascal giây của dung dịch 20 g/L.
Đối với sản phẩm có độ nhớt thấp, trên nhãn cần ghi nồng độ dung dịch được dùng để xác định độ nhớt và độ nhớt tính theo milipascal giây.

Loại thuốc
Tá dược.
Thuốc nhuận tràng.

CEFACLOR
Cefaclorum



$C_{15}H_{14}ClN_3O_4S.H_2O$ P.t.l: 385,8

Cefaclor là acid (6*R*,7*R*)-7-[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl] amino]-3-cloro-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]-oct-2-en-2-carboxylic monohydrat, được bán tổng hợp từ một sản phẩm lên men, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{15}H_{14}ClN_3O_4S$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột màu trắng hoặc hơi vàng. Khó tan trong nước, thực tế không tan trong methanol và trong methylen clorid.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của cefaclor chuẩn.

pH
Lắc 0,250 g chế phẩm với *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. pH của hỗn dịch thu được phải từ 3,0 đến 4,5 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng
Từ +101° đến +111°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 1 % (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Dung dịch natri dihydrophosphat 0,78 % (TT) được điều chỉnh đến pH 4,0 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Pha động B: Trộn đều 450 ml *acetonitril (TT)* và 550 ml *pha động A*.
Dung môi pha mẫu: Dung dịch natri dihydrophosphat 0,27 % (TT) được điều chỉnh đến pH 2,5 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong 10,0 ml dung môi pha mẫu.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2,5 mg cefaclor chuẩn và 5,0 mg delta-3-cefaclor chuẩn (tạp chất D) trong 100,0 ml dung môi pha mẫu.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng dung môi pha mẫu.

Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 30	95 → 75	5 → 25
30 - 45	75 → 0	25 → 100
45 - 55	0	100

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của cefaclor với pic của tạp chất D ít nhất là 2,0; hệ số đối xứng của pic cefaclor không quá 1,2. Nếu cần, điều chỉnh tỷ lệ của *acetonitril (TT)* trong pha động.
Giới hạn:
Các tạp chất: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (2 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid (2*R*)-2-amino-2-phenylacetic (phenylglycin).
Tạp chất B: Acid (6*R*,7*R*)-7-amino-3-cloro-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic.
Tạp chất C: Acid (6*R*,7*R*)-7-[[(2S)-2-amino-2-phenylacetyl] amino]-3-cloro-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic.
Tạp chất D: Acid (2*R*,6*R*,7*R*)- và (2*S*,6*R*,7*R*)-7-[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl]amino]-3-cloro-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0] oct-3-en-2-carboxylic (delta-3-cefaclor).
Tạp chất E: Acid 2-[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl]amino]-2-(5-cloro-4-oxo-3,4-dihydro-2*H*-1,3- thiazin-2-yl)acetic.
Tạp chất F: 3-phenylpyrazin-2-ol.
Tạp chất G: Acid (2*R*,6*R*,7*R*)- và (2*S*,6*R*,7*R*)-7-[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl]amino]-3-methylen-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]octan-2-carboxylic (isocefalexin).
Tạp chất H: Acid (6*R*,7*R*)-7-[[(2*R*)-2-[[(2*R*)-2-amino-2-phenyl acetyl]amino]-2-phenylacetyl]amino]-3-cloro-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic (*N*- phenylglycyl cefaclor).

Kim loại nặng
Không được quá 30 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 3 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
3,0 % đến 6,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,200 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 1 g *natri pentansulfonat (TT)* trong hỗn hợp gồm 780 ml *nước* và 10 ml *triethylamin (TT)*. Thêm 220 ml *methanol (TT)* vào hỗn hợp trên và điều chỉnh đến pH 2,5 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 15,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch chuẩn (1): Hòa tan 15,0 mg cefaclor chuẩn trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch chuẩn (2): Hòa tan 3,0 mg cefaclor chuẩn và 3,0 mg delta-3-cefaclor chuẩn (tạp chất D) trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 265 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn (2): Độ phân giải giữa pic của cefaclor với pic của tạp chất D ít nhất là 2,5. Nếu cần, điều chỉnh tỷ lệ của methanol trong pha động để đạt độ phân giải theo yêu cầu. Hệ số đối xứng của pic cefaclor lớn nhất là 1,5. Trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn (1), độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic cefaclor thu được từ sáu lần tiêm không quá 1,0 %.
Tính hàm lượng của cefaclor trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn (1) và hàm lượng của cefaclor chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Thuốc kháng sinh nhóm cephalosporin.

Chế phẩm
Viên nén, nang, bột pha hỗn dịch.

BỘT PHA HỖN DỊCH CEFACLOR
Pulveres Cefaclori ad suspensionum peroralum

Là thuốc bột dùng để pha hỗn dịch uống chứa cefaclor. Có thể có thêm các tá dược thích hợp tạo mùi vị, tạo màu, chất bảo quản, chất ổn định hỗn dịch....
Hỗn dịch tạo thành sau khi pha theo hướng dẫn trên nhãn thuốc phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Hỗn dịch thuốc" (Phụ lục 1.5).
Bột pha hỗn dịch phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc bột" (Phụ lục 1.7) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cefaclor khan, $C_{15}H_{14}ClN_3O_4S$, từ 90,0 % đến 120,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột thuốc khô tơi, không bị ẩm, vón, màu sắc đồng nhất.

Định tính
A. Lắc một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 0,3 g cefaclor khan với 100 ml *nước*, lọc và pha loãng 1 ml dịch lọc thành 100 ml với *nước*. Phổ hấp thụ tử ngoại của dung dịch thu được ở dải sóng 190 nm đến 310 nm chỉ có một cực đại hấp thụ ở 264 nm (Phụ lục 4.1).
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic cefaclor trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Nước
Không được quá 2,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,5 g chế phẩm.

pH
Từ 2,5 đến 5,0 (Phụ lục 6.2).
Sử dụng hỗn dịch pha theo hướng dẫn ghi trên nhãn để đo.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: *Dung dịch natri dihydrophosphat 0,78 %* được điều chỉnh về pH 4,0 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Pha động B: *Acetonitril - pha động A* (45 : 55).
Dung môi pha mẫu: *Dung dịch natri dihydrophosphat 0,27 % (TT)* đã được điều chỉnh tới pH 2,5 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Pha các dung dịch sau trước khi dùng.
Dung dịch thử: Cân một lượng bột thuốc hoặc một lượng hỗn dịch tạo thành pha như quy định trên nhãn tương ứng với 0,25 g cefaclor khan. Thêm 200 ml dung môi pha mẫu và lắc, pha loãng thành 250,0 ml với cùng dung môi, trộn đều và lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch cefaclor chuẩn 0,001 %.
Dung dịch phân giải: Hỗn hợp dung dịch chứa cefaclor chuẩn có nồng độ 0,0025 % và delta-3-cefaclor chuẩn có nồng độ 0,005 %.
Dung dịch giả dược (thực hiện khi có đủ điều kiện): Cân một lượng hỗn hợp tá dược (tỷ lệ thành phần như trong chế phẩm) tương ứng với lượng được trộn cùng 0,25 g cefaclor khan. Thêm 200 ml dung môi pha mẫu và lắc, pha loãng thành 250,0 ml với cùng dung môi, trộn đều và lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Cân bằng cột với hỗn hợp *pha động A - pha động B* (95 : 5) trong ít nhất 15 min.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu, dung dịch phân giải và dung dịch giả dược (nếu có).
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Ghi chú
0 - 30	95 → 75	5 → 25	Tuyến tính
30 - 45	75 → 0	25 → 100	Tuyến tính
45 - 55	0	100	Đẳng dòng
55 - 70	0 → 95	100 → 5	Cân bằng lại cột

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa hai pic cefaclor và delta-3-cefaclor không nhỏ hơn 2,0; nếu cần điều chỉnh tỷ lệ acetonitril trong pha động.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử:
Diện tích của bất kỳ pic phụ nào không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ đạt được của dung dịch đối chiếu (1 %).
Tổng diện tích của các pic phụ không được lớn hơn 3 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ đạt được của dung dịch đối chiếu (3 %).
Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,1%) và các pic tương ứng với các pic xuất hiện trên sắc ký đồ của dung dịch giả dược.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 1,0 g *natri pentansulfonat (TT)* trong hỗn hợp gồm 780 ml *nước* và 10 ml *triethylamin (TT)*, điều chỉnh pH đến 2,5 bằng *acid phosphoric (TT)*, thêm 220 ml *methanol (TT)* và trộn đều.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng chính xác cefaclor chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,3 mg trong 1 ml. Siêu âm để hòa tan, nếu cần, tránh không làm nóng dung dịch.
Dung dịch thử: Đối với chế phẩm đóng gói đơn liều, cân chính xác một lượng bột thuốc sau khi xác định độ đồng đều khối lượng; đối với chế phẩm đóng gói đa liều, cân chính xác một lượng hỗn dịch tạo thành, pha như quy định trên nhãn tương ứng với khoảng 60 mg cefaclor khan vào bình định mức 200 ml, thêm khoảng 150 ml pha động và lắc siêu âm 15 min, tránh không làm nóng dung dịch. Pha loãng bằng pha động vừa đủ đến vạch và lắc đều, lọc.
Dung dịch phân giải: Hòa tan một lượng cefaclor chuẩn và delta-3-cefaclor chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ 0,3 mg/ml mỗi chất.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 265 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiêm dung dịch phân giải, thời gian lưu tương đối của cefaclor và delta-3-cefaclor lần lượt là 0,8 và 1,0; độ phân giải giữa hai pic cefaclor và delta-3-cefaclor không nhỏ hơn 2,5; hệ số đối xứng của pic cefaclor không lớn hơn 1,5.
Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic cefaclor trong 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Từ diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{15}H_{14}ClN_3O_4S$ của cefaclor chuẩn và khối lượng riêng của hỗn dịch (đối với dạng đóng gói đa liều, xác định theo phụ lục 6.5), tính hàm lượng cefaclor, $C_{15}H_{14}ClN_3O_4S$, có trong chế phẩm.

Bảo quản
Thuốc bột được bảo quản trong bao bì kín. Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.
Hỗn dịch đa liều sau khi pha được bảo quản trong khoảng thời gian và ở nhiệt độ như hướng dẫn trên nhãn.

Nhãn
Nhãn cần qui định cách pha bột thuốc thành hỗn dịch và ghi lượng tương ứng cefaclor ($C_{15}H_{14}ClN_3O_4S$) có trong một đơn vị thể tích hỗn dịch tạo thành (đối với dạng đóng gói đa liều).

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Hàm lượng thường dùng
Chế phẩm đơn liều: 125 mg; 250 mg.
Chế phẩm đa liều: 125 mg/5 ml; 250 mg/5 ml.

NANG CEFACLOR
Capsulae Cefaclori

Là nang cứng chứa cefaclor.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng cefaclor khan, $C_{15}H_{14}ClN_3O_4S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lắc một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với khoảng 0,3 g cefaclor khan với 100 ml *nước*, lọc và pha loãng 1 ml dịch lọc thành 100 ml với *nước*. Phổ hấp thụ của dung dịch thu được ở dải sóng 190 nm đến 310 nm chỉ có một cực đại hấp thụ ở 264 nm (Phụ lục 4.1).
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic cefaclor trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Nước
Không được quá 8,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,5 g bột thuốc trong nang.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cách khuấy.
Môi trường hòa tan: 900ml *nước*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 30 min.
Tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc (bỏ 20 ml dịch lọc đầu). Pha loãng dịch lọc với *nước* (nếu cần) để thu được dung dịch có nồng độ cefaclor khan 0.025 %. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng có hấp thụ cực đại khoảng 264 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *nước*. Tính hàm lượng cefaclor, $C_{15}H_{14}ClN_3O_4S$, hòa tan trong mỗi nang dựa vào độ hấp thụ của dung dịch cefaclor chuẩn có nồng độ tương đương pha trong cùng dung môi.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng cefaclor khan, $C_{15}H_{14}ClN_3O_4S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 1,0 g *natri pentansulfonat (TT)* trong hỗn hợp gồm 780 ml *nước* và 10 ml *triethylamin (TT)*, điều chỉnh pH về 2,5 ± 0,1 bằng *acid phosphoric (TT)*, thêm 220 ml *methanol (TT)* và trộn đều.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng cefaclor chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,3 mg trong 1 ml. Siêu âm để hòa tan, nếu cần, tránh không làm nóng dung dịch.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với khoảng 15 mg cefaclor khan vào bình định mức 50 ml, thêm 35 ml pha động và lắc siêu âm 15 min, tránh không làm nóng dung dịch. Pha loãng bằng pha động vừa đủ đến vạch và lắc đều, lọc.
Dung dịch phân giải: Hòa tan một lượng cefaclor chuẩn và delta-3-cefaclor chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ 0,3 mg/ml mỗi chất.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 265 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiêm dung dịch phân giải, thời gian lưu tương đối của cefaclor và delta-3-cefaclor lần lượt là 0,8 và 1,0; độ phân giải giữa hai pic cefaclor và delta-3-cefaclor không nhỏ hơn 2,5; hệ số đối xứng của pic cefaclor không lớn hơn 1,5.
Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic cefaclor trong 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.

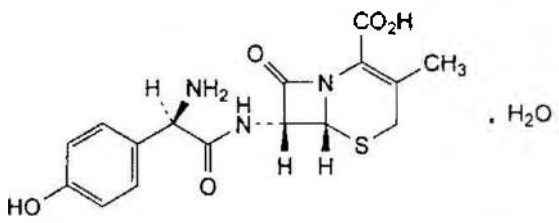
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng cefaclor, $C_{15}H_{14}ClN_3O_4S$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic của cefaclor thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{15}H_{14}ClN_3O_4S$ trong cefaclor chuẩn.

Bảo quản
Trong vỉ nhôm hay trong chai lọ nút kín.
Để nơi khô mát, nhiệt độ không quá 30 °C, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng sinh nhóm cephalosporin.

Hàm lượng thường dùng
250 mg; 500 mg.

CEFADROXIL MONOHYDRAT
Cefadroxilum monohydricum



$C_{16}H_{17}N_3O_5S.H_2O$ P.t.l: 381,4

Cefadroxil là acid (6*R*,7*R*)-7-[[(2*R*)-2-amino-2-(4-hydroxyphenyl)acetyl]amino]-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo [4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic monohydrat, được bán tổng hợp từ một sản phẩm lên men, phải chứa từ 95,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{17}N_3O_5S$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột màu trắng hoặc gần như trắng. Khó tan trong nước, rất khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của cefadroxil chuẩn.

pH
Từ 4,0 đến 6,0 (Phụ lục 6.2).
Lắc 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Góc quay cực riêng
Từ +165° đến +178°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Dung dịch đệm phosphat pH 5,0 (TT).
Pha động B: Methanol (TT_3).

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10,0 mg D-α-(4-hydroxyphenyl)glycin chuẩn (tạp chất A) trong pha động A và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg acid 7-aminodesacetoxycephalosporanic chuẩn (tạp chất B) trong *dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT_3)* và pha loãng thành 10.0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) và 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 100,0 ml bằng pha động A.
Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 10,0 mg *dimethylformamid (TT)* và 10 mg *dimethylacetamid (TT)* trong pha động A và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động A.
Dung dịch đối chiếu (5): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (3) thành 25,0 ml bằng pha động A.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *spherical octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 1	98	2
1 - 20	98 → 70	2 → 30

Thời gian lưu tương đối so với cefadroxil (thời gian lưu khoảng 6 min): Dimethylformamid khoảng 0,4; dimethylacetamid khoảng 0,75.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic của tạp chất A với pic của tạp chất B ít nhất là 5,0. Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5), tỷ số tín hiệu trên nhiễu ít nhất là 10 đối với pic thứ 2.
Giới hạn:
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic thứ nhất thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1,0 %).
Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn diện tích pic thứ 2 thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1,0 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 3 lần diện tích pic thứ 2 thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (3,0 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic thứ 2 thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,05 %). Bỏ qua pic của dimethylformamid và dimethylacetamid.

Ghi chú:
Tạp chất A: Acid (2*R*)-2-amino-2-(4-hydroxyphenyl)acetic.
Tạp chất B: Acid (6*R*,7*R*)-7-amino-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic (7-ADCA).
Tạp chất C: Acid (2*R*,5*RS*)-2-[(*R*)-[[(2*R*)-2-amino-2-(4-hydroxyphenyl)acetyl]amino]carboxymethyl]-5-methyl-5,6-dihydro-2*H*-1,3-thiazin- 4-carboxylic.
Tạp chất D: Acid (6*R*,7*R*)-7-[[(2*S*)-2-amino-2-(4-hydroxyphenyl) acetyl]amino]-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0] oct-2-en-2-carboxylic (L-cefadroxil).
Tạp chất E: (6*RS*)-3-(aminomethylen)-6-(4-hydroxyphenyl) piperazin-2,5-dion.
Tạp chất F: Acid (6*R*,7*R*)-7-[[(2*R*)-2-[[(2*RS*)-2-amino-2-(4-hydroxyphenyl)acetyl]amino]-2-(4- hydroxy phenyl) acetyl]amino]-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic.
Tạp chất G: 3-hydroxy-4-methylthiophen-2(5*H*)-on.
Tạp chất H: Acid (6*R*,7*R*)-7-[(2,2-dimethylpropanoyl)amino]-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo [4.2.0] oct-2-en-2-carboxylic (7-ADCA pivalamid).

N,N-Dimethylanilin
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16, phương pháp 2).

Nước
Từ 4,0 % đến 6,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,200 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Acetonitril - dung dịch kali dihydrophosphat 0,272 %* (4 : 96).
Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch chuẩn (1): Hòa tan 50,0 mg cefadroxil chuẩn trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch chuẩn (2): Hòa tan 5 mg cefadroxil chuẩn và 50 mg amoxicilin trihydrat chuẩn trong pha động và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn (2), độ phân giải giữa pic của cefadroxil với pic của amoxicilin ít nhất là 5,0.
Tiêm dung dịch thử, dung dịch chuẩn (1).
Tính hàm lượng cefadroxil trong chế phẩm dựa vào diện tích pic của cefadroxil trong dung dịch thử, dung dịch chuẩn (1) và hàm lượng $C_{16}H_{17}N_3O_5S$ trong cefadroxil chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Chế phẩm
Nang, hỗn dịch uống.

BỘT PHA HỖN DỊCH CEFADROXIL
Pulveres Cefadroxili ad suspensionum peroralum

Là thuốc bột dùng để pha hỗn dịch uống chứa cefadroxil. Có thể có thêm các tá dược thích hợp tạo mùi vị, tạo màu, chất bảo quản, chất ổn định hỗn dịch....
Hỗn dịch tạo thành sau khi pha theo hướng dẫn trên nhãn thuốc phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Hỗn dịch thuốc" (Phụ lục 1.5).
Bột pha hỗn dịch phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc bột" (Phụ lục 1.7) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cefadroxil khan, $C_{16}H_{17}N_3O_5S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột khô tơi, không bị ẩm, vón, màu sắc đồng nhất.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* dày 0,25 mm, không có chất kết dính, được chuẩn bị như sau: Đặt bản mỏng trong bình sắc ký có chứa hỗn hợp dung môi *n-hexan* và *tetradecan* (95 : 5) ngập khoảng 1 cm, để dung môi di chuyển theo chiều dài của bản mỏng, sau đó lấy bản mỏng ra khỏi bình sắc ký và để dung môi bay hơi.
Dung môi khai triển: *Dung dịch acid citric 0,1 M - dung dịch dinatri hydrophosphat 0,1 M - dung dịch ninhydrin trong aceton có nồng độ 1 g trong 15 ml* (60 : 40 : 1,5).
Dung dịch thử: Lấy một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 20 mg cefadroxil, hòa tan trong 10 ml *nước*, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch cefadroxil chuẩn 0,2 % trong *nước*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 chiều dài bản mỏng. Lấy bản mỏng ra khỏi bình sắc ký, đánh dấu mức dung môi và để bản mỏng khô ngoài không khí. Phun lên bản mỏng *dung dịch ninhydrin 0,2 % trong ethanol (TT)* (dung dịch này được bảo quản tránh ánh sáng), sấy bản mỏng ở 110 °C trong 10 min và quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ thu được, vết chính của dung dịch thử và của dung dịch đối chiếu phải giống nhau về vị trí, màu sắc và kích thước.

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

Độ mịn
Thuốc bột phải đạt độ mịn của Bột mịn (Phụ lục 3.5).

Nước
Không được quá 2,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 1,0 g bột thuốc.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Đệm phosphat pH 5,0: Hòa tan 13,6 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong *nước* vừa đủ 2000 ml và điều chỉnh tới pH 5,0 bằng *dung dịch kali hydroxyd 10 M (TT)*.
Pha động: *Acetonitril - đệm phosphat pH 5,0* (4 : 96).
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng cefadroxil chuẩn trong đệm phosphat pH 5,0 để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 1,0 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột thuốc (thu được từ phép thử Đồng đều khối lượng) tương ứng với khoảng 100 mg cefadroxil vào bình định mức 100 ml, thêm 75 ml đệm phosphat pH 5,0 và lắc siêu âm 5 min. Pha loãng bằng đệm phosphat pH 5,0 vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.
Lưu ý: Các dung dịch chuẩn và thử được sử dụng trong ngày.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm hoặc 10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn: Hệ số dung lượng k' từ 2,0 đến 3,5; số đĩa lý thuyết của cột không nhỏ hơn 1800, hệ số đối xứng không quá 2,2; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic cefadroxil trong 6 lần tiêm lặp lại mẫu chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng cefadroxil, $C_{16}H_{17}N_3O_5S$, có trong chế phẩm từ diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của cefadroxil chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín.
Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm cephalosporin.

NANG CEFADROXIL
Capsulae Cefadroxili

Là nang cứng chứa cefadroxil monohydrat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng cefadroxil khan, $C_{16}H_{17}N_3O_5S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* dày 0,25 mm, không có chất kết dính, được chuẩn bị như sau: Đặt bản mỏng trong bình sắc ký có chứa hỗn hợp dung môi *n-hexan* và *tetradecan* (95 : 5) ngập khoảng 1 cm, để dung môi đi chuyển theo chiều dài của bản mỏng, sau đó lấy bản mỏng ra khỏi bình sắc ký và để dung môi bay hơi.
Dung môi khai triển: *Dung dịch acid citric 0,1 M - dung dịch dinatri hydrophosphat 0,1 M - dung dịch ninhydrin trong aceton có nồng độ 1 g trong 15 ml* (60 : 40 : 1,5).
Dung dịch thử: Lấy một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với khoảng 20 mg cefadroxil, hòa tan trong 10 ml *nước*, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch cefadroxil chuẩn 0,2 % trong *nước*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 chiều dài bản mỏng. Lấy bản mỏng ra khỏi bình sắc ký, đánh dấu mức dung môi và để bản mỏng khô ngoài không khí. Phun lên bản mỏng *dung dịch ninhydrin 0,2 % trong ethanol (TT)* (dung dịch này được bảo quản tránh ánh sáng), sấy bản mỏng ở 110 °C trong 10 min và quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ thu được, vết chính của dung dịch thử và của dung dịch đối chiếu phải giống nhau về vị trí, màu sắc và kích thước.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic cefadroxil trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Nước
Không được quá 7,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,5 g bột thuốc trong nang.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 30 min.
Tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc (bỏ 20 ml dịch lọc đầu). Pha loãng dịch lọc thu được tới nồng độ thích hợp với *nước* (nếu cần). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng có hấp thụ cực đại khoảng 263 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *nước*. Tính hàm lượng cefadroxil, $C_{16}H_{17}N_3O_5S$, so sánh với dung dịch cefadroxil chuẩn có nồng độ tương đương trong cùng dung môi.

Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng cefadroxil, $C_{16}H_{17}N_3O_5S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Đệm phosphat pH 5,0: Hòa tan 13,6 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong *nước* vừa đủ 2000 ml và điều chỉnh tới pH 5,0 bằng *dung dịch kali hydroxyd 10 M (TT)*.
Pha động: *Acetonitril - đệm phosphat pH 5,0* (4 : 96).
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng cefadroxil chuẩn trong đệm phosphat pH 5,0 để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 1,0 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân thuốc trong từng nang của 20 nang, tính khối lượng trung bình, trộn đều, rồi nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 100 mg cefadroxil vào bình định mức 100 ml, thêm 75 ml đệm phosphat pH 5,0 và lắc siêu âm 5 min. Pha loãng bằng đệm phosphat pH 5,0 vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.
Lưu ý: Các dung dịch chuẩn và thử được sử dụng trong ngày.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm hoặc 10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn: Hệ số dung lượng k' từ 2,0 đến 3,5; số đĩa lý thuyết của cột không nhỏ hơn 1800, hệ số đối xứng không quá 2,2; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic cefadroxil trong 6 lần tiêm lặp lại mẫu chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng cefadroxil, $C_{16}H_{17}N_3O_5S$, có trong nang từ diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của cefadroxil chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín.
Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Hàm lượng thường dùng
500 mg.

VIÊN NÉN CEFADROXIL
Tabellae Cefadroxili

Là viên nén hoặc viên nén bao phim chứa cefadroxil.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng cefadroxil khan, $C_{16}H_{17}N_3O_5S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* dày 0,25 mm, không có chất kết dính, được chuẩn bị như sau: Đặt bản mỏng trong bình sắc ký có chứa hỗn hợp dung môi *n-hexan* và *tetradecan* (95 : 5) ngập khoảng 1 cm, để dung môi di chuyển theo chiều dài của bản mỏng, sau đó lấy bản mỏng ra khỏi bình sắc ký và để dung môi bay hơi.
Dung môi khai triển: *Dung dịch acid citric 0,1 M - dung dịch dinatri hydrophosphat 0,1 M - dung dịch ninhydrin trong aceton có nồng độ 1 g trong 15 ml* (60 : 40 : 1,5).
Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên tương ứng với khoảng 20 mg cefadroxil, hòa tan trong 10 ml *nước*, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch cefadroxil chuẩn 0,2 % trong *nước*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 chiều dài bản mỏng. Lấy bản mỏng ra khỏi bình sắc ký, đánh dấu mức dung môi và để bản mỏng khô ngoài không khí. Phun lên bản mỏng *dung dịch ninhydrin 0,2 % trong ethanol (TT)* (dung dịch này được bảo quản tránh ánh sáng), sấy bản mỏng ở 110 °C trong 10 min và quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ thu được, vết chính của dung dịch thử và của dung dịch đối chiếu phải giống nhau về vị trí, màu sắc và kích thước.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic cefadroxil trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Nước
Không được quá 8,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,5 g bột viên.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 30 min.
Tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc (bỏ 20 ml dịch lọc đầu). Pha loãng dịch lọc thu được tới nồng độ thích hợp với *nước* (nếu cần). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng có hấp thụ cực đại khoảng 263 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *nước*. Tính hàm lượng cefadroxil, $C_{16}H_{17}N_3O_5S$, so sánh với dung dịch cefadroxil chuẩn có nồng độ tương đương trong cùng dung môi.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng cefadroxil, $C_{16}H_{17}N_3O_5S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Đệm phosphat pH 5,0: Hòa tan 13,6 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong *nước* vừa đủ 2000 ml và điều chỉnh tới pH 5,0 bằng *dung dịch kali hydroxyd 10 M (TT)*.

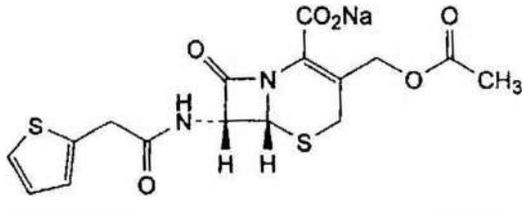
Pha động: Acetonitril - đệm phosphat pH 5,0 (4 : 96).
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng cefadroxil chuẩn trong đệm phosphat pH 5,0 để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 1,0 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân 20 viên (loại bỏ vỏ bao, nếu có), tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 100 mg cefadroxil vào bình định mức 100 ml, thêm 75 ml đệm phosphat pH 5,0 và lắc siêu âm 5 min. Pha loãng bằng đệm phosphat pH 5,0 vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.
Lưu ý: Các dung dịch chuẩn và thử được sử dụng trong ngày.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm hoặc 10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn: Hệ số dung lượng k' từ 2,0 đến 3,5; số đĩa lý thuyết của cột không nhỏ hơn 1800, hệ số đối xứng không quá 2,2; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic cefadroxil trong 6 lần tiêm lặp lại mẫu chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng cefadroxil, $C_{16}H_{17}N_3O_5S$, có trong viên từ diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của cefadroxil chuẩn.

Bảo quản
Trong vỉ nhôm hay trong chai lọ nút kín.
Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Hàm lượng thường dùng
500 mg, 1 g.

CEFALOTIN NATRI
Cefalotinum natricum



$C_{16}H_{15}N_2NaO_6S_2$ P.t.l.: 418,4

Cefalotin natri là natri (6*R*,7*R*)-3-[(acetyloxy)methyl]-8-oxo-7-[(thiophen-2-ylacetyl)amino]-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylat, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{15}N_2NaO_6S_2$, tính theo chế phẩm khan.
Chế phẩm bán tổng hợp từ một sản phẩm lên men.

Tính chất
Bột màu trắng hay gần như trắng. Dễ tan trong nước, kh tan trong ethanol khan.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của cefalotin natri chuẩn.
B. Chế phẩm phải cho phản ứng của ion natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi (Dung dịch S).
Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và có độ hấp thụ ánh sáng ở bước sóng 450 nm (Phụ lục 4.1) không lớn hơn 0,20.

pH
pH của dung dịch S từ 4,5 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng
Hòa tan 1,25 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Góc quay cực riêng từ +124° đến +134°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch A: Hòa tan 1,742g *dikali hydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*, điều chỉnh pH đến 2,5 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Pha động A: Acetonitril (TT_1) - dung dịch A (3 : 97).
Pha động B: Acetonitril (TT_1) - dung dịch A (40 : 60).
Chuẩn bị các dung dịch sau ngay trước khi dùng:
Dung dịch thử (1): Hòa tan 75,0 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử (1) thành 50,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 100,0 ml với *nước*.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 75,0 mg cefalotin natri chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5 mg *tạp chất B chuẩn của cefalotin dùng để định tính* trong *nước* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Dung dịch phân giải: Trộn đều 1 ml dung dịch thử (1), 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT)* và 8 ml *nước*. Đun nóng ở 60 °C trong 12 min và làm nguội đến nhiệt độ phòng bằng nước đá. Tiêm ngay sau khi pha.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (250 mm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel* dùng cho sắc ký 5 (µm)
Nhiệt độ cột: 40 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 30	100 → 0	0 → 100
30 - 35	0	100

Tiêm mẫu trắng, dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1), (3) và dung dịch phân giải.
Thời gian lưu tương đối so với cefalotin (thời gian lưu khoảng 26 min) của tạp chất C khoảng 0,2; tạp chất B khoảng 0,7; tạp chất D khoảng 0,88; tạp chất A khoảng 0,96.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa tạp chất D và cefalotin không nhỏ hơn 7,0.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (1).
Diện tích pic tương ứng với tạp chất B không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %).
Diện tích pic tương ứng với tạp chất D không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Các tạp chất khác: Mỗi tạp chất có diện tích pic không được lớn hơn 0,25 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,25 %).
Tổng diện tích các pic tạp chất không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (3,0 %).
Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid (6*R*,7*R*)-3-methyl-8-oxo-7-[(thiophen-2-ylacetyl)amino]-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic (deacetoxycefalotin).
Tạp chất B: Acid (6*R*,7*R*)-3-(hydroxymethyl-8-oxo-7-[(thiophen-2-ylacetyl)amino]-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic (deacetylcefalotin).
Tạp chất C: Acid (6*R*,7*R*)-3-[(acetyloxy)methyl]-7-amino-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic (7-ACA).
Tạp chất D: (5a*R*,6*R*)-6-[(thiophen-2-ylacetyl)amino]-5a,6-dihydro-3*H*,7*H*-azeto[2,1-b]furo[3,4-d][1,3]thiazin-1,7(4*H*)-dion (cefalotin lacton).

N,N-Dimethylanilin
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16, phương pháp 2).

Acid 2-ethylhexanoic
Không được quá 0,5% (kl/kl) (Phụ lục 10.17).

Nước
Không được quá 1,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,500 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 0,13 EU/mg (Phụ lục 13.2).
Nếu chế phẩm được dùng để sản xuất các dạng thuốc tiêm mà không có phương pháp hữu hiệu loại bỏ nội độc tố vi khuẩn thì phải đáp ứng yêu cầu của phép thử này.

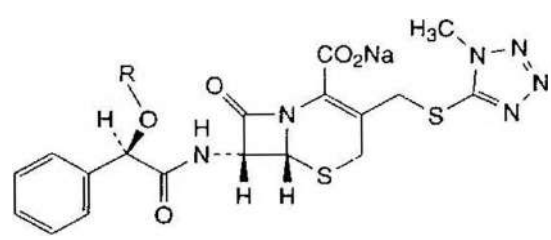
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Tiến hành như mô tả trong phần Tạp chất liên quan với những thay đổi sau:
Dung dịch B: Hòa tan 6,967 g *dikali hydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*, điều chỉnh pH đến 6,0 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Pha động: Acetonitril - Dung dịch B (14 : 86).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 260 nm.
Thể tích tiêm: 5 µl.
Thời gian chạy sắc ký bằng 1,5 lần thời gian lưu của cefalotin (thời gian lưu của cefalotin natri khoảng 10 min).
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (2).
Tính hàm lượng cefalotin natri, $C_{16}H_{15}N_2NaO_6S_2$, từ diện tích pic trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (2) và hàm lượng $C_{16}H_{15}N_2NaO_6S_2$ của cefalotin natri chuẩn.

Bảo quản
Tránh ánh sáng. Nếu chế phẩm vô khuẩn thì phải bảo quản trong bao bì kín, vô khuẩn.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Chế phẩm
Viên nén, nang, bột pha tiêm.

CEFAMANDOL NAFAT
Cefamandoli nafas



Thành phần	R	Công thức phân tử	P.t.l
Cefamandol nafat	CHO	$C_{19}H_{17}N_6NaO_6S_2$	512,5
Cefamandol natri	H	$C_{18}H_{17}N_6NaO_5S_2$	484,5

$C_{19}H_{17}N_6NaO_6S_2$ P.t.l.: 512,5

Cefamandol nafat là hỗn hợp muối natri (6*R*,7*R*)-7-[[(2*R*)-2-(formyloxy)-2-phenylacetyl]amino]-3-[[(1-methyl-1*H*-tetrazol-5-yl)sulphanyl]methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylat và natri (6*R*,7*R*)-7-[[(2*R*)-2-hydroxy-2-phenylacetyl]amino]-3-[[(1-methyl-1*H*-tetrazol-5-yl) sulphanyl] methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylat (cefamandol natri) với natri carbonat.
Chế phẩm bán tổng hợp từ một sản phẩm lên men.

Hàm lượng
Cefamandol nafat, $C_{19}H_{17}N_6NaO_6S_2$, phải từ 93,0 % đến 102,0 % (tính theo chế phẩm khan và không có natri carbonat) tổng hàm lượng cefamandol nafat và cefamandol natri tính theo cefamandol nafat;
Cefamandol natri, $C_{18}H_{17}N_6NaO_5S_2$, không được quá 10,0 % (tính theo chế phẩm khan và không có natri carbonat);
Natri carbonat, Na_2CO_3, từ 4,8 % đến 6,4 %.

Tính chất
Bột màu trắng hay gần như trắng. Dễ tan trong nước, hơi tan trong methanol.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của cefamandol nafat chuẩn.
B. Chế phẩm phải cho phản ứng của ion natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi (Dung dịch S).
Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và có độ hấp thụ ánh sáng ở 475 nm (Phụ lục 4.1) không lớn hơn 0,03.

pH
pH của dung dịch S từ 6,0 đến 8,0, đo sau khi pha 30 min (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng
Từ -35,0° đến -45°, (Phụ lục 6.4, tính theo chế phẩm khan và không có natri carbonat)
Hòa tan 1,00 g chế phẩm trong *dung dịch đệm acetat pH 4,7 (TT_1)* và pha loãng tới 10,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch triethylamin phosphat: Hòa tan 2,0 g *natri pentansulfonat (TT)* trong 350 ml *nước*, thêm vào 40 ml *triethylamin (TT)*, chỉnh đến pH 2,5 bằng *acid phosphoric (TT)* và pha loãng thành 700 ml bằng *nước*.
Pha động A: Dung dịch triethylamin phosphat - nước (1 : 2).
Pha động B: Dung dịch triethylamin phosphat - methanol - acetonitril (1 : 1 : 1).
Chuẩn bị các dung dịch sau ngay trước khi dùng:
Hỗn hợp dung môi: Hỗn hợp gồm 18 thể tích *acetonitril (TT)* và 75 thể tích dung dịch *triethylamin (TT)* 10 % (tt/tt) được chỉnh đến pH 2,5 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng tới 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với hỗn hợp dung môi.
Dung dịch phân giải: Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 10 ml với hỗn hợp dung môi sau đó đun nóng ở 60 °C trong 30 min.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (250 mm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 1	100	0
1 - 35	100 → 0	0 → 100

Tiêm mẫu trắng, dung dịch thử, dung dịch đối chiếu và dung dịch phân giải.
Thời gian lưu tương đối của cefamandol so với cefamandol nafat (thời gian lưu khoảng 24 min) khoảng 0,8.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa cefamandol và cefamandol nafat không nhỏ hơn 5,0.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, từng tạp chất, mỗi tạp có diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %). Tổng diện tích các pic tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5,0 %).
Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,1 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid (6*R*,7*R*)-7-[[(2*R*)-2-(formyloxy)-2-phenylacetyl]amino]-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic (acid formylmandeloyl-7-amino-desacetoxy-cephalosporanic).
Tạp chất C: Acid (6*R*,7*R*)-7-[[(2*R*)-2-(acetyloxy)-2-phenylacetyl]amino]-3-[[(1-methyl-1*H*-tetrazol-5-yl)sulphanyl]methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic (*O*-acetyl-cefamandol).
Tạp chất D: 1-methyl-1*H*-tetrazol-5-thiol.
Tạp chất E: Acid (6*R*,7*R*)-7-[[(2*R*)-2-(formyloxy)-2-phenyl-acetyl]amino]-3-[(acetyloxy)methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo-[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic (formylman-deloyl-7-ACA).

Acid 2-ethylhexanoic
Không được quá 0,3 % (kl/kl) (Phụ lục 10.17).

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3.
Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Không được quá 2,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,500 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 0,15 EU/mg (Phụ lục 13.2).
Nếu chế phẩm được dùng để sản xuất các dạng thuốc tiêm mà không có phương pháp hữu hiệu loại bỏ nội độc tố vi khuẩn thì phải đáp ứng yêu cầu của phép thử này.

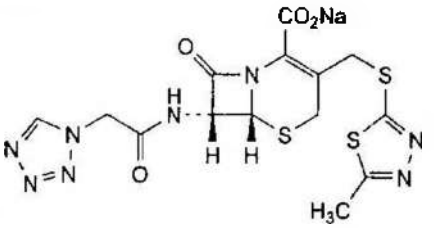
Định lượng
Cefamandol nafat
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hỗn hợp gồm 25 thể tích *acetonitril (TT)* và 75 thể tích dung dịch *triethylamin (TT)* 10 % (tt/tt) được chỉnh đến pH 2,5 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Chuẩn bị các dung dịch sau ngay trước khi dùng:
Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan 50,0 mg cefamandol nafat chuẩn trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với pha động.
Dung dịch phân giải: Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 10 ml với pha động sau đó đun nóng ở 60 °C trong 30 min.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (250 mm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiêm dung dịch phân giải, trên sắc ký đồ thu được độ phân giải giữa hai pic chính không nhỏ hơn 7,0.
Độ lệch chuẩn tương đối không lớn hơn 0,8 %, xác định trên các lần tiêm lặp lại của ít nhất 3 dung dịch chuẩn mới pha.
Tiêm dung dịch chuẩn và dung dịch thử, từ diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn, hàm lượng của cefamandol nafat chuẩn, tính hàm lượng phần trăm cefamandol nafat ($C_{19}H_{17}N_6NaO_6S_2$) trên tổng hàm lượng của cefamandol nafat và cefamandol natri (được tính theo cefamandol nafat).
1 mg cefamandol natri tương đương với 1,0578 mg cefamandol nafat.
Natri carbonat
Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong 50 ml *nước*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 5,3 mg Na_2CO_3.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng. Nếu chế phẩm vô khuẩn thì phải bảo quản trong bao bì kín, vô khuẩn.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Chế phẩm
Viên nén, nang, bột pha tiêm.

CEFAZOLIN NATRI
Cefazolinum natricum



$C_{14}H_{13}N_8NaO_4S_3$ P.t.l: 476,5

Cefazolin natri là natri (6*R*,7*R*)-3-[[(5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)sulphanyl]-methyl]-8-oxo-7-[(1*H*-tetrazol-1-ylacetyl) amino]-5-thia-1-azabicyclo-[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylat, được bán tổng hợp từ một sản phẩm lên men, phải chứa từ 95,0 % đến 102,0 % $C_{14}H_{13}N_8NaO_4S_3$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột trắng hoặc gần như trắng, rất dễ hút ẩm. Đa hình.
Dễ tan trong nước, rất khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính
A. Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong 5 ml *nước*, thêm 0,5 ml *acid acetic loãng (TT)*, khuấy đều và để yên trong nước đá 10 min. Lọc lấy tủa và rửa tủa với 1 ml đến 2 ml *nước*. Hòa tan tủa trong hỗn hợp *nước - aceton* (1 : 9). Bay hơi dung môi đến cắn, sau đó sấy cắn ở 60 °C trong 30 min.
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của cefazolin chuẩn.
B. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch đo ở bước sóng 430 nm không lớn hơn 0,15.

pH
Từ 4,0 đến 6,0 (Phụ lục 6.2).
Dùng dung dịch S để đo.

Góc quay cực riêng

Từ -15° đến -24°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4). Hòa tan 1,25 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Độ hấp thụ ánh sáng

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT)*. Đo độ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch trong khoảng bước sóng từ 220 nm đến 350 nm. Dung dịch phải có cực đại hấp thụ tại bước sóng 272 nm. Độ hấp thụ riêng tại cực đại hấp thụ phải từ 260 đến 300 (tính theo chế phẩm khan).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Hòa tan 14,54 g *dinatri hydrophosphat (TT)* và 3,53 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 1000 ml với cùng dung môi.

Pha động B: *Acetonitril dùng trong phương pháp sắc ký*.

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

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

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 20 mg chế phẩm trong 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,2 % (TT)*. Để yên 15 min đến 30 min. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20 ml bằng pha động A.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (12,5 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 µm).

Nhiệt độ cột: 45 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.

Thể tích tiêm: 5 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 2	98	2
2 - 4	98 → 85	2 → 15
4 - 10	85 → 60	15 → 40
10 - 11,5	60 → 35	40 → 65
11,5 - 12	35	65
12 - 15	35 → 98	65 → 2
15 - 21	98	2

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của cefazolin với pic của tạp chất L ít nhất là 2,0 (Hình 1).

Giới hạn:

Các tạp chất: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 3,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (3,5 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: Acid (6*R*,7*R*)-7-amino-3-[[(5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)sulfanyl]methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo [4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic.

Tạp chất B: Acid (6*R*,7*R*)-7-[(2,2-dimethylpropanoyl)amino]-3-[[(5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)sulfanyl] methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2- carboxylic.

Tạp chất C: Acid (6*R*,7*R*)-3-methyl-8-oxo-7-[(1*H*-tetrazol-1-ylacetyl)amino]-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic.

Tạp chất D: Acid (6*R*,7*R*)-3-[(acetyloxy)methyl]-8-oxo-7-[(1*H*-tetrazol-1-ylacetyl)amino]-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct -2-en-2-carboxylic.

Tạp chất E: 5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-thiol (MMTD).

Tạp chất G: (5a*R*,6*R*)-6-[(1*H*-tetrazol-1-ylacetyl)amino]-5a,6-dihydro-3*H*,7*H*-azeto[2,1-*b*]furo[3,4-*d*][1,3]thiazin-1,7(4*H*)-dion.

Tạp chất H: Acid (6*R*,7*R*)-3-[(acetyloxy)methyl]-7-amino-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic (7-ACA).

Tạp chất I: Acid 2-[carboxy[(1*H*-tetrazol-1-ylacetyl)amino] methyl]-5-[[(5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)sulfanyl]methyl]-5,6-dihydro-2*H*-1,3-thiazin-4-carboxylic (acid cefazoloic).

Tạp chất J: Acid 2-[carboxy[(1*H*-tetrazol-1-ylacetyl)amino] methyl]-5-(hydroxymethyl)-5,6-dihydro-2*H*-1,3-thiazine-4-carboxylic (Acid hydrolysed cefazoloic).

Tạp chất K: (6*R*,7*R*)-3-[[(5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl) sulfanyl]methyl]-8-oxo-7-[(1*H*-tetrazol-1-ylacetyl)amino]-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxamid(cefazolinamid).

Tạp chất L: Acid (6*R*,7*S*)-3-[[(5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl) sulfanyl]methyl]-8-oxo-7-[(1*H*-tetrazol-1-ylacetyl)amino]-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic.

N,N-Dimethylanilin

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16, phương pháp 2).

Nước

Không được quá 6,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,300 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn

Không được quá 0,15 EU/mg (Phụ lục 13.2), nếu chế phẩm dùng để sản xuất thuốc tiêm mà không có phương pháp hữu hiệu để loại bỏ nội độc tố vi khuẩn.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Acetonitril - dung dịch đệm phosphat* (10 : 90).

Dung dịch đệm phosphat: Hòa tan 2,77 g *dinatri hydrophosphat (TT)* và 1,86 g *acid citric (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 1000 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch chuẩn (1): Hòa tan 50,0 mg cefazolin chuẩn trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch chuẩn (2): Hòa tan 5,0 mg cefuroxim natri chuẩn trong 10,0 ml dung dịch chuẩn (1) và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 270 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn (2), độ phân giải giữa pic của cefazolin với pic của cefuroxim ít nhất là 2,0.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch thử, dung dịch chuẩn (1).

Tính hàm lượng của cefazolin dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn (1) và hàm lượng của cefazolin trong cefazolin chuẩn.

Hàm lượng phần trăm của cefazolin natri trong chế phẩm bằng hàm lượng phần trăm của cefazolin nhân với 1,048.

Bảo quản

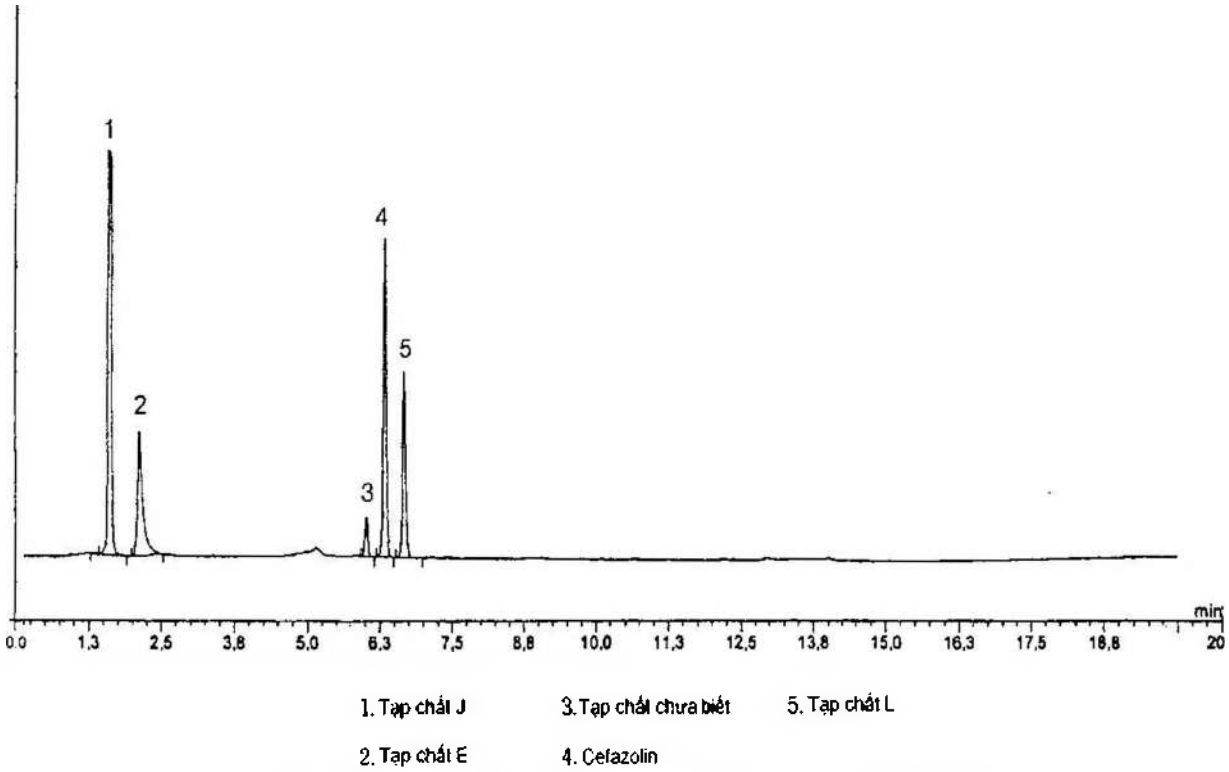
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng. Nếu là chế phẩm vô khuẩn phải bảo quản trong đồ đựng vô trùng, kín, tránh nhiễm khuẩn.

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Chế phẩm

Thuốc tiêm, dung dịch nhỏ mắt.



Hình 1: Sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (2) của phép thử Tạp chất liên quan.

BỘT PHA TIÊM CEFAZOLIN
Cefazolini pulvis ad injectionem

Bột pha tiêm cefazolin là bột kết tinh vô khuẩn của cefazolin natri đóng trong lọ thủy tinh nút kín. Chỉ pha với nước vô khuẩn để tiêm ngay trước khi dùng.
Chế phẩm phải đạt các yêu cầu quy định trong chuyên luận chung về "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cefazolin, $C_{14}H_{14}N_8O_4S_3$, phải đạt từ 90,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Tinh thể hoặc bột kết tinh màu trắng ngà.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic cefazolin natri trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
B. Chế phẩm phải có phản ứng đặc trưng của ion natri (Phụ lục 8.1).

Giới hạn acid - kiềm
pH của dung dịch chế phẩm 10,0 % trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* từ 4,0 đến 6,0 (Phụ lục 6.2).

Độ trong của dung dịch
Dung dịch chế phẩm 10,0 % trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* phải trong (Phụ lục 9.2). Độ hấp thụ của dung dịch trên ở bước sóng 430 nm không quá 0,15 (Phụ lục 4.1).

Nước
Không được quá 6,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,3 g bột thuốc.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Acid acetic băng - nước - aceton - ethyl acetat (10 : 10 : 20 : 50).
Dung dịch thử: Hòa tan một lượng thích hợp chế phẩm trong *nước* để được dung dịch có nồng độ cefazolin 5,0 %.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử thành 25 thể tích với *nước*.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 3 thể tích dung dịch thử thành 200 thể tích với *nước*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 50 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng trong luồng khí nitrogen. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Kiểm tra dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Tiếp tục đặt bản mỏng trong bình bão hòa hơi iod cho tới khi các vết xuất hiện rõ nhất và quan sát. Trên sắc ký đồ, quan sát bằng cả hai cách, bất kỳ một vết phụ nào của dung dịch thử đều không được đậm hơn vết của dung dịch đối chiếu (1) (4 %) và không được có quá một vết đậm hơn vết của dung dịch đối chiếu (2) (1,5 %).

Nội độc tố vi khuẩn
Tiến hành theo Phép thử nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2). Hòa tan một lượng chế phẩm trong *nước BET* để thu được dung dịch có nồng độ cefazolin 10 mg/ml (dung dịch A). Nồng độ giới hạn nội độc tố của dung dịch A là 1,5 EU/ml. Giá trị độ pha loãng tối đa của dung dịch A được tính từ độ nhạy của thuốc thử lysat dùng trong phép thử.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - dung dịch có chứa dinatri hydrophosphat khan 0,277 % và acid citric 0,186 % (10 : 90).
Dung dịch thử: Cân chính xác và hòa tan một lượng chế phẩm trong *nước* để được dung dịch có nồng độ cefazolin khoảng 0,1 %.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch cefazolin natri chuẩn 0,1 % trong *nước*.
Dung dịch phân giải: Dung dịch có chứa cefazolin natri chuẩn 0,01 % và cefuroxim natri chuẩn 0,005 % trong *nước*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5µm đến 10 µm) (Spherisorb ODS 1 là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 270 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiêm dung dịch phân giải, điều chỉnh độ nhạy của detector sao cho chiều cao của pic đạt ít nhất 50 % chiều cao thang đo. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa pic của cefazolin và cefuroxim không nhỏ hơn 2,0. Điều chỉnh nồng độ acetonitril trong pha động để đạt yêu cầu trên, nếu cần.
Tiến hành sắc ký lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng cefazolin, $C_{14}H_{14}N_8O_4S_3$, trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn và dung dịch thử, và hàm lượng $C_{14}H_{14}N_8O_4S_3$, của cefazolin natri chuẩn.

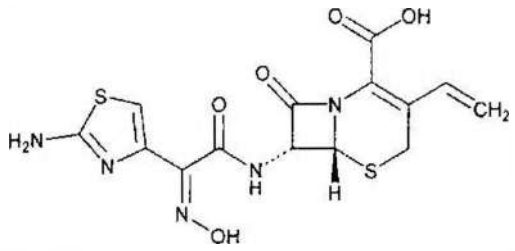
Bảo quản
Để ở nơi khô, tránh ánh sáng, ở nhiệt độ không quá 30 °C.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Hàm lượng thường dùng
250 mg, 500 mg, 1000 mg.

CEFDINIR

Cefdinirum



$C_{14}H_{13}N_5O_5S_2$ P.t.l: 395,41

Cefdinir là acid (6*R*,7*R*)-7-[(*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(hydroxyimino)acetylamino]-8-oxo-3-vinyl-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic, phải chứa từ 940 µg/mg đến 1030 µg/mg $C_{14}H_{13}N_5O_5S_2$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng đến vàng nhạt.

Thực tế không tan trong nước, trong ethanol 96 % và trong diethylether. Hơi tan trong dung dịch đệm phosphat hỗn hợp 0,1 M pH 7,0.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của cefdinir chuẩn.

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

Góc quay cực riêng

Từ -61° đến -67°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong dung dịch đệm trong phần Định lượng và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Nước

Không được quá 2,0 %.

Dùng hỗn hợp *formamid - methanol* (2 : 1) làm dung môi pha mẫu.

Tro sulfat

Không được quá 0,20 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Các dung dịch A, dung dịch B, dung dịch C, dung dịch D và dung dịch đệm chuẩn bị như mô tả trong phần Định lượng.

Pha động E: Thêm 0,4 ml dung dịch D vào 1000 ml dung dịch C.

Pha động F: Acetonitril - methanol - dung dịch C - dung dịch D (300 : 200 : 500 : 0,4).

Dung dịch thử gốc: Hòa tan 200,0 mg chế phẩm trong *dung dịch đệm* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử: Pha loãng dung dịch thử gốc với dung dịch C để được dung dịch có chứa cefdinir 1,5 mg/ml. Dung dịch này chỉ pha ngay trước khi dùng.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng dung dịch thử với dung dịch C để được dung dịch có chứa cefdinir 15 µg/ml.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng dung dịch đối chiếu (1) với dung dịch C để được dung dịch có chứa cefdinir 1,5 µg/ml.

Dung dịch đối chiếu (3): Dung dịch có chứa 1,5 mg/ml cefdinir chuẩn và 0,1 mg/ml tạp chất A chuẩn của cefdinir trong dung dịch C (ban đầu có thể hòa tan trong dung dịch đệm nhưng dung dịch đệm chỉ được chiếm 15 % trong thể tích cuối cùng).

Điều kiện sắc ký:

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

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động E (% tt/tt)	Pha động F (% tt/tt)
0	95	5
2	95	5
22	75	25
32	50	50
37	50	50
38	95	5
58	95	5

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 1,8 lần thời gian lưu của cefdinir.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), tạp chất A cho 4 pic: pic 1 và pic 2 rửa giải trước pic cefdinir, pic 3 và pic 4 rửa giải sau pic cefdinir; hệ số phân giải giữa pic cefdinir và pic thứ 3 của tạp chất A ít nhất là 1,5; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic cefdinir từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch đối chiếu (3) không lớn hơn 2,0 %.

Tỷ số đáp ứng của diện tích pic cefdinir thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) từ 7 % đến 13 % so với diện tích pic cefdinir thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Giới hạn:

Hàm lượng của mỗi tạp riêng được đánh giá dựa trên diện tích pic của từng tạp so với tổng diện tích tất cả các pic trên sắc ký đồ dung dịch thử.

Thời gian lưu tương đối và giới hạn của từng tạp chất thể hiện ở bảng sau

Tên tạp	Thời gian lưu tương đối	Giới hạn, không lớn hơn (%)
Thiazolylacetyl glycin oxim[a]	0,10	0,5
Thiazolylacetyl glycin oxim acetal[b]	0,12	0,5
3-Methyl cefdinir[c]	0,74	0,7
Tạp chất A của cefdinir (cefdinir mở vòng lacton a)[d,e]	0,85	0,7
Tạp chất A của cefdinir (cefdinir mở vòng lacton b)[d,e]	0,93	
Tạp chất A của cefdinir (cefdinir mở vòng lacton c)[d,e]	1,11	
Tạp chất A của cefdinir (cefdinir mở vòng lacton d)[d,e]	1,14	
Cefdinir lacton[f]	1,22	0,5
Cefdinir isoxazol analog[g]	1,36	0,5
E-Cefdinir[h]	1,51	0,7
Cefdinir decarboxy mở vòng lacton a[i,j]	1,61	0,5
Cefdinir decarboxy mở vòng lacton b[i,j]	1,64	
Tạp chất khác	—	0,2
Tổng tạp chất	—	3,0

Ghi chú:

[a] 1*N*-[(*Z*)-2-(2-Aminothiazol-4-yl)-2-(hydroxyimino)acetyl]glycin.

[b] (*Z*)-2-(2-Aminothiazol-4-yl)-*N*-(2,2-dihydroxyethyl)-2-(hydroxyimino)acetamid.

[c] Acid (6*R*,7*R*)-7-[(*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(hydroxyimino) acetamido]-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic.

[d] Acid 2(*R*)-2-[(*Z*)-2-(2-Aminothiazol-4-yl)-2-(hydroxyimino) acetamido)]-2-[(2*RS*,5*RS*)-5-methyl-7-oxo-2,4,5,7-tetrahydro -1*H*-furo[3,4-*d*][1,3]thiazin-2-yl]acetic.

[e] Tạp chất A của cefdinir là hỗn hợp của 4 đồng phân: cefdinir mở vòng lacton a, b, c và d. Tổng diện tích 4 pic là giá trị báo cáo. Giới hạn của tổng 4 đồng phân là 0,7 %.

[f] (*Z*)-2-(2-Aminothiazol-4-yl)-2-(hydroxyimino)-*N*-[(3*RS*,5a*R*,6*R*)-3-methyl-1,7-dioxo-1,3,4,5a,6,7-hexahydroazeto[2,1-*b*]furo[3,4-*d*] [1,3]thiazin-6-yl]acetamid.

[g] Acid (6*R*,7*R*)-7-(4-hydroxyisoxazole-3-carboxamido)-8-oxo-3-vinyl-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic.

[h] Acid(6*R*,7*R*)-7-[(*E*)-2-(2-aminothiazol-4-yl-)-2-(hydroxyimino) acetamido]-8-oxo-3-vinyl-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic.

[i] (*Z*)-2-(2-Aminothiazol-4-yl)-2-(hydroxyimino)-*N*-[[(2*RS*,5*RS*)-5-methyl-7-oxo-2,4,5,7-tetrahydro-1*H*-furo[3,4-*d*][1,3]thiazin-2-yl] methyl]acetamid.

[j] Cefdinir decarboxy mở vòng lacton là hỗn hợp của 2 đồng phân: cefdinir decarboxy mở vòng lacton a và b. Tổng diện tích 2 pic là giá trị báo cáo. Giới hạn của tổng 2 đồng phân là 0,5 %.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch A: Hòa tan 14,2 g *dinatri hydrophosphat khan (TT)* trong vừa đủ 1000 ml *nước*.

Dung dịch B: Hòa tan 13,6 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong vừa đủ 1000 ml *nước*.

Dung dịch C: Pha loãng *dung dịch tetramethylamoni hydroxyd (TT)* với *nước* để được dung dịch có nồng độ 0,1 %. Điều chỉnh pH của dung dịch thu được đến pH 5,5 bằng *dung dịch acid phosphoric 10 % (TT)*.

Dung dịch D: Hòa tan 3,72 g *natri edetat (TT)* trong vừa đủ 100 ml *nước*.

Dung dịch đệm: Phối hợp dung dịch A và dung dịch B với lượng thích hợp (khoảng 2 : 1) để được dung dịch có pH 7,0.

Pha động: Acetonitril - methanol - dung dịch C - dung dịch D (300 : 200 : 4500 : 2).

Dung dịch thử: Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong dung dịch đệm và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan 20,0 mg cefdinir chuẩn trong dung dịch đệm và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch phân giải: Pha dung dịch có chứa 0,2 mg/ml cefdinir chuẩn và 0,5 mg/ml tạp chất A chuẩn của cefdinir trong dung dịch đệm.

Điều kiện sắc ký:

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

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 5 µl.

Cách tiến hành

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, tạp chất A phải cho 4 pic đáp ứng; hệ số phân giải giữa pic thứ 2 của tạp chất A chuẩn và cefdinir ít nhất là 1,2; hệ số đối xứng của pic cefdinir không lớn hơn 1,5.

Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic cefdinir giữa 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không lớn hơn 1,0 %.

Tính hàm lượng cefdinir, $C_{14}H_{13}N_5O_5S_2$, từ diện tích pic cefdinir thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{14}H_{13}N_5O_5S_2$ của cefdinir chuẩn.

Bảo quản

Để trong bao bì kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Chế phẩm

Viên nén, nang, thuốc bột.

BỘT PHA HỖN DỊCH CEFDINIR

Pulveres Cefdiniri ad suspensionum peroralum

Là thuốc bột dùng để pha hỗn dịch uống chứa cefdinir. Có thể có thêm các tá dược thích hợp tạo mùi vị, tạo màu, chất bảo quản, chất ổn định hỗn dịch....

Hỗn dịch tạo thành sau khi pha theo hướng dẫn trên nhãn thuốc phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Hỗn dịch thuốc" (Phụ lục 1.5).

Bột pha hỗn dịch phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc bột" (Phụ lục 1.7) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cefdinir, $C_{14}H_{13}N_5O_5S_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Bột thuốc khô tơi, không bị ẩm, vón, màu sắc đồng nhất.

Định tính

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

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường: 900 ml dung dịch đệm phosphat pH 6,8 (Trộn 250 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)* với 112,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,2 N (CĐ)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml).

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 30 min.

Cách tiến hành:

Đối với chế phẩm đóng gói đơn liều, lấy toàn bộ lượng thuốc của từng đơn vị, phân tán trong 5 ml *nước*. Đối với chế phẩm đóng gói đa liều, cân chính xác 5 ml hỗn dịch thuốc đã pha như hướng dẫn ghi trên nhãn để thử.

Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan (nếu cần) để thu được dung dịch có nồng độ cefdinir khoảng 10 µg/ml.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng cefdinir chuẩn, hòa tan và pha loãng bằng môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ tương đương nồng độ của dung dịch thử.

Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử và dung dịch chuẩn ở bước sóng 290 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. Tính hàm lượng cefdinir, $C_{14}H_{13}N_5O_5S_2$, hòa tan dựa vào độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch cefdinir chuẩn và hàm lượng $C_{14}H_{13}N_5O_5S_2$ trong cefdinir chuẩn.

Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng cefdinir, $C_{14}H_{13}N_5O_5S_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

pH

Từ 3,2 đến 4,8 (Phụ lục 6.2).

Sử dụng hỗn dịch pha theo hướng dẫn ghi trên nhãn để đo.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch A: Hòa tan 14,2 g *dinatri hydrophosphat khan (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch B: Hòa tan 13,6 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch C: Pha loãng *dung dịch tetramethylamoni hydroxyd (TT)* bằng *nước* để thu được dung dịch có nồng độ 0,1 %. Điều chỉnh đến pH 5,5 ± 0,1 bằng *dung dịch acid phosphoric 10 % (TT)*.

Dung dịch D: Hòa tan 3,72 g *natri edetat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch đệm: Trộn một tỷ lệ thích hợp dung dịch A và dung dịch B (khoảng 2 : 1) để thu được dung dịch có pH 7,0.

Pha động: *Acetonitril - methanol - dung dịch C - dung dịch D* (300 : 200 : 4500 : 2), điều chỉnh tỷ lệ pha động nếu cần.

Dung dịch phân giải: Hòa tan một lượng cefdinir chuẩn và tạp chất A chuẩn của cefdinir trong dung dịch đệm để thu được dung dịch có nồng độ cefdinir khoảng 0,2 mg/ml và tạp chất A khoảng 0,5 mg/ml.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng cefdinir chuẩn trong dung dịch đệm để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,2 mg/ml.

Dung dịch thử: Đối với chế phẩm đóng gói đơn liều, cân chính xác một lượng bột thuốc sau khi xác định độ đồng đều khối lượng; đối với chế phẩm đóng gói đa liều, cân chính xác một lượng hỗn dịch tạo thành pha như qui định trên nhãn tương ứng với khoảng 100 mg cefdinir vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml dung dịch đệm và lắc siêu âm 30 min. Pha loãng bằng dung dịch đệm đến định mức, lắc đều, ly tâm lấy dịch trong. Hút chính xác 10,0 ml dịch trong vào bình định mức 50 ml, pha loãng bằng dung dịch đệm đến định mức, lắc đều.

Điều kiện sắc ký:

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

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min, có thể điều chỉnh tốc độ dòng sao cho thời gian lưu của cefdinir khoảng 8 min.

Thể tích tiêm: 5 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch phân giải, dung dịch chuẩn. Trên sắc ký đồ thu được, tạp chất A cho 4 pic: pic 1 và pic 2 rửa giải trước pic cefdinir, pic 3 và pic 4 rửa giải sau pic cefdinir. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic 2 của tạp chất A và pic cefdinir không nhỏ hơn 1,2; Hệ số đối xứng của pic cefdinir không lớn hơn 1,5; Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic cefdinir trong các lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Từ diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng cefdinir, $C_{14}H_{13}N_5O_5S_2$ của cefdinir chuẩn và khối lượng riêng của hỗn dịch (đối với dạng đóng gói đa liều, xác định theo phụ lục 6.5), tính hàm lượng cefdinir, $C_{14}H_{13}N_5O_5S_2$, có trong chế phẩm.
Ghi chú:
Tạp chất A: Hợp chất mở vòng lacton của cefdinir.

Bảo quản
Thuốc bột được bảo quản trong bao bì kín. Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.
Hỗn dịch đa liều sau khi pha được bảo quản trong khoảng thời gian và ở nhiệt độ như hướng dẫn trên nhãn.

Nhãn
Nhãn cần qui định cách pha bột thuốc thành hỗn dịch và ghi lượng tương ứng cefdinir ($C_{14}H_{13}N_5O_5S_2$) có trong một đơn vị thể tích hỗn dịch tạo thành (đối với dạng đóng gói đa liều).

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Hàm lượng thường dùng
Chế phẩm đơn liều: 125 mg, 250 mg và 300 mg.
Chế phẩm đa liều: 125 mg/5 ml và 250 mg/5 ml.

NANG CEFDINIR
Capsulae Cefdiniri

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

Hàm lượng cefdinir, $C_{14}H_{13}N_5O_5S_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1).
Dung dịch đệm: Chuẩn bị như phần Định lượng.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan một lượng cefdinir chuẩn trong dung dịch đệm để thu được dung dịch có nồng độ cefdinir khoảng 10 µg/ml.
Dung dịch thử: Lấy một lượng bột thuốc trong nang, hòa tan và pha loãng bằng dung dịch đệm để thu được dung dịch có nồng độ cefdinir khoảng 10 µg/ml, lọc.
Cách tiến hành: Ghi phổ hấp thụ tử ngoại của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu trong dải sóng từ 220 nm đến 350 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là dung dịch đệm. Phổ hấp thụ tử ngoại của dung dịch thử phải cho các cực đại và cực tiểu hấp thụ tại các bước sóng tương tự như trên phổ của dung dịch đối chiếu.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic cefdinir trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường: 900 ml dung dịch đệm phosphat pH 6,8 (Trộn 250 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)* với 112,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,2 N (CĐ)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml).
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan (nếu cần) để thu được dung dịch có nồng độ cefdinir khoảng 10 µg/ml.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng cefdinir chuẩn, hòa tan và pha loãng bằng môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ tương đương nồng độ của dung dịch thử.
Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử và dung dịch chuẩn ở bước sóng 290 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. Tính hàm lượng cefdinir, $C_{14}H_{13}N_5O_5S_2$, hòa tan trong mỗi nang dựa vào độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch cefdinir chuẩn và hàm lượng $C_{14}H_{13}N_5O_5S_2$ trong cefdinir chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng cefdinir, $C_{14}H_{13}N_5O_5S_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch A: Hòa tan 14,2 g *dinatri hydrophosphat khan (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.
Dung dịch B: Hòa tan 13,6 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.
Dung dịch C: Pha loãng *dung dịch tetramethylamoni hydroxyd (TT)* bằng *nước* để thu được dung dịch có nồng độ 0,1 %. Điều chỉnh đến pH 5,5 ± 0,1 bằng *dung dịch acid phosphoric 10 % (TT)*.
Dung dịch D: Hòa tan 3,72 g *natri edetat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.
Dung dịch đệm: Trộn một tỷ lệ thích hợp dung dịch A và dung dịch B (khoảng 2 : 1) để thu được dung dịch có pH 7,0.
Pha động: *Acetonitril - methanol - dung dịch C - dung dịch D* (300 : 200 : 4500 : 2), điều chỉnh tỷ lệ pha động nếu cần.
Dung dịch phân giải: Hòa tan một lượng cefdinir chuẩn và tạp chất A chuẩn của cefdinir trong dung dịch đệm để thu được dung dịch có nồng độ cefdinir khoảng 0,2 mg/ml và tạp chất A khoảng 0,5 mg/ml.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng cefdinir chuẩn trong dung dịch đệm để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,2 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân 20 nang, xác định khối lượng trung

bình của bột thuốc trong nang, nghiền thành bột mịn và trộn đều. Cân chính xác một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với khoảng 100 mg cefdinir vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml dung dịch đệm và lắc siêu âm 30 min. Pha loãng bằng dung dịch đệm đến định mức, lắc đều, lọc. Hút chính xác 10,0 ml dịch lọc vào bình định mức 50 ml, pha loãng bằng dung dịch đệm đến định mức, lắc đều.

Điều kiện sắc ký:

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

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min, có thể điều chỉnh tốc độ dòng sao cho thời gian lưu của cefdinir khoảng 8 min.

Thể tích tiêm: 5 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch phân giải và dung dịch chuẩn. Trên sắc ký đồ thu được, tạp chất A cho 4 pic: pic 1 và pic 2 rửa giải trước pic cefdinir, pic 3 và pic 4 rửa giải sau pic cefdinir. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic 2 của tạp chất A và pic cefdinir không nhỏ hơn 1,2; Hệ số đối xứng của pic cefdinir không lớn hơn 1,5; Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic cefdinir trong các lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.

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

Tính hàm lượng cefdinir, $C_{14}H_{13}N_5O_5S_2$, có trong nang dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng cefdinir, $C_{14}H_{13}N_5O_5S_2$ có trong cefdinir chuẩn.

Ghi chú:

Tạp chất A: Hợp chất mở vòng lacton của cefdinir.

Bảo quản

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

Loại thuốc

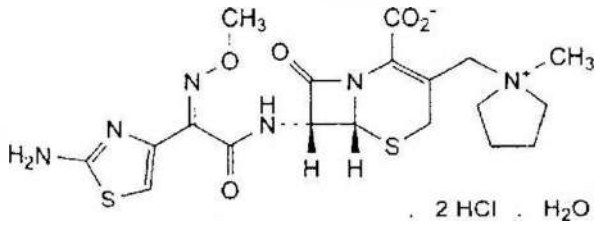
Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Hàm lượng thường dùng

300 mg.

CEFEPIM HYDROCLORID MONOHYDRAT

Cefepimi hydrochloridum monohydricum



$C_{19}H_{24}N_6O_5S_2.2HCl.H_2O$ P.t.l: 571,5

Cefepim hydroclorid monohydrat là (6*R*,7*R*)-7-[[(2*Z*)-(2-aminothiazol-4-yl)(methoxyimino)acetyl]amino]-3-[(1-methylpyrolidinio)methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0] oct-2-en-2-carboxylat dihydroclorid monohydrat, phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % $C_{19}H_{24}N_6O_5S_2.2HCl$, tính theo chế phẩm khan.

Là sản phẩm bán tổng hợp từ một sản phẩm lên men.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hay gần như trắng.

Dễ tan trong nước và methanol, thực tế không tan trong methylen clorid.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của cefepim dihydroclorid monohydrat chuẩn.

B. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn dung dịch màu mẫu V_3 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực riêng

Từ +40° đến +45°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4). Hoà tan 0,250 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất G

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). *Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.*

Pha động: Acetonitril - dung dịch acid nitric 0,01 M (1 : 100), lọc qua màng lọc 0,2 µm.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *dung dịch acid nitric 0,01 M (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,250 g *N-methylpyrolidin (TT)* (tạp chất G) trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *dung dịch acid nitric 0,01 M (TT).*

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 0,250 g *pyrolidin (TT)* trong *dung dịch acid nitric 0,01 M (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *dung dịch acid nitric 0,01 M (TT).* Trộn 5 ml dung dịch thu được với 5 ml dung dịch đối chiếu (1).

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (5 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là *nhựa trao đổi cation mạnh* (5 µm).

Detector dẫn điện.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 100 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 1,1 lần thời gian lưu của cefepim.
Với điều kiện sắc ký như trên, thời gian lưu của cefepim khoảng 50 min, pic doãng.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1), hệ số đối xứng không lớn hơn 2,5 đối với tạp chất G; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic tạp chất G của 6 lần tiêm lặp lại dung dịch đối chiếu (1) không lớn hơn 5,0 %. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2), tỷ số đỉnh-hõm (H_p/H_v) giữa pic pyrolidin và pic tạp chất G không nhỏ hơn 3.
Tính hàm lượng của tạp chất G trong chế phẩm dựa vào dung dịch đối chiếu (1).
Giới hạn:
Tạp chất G: Không được quá 0,5 %.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). *Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng hoặc bảo quản trong tủ lạnh ở nhiệt độ từ 4 °C đến 8 °C không quá 12 h.*
Pha động A: Acetonitril - dung dịch A (10 : 90).
Pha động B: Acetonitril - dung dịch A (50 : 50).
Dung dịch A: Hòa tan 0,68 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 5,0 bằng *dung dịch kali hydroxyd 0,5 M (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 70,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml bằng pha động A. Siêu âm trong 30 s và khuấy trong 5 min.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 70,0 mg cefepim dihydroclorid monohydrat chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml bằng pha động A. Siêu âm trong 30 s và khuấy trong 5 min.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 10,0 ml bằng pha động A. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động A.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 7 mg cefepim dihydroclorid monohydrat chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký (chứa tạp chất A, B và F) trong pha động A và pha loãng thành 5 ml bằng pha động A.
Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 2 mg tạp chất E chuẩn của cefepim trong pha động A và pha loãng thành 25,0 ml bằng pha động A. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động A.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 10	100	0
10 - 30	100 → 50	0 → 50
30 - 35	50	50
35 - 36	50 → 100	50 → 0
36 - 45	100	0

Tiến hành sắc ký với mẫu trắng, dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2), (3) và (4).
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo cefepim dihydroclorid monohydrat chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của của tạp chất A, B và F. Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của tạp chất E.
Thời gian lưu tương đối so với cefepim (thời gian lưu khoảng 7 min): Tạp chất E khoảng 0,4; tạp chất F khoảng 0,8; tạp chất A khoảng 2,5; tạp chất B khoảng 4,1.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic của tạp chất F và pic cefepim ít nhất là 1,5.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng: Tạp chất A là 1,4; tạp chất B là 1,4; tạp chất E là 1,8.
Trên sắc ký đồ dung dịch thử:
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A đã hiệu chỉnh không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %).
Tạp chất B, F: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu cần, không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).
Tạp chất E: Diện tích pic tạp chất E đã hiệu chỉnh không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).
Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,25 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: (6*R*,7*R*)-7-{[(2*E*)-(2-aminothiazol-4-yl)(methoxyimino) acetyl]amino}-3-[(1-methylpyrolidinio)methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylat (*anti*-cefepim).
Tạp chất B: (6*R*,7*R*)-7-[[(2*Z*)-[2-[[(2*Z*)-(2-aminothiazol-4-yl) (methoxyimino)acetyl]amino]thiazol-4-yl](methoxyimino) acetyl]amino]-3-[(1-methylpyrolidinio)methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylat.

Tạp chất C: (2*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-*N*-(formylmethyl)-2-(methoxyimino)acetamid.
Tạp chất D: Acid (2*Z*)-(2-aminothiazol-4-yl)(methoxyimino) acetic.
Tạp chất E: (6*R*,7*R*)-7-amino-3-[(1-methylpyrolidinio)methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylat.
Tạp chất F: (6*R*,7*R*)-7-[[[(6*R*,7*R*)-7-[[(2*Z*)-(2-aminothiazol-4-yl)(methoxyimino)acetyl]amino]-3-[(1-methylpyrolidinio) methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-yl] carbonyl]amino]-3-[(1-methylpyrolidinio)methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylat.
Tạp chất G: 1-methylpyrolidin (*N*-methylpyrolidin).

Nước
Từ 3,0 % đến 4,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,400 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 0,04 EU/mg (Phụ lục 13.2) nếu chế phẩm dự định dùng để sản xuất thuốc tiêm mà không có phương pháp hữu hiệu nào loại bỏ nội độc tố vi khuẩn.

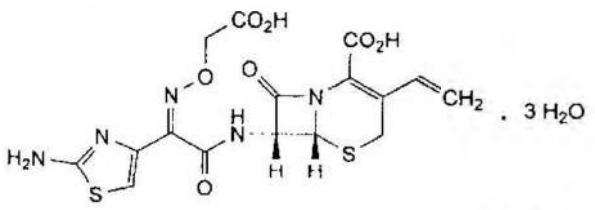
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Pha động: Pha động A.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1). Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 1,4 lần thời gian lưu của cefepim.
Tính hàm lượng phần trăm của $C_{19}H_{26}Cl_2N_6O_5S_2$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng của $C_{19}H_{26}Cl_2N_6O_5S_2$ trong cefepim dihydroclorid monohydrat chuẩn.

Bảo quản
Tránh ánh sáng. Nếu chế phẩm vô khuẩn thì phải bảo quản trong đồ bao gói kín, vô khuẩn.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Chế phẩm
Viên nén, nang, bột pha tiêm.

CEFIXIM
Cefiximum



$C_{16}H_{15}N_5O_7S_2.3H_2O$ P.t.l: 507,5

Cefixim là acid (6*R*,7*R*)-7-[[(*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-[(carboxymethoxy)imino]acetyl]amino]-3-ethenyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic trihydrat, được bán tổng hợp từ một sản phẩm lên men, phải chứa từ 95,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột trắng hoặc gần như trắng, hơi hút ẩm. Khó tan trong nước, tan trong methanol, hơi tan trong ethanol khan, thực tế không tan trong ethyl acetat.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của cefixim chuẩn.
Nếu phổ thu được của chế phẩm khác với phổ của chất chuẩn, hòa tan riêng biệt chế phẩm và chất chuẩn trong *methanol (TT)*, bốc hơi dung dịch thu được tới khô và đo phổ mới của các cắn thu được.

pH
Phân tán 0,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. pH của hỗn dịch thu được phải từ 2,6 đến 4,1 (Phụ lục 6.2).

Ethanol (Phụ lục 10.14)
Không được quá 1,0 % (kl/kl), xác định bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2), dùng phương pháp thêm chuẩn.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong hỗn hợp *dimethylacetamid - nước* (1 : 4), pha loãng dung dịch thu được thành 25,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd (250 : 750).
Dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd: Hòa tan 8,2 g *tetrabutylamoni hydroxyd (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 800 ml với cùng dung môi, điều chỉnh đến pH 6,5 bằng *dung dịch acid phosphoric 2 M (TT)* và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*.
Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25,0 mg cefixim chuẩn trong pha động và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10 mg cefixim chuẩn trong 10 ml *nước*. Đun nóng trên cách thủy trong 45 min. Để nguội (để tạo tạp chất D). Tiêm ngay lập tức.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (12,5 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Nhiệt độ cột: 40 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (2) và (3).
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của cefexim.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic của cefexim và pic của tạp chất D ít nhất là 2,0. Nếu cần điều chỉnh tỷ lệ acetonitril trong pha động.
Giới hạn:
Các tạp chất: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).
Tổng diện tích của tất cả các pic tạp chất không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (3 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid 2-[[(*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-[(carboxymethoxy)imino]acetyl]amino]-2-[(2*R*)-5-methyl-7-oxo-1,2,5,7-tetrahydro-4*H*-furo[3,4-*d*][1,3]thiazin-2-yl]acetic.
Tạp chất B: Acid 2-[[[(*Z*)-1-(2-aminothiazol-4-yl)-2-[[[(2*R*,5*RS*)-5-methyl-7-oxo-1,2,5,7-tetrahydro-4*H*-furo[3,4-*d*][1,3]thiazin-2-yl]methyl]amino]-2- oxoethyliden]amino]oxy]acetic.
Tạp chất C: Acid (6*R*,7*S*)-7-[[(*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-[(carboxymethoxy)imino]acetyl]amino]-3-ethenyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic (cefixim 7-epimer).
Tạp chất D: Acid (6*R*,7*R*)-7-[[(*E*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-[(carboxymethoxy)imino]acetyl]amino]-3-ethenyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic (cefixim *E*- isomer).
Tạp chất E: Acid (6*R*,7*R*)-7-[[(*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-[(carboxymethoxy)imino]acetyl]amino]-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic.
Tạp chất F: Acid (6*R*,7*R*)-7-[[(Z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-[(2-ethoxy-2-oxoethoxy)imino]acetyl]amino]-3-ethenyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic.

Nước
Từ 9,0 % đến 12,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,200 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic cefexim trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) thu được từ 6 lần tiêm không được lớn hơn 1,0 %.
Tính hàm lượng của $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng của $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$ trong cefexim chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng sinh nhóm cephalosporin.

Chế phẩm
Viên nén, nang, thuốc bột.

BỘT PHA HỖN DỊCH CEFIXIM
Pulveres Cefiximi ad suspensionum peoralum

Là thuốc bột pha hỗn dịch uống chứa cefixim, có thể có thêm một số chất tạo mùi vị, chất bảo quản.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc bột" (Phụ lục 1.7) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cefixim, $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột tơi khô, không bị ẩm, vón, màu sắc đồng nhất.

Định tính
A. Trong mục Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic cefixim trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
B. Cân một lượng bột thuốc và hòa tan bằng dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (xem mục Định lượng) để tạo thành dung dịch có chứa khoảng 10 µg cefixim trong 1 ml, lọc. Phổ hấp thụ ánh sáng của dịch lọc thu được phải có cực đại ở 288 nm (Phụ lục 4.1).

Nước
Không được quá 9,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 1,0 g bột thuốc.

pH
pH của hỗn dịch tạo thành được chuẩn bị như hướng dẫn trên nhãn phải từ 2,5 đến 4,5 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, dung dịch đệm phosphat pH 7,0 và *Điều kiện sắc ký* như mô tả ở mục Định lượng.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với 0,1 g cefixim vào bình định mức 100 ml, thêm 75 ml dung dịch đệm phosphat pH 7,0 và lắc siêu âm 15 min. Pha loãng bằng dung dịch đệm phosphat pH 7,0 vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với dung dịch đệm phosphat pH 7,0.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch đối chiếu. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính trong sắc ký đồ thu được ít nhất là 50 % thang đo. Tiêm dung dịch thử và tiếp tục chạy sắc ký với thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của pic chính.
Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic nào, ngoại trừ pic chính, không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %); tổng diện tích của tất cả các pic, ngoại trừ pic chính, không được lớn hơn 6 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6,0 %).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Acetonitril - dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd* (250 : 750).
Dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd: Hòa tan 8,2 g *tetrabutylamoni hydroxyd (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 800 ml với cùng dung môi, điều chỉnh đến pH 6,5 bằng *dung dịch acid phosphoric loãng (TT)* và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*.
Dung dịch kali dihydrophosphat: Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong *nước* vừa đủ 500 ml.
Dung dịch đệm phosphat pH 7,0: Hòa tan 7,1 g *dinatri hydrophosphat khan (TT)* trong *nước* vừa đủ 500 ml. Điều chỉnh pH tới 7,0 bằng *dung dịch kali dihydrophosphat*.
Dung dịch phân giải: Hòa tan cefixim chuẩn trong *nước* để thu được dung dịch có nồng độ 0,5 mg/ml. Làm nóng dung dịch trong cách thủy ở 95 °C trong 45 min. Để nguội, lọc và sử dụng ngay.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng cefixim chuẩn trong dung dịch đệm phosphat pH 7,0 để thu được dung dịch có nồng độ cefixim khoảng 0,1 mg/ml.
Dung dịch thử: Lấy bột thuốc sau khi xác định Độ đồng đều khối lượng, trộn đều. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 0,2 g cefixim khan vào bình định mức 100 ml, thêm 75 ml dung dịch đệm phosphat pH 7,0 và lắc siêu âm 15 min. Pha loãng bằng dung dịch đệm phosphat pH 7,0 vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc. Hút chính xác 5,0 ml dịch lọc vào bình định mức 100 ml và pha loãng bằng dung dịch đệm phosphat pH 7,0 vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (12,5 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm), duy trì ở nhiệt độ 40 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: Điều chỉnh sao cho thời gian lưu của cefixim khoảng 10 min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch phân giải, thời gian lưu tương đối của cefixim là 1,0 và của cefixim E-isomer là 0,9; độ phân giải giữa 2 pic cefixim và cefixim E-isomer không nhỏ hơn 2,0. Số đĩa lý thuyết tính trên pic cefixim không nhỏ hơn 4000.
Tiến hành sắc ký 6 lần riêng biệt đối với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic cefixim không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng cefixim khan, $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$, có trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$ của cefixim chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng, nhiệt độ không quá 30 °C.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Hàm lượng thường dùng
100 mg, 200 mg.

NANG CEFIXIM
Capsulae Cefiximi

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

Hàm lượng cefixim khan, $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong mục Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic cefixim trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
B. Cân một lượng bột thuốc trong nang và hòa tan bằng dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (xem mục Định lượng) để tạo thành dung dịch có chứa khoảng 10 µg cefixim trong 1 ml, lọc. Phổ hấp thụ ánh sáng của dịch lọc thu được phải có cực đại ở bước sóng 288 nm (Phụ lục 4.1).

Nước
Không được quá 12,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,3 g bột thuốc trong nang đã nghiền mịn.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, *dung dịch đệm phosphat pH 7,0* và *Điều kiện sắc ký* chuẩn bị như mô tả ở mục Định lượng.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với 0,1 g cefixim vào bình định mức 100 ml, thêm 75 ml dung dịch đệm phosphat pH 7,0 và lắc siêu âm 15 min. Pha loãng bằng dung dịch đệm phosphat pH 7,0 vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với dung dịch đệm phosphat pH 7,0.
Cách tiến hành: Tiêm dung dịch đối chiếu. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính trong sắc ký đồ thu được ít nhất là 50 % thang đo. Tiêm dung dịch thử và tiếp tục chạy sắc ký với thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của pic chính.
Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic nào, ngoại trừ pic chính, không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %); tổng diện tích của tất cả các pic, ngoại trừ pic chính, không được lớn hơn 6 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6,0 %).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch đệm phosphat 0,05 M pH 7,2 được chuẩn bị như sau: Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước* và điều chỉnh đến pH 7,2 bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Pha loãng dịch lọc thu được với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ cefixim 10 µg/ml.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng cefixim chuẩn, hòa tan trong môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ cefixim tương đương với nồng độ cefixim của dung dịch thử. Có thể sử dụng một lượng *methanol (TT)* không quá 0,1 % tổng thể tích của dung dịch chuẩn để hòa tan chất chuẩn trước khi pha loãng bằng môi trường hòa tan và có thể lắc siêu âm.
Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của các dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 288 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. Tính hàm lượng cefixim, $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$, hòa tan trong mỗi nang dựa vào độ hấp thụ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$ trong cefixim chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng cefixim, $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Acetonitril - dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd* (250 : 750).
Dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd: Hòa tan 8,2 g *tetrabutylamoni hydroxyd (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 800 ml với cùng dung môi, điều chỉnh đến pH 6,5 bằng *dung dịch acid phosphoric loãng (TT)* và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*.
Dung dịch kali dihydrophosphat: Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong *nước* vừa đủ 500 ml.
Dung dịch đệm phosphat pH 7,0: Hòa tan 7,1 g *dinatri hydrophosphat khan (TT)* trong *nước* vừa đủ 500 ml. Điều chỉnh đến pH 7,0 bằng *dung dịch kali dihydrophosphat*.
Dung dịch phân giải: Hòa tan cefixim chuẩn trong *nước* để thu được dung dịch có nồng độ 0,5 mg/ml. Làm nóng dung dịch trong cách thủy ở 95 °C trong 45 min. Để nguội, lọc và sử dụng ngay.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng cefixim chuẩn trong dung dịch đệm phosphat pH 7,0 để thu được dung dịch có nồng độ cefixim khoảng 0,1 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 0,2 g cefixim khan vào bình định mức 100 ml, thêm 75 ml dung dịch đệm phosphat pH 7,0 và lắc siêu âm 15 min. Pha loãng bằng dung dịch đệm phosphat pH 7,0 vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc. Hút chính xác 5,0 ml dịch lọc vào bình định mức 100 ml và pha loãng bằng dung dịch đệm phosphat pH 7,0 vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (12,5 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm), duy trì ở nhiệt độ 40 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: Điều chỉnh sao cho thời gian lưu của cefixim khoảng 10 min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch phân giải, thời gian lưu tương đối của cefixim là 1,0 và của cefixim E-isomer là 0,9; độ phân giải giữa 2 pic cefixim và cefixim E-isomer không nhỏ hơn 2,0. Số đĩa lý thuyết tính trên pic cefixim không nhỏ hơn 4000. Tiến hành sắc ký 6 lần riêng biệt đối với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic cefixim không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng cefixim khan, $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$, có trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$ của cefixim chuẩn.

Bảo quản
Trong vỉ nhôm hay trong chai lọ nút kín.
Để nơi khô mát, nhiệt độ không quá 30 °C, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Hàm lượng thường dùng
100 mg, 200 mg.

VIÊN NÉN CEFIXIM
Tabellae Cefiximi

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

Hàm lượng cefixim khan, $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

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

Nước
Không được quá 10,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,3 g bột viên đã nghiền mịn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch đệm phosphat 0,05 M pH 7,2 được chuẩn bị như sau: Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước* và điều chỉnh đến pH 7,2 bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc. Pha loãng dịch lọc thu được tới nồng độ thích hợp với môi trường hòa tan (nếu cần). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng có hấp thụ cực đại khoảng 288 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. Tính hàm lượng cefixim, $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$, hòa tan trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ của dung dịch cefixim chuẩn có nồng độ tương đương trong cùng dung môi. (*Lưu ý*: Có thể sử dụng một lượng methanol không quá 0,1 % tổng thể tích của dung dịch chuẩn để hòa tan chất chuẩn trước khi pha loãng bằng môi trường hòa tan và có thể lắc siêu âm).
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng cefixim, $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd: Pha loãng 25 ml *dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,4 M* với *nước* vừa đủ 1000 ml, điều chỉnh đến pH 6,5 bằng *dung dịch acid phosphoric 1,5 M (TT)*.
Pha động: Hỗn hợp 250 thể tích *acetonitril (TT)* và 750 thể tích *dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd*.
Dung dịch kali dihydrophosphat: Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong *nước* vừa đủ 500 ml.
Dung dịch đệm phosphat pH 7,0: Hòa tan 7,1 g *dinatri hydrophosphat khan (TT)* trong *nước* vừa đủ 500 ml. Điều chỉnh tới pH 7,0 bằng *dung dịch kali dihydrophosphat*.
Dung dịch phân giải: Hòa tan cefixim chuẩn trong *nước* để thu được dung dịch có nồng độ 0,5 mg/ml. Làm nóng dung dịch trên trong cách thủy ở 95 °C trong 45 min. Để nguội, lọc và sử dụng ngay.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng cefixim chuẩn trong dung dịch đệm phosphat pH 7,0 để thu được dung dịch có nồng độ cefixim khoảng 0,1 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên đã loại bỏ lớp bao phim và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,2 g cefixim khan vào bình định mức 100 ml, thêm 75 ml dung dịch đệm phosphat pH 7,0 và lắc siêu âm 15 min. Pha loãng bằng dung dịch đệm phosphat pH 7,0 vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc. Hút chính xác 5,0 ml dịch lọc vào bình định mức 100 ml và pha loãng bằng dung dịch đệm phosphat pH 7,0 vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (12,5 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm), duy trì ở nhiệt độ 40 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: Điều chỉnh sao cho thời gian lưu của cefixim khoảng 10 min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch phân giải, độ phân giải giữa 2 pic cefixim và cefixim E-isomer không nhỏ hơn 2,0. Tiến hành sắc ký 6 lần riêng biệt đối với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic cefixim không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng cefixim khan, $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{15}N_5O_7S_2$ của cefixim chuẩn.

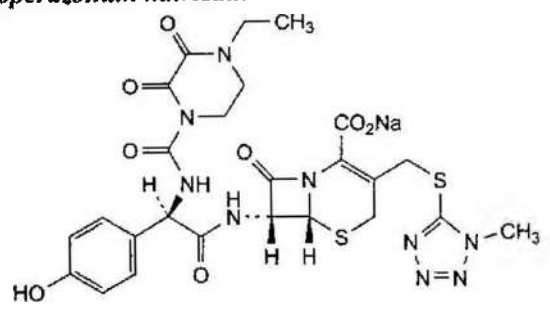
Bảo quản
Trong vỉ nhôm hay trong chai lọ nút kín.
Để nơi khô mát, nhiệt độ không quá 30 °C, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Hàm lượng thường dùng
100 mg.

CEFOPERAZON NATRI

Cefoperazonum natricum



$C_{25}H_{26}N_9NaO_8S_2$ P.t.l.: 668,0

Cefoperazon natri là (6*R*,7*R*)-7-[[(2*R*)-2-[[(4-ethyl-2,3-dio-xopiperazin-1-yl)carbonyl]amino]-2-(4-hydroxyphenyl)acetyl]amino]-3-[[(1-methyl-1*H*-tetrazol-5-yl) sulphanyl]methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylat natri, phải chứa từ 95,0 % đến 102,0 % $C_{25}H_{26}N_9NaO_8S_2$, tính theo chế phẩm khan.

Cefoperazon natri là sản phẩm bán tổng hợp từ một sản phẩm lên men.

Tính chất

Bột màu trắng hay hơi vàng, hút ẩm.

Dễ tan trong nước, tan trong methanol, khó tan trong ethanol 96 %.

Chế phẩm thể hiện tính đa hình nếu ở dạng kết tinh.

Định tính

A. Hòa tan chế phẩm trong *methanol (TT)* và làm bay hơi đến khô. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của cefoperazon natri.

B. Kiểm tra sắc ký đồ thu được ở phần Định lượng. Thời gian lưu và độ lớn của pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (1) phải tương tự với pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn (1).

C. Chế phẩm phải cho phản ứng của ion natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2). Độ hấp thụ của dung dịch đo ở bước sóng 430 nm (Phụ lục 4.1) không được lớn hơn 0,15.

pH

Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. pH của dung dịch thu được phải từ 4,5 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tiến hành như mô tả trong phần Định lượng. Các dung dịch được chuẩn bị ngay trước khi dùng.

Tiêm dung dịch chuẩn (2) và điều chỉnh thang đo sao cho chiều cao của pic chính không thấp hơn 50 % của toàn thang đo. Tiêm dung dịch thử (2). Tiến hành sắc ký với khoảng thời gian gấp 2,5 lần thời gian lưu của pic chính. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (2), diện tích của bất kỳ pic phụ nào ngoài pic chính không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn (2) (1,5 %); tổng diện tích của tất cả các pic phụ ngoài pic chính không được lớn hơn 4,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn (2) (4,5 %). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn (2) (0,1 %).

Aceton

Không được quá 2,0 %.

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2), dùng phương pháp thêm chuẩn.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch aceton: Hòa tan 0,350 g *aceton (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml với *nước*.

Chuẩn bị 4 mẫu dung dịch để tiêm theo bảng sau:

Dung dịch	Dung dịch thử (ml)	Dung dịch aceton (ml)	Nước (ml)
1	1,0	0	4,0
2	1,0	1,0	3,0
3	1,0	2,0	2,0
4	1,0	3,0	1,0

Tiến hành sắc ký theo phép thử Xác định dung môi tồn dư (Phụ lục 10.14) với hệ sắc ký B và các điều kiện tiêm mẫu head-space tĩnh như sau:

Thời gian cân bằng: 15 min.

Nhiệt độ đường dẫn: 110 °C.

Duy trì nhiệt độ cột ở 40 °C trong 10 min.

Kim loại nặng

Không được quá 5 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 2,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3.

Dùng 1 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,200 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn

Nội độc tố vi khuẩn phải ít hơn 0,20 EU/mg (Phụ lục 13.2). Nếu chế phẩm dự định dùng để sản xuất thuốc tiêm mà không tiến hành các biện pháp thích hợp để loại nội độc tố vi khuẩn thì phải đáp ứng yêu cầu này.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Các dung dịch được chuẩn bị ngay trước khi dùng.

Pha động: Nước - acetonitril - dung dịch acid acetic 1 M - dung dịch triethylamin acetat (884 : 110 : 3,5 : 2,5).
Dung dịch triethylamin acetat: Pha loãng 14 ml *triethylamin (TT)* và 5,7 ml *acid acetic băng (TT)* thành 100 ml với *nước*.
Dung dịch thử (1): Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 250,0 ml với pha động.
Dung dịch thử (2): Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với pha động.
Dung dịch chuẩn (1): Hòa tan 25,0 mg cefoperazon dihydrat chuẩn trong pha động và pha loãng thành 250,0 ml với pha động.
Dung dịch chuẩn (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch chuẩn (1) thành 100,0 ml với pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch chuẩn (1). Với điều kiện sắc ký được tiến hành như trên, thời gian lưu của cefoperazon là khoảng 15 min. Phép thử chỉ có giá trị khi số đĩa lý thuyết tính trên pic chính ít nhất là 5000 và hệ số đối xứng của pic chính không lớn hơn 1,6. Điều chỉnh nồng độ acetonitril trong pha động, nếu cần. Tiêm dung dịch chuẩn (1) 6 lần. Phép thử không có giá trị nếu độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic chính lớn hơn 1,0 %. Tiêm lần lượt dung dịch thử (1) và dung dịch chuẩn (1).
Hàm lượng phần trăm của cefoperazon natri bằng hàm lượng phần trăm của cefoperazon nhân với hệ số 1,034.

Bảo quản
Đựng trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng, ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.
Nếu là nguyên liệu vô khuẩn: Đựng trong đồ bao gói kín, vô khuẩn và tránh sự xâm nhập của vi khuẩn.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Chế phẩm
Thuốc tiêm.

BỘT PHA TIÊM CEFOPERAZON
Cefoperazoni pulvis ad injectionem

Là bột vô khuẩn của cefoperazon natri có thể có thêm tá dược và được đóng trong lọ nút kín.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cefoperazon, $C_{25}H_{27}N_9O_8S_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột trắng hoặc gần như trắng.

Định tính
A. Trong mục Định lượng, pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic cefoperazon thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
B. Chế phẩm cho phép thử định tính của natri (Phụ lục 8.1).

pH
Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi, pH dung dịch thu được phải từ 4,5 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Độ trong của dung dịch
Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không có các tiểu phân có thể phát hiện bằng mắt thường (Phụ lục 11.8).

Độ hấp thụ ánh sáng
Độ hấp thụ của dung dịch ở mục Độ trong của dung dịch đo ở bước sóng 430 nm (Phụ lục 4.1) không được lớn hơn 0,15.

Nước
Không được quá 5,0 %. Đối với bột thuốc ở dạng đông khô hàm lượng nước không được quá 2,0 % (Phụ lục 10.3).

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 0,2 EU/mg cefoperazon (Phụ lục 13.2).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Nước - acetonitril - dung dịch acid acetic 1 M - dung dịch triethylamin acetat (884 : 110 : 3,5 : 2,5).
Dung dịch triethylamin acetat: Pha loãng 14 ml *triethylamin (TT)* và 5,7 ml *acid acetic băng (TT)* thành 100 ml với *nước*.
Dung dịch thử: Cân và tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong 10 lọ, trộn đều bột thuốc. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với 25 mg cefoperazon, hòa tan trong pha động và pha loãng thành 250,0 ml với pha động.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng cân chính xác cefoperazon natri chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ cefoperazon 0,01 %.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Số đĩa lý thuyết tính trên pic chính không nhỏ hơn 5000, hệ số đối xứng của pic chính không lớn hơn 1,6 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung

dịch thử. Tính hàm lượng cefoperazon, $C_{25}H_{27}N_9O_8S_2$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{25}H_{27}N_9O_8S_2$ trong cefoperazon natri chuẩn.

Bảo quản
Nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Hàm lượng thường dùng
1 g; 2 g cefoperazon.

BỘT PHA TIÊM CEFOPERAZON VÀ SULBACTAM
Cefoperazoni et Sulbactami pulvis ad injectionem

Là hỗn hợp bột khô vô khuẩn của cefoperazon natri và sulbactam natri để pha thuốc tiêm.
Tỷ lệ hàm lượng trên nhãn giữa cefoperazon và sulbactam là 1 : 1.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cefoperazon, $C_{25}H_{27}N_9O_8S_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng sulbactam, $C_8H_{11}NO_5S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột trắng hoặc gần như trắng.

Định tính
A. Trong mục Định lượng, sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho 2 pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của cefoperazon và sulbactam trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
B. Chế phẩm phải có phản ứng của ion natri (Phụ lục 8.1).

pH
Hòa tan một lượng chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ cefoperazon là 125 mg/ml, dung dịch thu được có pH từ 3,5 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Độ trong của dung dịch
Dung dịch 10 % chế phẩm trong *nước* phải trong (Phụ lục 9.2) và không có các tiểu phần có thể phát hiện bằng mắt thường (Phụ lục 11.8).

Nước
Không được quá 4,0 % (Phụ lục 10.3).

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 0,2 EU trong 1 mg chế phẩm (Phụ lục 13.2).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,005 M - acetonitril (75 : 25), điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.
Dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,005 M: Pha loãng 6,6 ml *dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 40 %* với *nước* để có 1800 ml dung dịch. Điều chỉnh pH dung dịch đến 5,0 ± 0,1 bằng *dung dịch acid phosphoric 1 M (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 2000 ml.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác cefoperazon natri chuẩn và sulbactam natri chuẩn tương ứng với 100 mg cefoperazon và 100 mg sulbactam. Hòa tan bằng pha động trong bình định mức 100 ml, thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Dung dịch phân giải: Cân khoảng 50 mg cefoperazon natri chuẩn, hòa tan trong 50 ml *nước*. Đun nóng trong cách thủy ở 60 °C trong 30 min. Để nguội. Dùng dung dịch thu được hòa tan 50 mg sulbactam natri chuẩn.
Dung dịch thử: Cân thuốc trong 10 lọ, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong một lọ. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 100 mg cefoperazon vào bình định mức 100 ml. Thêm 70 ml pha động, lắc để hòa tan và thêm pha động vừa đủ thể tích, lắc đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải. Trên sắc ký đồ thu được, pic tạp chất phân hủy của cefoperazon xuất hiện ngay trước pic sulbactam và có thời gian lưu tương đối là 0,9 so với sulbactam, độ phân giải giữa pic sulbactam và pic tạp chất phân hủy của cefoperazon không được nhỏ hơn 1,5. Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, số đĩa lý thuyết tính trên pic cefoperazon không nhỏ hơn 3000, hệ số đối xứng tính trên pic cefoperazon không lớn hơn 2 và độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích đáp ứng từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng cefoperazon, $C_{25}H_{27}N_9O_8S_2$, và sulbactam, $C_8H_{11}NO_5S$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{25}H_{27}N_9O_8S_2$ của cefoperazon và $C_8H_{11}NO_5S$ của sulbactam chuẩn.

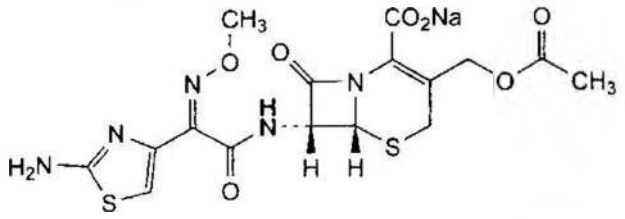
Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
Cefoperazon 0,5 g; sulbactam 0,5 g.
Cefoperazon 1 g; sulbactam 1 g.

CEFOTAXIM NATRI

Cefotaximum natricum



$C_{16}H_{16}N_5NaO_7S_2$ P.t.l: 477,4

Cefotaxim natri là (6*R*,7*R*)-3-[(acetyloxy)methyl]-7-[[(*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino) acetyl]-amino]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylat natri, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{16}N_5NaO_7S_2$, tính theo chế phẩm khan.
Chế phẩm bán tổng hợp từ một sản phẩm lên men.

Tính chất

Bột trắng hoặc hơi vàng, hút ẩm. Dễ tan trong nước, hơi tan trong methanol.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của cefotaxim natri chuẩn.
B. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2). Thêm 1 ml *acid acetic băng (TT)* vào 10 ml dung dịch S. Quan sát ngay, dung dịch thu được phải trong.

pH

Từ 4,5 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).
Dùng dung dịch S để đo.

Góc quay cực riêng

Từ +58,0° đến +64,0°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Dùng dung dịch thu được để đo.

Độ hấp thụ

Không được quá 0,40 (Phụ lục 4.1).
Dùng dung dịch S để đo độ hấp thụ ở bước sóng 430 nm.

Độ hấp thụ riêng

Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *nước*. Giá trị A (1 %, 1 cm) đo ở bước sóng 235 nm phải từ 360 đến 390, tính theo chế phẩm khan.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.
Pha động A: Dung dịch dinatri hydrophosphat 0,71 % (TT) được điều chỉnh đến pH 6,25 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Pha động B: Methanol (TT).
Hỗn hợp dung môi: Pha động B - pha động A (14 : 86).
Dung dịch thử: Hòa tan 40,0 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 8,0 mg acid cefotaxim chuẩn trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Thêm 1,0 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* vào 4,0 ml dung dịch thử. Đun nóng dung dịch thu được ở 40 °C trong 2 h. Thêm 5,0 ml *dung dịch đệm pH 6,6 (TT)* và 1,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT).*
Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 4 mg cefotaxim chuẩn dùng để định tính pic (chứa các tạp chất A, B, C, E và F) trong 5 ml hỗn hợp dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 3,9 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột: 30 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 235 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 7	86	14
7 - 9	86 → 82	14 → 18
9 - 16	82	18
16 - 45	82 → 60	18 → 40
45 - 50	60	40
50 - 55	60 → 86	40 → 14
55 - 60	86	14

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và các dung dịch đối chiếu (2), (3), (4).
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo cefotaxim chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của tạp chất A, B, C, E và F.
Thời gian lưu tương đối so với cefotaxim (thời gian lưu khoảng 13 min): Tạp chất B khoảng 0,3; tạp chất A khoảng 0,5; tạp chất E khoảng 0,6; tạp chất C khoảng 1,9; tạp chất D khoảng 2,3; tạp chất F khoảng 2,4; tạp chất G khoảng 3,1.
Kiểm tra tính thích hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic của tạp chất E và pic của cefotaxim ít nhất là 3,5; hệ số đối xứng của pic cefotaxim không quá 2,0.

Giới hạn:
Tạp chất A, B, C, D, E, F: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %).
Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn 0,2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (3,0 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid (6*R*,7*R*)-7-[{(2*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetyl]amino}-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en- 2-carboxylic (deacetoxycefotaxim).
Tạp chất B: Acid (6*R*,7*R*)-7-[[(2Z)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetyl]amino]-3-(hydroxymethyl)-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo [4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic (deacetylcefotaxim).
Tạp chất C: Acid (6*R*,7*R*)-3-[(acetyloxy)methyl]-7-[[(2*Z*)-2-[2-(formylamino)thiazol-4-yl]-2-(methoxyimino)acetyl] amino]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic (*N*-formylcefotaxim).
Tạp chất D: Acid (6*R*,7*R*)-3-[(acetyloxy)methyl]-7-[[(2*E*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetyl]amino]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2- carboxylic (*E*-cefotaxim).
Tạp chất E: (5a*R*,6*R*)-6-[[(2*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetyl]amino]-5a,6-dihydro-3*H*,7*H*-azeto[2,1-*b*] furo[3,4-*d*][1,3]thiazin-1,7(4*H*)-dion (deacetylcefotaxim lacton).
Tạp chất F: Acid (6*R*,7*R*)-3-[(acetyloxy)methyl]-7-[[(2*Z*)-2-[2-[[[(6*R*,7*R*)-7-[[(2*Z*)-2-(2-aminothiazol- 4-yl)-2-(methoxyimino) acetyl]amino]-2-carboxy-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-yl]methyl]amino]thiazol-4-yl]-2-(methoxyimino)acetyl] amino]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic (cefotaxim dimer).
Tạp chất G: Acid (6*R*,7*R*)-3-[(acetyloxy)methyl]-7-[[(2*Z*)-2-[2-[[(2*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetyl] amino]thiazol-4-yl]-2-(methoxyimino)acetyl]amino]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic (ATA cefotaxim).

Ethanol
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 10.14, hệ sắc ký A).

N,N-Dimethylanilin
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16, phương pháp 2).

Acid 2-ethylhexanoic
Không được quá 0,5 % (kl/kl) (Phụ lục 10.17).

Nước
Không được quá 3,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,300 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 0,05 EU/mg (Phụ lục 13.2), nếu chế phẩm dùng trong sản suất thuốc tiêm mà không có phương pháp hữu hiệu để loại bỏ nội độc tố vi khuẩn.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).
Tính hàm lượng của cefotaxim dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng của cefotaxim chuẩn.
Hàm lượng của $C_{16}H_{16}N_5NaO_7S_2$ trong chế phẩm bằng hàm lượng của cefotaxim nhân với 1,048.

Bảo quản
Trong bao bì kín và tránh ánh sáng. Nếu chế phẩm vô khuẩn thì bảo quản trong bao bì kín vô khuẩn.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Chế phẩm
Thuốc tiêm.

BỘT PHA TIÊM CEFOTAXIM
Cefotaximi pulvis ad injectionem

Bột pha tiêm cefotaxim là bột thuốc vô khuẩn chứa cefotaxim natri, có thể có tá dược và đóng trong đồ đựng kín.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng cefotaxim, $C_{16}H_{17}N_5O_7S_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột màu trắng hoặc vàng nhạt, đồng nhất, không bị ẩm, vón.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của cefotaxim natri chuẩn (Phụ lục 4.2).
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
C. Chế phẩm phải cho phản ứng đặc trưng của ion natri (Phụ lục 8.1).

Giới hạn acid
Dung dịch S: Dung dịch chế phẩm chứa cefotaxim 10,0 % pha trong *nước không có carbon dioxyd (TT).*
Dung dịch S phải có pH từ 4,5 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2). Độ hấp thụ của dung dịch S ở bước sóng 430 nm không được lớn hơn 0,60 (Phụ lục 4.1).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động và *điều kiện sắc ký* được thực hiện như mô tả ở phần Định lượng.
Dung dịch thử: Hòa tan một lượng chế phẩm trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ cefotaxim 0,1 %.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch cefotaxim natri chuẩn 0,0011 % trong pha động.
Lưu ý: *Sử dụng các dung dịch ngay sau khi chuẩn bị.*
Cách tiến hành: Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu, tiến hành sắc ký trong khoảng thời gian gấp 8 lần thời gian lưu của pic cefotaxim (khoảng 6 min) và ghi lại sắc đồ. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào cũng không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %) và tổng diện tích của tất các các pic phụ đó không được lớn hơn 4 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4,0 %).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 3,0 % (Phụ lục 9.6).
Cân chính xác khoảng 1,0 g bột thuốc, sấy ở 100 °C đến 105 °C.

Nội độc tố vi khuẩn
Hòa tan một lượng chế phẩm trong trong *nước BET (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ 10 mg/ml cefotaxim (dung dịch A). Giới hạn nội độc tố của dung dịch A là 0,5 EU/ml (Phụ lục 13.2).

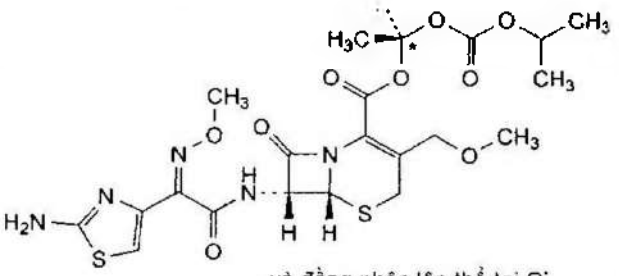
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 3,5 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 11,6 g *dinatri hydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước* pH 7,0, thêm 375 ml *methanol (TT)*.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng thích hợp cefotaxim natri chuẩn và hòa tan trong pha động để được dung dịch có nồng độ cefotaxim khoảng 0,01 %.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng chế phẩm sau đó hòa tan trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ cefotaxim khoảng 0,01 %.
Dung dịch phân giải: Thêm 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* vào 4 ml dung dịch thử, làm nóng dung dịch ở 40 °C trong 2 h. Thêm 5 ml *dung dịch đệm phosphat pH 6,6 (TT)* và 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)* và trộn đều.
Lưu ý: Sử dụng các dung dịch ngay sau khi chuẩn bị.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm)
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 235 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn và dung dịch phân giải. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của các pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải ít nhất bằng 50 % thang đo. Phép thử chỉ có giá trị khi cefotaxim được rửa giải là pic thứ hai và độ phân giải giữa hai pic chính không nhỏ hơn 3,5. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số đối xứng của pic cefotaxim trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn nhỏ hơn 2,0.
Trong điều kiện sắc ký nêu trên, thời gian lưu của pic cefotaxim khoảng 6 min. Nếu cần có thể sử dụng pha tĩnh khác hoặc điều chỉnh nồng độ của methanol trong pha động.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng cefotaxim, $C_{16}H_{17}N_5O_7S_2$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic của cefotaxim thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng cefotaxim natri chuẩn.
1 mg cefotaxim natri, $C_{16}H_{16}N_5NaO_7S_2$, tương ứng với 0,9539 mg cefotaxim, $C_{16}H_{17}N_5O_7S_2$.

Bảo quản
Trong bao bì kín.
Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Hàm lượng thường dùng
1 g.

CEFPODOXIM PROXETIL
Cefpodoximum proxetili


và đồng phân lập thể tại C*

$C_{21}H_{27}N_5O_9S_2$ P.t.l: 557,6

Cefpodoxim proxetil là (1*RS*)-1-[[(1-methylethoxy) carbonyl]oxy]ethyl(6*R*,7*R*)-7-{[(2*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-(methoxyimino)acetyl]amino]-3-(methoxymethyl)-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylat, phải chứa từ 94,0 % đến 102,0 % của $C_{21}H_{27}N_5O_9S_2$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột vô định hình màu trắng hoặc vàng nhạt hoặc nâu nhạt. Rất khó tan hoặc thực tế không tan trong nước, rất dễ tan trong acetonitril và methanol, dễ tan trong ethanol khan.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của cefpodoxim proxetil chuẩn.

Tỉ lệ các đồng phân

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) như mô tả ở phần Định lượng. Áp dụng phương pháp chuẩn hóa để tính tỷ lệ các đồng phân.

Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, tỉ lệ diện tích pic của đồng phân cefpodoxim proxetil II *(R*-epimer) so với tổng diện tích pic của hai đồng phân cefpodoxim proxetil I *(S*-epimer) và II phải từ 0,5 đến 0,6.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng hoặc bảo quản ở 2 °C đến 8° C.

Pha động A: Dung dịch amoni acetat 0,02 M.

Pha động B: Acetonitril (TT)

Dung môi pha mẫu: *Nước - acetonitril* (2 : 1).

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 50 mg chế phẩm vào bình định mức 50 ml, thêm 5 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm để hòa tan và thêm dung môi pha mẫu tới vạch, lắc đều. Tiêm ngay hoặc có thể tiến hành phân tích trong vòng 24 h nếu bảo quản ở 8 °C.

Dung dịch kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Hòa tan một lượng cefpodoxim proxetil chuẩn trong dung môi pha mẫu để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 10 µg/ml (*Lưu ý:* Có thể dùng *methanol (TT)* để hòa tan trước nhưng lượng methanol không được quá 10 % tổng thể tích của dung dịch cuối cùng).

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Nhiệt độ cột khoảng 30 °C.

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 260 nm.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0	90	10
0 - 10	90 → 68	10 → 32
10 - 40	68	32
40 - 80	68 → 50	32 → 50
80 - 85	50	50
85 - 90	50 → 25	50 → 75
90 - 95	25	75
95 - 100	25 → 90	75 → 10

Tiêm dung dịch kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Thời gian lưu của pic cefpodoxim proxetil II từ 37 min đến 42 min. Thời gian lưu tương đối của pic cefpodoxim proxetil I khoảng 0,9 và của pic cefpodoxim proxetil II là 1,0.

Độ phân giải giữa pic cefpodoxim proxetil I và pic cefpodoxim proxetil II không được nhỏ hơn 4,0; số đĩa lý thuyết của pic cefpodoxim proxetil II không được nhỏ hơn 19 000; độ lệch chuẩn tương đối của tổng diện tích hai pic thu được từ các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.

Giới hạn:

Áp dụng phương pháp chuẩn hóa để tính phần trăm các tạp chất.

Tạp chất có thời gian lưu tương đối khoảng 0,86 không được quá 3,0 %.

Các tạp chất có thời gian lưu tương đối khoảng 1,27; 1,36 hoặc lớn hơn 2,0 không được quá 1,0 %.

Tạp chất khác không được quá 0,5 %.

Tổng tạp chất không được quá 6,0 %.

Bỏ qua các tạp chất nhỏ hơn 0,05 %.

Nước

Không được quá 2,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,500 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Methanol - nước (9 : 11).

Dung môi pha mẫu: Dung dịch acid citric khan 20 mg/l trong acetonitril.

Dung dịch thử: Hòa tan 30,0 mg chế phẩm trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan 30,0 mg cefpodoxim proxetil chuẩn trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm), được nhồi *end-capped octadecylsilyl silica gel loại dùng cho sắc ký* (5 µm).

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 240 nm.

Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

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

Thời gian chạy sắc ký gấp 1,2 lần thời gian lưu của pic cefpodoxim proxetil II.

Thời gian lưu của pic cefpodoxim proxetil II khoảng 30 min.

Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn độ phân giải giữa hai pic tương ứng với cefpodoxim proxetil I và cefpodoxim proxetil II ít nhất là 4,0.

Tính hàm lượng phần trăm cefpodoxim proxetil, $C_{21}H_{27}N_5O_9S_2$, trong chế phẩm dựa vào tổng diện tích pic của hai đồng phân cefpodoxim proxetil I và cefpodoxim proxetil II thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{21}H_{27}N_5O_9S_2$ trong cefpodoxim proxetil chuẩn.

Bảo quản

Bảo quản trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Chế phẩm

Viên nén, nang, bột pha hỗn dịch.

BỘT PHA HỖN DỊCH CEFPODOXIM

Pulveres Cefpodoximi ad suspensionum peroralum

Là thuốc bột dùng để pha hỗn dịch uống chứa cefpodoxim proxetil. Có thể có thêm các tá dược thích hợp tạo mùi vị, tạo màu, chất bảo quản, chất ổn định hỗn dịch....
Hỗn dịch tạo thành sau khi pha theo hướng dẫn trên nhãn thuốc phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Hỗn dịch thuốc" (Phụ lục 1.5).
Bột pha hỗn dịch phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc bột" (Phụ lục 1.7) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cefpodoxim, $C_{15}H_{17}N_5O_6S_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Bột thuốc khô tơi, không bị ẩm, vón, màu sắc đồng nhất.

Định tính

Trong phần Định lượng, sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho 2 pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic cefpodoxim proxetil *S*-epimer và cefpodoxim proxetil *R*-epimer trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Nước

Không được quá 1,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng khoảng 1,0 g chế phẩm để thử.

pH

Từ 4,0 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).
Sử dụng hỗn dịch pha theo theo hướng dẫn trên nhãn thuốc để đo.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch amoni acetat 0,02 M - acetonitril (6 : 4). Điều chỉnh tỉ lệ nếu cần.
Dung môi pha mẫu: Nước - acetonitril (6 : 4).
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng cefpodoxim proxetil chuẩn tương ứng với khoảng 50 mg cefpodoxim vào bình định mức dung tích 100 ml. Thêm 10 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm khoảng 5 min để hòa tan, thêm dung môi pha mẫu vừa đủ đến vạch, lắc đều. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng dung môi pha mẫu.
Dung dịch thử:
Đối với chế phẩm đóng gói đơn liều: Lấy bột thuốc sau khi xác định độ đồng đều khối lượng và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 100 mg cefpodoxim vào bình định mức 200 ml, thêm 20 ml *nước*, lắc đều để bột phân tán, thêm 40 ml *acetonitril (TT)*, lắc siêu âm khoảng 15 min, để nguội, thêm dung môi pha mẫu vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml bằng dung môi pha mẫu.
Đối với chế phẩm đóng gói đa liều: Tiến hành pha hỗn dịch như chỉ dẫn trên nhãn, lắc đều. Xác định khối lượng riêng của hỗn dịch thu được (Phụ lục 6.5). Cân chính xác một lượng hỗn dịch tương ứng với khoảng 100 mg cefpodoxim vào bình định mức 200 ml, thêm 20 ml *nước*, thêm 20 ml *acetonitril (TT)*, lắc siêu âm khoảng 15 min, để nguội, thêm dung môi pha mẫu vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml bằng dung môi pha mẫu.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột: 30 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 235 nm.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Trên sắc ký đồ thu được, thời gian lưu tương đối của pic cefpodoxim proxetil *S*-epimer khoảng 0,9 và cefpodoxim proxetil *R*-epimer là 1,0; độ phân giải giữa hai pic này không nhỏ hơn 2,5. Hệ số đối xứng của pic cefpodoxim proxetil *R*-epimer không lớn hơn 1,5. Độ lệch chuẩn tương đối của tổng diện tích pic cefpodoxim proxetil *S*-epimer và cefpodoxim proxetil *R*-epimer từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Từ tổng diện tích pic cefpodoxim proxetil *S*-epimer và cefpodoxim proxetil *R*-epimer thu được trên sắc ký đồ dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{15}H_{17}N_5O_6S_2$ của cefpodoxim proxetil chuẩn và khối lượng riêng của hỗn dịch (đối với dạng đóng gói đa liều, xác định theo phụ lục 6.5), tính hàm lượng $C_{15}H_{17}N_5O_6S_2$ trong chế phẩm.

Bảo quản

Trong bao bì kín. Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.
Hỗn dịch đa liều sau khi pha được bảo quản trong khoảng thời gian và ở nhiệt độ như hướng dẫn trên nhãn.

Nhãn

Nhãn cần qui định cách pha bột thuốc thành hỗn dịch và ghi lượng tương ứng cefpodoxim ($C_{15}H_{17}N_5O_6S_2$) có trong một đơn vị thể tích hỗn dịch tạo thành (đối với dạng đóng gói đa liều).

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Hàm lượng thường dùng

Tính theo cefpodoxim.
Chế phẩm đơn liều: 50 mg, 100 mg.
Chế phẩm đa liều: 50 mg/5ml.

NANG CEFPODOXIM

Capsulae Cefpodoximi

Là nang cứng chứa cefpodoxim proxetil.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng cefpodoxim, $C_{15}H_{17}N_5O_6S_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Trong mục Định lượng, sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho 2 pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic cefpodoxim proxetil *S*-epimer và cefpodoxim proxetil *R*-epimer trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: Cân 54,5 g *glycin (TT)*, 42,6 g *natri clorid (TT)* và chuyển vào bình định mức 1000 ml. Thêm khoảng 500 ml *nước*, lắc để hòa tan. Thêm cẩn thận, vừa thêm vừa lắc với 14,2 ml *acid hydrocloric (TT)*, để nguội. Pha loãng vừa đủ đến vạch với *nước*. Pha loãng 50 ml này thành 900 ml với *nước* để thu được dung dịch có pH 3,0 ± 0,1 [Điều chỉnh pH của môi trường hòa tan với *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* nếu cần].
Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, hút dịch hòa tan, lọc, pha loãng bằng môi trường hòa tan, nếu cần.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng cefpodoxim chuẩn tương ứng với khoảng 25 mg cefpodoxim vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml *methanol (TT)* và lắc để hòa tan, thêm *methanol (TT)* vừa đủ đến định mức, lắc đều. Pha loãng chính xác dung dịch thu được bằng môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ cefpodoxim tương đương với nồng độ trong dung dịch thử.
Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử và dung dịch chuẩn ở bước sóng cực đại khoảng 259 nm, sử dụng cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan.
Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng cefpodoxim, $C_{15}H_{17}N_5O_6S_2$, được hòa tan trong 30 min.

Nước (Phụ lục 10.3)
Không được quá 5,0 %.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch amoni acetat 0,02 M - acetonitril (6 : 4). Điều chỉnh tỉ lệ nếu cần.
Dung môi pha mẫu: Nước - acetonitril (6 : 4).
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng cefpodoxim proxetil chuẩn tương ứng với khoảng 50 mg cefpodoxim vào bình định mức 100 ml, thêm 10 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm khoảng 5 min để hòa tan. Thêm dung môi pha mẫu vừa đủ đến vạch, lắc đều. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml với dung môi pha mẫu.
Dung dịch thử: Cân 20 nang, xác định khối lượng trung bình bột thuốc trong nang và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với 50 mg cefpodoxim vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml dung môi pha mẫu, lắc siêu âm khoảng 10 min để hòa tan. Pha loãng với dung môi pha mẫu vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml với dung môi pha mẫu.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột: 30 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 235 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Trên sắc ký đồ thu được, thời gian lưu tương đối của pic cefpodoxim proxetil *S*-epimer khoảng 0,9 và cefpodoxim proxetil *R*-epimer là 1,0; độ phân giải giữa hai pic này không nhỏ hơn 2,5. Hệ số đối xứng của pic cefpodoxim proxetil *R*-epimer không lớn hơn 1,5. Độ lệch chuẩn tương đối của tổng diện tích pic cefpodoxim proxetil *S*-epimer và cefpodoxim proxetil *R*-epimer từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng cefpodoxim, $C_{15}H_{17}N_5O_6S_2$, có trong nang từ tổng diện tích pic cefpodoxim proxetil *S*-epimer và cefpodoxim proxetil *R*-epimer thu được trên sắc ký đồ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{15}H_{17}N_5O_6S_2$ trong cefpodoxim proxetil chuẩn.

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

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Hàm lượng thường dùng
100 mg; 200 mg tính theo cefpodoxim.

VIÊN NÉN CEFPODOXIM
Tabellae Cefpodoximi

Là viên nén hoặc viên bao phim chứa cefpodoxim proxetil. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng cefpodoxim, $C_{15}H_{17}N_5O_6S_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Trong phần Định lượng, thời gian lưu của 2 pic chính thu được trên sắc ký đồ dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic cefpodoxim proxetil *R*-epimer và cefpodoxim proxetil *S*-epimer trên sắc ký đồ dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: Cân 54,5 g *glycin (TT)*, 42,6 g *natri clorid (TT)* và chuyển vào bình định mức 1000 ml. Thêm khoảng 500 ml *nước*, lắc để hòa tan. Thêm cẩn thận, vừa thêm vừa lắc với 14,2 ml *acid hydrocloric (TT)*, để nguội. Pha loãng vừa đủ đến vạch với *nước*. Pha loãng 50 ml này thành 900 ml với *nước* để thu được dung dịch có pH 3,0 ± 0,1 [Điều chỉnh pH của môi trường hòa tan với *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* nếu cần].
Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan qui định, hút dịch hòa tan, lọc, pha loãng bằng môi trường hòa tan nếu cần.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng cefpodoxim proxetil chuẩn tương ứng với khoảng 25 mg cefpodoxim vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml *methanol (TT)* và lắc để hòa tan, thêm *methanol (TT)* vừa đủ đến định mức, lắc đều. Pha loãng chính xác dung dịch thu được bằng môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ cefpodoxim tương đương với nồng độ trong dung dịch thử. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử và dung dịch chuẩn ở bước sóng cực đại khoảng 259 nm, sử dụng cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan.
Tính hàm lượng cefpodoxim, $C_{15}H_{17}N_5O_6S_2$, hòa tan từ mỗi viên dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{15}H_{17}N_5O_6S_2$ trong cefpodoxim procetil chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng cefpodoxim, $C_{15}H_{17}N_5O_6S_2$, được hòa tan trong 30 min.

Nước (Phụ lục 10.3)
Không được quá 5,0 %.

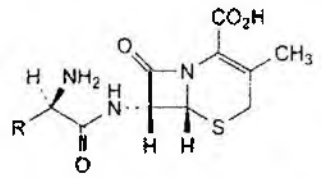
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch amoni acetat 0,02 M - acetonitril (6 : 4). Điều chỉnh tỉ lệ nếu cần.
Dung môi pha mẫu: Nước - acetonitril (6 : 4).
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 60 mg cefpodoxim proxetil chuẩn vào bình định mức 100 ml, thêm 10 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm khoảng 5 min để hòa tan. Pha loãng với dung môi pha mẫu vừa đủ đến vạch, lắc đều. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml với dung môi pha mẫu. Lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Dung dịch thử: Cân 20 viên (loại bỏ lớp bao phim, nếu cần), xác định khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 50 mg cefpodoxim vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml dung môi pha mẫu, lắc siêu âm khoảng 10 min. Pha loãng với dung môi pha mẫu vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc qua giấy lọc. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml với dung môi pha mẫu. Lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột: 30 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 235 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Trên sắc ký đồ thu được, thời gian lưu tương đối của pic cefpodoxim proxetil *S*-epimer khoảng 0,9 và cefpodoxim proxetil *R*-epimer là 1,0; độ phân giải giữa hai pic này không nhỏ hơn 2,5. Hệ số đối xứng của pic cefpodoxim proxetil *R*-epimer không lớn hơn 2,0. Độ lệch chuẩn tương đối của tổng diện tích pic cefpodoxim proxetil *S*-epimer và cefpodoxim proxetil *R*-epimer của 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử. Từ tổng diện tích pic cefpodoxim proxetil *S*-epimer và cefpodoxim proxetil *R*-epimer thu được trên sắc ký đồ dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{15}H_{17}N_5O_6S_2$ trong cefpodoxim proxetil chuẩn, tính hàm lượng $C_{15}H_{17}N_5O_6S_2$ trong viên.

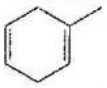
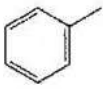
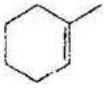
Bảo quản
Trong đồ đựng kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Hàm lượng thường dùng
100 mg; 200 mg tính theo cefpodoxim.

CEFRADIN
Cefradinum



Thành phần	R	Công thức	P.t.l
cefradin		$C_{16}H_{19}N_3O_4S$	349,4
cefalexin		$C_{16}H_{17}N_3O_4S$	347,4
4',5'-dihydrocefradin		$C_{16}H_{21}N_3O_4S$	351,4

Cefradin có thành phần chính là acid (6*R*,7*R*)-7-[[(2*R*)-2-amino-2-(cyclohexa-1,4-dienyl)acetyl]amino]-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic, được bán tổng hợp từ một sản phẩm lên men, phải chứa: Cefradin ít nhất là 90,0 %; cefalexin không được quá 5,0 %; 4',5'-dihydrocefradin không được quá 2,0 %, tính theo chế phẩm khan

Tổng hàm lượng của cefradin, cefalexin và 4',5'-dihydrocefradin phải từ 95,0 % đến 102,0 %, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột trắng hoặc hơi vàng, hút ẩm. Hơi tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 % và trong hexan.

Định tính

Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của cefradin chuẩn.

Nếu phổ hồng ngoại ở trạng thái rắn của mẫu thử khác với phổ hồng ngoại của cefradin chuẩn thì hòa tan riêng biệt 30 mg chế phẩm và chất chuẩn trong 10 ml *methanol (TT)*, bay hơi các dung dịch tới khô ở 40 °C và áp suất dưới 2 kPa, ghi phổ mới của các cắn thu được.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong *dung dịch natri carbonat (TT)*, pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S không đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2). Để yên dung dịch S trong 5 min. Độ hấp thụ của dung dịch S đo ở bước sóng 450 nm (Phụ lục 4.1) không được quá 0,60.

pH

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. pH (Phụ lục 6.2) của dung dịch thu được phải từ 3,5 đến 6,0.

Góc quay cực riêng

Từ +80° đến +90°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4). Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *dung dịch đệm acetat pH 4,6 (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: *Dung dịch kali dihydrophosphat 0,272 % (TT)* được điều chỉnh đến pH 3,0 bằng *acid phosphoric 2 M (TT)*.

Pha động B: *Methanol (TT_2)*.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 3,0 mg cyclohexa-1,4-dienylglycin chuẩn (tạp chất B) trong pha động A và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 3 mg chế phẩm và 3 mg cefalexin chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động A.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 6 mg cefradin chuẩn dùng để định tính pic (chứa tạp chất C, D và E) trong 1,0 ml pha động A.

Dung dịch đối chiếu (5): Hòa tan hỗn hợp tạp chất chuẩn của cefradin (chứa tạp chất A và G) có trong một lọ chuẩn trong 1,0 ml pha động A.

Điều kiện sắc ký:

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

Nhiệt độ cột: 30 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 25 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 2,5	99,5 → 97	0,5 → 3
2,5 - 11	97 → 75	3 → 25
11 - 13	75 → 60	25 → 40
13 - 16	60	40
16 - 19	60 → 20	40 → 80
19 - 19,1	20 → 99,5	80 → 0,5
19,1 - 25	99,5	0,5

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo cefradin chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của các tạp chất C, D và E. Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) để xác định pic của tạp chất B. Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo hỗn hợp tạp chất chuẩn của cefradin và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5) để xác định pic của các tạp chất A và G.

Thời gian lưu tương đối so với cefradin (thời gian lưu khoảng 15 min): Tạp chất A khoảng 0,27; tạp chất B khoảng 0,32; tạp chất C khoảng 0,53; tạp chất D khoảng 0,63; tạp chất E khoảng 0,80; tạp chất F khoảng 0,92; cefalexin khoảng 0,95; 4',5'-dihydrocefradin khoảng 1,06; tạp chất G khoảng 1,32.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của cefalexin và pic của cefradin ít nhất là 4,0.

Giới hạn:

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất B với 3,4.

Tạp chất A, B, C, D, E, F, G: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu cần, không được lớn hơn 0,25 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,25 %).

Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn 0,25 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,25 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (2,0 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,05 %), bỏ qua pic của cefalexin và 4',5'-dihydrocefradin.

Ghi chú:
Tạp chất A: Acid (6*R*,7*R*)-7-amino-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic (acid 7-amino-deacetoxy-cephalosporanic, 7-ADCA).
Tạp chất B: Acid (2*R*)-amino(cyclohexa-1,4-dienyl)acetic (*d*-dihydrophenylglycin,cyclohexa-1,4-dienylglycin).
Tạp chất C: Acid (6*R*,7*R*)-7-[[(2*R*)-amino(cyclohexa-1,4-dienyl) acetyl]amino]-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo [4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic 5-oxid (isomer 1).
Tạp chất D: Acid (6*R*,7*R*)-7-[[(2*R*)-amino(cyclohexa-1,4-dienyl) acetyl]amino]-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic 5-oxid (isomer 2)
Tạp chất E: Acid (6*R*,7*R*)-7-[[(2*R*)-amino(2-hydroxyphenyl) acetyl]amino]-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic.
Tạp chất F: 3-hydroxy-4-methylthiophen-2(5*H*)-on.
Tạp chất G: Acid (6*R*,7*R*)-7-[(2,2-dimethylpropanoyl)amino]-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic (7-ADCA pivalamid).

N,N-Dimethylanilin
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16, phương pháp 2).

Nước
Không được quá 6,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,300 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - dung dịch đệm phosphat pH 5,0 (25 : 75).
Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *dung dịch đệm phosphat pH 5,0 (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch chuẩn (1): Hòa tan 50,0 mg cefradin chuẩn (chứa 4',5'-dihydrocefradin) trong *dung dịch đệm phosphat pH 5,0 (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch chuẩn (2): Hòa tan 5,0 mg cefalexin chuẩn trong *dung dịch đệm phosphat pH 5,0 (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch chuẩn (3): Pha loãng 1 ml dung dịch chuẩn (1) thành 10 ml bằng *dung dịch đệm phosphat pH 5,0 (TT).* Trộn 5 ml dung dịch thu được và 5 ml dung dịch chuẩn (2).
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 5 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của cefradin.
Thời gian lưu tương đối so với cefradin (thời gian lưu khoảng 3 min): cefalexin khoảng 0,7; 4',5'-dihydrocefradin khoảng 1,5.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn (3), độ phân giải giữa pic của cefalexin với pic của cefradin ít nhất là 4,0.
Tính hàm lượng phần trăm của cefradin trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn (1) và hàm lượng của cefradin trong cefradin chuẩn.
Tính hàm lượng phần trăm của cefalexin trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn (2) và hàm lượng của cefalexin trong cefalexin chuẩn.
Tính hàm lượng phần trăm của 4',5'-dihydrocefradin trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn (2) và nhân diện tích pic của 4',5'-dihydrocefradin với 1,6.

Bảo quản
Trong bao bì kín và tránh ánh sáng, ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Chế phẩm
Nang, hỗn dịch uống.

NANG CEFRADIN
Capsulae Cefradini

Là nang cứng chứa cefradin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng cephalosporin, tính theo tổng của cefradin, $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, và cephalexin, $C_{16}H_{17}N_3O_4S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với hàm lượng cefradin ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel không có chất kết dính dày 0,25 mm, được chuẩn bị như sau: Đặt bản mỏng trong bình sắc ký có chứa hỗn hợp dung môi *n-hexan - tetradecan* (95 : 5) ngập khoảng 1 cm, để dung môi di chuyển theo chiều dài của bản mỏng, sau đó lấy bản mỏng ra khỏi bình sắc ký và để dung môi bay hơi.
Dung môi khai triển: Dung dịch acid citric 0,1 M - dung dịch dinatri hydrophosphat 0,1 M - dung dịch ninhydrin trong aceton (TT) có nồng độ 1 g trong 15 ml (60 : 40 : 1,5).
Dung dịch thử: Lấy một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với khoảng 30 mg cefradin, hòa tan trong 10 ml *nước*, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch cefradin chuẩn 0,3 % trong *nước*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí

và sấy ở 110 °C trong 10 min và quan sát dưới ánh sáng thường.
Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 7,0 % (Phụ lục 9.6).
Cân chính xác khoảng 100 mg bột chế phẩm, sấy trong chân không dưới áp suất giảm 5 mmHg ở 60 °C trong 3 h.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,12 M (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc (bỏ 20 ml dịch lọc đầu). Pha loãng dịch lọc thu được tới nồng độ thích hợp với môi trường hòa tan (nếu cần). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 255 nm, cốc đo dày 1cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. Tính hàm lượng cephalosporin bằng cách tính tổng lượng cefradin, $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, và cephalexin, $C_{16}H_{17}N_3O_4S$, hòa tan trong mỗi viên so sánh với dung dịch cefradin chuẩn có nồng độ tương đương trong cùng dung môi.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng cefradin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min, tính theo tổng cefradin và cephalexin.

Cephalexin
Không quá 10,0 % tổng cefradin, $C_{16}H_{19}N_3O_4S$ và cephalexin, $C_{16}H_{17}N_3O_4S$.
Tính hàm lượng phần trăm cephalexin, $C_{16}H_{17}N_3O_4S$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic cephalexin và diện tích pic cefradin trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử trong phần Định lượng.

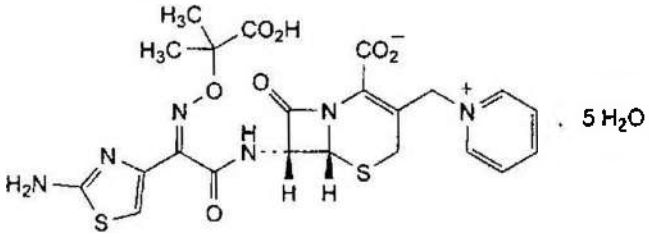
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Nước - methanol - dung dịch natri acetat 0,5 M - dung dịch acid acetic 0,7 M* (782 : 200 : 15 : 3).
Dung dịch chuẩn: Dung dịch cefradin chuẩn 0,05 % trong pha động.
Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của thuốc trong nang, trộn đều. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 50 mg cefradin vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml pha động và lắc siêu âm 15 min. Pha loãng bằng pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.
Dung dịch phân giải: Hòa tan một lượng cefradin chuẩn và cephalexin chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ 0,5 mg/ml mỗi chất.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm đến 10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch phân giải, trên sắc ký đồ thu được, thời gian lưu tương đối của cephalexin khoảng 0,8 và cefradin là 1,0; độ phân giải giữa hai pic cephalexin và cefradin không nhỏ hơn 2,0. Tiến hành sắc ký 6 lần riêng biệt đối với dung dịch chuẩn: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic cefradin không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng cephalosporin có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào tổng diện tích pic của cephalexin và cefradin trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và tổng hàm lượng cefradin, $C_{16}H_{19}N_3O_4S$, và cephalexin, $C_{16}H_{17}N_3O_4S$, của cefradin chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín.
Để nơi khô mát, nhiệt độ không quá 30 °C, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Hàm lượng thường dùng
250 mg, 500 mg.

CEFTAZIDIM PENTAHYDRAT
Ceftazidimum pentahydricum



$C_{22}H_{22}N_6O_7S_2.5H_2O$ P.t.l.: 637

Ceftazidim pentahydrat là (6*R*,7*R*)-7-[[(2*Z*)-2-(2-amino-thiazol-4-yl)-2-[(1-carboxy-1-methylethoxy)imino] acetyl] amino]-8-oxo-3-[(pyridin-1-ium-1-yl)methyl]-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylat pentahydrat, phải chứa từ 95,0 % đến 102,0 % $C_{22}H_{22}N_6O_7S_2$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hay gần như trắng. Khó tan trong nước và methanol, thực tế không tan trong aceton và ethanol 96 %. Tan trong dung dịch acid và kiềm.

Định tính

Phổ hấp thụ hồng ngoại của chế phẩm (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của ceftazidim chuẩn.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: hòa tan 0,25 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Dung dịch S có pH từ 3,0 đến 4,0 (Phụ lục 6.1).

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel F_{254}.

Dung môi khai triển: Butanol - dung dịch đệm natri acetat pH 4,5 - butyl acetat - acid acetic băng (6 : 26 : 32 : 32).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *dung dịch dinatri hydrophosphat 3,6 %* và pha loãng thành 2 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 200 ml với *dung dịch dinatri hydrophosphat 3,6 %.*

Cách tiến hành: Chấm riêng rẽ lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Làm khô bản mỏng bằng không khí nóng và phát hiện vết bằng đèn tử ngoại 254 nm. Bất kỳ vết nào có R_f lớn hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %).

B. Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp *acetonitril - dung dịch amoni dihydrophosphat 2,26 %* (7 : 93), điều chỉnh pH đến 3,9 bằng *dung dịch acid phosphoric 10 % (TT).*

Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 5,0 mg tạp chất A chuẩn của ceftazidim trong pha động và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 5 mg tạp chất A chuẩn của ceftazidim và 5 mg ceftazidim chuẩn trong pha động và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Nhiệt độ cột: 35 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 255 nm.

Tốc độ dòng: 1,3 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch phân giải, điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của 2 pic trên sắc ký đồ ít nhất bằng 50 % của thang đo. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic ceftazidim và tạp chất A tối thiểu là 5,9.

Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Thời gian sắc ký của dung dịch thử gấp 3 lần thời gian lưu của ceftazidim. Diện tích của bất kỳ pic phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn 0,5 lần diện tích của pic chính thu được từ sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %). Tổng diện tích của tất cả các pic phụ trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn 2 lần diện tích của pic chính từ sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2,0 %). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 10 % diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Ghi chú:

Tạp chất A: (2*RS*,6*R*,7*R*)-7-[[(2*Z*)-2-(2-aminothiazol-4-yl)-2-[(1-carboxy-1-methylethoxy)imino]acetyl] amino]-8-oxo-3-[(pyridin-1-ium-1-yl)methyl]-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-3-en-2-carboxylat (Δ-2-ceftazidim).

Pyridin

Không được quá 0,05 %.

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch amoni dihydrophosphat 2,88 % được điều chỉnh pH đến 7,0 bằng amoniac - acetonitril - nước (8 : 24 : 68).

Các dung dịch sau pha ngay trước khi sử dụng:

Dung dịch thử: Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 10 thể tích *dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT_4)* và 90 thể tích *nước* (hỗn hợp A). Pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 1,0 g *pyridin (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 200,0 ml với *nước*. Lấy 1,0 ml dung dịch thu được thêm 10,0 ml *dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với *nước*.

Dung dịch phân giải: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 200,0 ml với hỗn hợp A. Lấy 1,0 ml dung dịch thu được, thêm 20,0 ml dung dịch đối chiếu và pha loãng thành 200,0 ml với hỗn hợp A.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 255 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch phân giải, phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa các pic tương ứng với ceftazidim và pyridin tối thiểu là 7,0.

Tiêm dung dịch đối chiếu, điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính trên sắc ký đồ phải ít nhất bằng 50 % của thang đo. Tiêm lần lượt dung dịch thử và dung dịch đối chiếu, diện tích của pic tương ứng với pyridin trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Nước
Từ 13,0 % đến 15,0 %.
Dùng 0,200 g chế phẩm (Phụ lục 10.3).

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 0,10 EU/mg. Nếu chế phẩm dự định để sản xuất thuốc tiêm mà không có phương pháp hữu hiệu nào để loại bỏ nội độc tố vi khuẩn thì phải đáp ứng phép thử nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 4,26 g *dinatri hydrophosphat (TT)* và 2,73 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 980 ml *nước*, thêm 20 ml *acetonitril (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan 25,0 mg ceftazidim chuẩn trong pha động và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch phân giải: Hòa tan 5,0 mg tạp chất A chuẩn của ceftazidim trong 5,0 ml dung dịch chuẩn.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi *hexylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 245 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành: Tiêm dung dịch phân giải, điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính trên sắc ký đồ phải ít nhất bằng 50 % của thang đo. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic tương ứng với ceftazidim và tạp chất A tối thiểu là 1,5. Tiêm lần lượt dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Tính hàm lượng ceftazidim, $C_{22}H_{22}N_6O_7S_2$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{22}H_{22}N_6O_7S_2$ trong ceftazidim chuẩn.

Bảo quản
Bảo quản trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng. Nếu là chế phẩm vô khuẩn phải đựng trong đồ đựng vô khuẩn, kín, chống nhiễm khuẩn.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Chế phẩm
Thuốc tiêm.

BỘT PHA TIÊM CEFTAZIDIM
Ceftazidimi pulvis ad injectionem

Bột pha tiêm ceftazidim là hỗn hợp vô khuẩn của ceftazidim pentahydrat và natri carbonat khan, đóng trong lọ thủy tinh nút kín.
Chế phẩm phải đạt các yêu cầu quy định trong chuyên luận chung về "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng ceftazidim, $C_{22}H_{22}N_6O_7S_2$, từ 90,0 % đến 105,0 % tính trên bột thuốc khan không chứa natri carbonat và so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng natri carbonat khan, Na_2CO_3, từ 8,0 % đến 10,0 %.

Tính chất
Bột màu trắng hoặc vàng nhạt.

Định tính
A. Trong phần Định lượng ceftazidim, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic ceftazidim trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
B. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của carbonat (Phụ lục 8.1).

pH
Dung dịch chế phẩm chứa ceftazidim 10,0 % trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* phải có pH từ 5,0 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).

Độ trong của dung dịch
Dung dịch chế phẩm có nồng độ ceftazidim 10,0 % trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* phải trong (Phụ lục 9.2).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 13,5 % (Phụ lục 9.6).
Dùng 0,3 g chế phẩm, làm khô trong chân không với áp suất không quá 0,67 kPa ở 25 °C trong 4 h; sau đó tiếp tục sấy trong chân không ở 100 °C với áp suất không quá 0,67 kPa trong 3 h.

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 0,1 EU/mg ceftazidim (Phụ lục 13.2).

Pyridin
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch amoni dihydrophosphat 2,88 % được điều chỉnh pH đến 7,0 bằng amoniac - acetonitril - nước (8 : 24 : 68).
Các dung dịch pha ngay trước khi sử dụng.
Dung môi pha mẫu: Hỗn hợp gồm 10 thể tích *dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT_4)* và 90 thể tích *nước*.
Dung dịch thử: Phân tán một lượng chế phẩm tương ứng với khoảng 0,5 g ceftazidim trong 10 ml dung môi pha mẫu và thêm vừa đủ thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 1,0 ml dung dịch *pyridin 0,025 %* thêm 10,0 ml *dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT_4)* và pha loãng thành 100,0 ml với *nước*.
Dung dịch phân giải: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 200,0 ml với dung môi pha mẫu. Lấy 1,0 ml dung dịch thu được, thêm 20,0 ml dung dịch đối chiếu và pha loãng thành 200,0 ml với dung môi pha mẫu.

Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 255 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa các pic tương ứng với ceftazidim và pyridin tối thiểu là 7,0.
Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu, điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính trên sắc ký đồ phải ít nhất bằng 50 % của thang đo.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu, diện tích của pic tương ứng với pyridin trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn 10 lần diện tích của pic pyridin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %).

Natri carbonat
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch chuẩn gốc natri 1000 µg/ml.
Dung dịch kali clorid 4 %: Hòa tan 4 g *kali clorid (TT)* trong *nước* thành 100,0 ml.
Chuẩn bị dãy chuẩn natri:
Pha loãng 10,0 ml *dung dịch chuẩn gốc natri 1000 µg/ml* thành 100,0 ml bằng *nước* để được dung dịch natri có nồng độ 100 µg/ml.
Tiến hành pha dãy chuẩn natri có các nồng độ 2,0 µg/ml; 4,0 µg/ml ; 6,0 µg/ml và 8,0 µg/ml theo bảng sau:

Nồng độ chuẩn natri (µg/ml)	Dung dịch chuẩn natri 100 µg/ml (ml)	Dung dịch kali clorid 4 % (ml)	Nước vừa đủ (ml)
0 (Trắng)	0	10	100
2,0	2,0	10	100
4,0	4,0	10	100
6,0	6,0	10	100
8,0	8,0	10	100

Chuẩn bị dung dịch thử:
Cân chính xác một lượng bột chế phẩm tương ứng với 100 mg ceftazidim vào bình định mức 100 ml, thêm 30 ml *nước*, lắc để hòa tan, thêm *nước* đến định mức, lắc đều (dung dịch A). Pha loãng dung dịch A từng bước bằng *nước* để thu được dung dịch thử có nồng độ natri khoảng 4 µg/ml, thêm dung dịch kali clorid 4 % vào dung dịch cuối với tỷ lệ 1/10.
Cách tiến hành: Sử dụng máy quang phổ hấp thụ nguyên tử có trang bị đèn cathod rỗng natri, đầu đốt sử dụng ngọn lửa acetylen - không khí nén. Tiến hành đo độ hấp thụ nguyên tử của các dung dịch chuẩn và dung dịch thử tại vạch phổ cực đại của natri 589,0 nm. Từ độ hấp thụ của các dung dịch chuẩn và dung dịch thử, lập đường chuẩn biểu diễn sự phụ thuộc của độ hấp thụ vào nồng độ natri và tính nồng độ natri trong dung dịch thử dựa vào đường chuẩn.
1 mg natri tương ứng với 2,305 mg natri carbonat, Na_2CO_3.

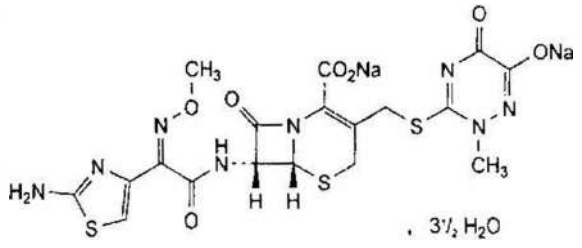
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 4,26 g *dinatri hydrophosphat (TT)* và 2,73 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 980 ml *nước*, thêm 20 ml *acetonitril (TT)*.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột chế phẩm tương ứng với 100 mg ceftazidim phân tán trong 10 ml pha động và thêm vừa đủ 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch ceftazidim chuẩn 0,1 % trong pha động.
Dung dịch phân giải: Hòa tan 5,0 mg tạp chất A chuẩn của ceftazidim trong 5,0 ml dung dịch chuẩn.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi *hexylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 245 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính trên sắc ký đồ phải ít nhất bằng 50 % của thang đo. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic tương ứng với ceftazidim và tạp chất A tối thiểu là 1,5.
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic đáp ứng từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Tính hàm lượng ceftazidim, $C_{22}H_{22}N_6O_7S_2$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{22}H_{22}N_6O_7S_2$ trong ceftazidim chuẩn.

Bảo quản
Chế phẩm phải để ở nơi khô, tránh ánh sáng, ở nhiệt độ không quá 30 °C.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Hàm lượng thường dùng
500 mg; 1g, tính theo ceftazidim.

CEFTRIAXON NATRI
Ceftriaxonum natricum



$C_{18}H_{16}N_8Na_2O_7S_3.3½H_2O$ P.t.l: 662

Ceftriaxon natri là dinatri (6*R*,7*R*)-7-[[(2*Z*)-(2-aminothiazol-4yl)(methoxyimino) acetyl]-amino]-3-[[(2-methyl-6-oxido-5-oxo-2,5-dihydro-1,2,4-triazin-3-yl)sulfanyl] methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo-[4.2.0]-oct-2-en-2-carboxylat ngậm 3,5 phân tử nước, được bán tổng hợp từ một sản phẩm lên men, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{18}H_{16}N_8Na_2O_7S_3$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc hơi vàng, hơi hút ẩm. Dễ tan trong nước, hơi tan trong methanol, rất khó tan trong ethanol khan.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại của chế phẩm (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của ceftriaxon natri chuẩn.
B. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 2,40 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Pha loãng 2 ml dung dịch S thành 20 ml bằng *nước*. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm hơn màu dung dịch chuẩn V_5 hoặc VN_5 (Phụ lục 9.3).

pH
Từ 6,0 đến 8,0 (Phụ lục 6.2).
Dùng dung dịch S để đo.

Góc quay cực riêng
Từ -155° đến -170°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm citrat pH 5,0: Hòa tan 20,17 g *acid citric (TT)* trong 800 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 5,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd 42 % (TT)* và pha loãng thành 1000,0 ml bằng *nước*.
Pha động: Hòa tan 2,0 g *tetradecylamoni bromid (TT)* và 2,0 g *tetraheptylamoni bromid (TT)* trong hỗn hợp dung môi gồm 440 ml *nước*, 55 ml *đệm phosphat hỗn hợp 0.067 M pH 7,0 (TT)*, 5,0 ml *dung dịch đệm citrat pH 5,0* và 500 ml *acetonitril (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 30,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 30.0 mg ceftriaxon natri chuẩn trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5,0 mg ceftriaxon natri chuẩn và 5,0 mg tạp chất A chuẩn của ceftriaxon trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (2) và (3).
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của ceftriaxon.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của ceftriaxon với pic của tạp chất A ít nhất là 3,0.
Giới hạn:
Các tạp chất: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1,0 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 4 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (4,0 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid (6*R*,7*R*)-7-[[(2*E*)-(2-aminothiazol-4-yl)(methoxyimino)acetyl]amino]-3-[[(2-methyl-5,6-dioxo-1,2,5,6-tetrahydro-1,2,4-triazin-3-yl)sulfanyl]methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic((*E*)-isomer).
Tạp chất B: (5a*R*,6*R*)-6-[[(2*Z*)-(2-aminothiazol-4-yl)(methoxyimino) acetyl]amino]-5a,6-dihydro-3*H*,7*H*-azeto [2,1-*b*]furo [3,4-*d*][1,3]thiazin-1,7(4*H*)-dion.
Tạp chất C: 2-methyl-3-sulfanyl-1,2-dihydro-1,2,4-triazin-5,6-dion.
Tạp chất D: *S*-benzothiazol-2-yl (2*Z*)-(2-aminothiazol-4-yl) (methoxyimino)thioacetat.
Tạp chất E: Acid (6*R*,7*R*)-7-amino-3-[[(2-methyl-5,6-dioxo-1,2,5,6-tetrahydro-1,2,4-triazin-3-yl)sulfanyl]methyl]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic.

N,N-Dimethylanilin
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16, phương pháp 2).

Acid 2-ethylhexanoic
Không được quá 0,8 % (kl/kl) (Phụ lục 10.17).

Nước
Từ 8,0 % đến 11,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,100 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 0,08 EU/mg (Phụ lục 13.2), nếu chế phẩm dùng để sản xuất thuốc tiêm mà không có phương pháp hữu hiệu để loại bỏ nội độc tố vi khuẩn.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1). Tính hàm lượng phần trăm của $C_{18}H_{16}N_8Na_2O_7S_3$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng của ceftriaxon natri chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng. Nếu chế phẩm vô khuẩn phải đựng trong bao bì đã được tiệt trùng, kín, tránh nhiễm khuẩn.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Chế phẩm
Thuốc tiêm.

BỘT PHA TIÊM CEFTRIAXON
Ceftriaxoni pulvis ad injectionem

Bột pha tiêm ceftriaxon là bột kết tinh vô khuẩn của ceftriaxon natri đóng trong lọ thủy tinh nút kín. Chỉ pha với dung môi ngay trước khi dùng.
Chế phẩm phải đạt các yêu cầu quy định trong chuyên luận chung về "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng ceftriaxon, $C_{18}H_{18}N_8O_7S_3$, phải đạt từ 92,0 % đến 108,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Tinh thể hoặc bột kết tinh trắng ngà.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của ceftriaxon natri chuẩn.
B. Trong phần Định lượng, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic ceftriaxon trong sắc ký đồ của dung dịch ceftriaxon natri chuẩn.
C. Có phản ứng đặc trưng của ion natri (Phụ lục 8.1).

Giới hạn acid - kiềm
Dung dịch 10 % chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* phải có pH từ 6,0 đến 8,0 (Phụ lục 6.2).

Độ trong của dung dịch
Dung dịch 1,2 % chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* phải trong (Phụ lục 9.2).

Tạp chất liên quan
Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng như trong phần Định lượng, với thời gian sắc ký ít nhất là 2 lần thời gian lưu của pic chính. Diện tích của bất kỳ pic phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử đều không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử loãng (1 %) và tổng diện tích của tất cả các pic phụ trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn 5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử loãng (5 %). Bỏ qua bất kỳ pic nào có diện tích nhỏ hơn 10 % diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử loãng.

Nước
Không được quá 11,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,2 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2)
Hòa tan một lượng chế phẩm trong *nước BET* để thu được dung dịch có nồng độ ceftriaxon 10 mg/ml (dung dịch A). Nồng độ giới hạn nội độc tố của dung dịch A là 2,0 EU/ml. Giá trị độ pha loãng tối đa của dung dịch A được tính từ độ nhạy của thuốc thử lysat dùng trong phép thử.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 2 g *tetradecylamoni bromid (TT)* và 2 g *tetraheptylamoni bromid (TT)* trong một hỗn hợp gồm 440 ml *nước* và 55 ml *dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT)* và 5 ml *dung dịch đệm citrat pH 5,0* (điều chế bằng cách hòa tan 20,17 g *acid citric (TT)* trong 800 ml *nước*, điều chỉnh tới pH 5,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd 10 N (TT)* và pha loãng bằng *nước* tới 1000 ml), sau đó trộn đều với 500 ml *acetonitril (TT)*.
Dung dịch thử: Cân thuốc trong 10 lọ để tính khối lượng trung bình của thuốc trong một đơn vị chế phẩm, trộn đều. Cân chính xác một lượng chế phẩm, hòa tan trong pha động để được dung dịch có nồng độ ceftriaxon 0,030 %.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch ceftriaxon natri chuẩn 0,030 % trong pha động.
Dung dịch phân giải: Là dung dịch chứa ceftriaxon natri chuẩn 0,0050 % và ceftriaxon natri E-isomer chuẩn 0,0050 % trong pha động.
Dung dịch thử loãng: Pha loãng một thể tích dung dịch thử thành 100 thể tích với pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (Lichrosphere RP18 là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

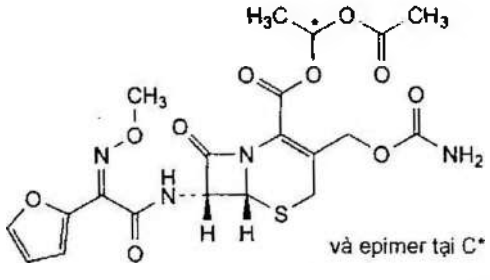
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký đối với dung dịch phân giải, điều chỉnh độ nhạy của detector sao cho chiều cao của các pic ít nhất bằng 50 % của thang đo. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa hai pic chính của dung dịch phân giải không nhỏ hơn 3,0.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng ceftriaxon, $C_{18}H_{18}N_8O_7S_3$, trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn và dung dịch thử và hàm lượng $C_{18}H_{18}N_8O_7S_3$ của ceftriaxon natri chuẩn.
1 mg ceftriaxon natri ($C_{18}H_{16}N_8Na_2O_7S_3.3½H_2O$) tương ứng với 0,8383 mg ceftriaxon ($C_{18}H_{18}N_8O_7S_3$).

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

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Hàm lượng thường dùng
250 mg, 500 mg và 1000 mg, tính theo ceftriaxon.
Nếu để tiêm bắp thì khi dùng thường phải pha thuốc trong mỗi lọ bằng một ống thuốc tiêm lidocain (3,5 ml, chứa 35 mg lidocain $C_{14}H_{22}N_2O.HCl.H_2O$).

CEFUROXIM AXETIL
Cefuroximum axetili



$C_{20}H_{22}N_4O_{10}S$ P.t.l: 510,5

Cefuroxim acetil là hỗn hợp của hai đồng phân đối quang của (1*RS*)-1-(acetyloxy)ethyl (6*R*,7*R*)-3-[(carbamoyloxy) methyl]-7-[[(*Z*)-2-(furan-2-yl)-2-(methoxyimino) acetyl]amino]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylat, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % của $C_{20}H_{22}N_4O_{10}S$, tính theo chế phẩm khan.
Chế phẩm bán tổng hợp từ một sản phẩm lên men,

Tính chất
Bột trắng hoặc gần như trắng. Khó tan trong nước và ethanol 96 %, tan trong aceton, ethyl acetat và methanol.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của cefuroxim axetil chuẩn.
B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu và kích thước của các pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương tự với thời gian lưu và đáp ứng của pic đồng phân cefuroxim axetil A và cefuroxim axetil B thu được trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (4).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (4) ngay trước khi dùng.
Pha động: Methanol - dung dịch amoni dihydrophosphat 0,23 % (38 : 62).
Dung dịch thử: Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Để tạo tạp chất A, đun nóng 5 ml dung dịch thử ở 60 °C trong 1 h.
Dung dịch đối chiếu (3): Để tạo tạp chất B, đặt 5 ml dung dịch thử dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 254 nm trong 24 h.
Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 10,0 mg cefuroxim axetil chuẩn trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *trimethylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 278 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và các dung dịch đối chiếu (1), (2) và (3).
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định cặp pic của tạp chất A và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định cặp pic của tạp chất B.
Thời gian lưu tương đối so với đồng phân cefuroxim axetil A: Đồng phân cefuroxim axetil B khoảng 0,9; tạp chất A khoảng 1,2; tạp chất B khoảng 1,7 và 2,1.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của cefuroxim axetil A và pic của tạp chất A ít nhất là 1,5.
Giới hạn:
Tạp chất A: Không được quá 1,5 % tính theo tổng diện tích cặp pic.
Tạp chất B: Không được quá 1,0 % tính theo tổng diện tích cặp pic.
Tạp chất E: Không được quá 0,5 %.
Các tạp chất khác: Mỗi tạp chất không được quá 0,5 %.
Tổng các tạp chất không được quá 3,0 %.
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích 2 pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Ghi chú:
Tạp chất A: 1-(Acetyloxy)ethyl(6*R*,7*R*)-3-[(carbamoyloxy)methyl]-7-[[(*Z*)-2-(furan-2-yl)-2-(methoxyimino) acetyl] amino] -8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-3-en-2-carboxylat (Δ^3-isomer).
Tạpchất B:(1*RS*)-1-(Acetyloxy)ethyl(6*R*,7*R*)-3-[(carbamoyloxy) methyl]-7-[[(*E*)-2-(furan-2-yl)-2-(methoxyimino) acetyl] amino]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2carboxylat ((*E*)-isomer).
Tạp chất C: Acid (6*R*,7*R*)-7-[[(*Z*)-2-(furan-2-yl)-2-(methoxyimino)acetyl]amino]-8-oxo-3-[[[(tricloroacetyl) carbamoyl] oxy] methyl]-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic.
Tạp chất D: Cefuroxim.
Tạp chất E: (5a*R*,6*R*)-6-[[(2*Z*)-2-(furan-2-yl)-2-(methoxyimino) acetyl]amino]-5a,6-dihydro-3*H*,7*H*-azeto [2,1-*b*]furo [3,4-*d*][1,3] thiazin-1,7(4*H*)-dion(descarbamoylcefuroxim lacton).

Tỷ lệ các đồng phân
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, tỷ lệ diện tích pic của đồng phân cefuroxim axetil A so với tổng diện tích pic của hai đồng phân cefuroxim axetil A và B phải từ 0,48 đến 0,55.

Aceton
Không được quá 1,1 % (Phụ lục 10.14).

Nước
Không được quá 1,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,400 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (4).
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4), độ phân giải giữa pic của đồng phân cefuroxim axetil A và pic của đồng phân cefuroxim axetil B ít nhất là 1,5; độ lệch chuẩn tương đối của tổng diện tích của 2 pic đồng phân cefuroxim axetil A và B thu được sau 6 lần tiêm không được lớn hơn 2,0 %.
Tính hàm lượng phần trăm $C_{20}H_{22}N_4O_{10}S$ dựa vào tổng diện tích pic của hai đồng phân cefuroxim axetil A và cefuroxim axetil B thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (4) và hàm lượng của $C_{20}H_{22}N_4O_{10}S$ trong cefuroxim axetil chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Chế phẩm
Viên nén.

BỘT PHA HỖN DỊCH CEFUROXIM
Pulveres Cefuroximi ad suspensionum peoralum

Là thuốc bột pha hỗn dịch uống chứa cefuroxim axetil.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc bột" (Phụ lục 1.7) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cefuroxim, $C_{16}H_{16}N_4O_8S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột tơi khô, không bị ẩm, vón, màu sắc đồng nhất.

Định tính
Trong mục Định lượng, hai pic chính (cefuroxim axetil A và cefuroxim axetil B) trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của hai pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Nước
Không được quá 6,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,5 g bột thuốc.

pH
Từ 3,5 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).
Sử dụng hỗn dịch pha theo theo hướng dẫn trên nhãn thuốc.

Tạp chất liên quan
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử trong mục Định lượng, tổng diện tích của hai pic tương ứng với các pic E-isomer trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải (2) không được lớn hơn 1,5 % tổng diện tích tất cả các pic; tổng diện tích của các pic tương ứng với pic Δ^3-isomer trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải (1) không được lớn hơn 2,0 % tổng diện tích tất cả các pic; diện tích của bất kỳ pic phụ nào khác không được lớn hơn 1,0 % tổng diện tích tất cả các pic.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch đệm phosphat pH 7,0.
Dung dịch đệm phosphat pH 7,0: Hòa tan 3,7 g *natri dihydrophosphat (TT)* và 5,7 g *dinatri hydrophosphat (TT)* trong 1000 *ml nước*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành:
Đối với chế phẩm đóng gói đơn liều, lấy toàn bộ lượng thuốc của từng đơn vị, pha như hướng dẫn trên nhãn để thử. Đối với chế phẩm đóng gói đa liều, dùng 5,0 ml hỗn dịch thuốc đã pha như hướng dẫn ghi trên nhãn tương ứng với 125 mg hoặc 250 mg cefuroxim để thử.
Sau thời gian thử theo qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, pha loãng dịch lọc thu được tới nồng độ thích hợp với môi trường hòa tan, nếu cần. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 280 nm, cốc đo

dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. So sánh với dung dịch cefuroxim axetil chuẩn có nồng độ tương đương pha trong môi trường hòa tan.
Tính hàm lượng cefuroxim hòa tan trong chế phẩm dựa vào độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng cefuroxim, $C_{16}H_{16}N_4O_8S$, trong cefuroxim axetil chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 60 % (Q) lượng cefuroxim so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Methanol - dung dịch amoni dihydrophosphat 0,2 M* (38 : 62).
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng cefuroxim axetil chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,25 mg cefuroxim trong 1 ml.
Dung dịch thử: Lấy bột thuốc sau khi xác định Độ đồng đều khối lượng, trộn đều. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 500 mg cefuroxim vào bình định mức 100 ml, thêm 5 ml *dung dịch amoni dihydrophosphat 0,2 M* đã được điều chỉnh tới pH 2,4 bằng *acid phosphoric (TT)*, lắc kỹ và ngay lập tức thêm *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch, trộn đều, lọc. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml với pha động.
Dung dịch phân giải (1): Lấy một phần dung dịch thử, làm nóng ở 60 °C trong 60 min hoặc tới khi tạp Δ^3-isomer có thể phát hiện được, lọc.
Dung dịch phân giải (2): Lấy một phần dung dịch thử, chiếu sáng bằng ánh sáng tử ngoại (254 nm) trong 24 h hoặc tới khi tạp E-isomer có thể phát hiện được, lọc.
Lưu ý: Các dung dịch chuẩn và thử nếu không được sử dụng ngay thì phải bảo quản ở nơi tối, nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *trimethylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm) (cột Hypersil SAS là phù hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 278 nm.
Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn, dung dịch phân giải (1) và (2): Trên sắc ký đồ thu được, thời gian lưu tương đối khoảng 0,9 đối với cefuroxim axetil B, 1,0 đối với cefuroxim axetil A, 1,2 đối với Δ^3-isomer, 1,7 và 2,1 đối với E-isomer. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic của cefuroxim axetil A và cefuroxim axetil B trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, giữa pic cefuroxim axetil A và Δ^3-isomer trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải (1) không nhỏ hơn 1,5. Nếu cần có thể điều chỉnh nồng độ của *methanol (TT)* trong pha động để đạt được yêu cầu trên. Tiến hành sắc ký 6 lần riêng biệt đối với dung dịch chuẩn, phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của tổng diện tích pic cefuroxim axetil A và pic cefuroxim axetil B không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng cefuroxim, $C_{16}H_{16}N_4O_8S$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào tổng diện tích pic cefuroxim axetil A và pic cefuroxim axetil B thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{16}H_{16}N_4O_8S$ trong cefuroxim axetil chuẩn.
1 mg cefuroxim axetil, $C_{20}H_{22}N_4O_{10}S$, tương đương với 0,8313 mg of cefuroxim, $C_{16}H_{16}N_4O_8S$.

Bảo quản
Trong bao bì kín. Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Hàm lượng thường dùng
125 mg; 250 mg.

VIÊN NÉN CEFUROXIM
Tabellae Cefuroximi

Là viên nén bao phim chứa cefuroxim axetil.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) mục "Viên bao" và các yêu cầu sau:

Hàm lượng cefuroxim, $C_{16}H_{16}N_4O_8S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Chiết một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 0,1 g cefuroxim với 5 ml *dicloromethan (TT)* và lọc. Bốc hơi dịch lọc đến cắn. Phổ hấp thụ hồng ngoại của cắn phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của cefuroxim axetil hay với phổ của cefuroxim axetil chuẩn (Phụ lục 4.2).
B. Trong phần Định lượng, trên sắc ký đồ của dung dịch thử hai pic chính (cefuroxim axetil diastereo-isomer A và cefuroxim axetil diastereoisomer B) phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của hai pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc (bỏ 20 ml dịch lọc đầu). Pha loãng dịch lọc thu được tới nồng độ thích hợp với môi trường hòa tan (nếu cần). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 278 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. So sánh với dung dịch cefuroxim acetil chuẩn có nồng độ tương đương pha

trong môi trường hòa tan. Tính toán hàm lượng cefuroxim hòa tan trong mỗi viên dựa theo hàm lượng cefuroxim, $C_{16}H_{16}N_4O_8S$, trong cefuroxim axetil chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng cefuroxim so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Tạp chất liên quan
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử trong phần Định lượng, tổng diện tích của hai pic tương ứng với các pic E-isomer trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải (2) không được lớn hơn 1,5 % tổng diện tích tất cả các pic. Tổng diện tích của các pic tương ứng với pic Δ^3-isomer trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải (1) không được lớn hơn 2,0 % tổng diện tích tất cả các pic. Diện tích của bất kỳ pic phụ nào khác không được lớn hơn 1,0 % tổng diện tích tất cả các pic.

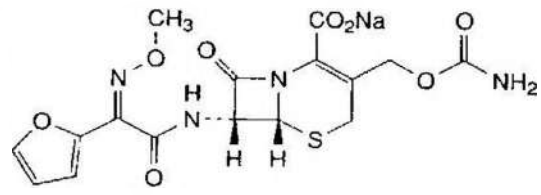
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hỗn hợp 38 thể tích *methanol (TT)* và 62 thể tích *dung dịch amoni dihydrophosphat 0,2 M*.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng cefuroxim axetil chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,25 mg cefuroxim trong 1 ml.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên đã loại bỏ lớp bao phim và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 500 mg cefuroxim vào bình định mức 100 ml, thêm 5 ml *dung dịch amoni dihydrophosphat 0,2 M* đã được điều chỉnh tới pH 2,4 bằng *acid phosphoric (TT)*, lắc kỹ và ngay lập tức thêm *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch, trộn đều, lọc. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml với pha động, trộn đều.
Dung dịch phân giải (1): Làm nóng dung dịch thử ở 60 °C trong 60 min hoặc tới khi tạp Δ^3-isomer có thể phát hiện được, lọc.
Dung dịch phân giải (2): Chiếu sáng dung dịch thử dưới ánh sáng tử ngoại (254 nm) trong 24 h hoặc tới khi tạp E-isomer có thể phát hiện được, lọc.
Lưu ý: Các dung dịch chuẩn và thử nếu không được sử dụng ngay thì phải bảo quản ở nơi tối, nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *trimethylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm) (cột Hypersil SAS là phù hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 278 nm.
Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký:
Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn, dung dịch phân giải (1) và (2): Trên sắc ký đồ thu được, thời gian lưu tương đối khoảng 0,9 đối với cefuroxim axetil diastereoisomer B, 1,0 đối với cefuroxim axetil diastereoisomer A, 1,2 đối với Δ^3-isomer, 1,7 và 2,1 đối với E-isomer. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic của cefuroxim axetil diastereoisomer A và cefuroxim axetil diastereoisomer B trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn; và giữa pic cefuroxim axetil diastereoisomer A và Δ^3-isomer trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải (1) không nhỏ hơn 1,5. Nếu cần có thể điều chỉnh nồng độ của *methanol (TT)* trong pha động để đạt được yêu cầu trên. Tiến hành sắc ký 6 lần riêng biệt đối với dung dịch chuẩn, phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của tổng diện tích pic cefuroxim axetil diastereoisomer A và cefuroxim axetil diastereoisomer B không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng cefuroxim, $C_{16}H_{16}N_4O_8S$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào tổng diện tích pic của cefuroxim axetil diastereoisomer A và cefuroxim axetil diastereoisomer B thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn, và hàm lượng $C_{16}H_{16}N_4O_8S$ trong cefuroxim axetil chuẩn.
1 mg cefuroxim axetil, $C_{20}H_{22}N_4O_{10}S$, tương đương với 0,8313 mg of cefuroxim, $C_{16}H_{16}N_4O_8S$.

Bảo quản
Trong vỉ nhôm hay trong chai lọ nút kín.
Để nơi khô mát, nhiệt độ không quá 30 °C, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
100 mg, 250 mg, 500 mg.

CEFUROXIM NATRI
Cefuroximum natricum



$C_{16}H_{15}N_4NaO_8S$ P.t.l: 446,4

Cefuroxim natri là muối natri của acid (6*R*,7*R*)-3[(carbamoyloxy)methyl]-7-[[(*Z*)-(furan-2yl)(methoxyimino)acetyl]amino]-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-en-2-carboxylic, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{15}N_4NaO_8S$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột trắng hoặc gần như trắng, hơi hút ẩm, dễ tan trong nước, rất khó tan trong ethanol.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của cefuroxim natri chuẩn.

B. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của ion natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2). Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch S đo ở 450 nm không được lớn hơn 0,25.

pH
Từ 5,5 đến 8,0 (Phụ lục 6.2).
Pha loãng 2 ml dung dịch S thành 20 ml bằng *nước không có carbon dioxyd (TT).*

Góc quay cực riêng
Từ +59° đến +66°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong *dung dịch đệm acetat pH 4,6 (TT)* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Trộn 1 thể tích *acetonitril* với 99 thể tích *dung dịch đệm acetat pH 3,4.* được chuẩn bị bằng cách hòa tan 6,01 g *acid acetic băng (TT)* và 0,68 g *natri acetat (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 1000 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (1): Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử (1) thành 50,0 ml bằng *nước.*
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25,0 mg cefuroxim natri chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng *nước.*
Dung dịch đối chiếu (2): Đun trong cách thủy 20 ml dung dịch đối chiếu (1) ở 80 °C trong 15 min. Làm nguội và tiêm ngay.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 100 ml bằng *nước.*
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là *hexylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 273 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của pic chính.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa hai pic của cefuroxim và tạp chất A (descarbamoylcefuroxim) ít nhất là 2,0.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1):
Diện tích của bất kỳ pic phụ nào cũng không được lớn hơn diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1,0 %).
Tổng diện tích của tất cả các pic phụ không được lớn hơn 3 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (3,0 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,05 %).

N,N-Dimethylanilin
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16, phương pháp 2).

Acid 2-ethylhexanoic
Không được quá 0,5 % (kl/kl).
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 10.17).

Nước
Không được quá 3,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,400 g chế phẩm.

Thử vô khuẩn
Nếu chế phẩm dự định để sản xuất thuốc tiêm mà không có phương pháp hữu hiệu nào khác để tiệt khuẩn thì phải đáp ứng Phép thử vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 0,10 EU/mg. Nếu chế phẩm dự định để sản xuất thuốc tiêm mà không có phương pháp hữu hiệu nào để loại nội độc tố vi khuẩn thì phải đáp ứng phép thử "Nội độc tố vi khuẩn" (Phụ lục 13.2).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (1).
Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch đối chiếu và dựa vào hàm lượng của $C_{16}H_{15}N_4NaO_8S$ trong cefuroxim natri chuẩn, tính hàm lượng của $C_{16}H_{15}N_4NaO_8S$ trong chế phẩm.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng. Nếu là chế phẩm vô khuẩn phải đựng trong đồ đựng vô khuẩn, kín, chống nhiễm khuẩn.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Chế phẩm
Thuốc tiêm.

BỘT PHA TIÊM CEFUROXIM
Cefuroximi pulvis ad injectionem

Là bột vô khuẩn của cefuroxim natri có thể có thêm tá dược và được đóng trong lọ nút kín.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cefuroxim, $C_{16}H_{16}N_4O_8S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột trắng hoặc gần như trắng.

Định tính
A. Trong mục Định lượng, pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
B. Chế phẩm cho phép thử định tính của ion natri (Phụ lục 8.1).

pH
Dung dịch chế phẩm có nồng độ tương ứng với 10,0 % cefuroxim trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* có pH từ 5,5 đến 8,5 (Phụ lục 6.2).

Độ trong của dung dịch
Dung dịch chế phẩm có nồng độ tương ứng với 10,0 % cefuroxim trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - đệm acetat pH 3,4 (1 : 10).
Dung dịch thử: Hòa tan một lượng chế phẩm tương đương với 25,0 mg cefuroxim natri trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25,0 mg cefuroxim natri chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) với *nước* thành 25,0 ml. Đun trong cách thủy ở 60 °C trong 10 min, làm nguội và tiêm ngay.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử với *nước* thành 100,0 ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là *hexylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 273 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch đối chiếu (2): Trên sắc ký đồ thu được hai pic chính tương ứng với descarbamoyl-cefuroxim và cefuroxim. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic này không nhỏ hơn 2,0. Điều chỉnh tỉ lệ acetonitril trong pha động nếu cần.
Tiêm dung dịch đối chiếu (3), điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính ít nhất bằng 25 % của thang đo. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số đối xứng của pic cefuroxim không lớn hơn 1,5.
Tiêm dung dịch thử và tiến hành sắc ký với thời gian gấp ba lần thời gian lưu của pic chính. Trên sắc ký đồ thu được, diện tích của bất kỳ pic phụ nào cũng không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1 %) và tổng diện tích của tất cả các pic phụ không lớn hơn 3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (3 %). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %).

Nước
Không được quá 3,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,4 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn
Hòa tan một lượng chế phẩm với *nước* BET để thu được dung dịch có nồng độ cefuroxim 10 mg/ml (dung dịch A). Nồng độ giới hạn nội độc tố của dung dịch A là 1,0 EU/ml. Tiến hành thử nghiệm sử dụng độ pha loãng tối đa của dung dịch A được tính từ độ nhạy của thuốc thử lysat dùng trong phép thử (Phụ lục 13.2).

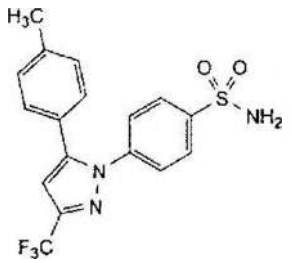
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, điều kiện sắc ký và cách tiến hành: Như mô tả trong mục Tạp chất liên quan.
Sử dụng dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).
Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng $C_{16}H_{16}N_4O_8S$ trong cefuroxim natri chuẩn, tính hàm lượng cefuroxim, $C_{16}H_{16}N_4O_8S$, trong chế phẩm.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Liều lượng thường dùng
0,5 g; 0,75 g; 1 g hoặc 1,5 g cefuroxim.

CELECOXIB
Celecoxibum



$C_{17}H_{14}F_3N_3O_2S$ P.t.l: 381,4

Celecoxib là 4-[5-(4-methylphenyl)-3-(trifluoromethyl)-1*H*-pyrazol-1-yl]benzensulfonamid, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{17}H_{14}F_3N_3O_2S$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh hoặc vô định hình màu trắng hay gần như trắng. Đa hình. Thực tế không tan trong nước, dễ tan và tan trong ethanol khan, tan trong methylen clorid.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của celecoxib chuẩn. Nếu phổ hấp thụ hồng ngoại của mẫu thử và mẫu chuẩn ở trạng thái rắn khác nhau thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và celecoxib chuẩn trong *2-propanol (TT)*, bay hơi dung môi đến khô, ghi phổ mới các cắn thu được.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Trộn đều 10 thể tích *acetonitril* (TT_1), 30 thể tích *methanol* (TT_2) và 60 thể tích dung dịch *kali dihydrophosphat (TT)* 0,27 % đã được điều chỉnh đến pH 3,0 bằng *acid phosphoric (TT).*
Hỗn hợp dung môi: Nước - methanol (TT_2) (25 : 75).
Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50,0 mg celecoxib chuẩn trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 3 mg tạp chất A chuẩn của celecoxib và 3 mg tạp chất B chuẩn của celecoxib trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml bằng dung dịch đối chiếu (1).
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped phenylsilyl silica gel* dùng cho sắc ký (5 µm).
Nhiệt độ cột: 60 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 25 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (2) và (3).
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 1,5 lần thời gian lưu của celecoxib.
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định các pic của tạp chất A và B.
Thời gian lưu tương đối so với celecoxib (thời gian lưu khoảng 27 min): Tạp chất A khoảng 0,9, tạp chất B khoảng 1,1.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic tạp chất A và pic celecoxib ít nhất là 1,8; độ phân giải giữa pic celecoxib và pic tạp chất B ít nhất là 1,8.
Tính hàm lượng phần trăm của tất cả các tạp chất dựa vào nồng độ của celecoxib trong dung dịch đối chiếu (3).
Giới hạn:
Tạp chất A: Không được quá 0,4 %.
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, không được quá 0,10 %.
Tổng các tạp chất: Không được quá 0,5 %.
Mức tạp chất phát hiện phải báo cáo: 0,05 %.
Ghi chú:
Tạp chất A: 4-[5-(3-methylphenyl)-3-(trifluoromethyl)-1*H*-pyrazol-1-yl]benzensulfonamid.
Tạp chất B: 4-[3-(4-methylphenyl)-5-(trifluoromethyl)-1*H*-pyrazol-1-yl]benzensulfonamid.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hỗn hợp dung môi: *Nước - aceton* (15 : 85).
Dùng 0,5 g chế phẩm, tiến hành thử theo phương pháp 8. Dùng 1 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,400 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm, sử dụng chén platin.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).
Tính hàm lượng phần trăm $C_{17}H_{14}F_3N_3O_2S$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng $C_{17}H_{14}F_3N_3O_2S$ trong celecoxib chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng, tránh ẩm. Để ở nhiệt độ phòng.

Loại thuốc
Chất ức chế chế cyclo-oxygenase (COX-2); thuốc giảm đau, chống viêm.

Chế phẩm
Viên nén, nang, thuốc tiêm.

CELULOSE ACETAT
Cellulosi acetas

Celulose acetat là celulose được *O*-acetyl hóa một phần hay toàn phần, có chứa từ 29,0 % đến 44,8 % nhóm acetyl (C_2H_3O), tính theo chế phẩm đã làm khô. Hàm lượng acetyl từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột hoặc hạt màu trắng, trắng ngà hoặc trắng hơi xám, hút ẩm. Thực tế không tan trong ethanol 96 % và nước. Tan trong aceton, acid formic và hỗn hợp đồng thể tích methanol - methylen clorid.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của celulose acetat chuẩn.
Chuẩn bị mẫu đo: Hòa tan 1 g celulose acetat đã được sấy khô vào 10 ml *dioxan (TT)*. Trải 1 giọt dung dịch thu được vào giữa 2 đĩa natri clorid. Tách riêng 2 đĩa và sấy ở 105 °C trong 1 h, sau đó ráp 2 đĩa lại và đo.

Acid tự do
Không được quá 0,1 % chế phẩm đã làm khô, tính theo acid acetic.
Cho 5,00 g chế phẩm vào bình nón dung tích 250 ml, thêm 150 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, đậy bình, lắc xoáy nhẹ nhàng hỗn dịch, để yên trong 3 h. Lọc, rửa bình nón và dụng cụ lọc với *nước không có carbon dioxyd (TT)*. Gộp dịch lọc và dịch rửa, thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphthalein (TT_1)* và chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)* cho tới khi xuất hiện màu hồng nhạt.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)* tương đương với 0,6005 mg acid tự do, tính theo acid acetic.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 2,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 4.
Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,00g; 105 °C; 3 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Giới hạn nhiễm khuẩn
Tổng số vi sinh vật hiếu khí: Không quá 10^3 CFU/g chế phẩm, tổng số nấm: Không quá 10^2 CFU/g chế phẩm.
Xác định bằng phương pháp đĩa thạch (Phụ lục 13.6).
Chế phẩm không được có *Escherichia coli* và *Salmonella* (Phụ lục 13.6).

Nhóm acetyl
Đối với celulose acetat trên nhãn ghi có không quá 42,0 % nhóm acetyl:
Lấy 2,000 g vào bình nón dung tích 500 ml, thêm 100 ml *aceton (TT)* và 10 ml *nước*. Đậy bình và khuấy từ cho đến khi chế phẩm tan hoàn toàn. Thêm 30,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ)* (trong khi thêm vẫn duy trì khuấy từ). Tủa mịn của celulose tạo thành. Đậy bình, tiếp tục khuấy từ trong 30 min. Thêm 100 ml *nước* nóng (80 °C), vừa rót vừa rửa thành bình, khuấy tiếp 2 min, sau đó để nguội tới nhiệt độ phòng. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid sulfuric 1 N (CĐ)*, dùng 0,1 ml *dung dịch phenolphthalein (TT)* làm chỉ thị. Song song tiến hành mẫu trắng.
Tính phần trăm nhóm acetyl theo công thức sau:

$$\frac{4{,}305(n_2 - n_1)}{(100 - d) \times m} \times 100$$

Trong đó:
d là phần trăm mất khối lượng do làm khô (%),
m là khối lượng chế phẩm (g),
n_1 là số ml *dung dịch acid sulfuric 1 N (CĐ)* dùng trong mẫu thử,
n_2 là số ml *dung dịch acid sulfuric 1 N (CĐ)* dùng trong mẫu trắng.
Đối với celulose acetat trên nhãn ghi có trên 42,0 % nhóm acetyl:
Lấy 2,000 g vào bình nón dung tích 500 ml, thêm 30 ml *dimethyl sufoxid (TT)* và 100 ml *aceton (TT)*. Đậy bình và khuấy từ trong 16 h. Thêm 30,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ)* (trong khi thêm vẫn duy trì khuấy từ), đậy bình, tiếp tục khuấy trong 6 min. Để yên không khuấy trong 60 min. Thêm 100 ml *nước* nóng (80 °C), vừa rót vừa rửa thành bình, khuấy tiếp 2 min, sau đó để nguội tới nhiệt độ phòng. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,5 N (CĐ)*, dùng 0,1 ml *dung dịch phenolphthalein (TT)* làm chỉ thị. Cho dư 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,5 N (CĐ)*, khuấy 5 min, để yên trong 30 min. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,5 N (CĐ)* tới khi thu được màu hồng bền, khuấy bằng máy khuấy từ. Tính số milimol thực của *dung dịch natri hydroxyd 0,5 N (CĐ)* đã dùng, tiến hành 2 mẫu trắng lấy giá trị trung bình để tính kết quả.
Tính phần trăm nhóm acetyl theo công thức sau:

$$\frac{4{,}305 \times n}{(100 - d) \times m} \times 100$$

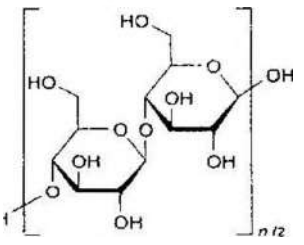
Trong đó:
d là phần trăm mất khối lượng do làm khô (%),
m là khối lượng chế phẩm (g),
n là số milimol thực của *dung dịch natri hydroxyd 0,5 N* đã dùng.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Tá dược.

Nhãn
Trên nhãn ghi hàm lượng phần trăm nhóm acetyl.

CELULOSE VI TINH THỂ
Cellulosum microcrystallinum



$C_{6n}H_{10n+2}O_{5n+1}$

Là cellulose tinh khiết, được thủy phân bằng cách xử lý alpha-cellulose dưới dạng bột giấy thu được từ nguyên liệu thực vật dạng sợi, với các acid vô cơ.

Tính chất
Bột mịn hoặc bột cốm màu trắng hay gần như trắng.
Thực tế không tan trong nước, aceton, ethanol, toluen, dung dịch acid loãng và dung dịch natri hydroxyd 5 %.

Định tính
A. Lấy khoảng 10 mg chế phẩm đặt lên một mặt kính đồng hồ và phân tán trong 2 ml *dung dịch kẽm clorid-iod (TT)*. Chế phẩm phải chuyển sang màu xanh tím.
B. Mức độ polymer hóa không được quá 350.
Cân 1,300 g chế phẩm vào bình nón dung tích 125 ml. Thêm 25,0 ml *nước* và 25,0 ml *dung dịch đồng ethylenediamin hydroxyd (TT)*. Ngay lập tức sục khí *nitrogen (TT)* vào dung dịch. Đậy bình và lắc cho đến khi tan hoàn toàn. Chuyển một thể tích thích hợp dung dịch trên vào nhớt kế mao quản có dung tích thích hợp (Phụ lục 6.3). Ổn định dung dịch ở nhiệt độ (25 ± 0,1) °C trong ít nhất 5 min. Thời gian chảy qua 2 vạch của nhớt kế là t_1, tính theo giây. Tính độ nhớt động học v_1 của dung dịch theo công thức:

$$t_1 \times k_1$$

Trong đó k_1 là hằng số dụng cụ.
Pha loãng một thể tích thích hợp của *dung dịch đồng ethylendiamin hydroxyd (TT)* với cùng thể tích *nước* và đo độ nhớt với nhớt kế mao quản thích hợp, được thời gian chảy t_2. Tính độ nhớt động học v_2 của dung môi theo công thức:

$$t_2 \times k_2$$

Trong đó k_2 là hằng số dụng cụ đo.
Xác định độ nhớt tương đối η_{rel} của chất thử theo công thức:

$$v_1 / v_2$$

Xác định độ nhớt thực $[\eta]_c$ bằng cách nội suy, dùng bảng tra độ nhớt thực (Bảng 1- Bảng độ nhớt thực).
Tính mức độ polymer hóa *P* theo công thức:

$$\frac{95[\eta]_c}{m[(100-b)/100]}$$

Trong đó:
m là khối lượng cân chế phẩm (g),
b là phần trăm mất khối lượng do làm khô (%).

Độ tan
Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 10 ml *dung dịch đồng tetramin trong amoniac (TT)*, chế phẩm phải tan hoàn toàn, không được có cặn.

pH
Lắc 5 g chế phẩm với 40 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* trong 20 min, ly tâm. Dịch lỏng phía trên phải có pH từ 5,0 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).

Điện dẫn xuất (độ dẫn điện riêng)
Điện dẫn xuất của dung dịch thử không được vượt quá 75 µS·cm^{-1} so với điện dẫn xuất của nước (Phụ lục 6.10). Đo điện dẫn xuất của dịch lỏng thu được sau khi li tâm ở phép thử pH (đọc thông số khi đã ổn định) và điện dẫn xuất của nước dùng để chuẩn bị dung dịch thử.

Các chất tan trong ether
Không được quá 0,05 %.
Cho 10,0 g chế phẩm vào cột sắc ký có đường kính trong khoảng 20 mm và cho 50 ml *ether không có peroxyd (TT)* chảy qua cột. Bốc hơi dịch thu được tới khô. Sấy cắn ở 105 °C trong 30 min, để nguội trong bình hút ẩm rồi cân. Song song tiến hành một mẫu trắng trong cùng điều kiện. Chênh lệch khối lượng giữa cắn thu được từ mẫu thử và cắn thu được từ mẫu trắng không được quá 5 mg.

Các chất tan trong nước
Không được quá 0,25 %.
Lắc 5,0 g chế phẩm với 80 ml *nước* trong 10 min. Lọc hút chân không vào bình đã cân bì. Bốc hơi dịch lọc trên cách thủy cho tới khô, tránh bị than hóa. Sấy cắn ở 105 °C trong 1 h, để trong bình hút ẩm rồi cân. Song song tiến hành một mẫu trắng trong cùng điều kiện. Chênh lệch khối lượng giữa cắn thu được từ mẫu thử và cắn thu được từ mẫu trắng không được quá 12,5 mg.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 2,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3.
Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 7,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C; 3 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Giới hạn nhiễm khuẩn
Tổng số vi sinh vật hiếu khí: Không được quá 10^3 CFU/g.
Tổng số nấm: Không được quá 10^2 CFU/g.
Xác định bằng phương pháp đĩa thạch (Phụ lục 13.6).
Chế phẩm không được có *Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus* và *Salmonella* (Phụ lục 13.6).

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Tá dược (Avicel).

Nhãn
Trên nhãn ghi mức độ polymer hóa.

Bảng 1 - Bảng độ nhớt thực

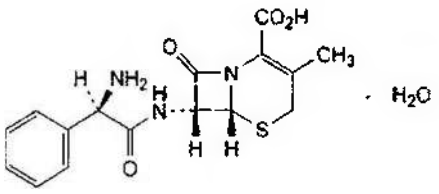
Độ nhớt thực $[\eta]_c$ tương ứng với độ nhớt tương đối η_{rel}

η_{rel}	$[\eta]_c$									
	0,00	**0,01**	**0,02**	**0,03**	**0,04**	**0,05**	**0,06**	**0,07**	**0,08**	**0,09**
1,1	0,098	0,106	0,115	0,125	0,134	0,143	0,152	0,161	0,170	0,180
1,2	0,189	0,198	0,207	0,216	0,225	0,233	0,242	0,250	0,259	0,268
1,3	0,276	0,285	0,293	0,302	0,310	0,318	0,326	0,334	0,342	0,350
1,4	0,358	0,367	0,375	0,383	0,391	0,399	0,407	0,414	0,422	0,430
1,5	0,437	0,445	0,453	0,460	0,468	0,476	0,484	0,491	0,499	0,507
1,6	0,515	0,522	0,529	0,536	0,544	0,551	0,558	0,566	0,573	0,580
1,7	0,587	0,595	0,602	0,608	0,615	0,622	0,629	0,636	0,642	0,649
1,8	0,656	0,663	0,670	0,677	0,683	0,690	0,697	0,704	0,710	0,717
1,9	0,723	0,730	0,736	0,743	0,749	0,756	0,762	0,769	0,775	0,782
2,0	0,788	0,795	0,802	0,809	0,815	0,821	0,827	0,833	0,840	0,846
2,1	0,852	0,858	0,864	0,870	0,876	0,882	0,888	0,894	0,900	0,906
2,2	0,912	0,918	0,924	0,929	0,935	0,941	0,948	0,953	0,959	0,965
2,3	0,971	0,976	0,983	0,988	0,994	1,000	1,006	1,011	1,017	1,022
2,4	1,028	1,033	1,039	1,044	1,050	1,056	1,061	1,067	1,072	1,078
2,5	1,083	1,089	1,094	1,100	1,105	1,111	1,116	1,121	1,126	1,131
2,6	1,137	1,142	1,147	1,153	1,158	1,163	1,169	1,174	1,179	1,184
2,7	1,190	1,195	1,200	1,205	1,210	1,215	1,220	1,225	1,230	1,235
2,8	1,240	1,245	1,250	1,255	1,260	1,265	1,270	1,275	1,280	1,285
2,9	1,290	1,295	1,300	1,305	1,310	1,314	1,319	1,324	1,329	1,333
3,0	1,338	1,343	1,348	1,352	1,357	1,362	1,367	1,371	1,376	1,381
3,1	1,386	1,390	1,395	1,400	1,405	1,409	1,414	1,418	1,423	1,427
3,2	1,432	1,436	1,441	1,446	1,450	1,455	1,459	1,464	1,468	1,473
3,3	1,477	1,482	1,486	1,491	1,496	1,500	1,504	1,508	1,513	1,517
3,4	1,521	1,525	1,529	1,533	1,537	1,542	1,546	1,550	1,554	1,558
3,5	1,562	1,566	1,570	1,575	1,579	1,583	1,587	1,591	1,595	1,600
3,6	1,604	1,608	1,612	1,617	1,621	1,625	1,629	1,633	1,637	1,642
3,7	1,646	1,650	1,654	1,658	1,662	1,666	1,671	1,675	1,679	1,683
3,8	1,687	1,691	1,695	1,700	1,704	1,708	1,712	1,715	1,719	1,723
3,9	1,727	1,731	1,735	1,739	1,742	1,746	1,750	1,754	1,758	1,762
4,0	1,765	1,769	1,773	1,777	1,781	1,785	1,789	1,792	1,796	1,800
4,1	1,804	1,808	1,811	1,815	1,819	1,822	1,826	1,830	1,833	1,837
4,2	1,841	1,845	1,848	1,852	1,856	1,859	1,863	1,867	1,870	1,874
4,3	1,878	1,882	1,885	1,889	1,893	1,896	1,900	1,904	1,907	1,911

					$[\eta]_c$					
η_{rel}	**0,00**	**0,01**	**0,02**	**0,03**	**0,04**	**0,05**	**0,06**	**0,07**	**0,08**	**0,09**
4,4	1,914	1,918	1,921	1,925	1,929	1,932	1,936	1,939	1,943	1,946
4,5	1,950	1,954	1,957	1,961	1,964	1,968	1,971	1,975	1,979	1,982
4,6	1,986	1,989	1,993	1,996	2,000	2,003	2,007	2,010	2,013	2,017
4,7	2,020	2,023	2,027	2,030	2,033	2,037	2,040	2,043	2,047	2,050
4,8	2,053	2,057	2,060	2,063	2,067	2,070	2,073	2,077	2,080	2,083
4,9	2,087	2,090	2,093	2,097	2,100	2,103	2,107	2,110	2,113	2,116
5,0	2,119	2,122	2,125	2,129	2,132	2,135	2,139	2,142	2,145	2,148
5,1	2,151	2,154	2,158	2,160	2,164	2,167	2,170	2,173	2,176	2,180
5,2	2,183	2,186	2,190	2,192	2,195	2,197	2,200	2,203	2,206	2,209
5,3	2,212	2,215	2,218	2,221	2,224	2,227	2,230	2,233	2,236	2,240
5,4	2,243	2,246	2,249	2,252	2,255	2,258	2,261	2,264	2,267	2,270
5,5	2,273	2,276	2,279	2,282	2,285	2,288	2,291	2,294	2,297	2,300
5,6	2,303	2,306	2,309	2,312	2,315	2,318	2,320	2,324	2,326	2,329
5,7	2,332	2,335	2,338	2,341	2,344	2,347	2,350	2,353	2,355	2,358
5,8	2,361	2,364	2,367	2,370	2,373	2,376	2,379	2,382	2,384	2,387
5,9	2,390	2,393	2,396	2,400	2,403	2,405	2,408	2,411	2,414	2,417
6,0	2,419	2,422	2,425	2,428	2,431	2,433	2,436	2,439	2,442	2,444
6,1	2,447	2,450	2,453	2,456	2,458	2,461	2,464	2,467	2,470	2,472
6,2	2,475	2,478	2,481	2,483	2,486	2,489	2,492	2,494	2,497	2,500
6,3	2,503	2,505	2,508	2,511	2,513	2,516	2,518	2,521	2,524	2,526
6,4	2,529	2,532	2,534	2,537	2,540	2,542	2,545	2,547	2,550	2,553
6,5	2,555	2,558	2,561	2,563	2,566	2,568	2,571	2,574	2,576	2,579
6,6	2,581	2,584	2,587	2,590	2,592	2,595	2,597	2,600	2,603	2,605
6,7	2,608	2,610	2,613	2,615	2,618	2,620	2,623	2,625	2,627	2,630
6,8	2,633	2,635	2,637	2,640	2,643	2,645	2,648	2,650	2,653	2,655
6,9	2,658	2,660	2,663	2,665	2,668	2,670	2,673	2,675	2,678	2,680
7,0	2,683	2,685	2,687	2,690	2,693	2,695	2,698	2,700	2,702	2,705
7,1	2,707	2,710	2,712	2,714	2,717	2,719	2,721	2,724	2,726	2,729
7,2	2,731	2,733	2,736	2,738	2,740	2,743	2,745	2,748	2,750	2,752
7,3	2,755	2,757	2,760	2,762	2,764	2,767	2,769	2,771	2,774	2,776
7,4	2,779	2,781	2,783	2,786	2,788	2,790	2,793	2,795	2,798	2,800
7,5	2,802	2,805	2,807	2,809	2,812	2,814	2,816	2,819	2,821	2,823
7,6	2,826	2,828	2,830	2,833	2,835	2,837	2,840	2,842	2,844	2,847
7,7	2,849	2,851	2,854	2,856	2,858	2,860	2,863	2,865	2,868	2,870

					$[\eta]_c$					
η_{rel}	**0,00**	**0,01**	**0,02**	**0,03**	**0,04**	**0,05**	**0,06**	**0,07**	**0,08**	**0,09**
7,8	2,873	2,875	2,877	2,879	2,881	2,884	2,887	2,889	2,891	2,893
7,9	2,895	2,898	2,900	2,902	2,905	2,907	2,909	2,911	2,913	2,915
8,0	2,918	2,920	2,922	2,924	2,926	2,928	2,931	2,933	2,935	2,937
8,1	2,939	2,942	2,944	2,946	2,948	2,950	2,952	2,955	2,957	2,959
8,2	2,961	2,963	2,966	2,968	2,970	2,972	2,974	2,976	2,979	2,981
8,3	2,983	2,985	2,987	2,990	2,992	2,994	2,996	2,998	3,000	3,002
8,4	3,004	3,006	3,008	3,010	3,012	3,015	3,017	3,019	3,021	3,023
8,5	3,025	3,027	3,029	3,031	3,033	3,035	3,037	3,040	3,042	3,044
8,6	3,046	3,048	3,050	3,052	3,054	3,056	3,058	3,060	3,062	3,064
8,7	3,067	3,069	3,071	3,073	3,075	3,077	3,079	3,081	3,083	3,085
8,8	3,087	3,089	3,092	3,094	3,096	3,098	3,100	3,102	3,104	3,106
8,9	3,108	3,110	3,112	3,114	3,116	3,118	3,120	3,122	3,124	3,126
9,0	3,128	3,130	3,132	3,134	3,136	3,138	3,140	3,142	3,144	3,146
9,1	3,148	3,150	3,152	3,154	3,156	3,158	3,160	3,162	3,164	3,166
9,2	3,168	3,170	3,172	3,174	3,176	3,178	3,180	3,182	3,184	3,186
9,3	3,188	3,190	3,192	3,194	3,196	3,198	3,200	3,202	3,204	3,206
9,4	3,208	3,210	3,212	3,214	3,215	3,217	3,219	3,221	3,223	3,225
9,5	3,227	3,229	3,231	3,233	3,235	3,237	3,239	3,241	3,242	3,244
9,6	3,246	3,248	3,250	3,252	3,254	3,256	3,258	3,260	3,262	3,264
9,7	3,266	3,268	3,269	3,271	3,273	3,275	3,277	3,279	3,281	3,283
9,8	3,285	3,287	3,289	3,291	3,293	3,295	3,297	3,298	3,300	3,302
9,9	3,304	3,305	3,307	3,309	3,311	3,313	3,316	3,318	3,320	3,321
10	3,32	3,34	3,36	3,37	3,39	3,41	3,43	3,45	3,46	3,48
11	3,50	3,52	3,53	3,55	3,56	3,58	3,60	3,61	3,63	3,64
12	3,66	3,68	3,69	3,71	3,72	3,74	3,76	3,77	3,79	3,80
13	3,80	3,83	3,85	3,86	3,88	3,89	3,90	3,92	3,93	3,95
14	3,96	3,97	3,99	4,00	4,02	4,03	4,04	4,06	4,07	4,09
15	4,10	4,11	4,13	4,14	4,15	4,17	4,18	4,19	4,20	4,22
16	4,23	4,24	4,25	4,27	4,28	4,29	4,30	4,31	4,33	4,34
17	4,35	4,36	4,37	4,38	4,39	4,41	4,42	4,43	4,44	4,45
18	4,46	4,47	4,48	4,49	4,50	4,52	4,53	4,54	4,55	4,56
19	4,57	4,58	4,59	4,60	4,61	4,62	4,63	4,64	4,65	4,66

CEPHALEXIN
Cephalexinum



$C_{16}H_{17}N_3O_4S.H_2O$ P.t.l: 365,4

Cephalexin là acid (6*R*,7*R*)-7-[[(2*R*)-2-amino-2-phenyl-acetyl]amino]-3-methyl-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo [4.2.0] oct-2-en-2-carboxylic monohydrat, phải chứa từ 95,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{17}N_3O_4S$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng. Hơi tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của cephalexin chuẩn.

pH
Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. pH của dung dịch thu được phải từ 4,0 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng
Từ +149° đến +158° tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4). Hòa tan 0,125 g chế phẩm trong *dung dịch đệm phtalat pH 4,4 (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Độ hấp thụ
Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thu được tại bước sóng 330 nm (Phụ lục 4.1) không được lớn hơn 0,05.
Pha loãng 2,0 ml dung dịch trên thành 50,0 ml bằng *nước*. Phổ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thu được trong khoảng từ 220 nm đến 300 nm có cực đại hấp thụ tại 262 nm. Độ hấp thụ riêng tại cực đại hấp thụ có giá trị từ 220 đến 245, tính theo chế phẩm khan.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Dung dịch đệm phosphat pH 5,0 (TT).
Pha động B: Methanol (TT).
Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10,0 mg D-phenyl-glycin chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg acid 7-amino-desacetoxycephalosporanic chuẩn trong 2 ml *dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml bằng pha động A.
Dung dịch đối chiếu (3): Hút 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) và 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) cho vào bình định mức dung tích 100,0 ml, thêm pha động A vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 10 mg *dimethylformamid (TT)* và 10 mg *dimethylacetamid (TT)* trong pha động A và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động A.
Dung dịch đối chiếu (5): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (3) thành 20,0 ml bằng pha động A.
Dung dịch đối chiếu (6): Hòa tan 10 mg cefotaxim natri chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Hút 1,0 ml dung dịch thu được, thêm 1,0 ml dung dịch thử và pha loãng thành 100 ml bằng pha động A.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại tại bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 1	98	2
1 - 20	98 → 70	2 → 30
20 - 23	70 → 98	30 → 2
23 - 30	98	2

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và các dung dịch đối chiếu (3), (4), (5) và (6).
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic tương ứng với tạp chất A (D-phenylglycin) và pic của tạp chất B (acid 7-aminodesacetoxy-cephalosporanic) ít nhất là 2,0. Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6), độ phân giải giữa pic tương ứng với cephalexin và pic tương ứng với cefotaxim ít nhất là 1,5.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:
Diện tích của pic phụ tương ứng với pic thứ hai trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (3) (tạp chất B) không được lớn hơn diện tích pic thứ hai trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (3) (1,0 %).
Bất kỳ pic phụ nào (trừ pic tương ứng với dimethylformamid và dimethylacetamid) có diện tích không được lớn hơn diện tích pic thứ nhất trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1,0 %).
Tổng diện tích của các pic phụ không được lớn hơn ba lần diện tích pic thứ nhất trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (3,0 %).
Bỏ qua những pic phụ có diện tích nhỏ hơn diện tích của pic thứ hai trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5) (0,05 %).

N,N-Dimethylanilin
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16; phương pháp B).

Nước
Từ 4,0 % đến 8,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,300 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - acetonitril - dung dịch kali dihydrophosphat 0,136 % - nước (2 : 5 : 10 : 83).
Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50,0 mg cephalexin monohydrat chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch phân giải: Hòa tan 10 mg cefradin chuẩn trong 20 ml dung dịch đối chiếu và pha loãng thành 100 ml bằng *nước*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector tử ngoại đặt tại bước sóng 254 nm.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Tốc độ dòng 1,5 ml/min.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, dung dịch thử và dung dịch đối chiếu.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa hai pic tương ứng với cephalexin và cefradin ít nhất là 4,0.
Tính hàm lượng cephalexin trong chế phẩm dựa vào diện tích pic đáp ứng của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Chế phẩm
Viên nén, nang, bột pha hỗn dịch uống.

BỘT PHA HỖN DỊCH CEPHALEXIN
Pulveres Cephalexini ad suspensionum peroralum

Là thuốc bột dùng để pha hỗn dịch uống chứa cephalexin. Có thể có thêm các tá dược thích hợp tạo mùi vị, tạo màu, chất bảo quản, chất ổn định hỗn dịch....
Hỗn dịch tạo thành sau khi pha theo hướng dẫn trên nhãn thuốc phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Hỗn dịch thuốc" (Phụ lục 1.5).

Bột pha hỗn dịch phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc bột" (Phụ lục 1.7) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cephalexin khan, $C_{16}H_{17}N_3O_4S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột khô tơi, không bị ẩm, vón, màu sắc đồng nhất.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel, không có chất kết dính, được chuẩn bị như sau: Đặt bản mỏng trong bình sắc ký có chứa hỗn hợp dung môi *n-hexan* và *tetradecan* (95 : 5) ngập khoảng 1 cm, để dung môi di chuyển theo chiều dài của bản mỏng, sau đó lấy bản mỏng ra khỏi bình sắc ký và để dung môi bay hơi.
Dung môi khai triển: Dung dịch acid citric 0,1 M - dung dịch dinatri hydrophosphat 0,1 M - dung dịch ninhydrin trong aceton có nồng độ 1 g trong 15 ml (60 : 40 : 1,5).
Dung dịch thử: Lấy một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 30 mg cephalexin, hòa tan trong 10 ml *nước*, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch cephalexin chuẩn 0,3 % trong *nước*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 chiều dài bản mỏng. Lấy bản mỏng ra khỏi bình sắc ký, đánh dấu mức dung môi và để bản mỏng khô ngoài không khí, sấy bản mỏng ở 110 °C trong 10 min và quan sát dưới ánh sáng thường.
Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử và của dung dịch đối chiếu phải giống nhau về vị trí, màu sắc và kích thước.
B. Trong mục Định lượng, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có một pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic cephalexin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Nước
Không được quá 2,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,5 g bột thuốc.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 1,0 g *natri pentansulfonat (TT* trong 1015 ml hỗn hợp *nước - acetonitril - methanol - triethylamin* (850 : 100 : 50: 15), điều chỉnh tới pH 3,0 ± 0,1 bằng *acid phosphoric (TT).*
Dung dịch chuẩn nội: Cân chính xác khoảng 300 mg *1-hydroxy benzotriazol* vào bình định mức 1000 ml, hòa tan trong 10 ml *methanol (TT)* và pha loãng bằng pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng cephalexin chuẩn trong *nước* để thu được dung dịch chuẩn gốc có nồng độ khoảng 1,0 mg/ml. Hút chính xác 10,0 ml dung dịch chuẩn gốc vào bình nón nút mài, thêm chính xác 15,0 ml dung dịch chuẩn nội và trộn đều.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 100 mg cephalexin vào bình định mức 100 ml, thêm 75 ml *nước* và lắc siêu âm 15 min, pha loãng bằng *nước* vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc. Hút chính xác 10,0 ml dịch lọc vào bình nón nút mài, thêm chính xác 15,0 ml dung dịch chuẩn nội và trộn đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm hoặc 10 µm)
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn: trên sắc ký đồ thu được, độ phân giải giữa pic chuẩn nội và pic cephalexin không nhỏ hơn 5; độ lệch chuẩn tương đối của tỷ số giữa diện tích pic cephalexin và diện tích pic chuẩn nội của các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng cephalexin, $C_{16}H_{17}N_3O_4S$, từ tỷ số giữa diện tích pic cephalexin và diện tích pic chuẩn nội trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{17}N_3O_4S$ trong cephalexin chuẩn.

Bảo quản
Trong gói giấy nhôm hoặc polyethylen kín.
Để nơi khô mát, nhiệt độ không quá 30 °C, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Hàm lượng thường dùng
125 mg; 250 mg; 500 mg.

NANG CEPHALEXIN
Capsulae Cephalexini

Là nang cứng chứa cephalexin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng cephalexin khan, $C_{16}H_{17}N_3O_4S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel*, không có chất kết dính, được chuẩn bị như sau: Đặt bản mỏng trong bình sắc ký có chứa hỗn hợp dung môi *n-hexan* và *tetradecan* (95 : 5) ngập khoảng 1 cm, để dung môi di chuyển theo chiều dài của bản mỏng, sau đó lấy bản mỏng ra khỏi bình sắc ký và để dung môi bay hơi.
Dung môi khai triển: *Dung dịch acid citric 0,1 M - dung dịch dinatri hydrophosphat 0,1 M - dung dịch ninhydrin trong aceton có nồng độ 1 g trong 15 ml* (60 : 40 : 1,5).
Dung dịch thử: Lấy một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với khoảng 30 mg cephalexin, hòa tan trong 10 ml *nước*, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch cephalexin chuẩn 0,3 % trong *nước*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 chiều dài bản mỏng. Lấy bản mỏng ra khỏi bình sắc ký, đánh dấu mức dung môi và để bản mỏng khô ngoài không khí, sấy bản mỏng ở 110 °C trong 10 min và quan sát dưới ánh sáng thường.
Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử và của dung dịch đối chiếu phải giống nhau về vị trí, màu sắc và kích thước.
B. Trong phần Định lượng, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có một pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic cephalexin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Nước
Không được quá 10,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,3 g bột thuốc trong nang.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường: 900 ml nước.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Pha loãng một lượng dịch lọc với *nước* để được dung dịch có nồng độ cephalexin khoảng 20 mg/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 262 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là nước. Tính hàm lượng cephalexin, $C_{16}H_{17}N_3O_4S$, hòa tan trong mỗi nang dựa vào độ hấp thụ của dung dịch cephalexin chuẩn có nồng độ tương đương pha trong cùng dung môi.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng cephalexin, $C_{16}H_{17}N_3O_4S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 1,0 g *natri pentansulfonat (TT)* trong 1015 ml hỗn hợp *nước - acetonitril - methanol - triethylamin* (850 : 100 : 50: 15), điều chỉnh tới pH 3,0 ± 0,1 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch chuẩn nội: Cân chính xác khoảng 300 mg *1-hydroxy benzotriazol* vào bình định mức 1000 ml, hòa tan trong 10 ml *methanol (TT)* và pha loãng bằng pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng cephalexin chuẩn trong *nước* để thu được dung dịch chuẩn gốc có nồng độ

khoảng 1,0 mg/ml. Hút chính xác 10,0 ml dung dịch chuẩn gốc vào bình nón nút mài, thêm chính xác 15,0 ml dung dịch chuẩn nội và trộn đều.

Dung dịch thử: Cân 20 nang, xác định khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 100 mg cephalexin vào bình định mức 100 ml, thêm 75 ml *nước* và lắc siêu âm 15 min, pha loãng bằng *nước* vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc. Hút chính xác 10,0 ml dịch lọc vào bình nón nút mài, thêm chính xác 15,0 ml dung dịch chuẩn nội và trộn đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm hoặc 10 µm)

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn: trên sắc ký đồ thu được, độ phân giải giữa pic chuẩn nội và pic cephalexin không nhỏ hơn 5; độ lệch chuẩn tương đối của tỷ số giữa diện tích pic cephalexin và diện tích pic chuẩn nội của các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.

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

Tính hàm lượng cephalexin, $C_{16}H_{17}N_3O_4S$, từ tỷ số giữa diện tích pic cephalexin và diện tích pic chuẩn nội trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{17}N_3O_4S$ trong cephalexin chuẩn.

Bảo quản

Trong vỉ nhôm hoặc trong chai lọ nút kín.

Để nơi khô mát, nhiệt độ không quá 30 °C, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Hàm lượng thường dùng

250 mg; 500 mg

VIÊN NÉN CEPHALEXIN

Tabellae Cephalexini

Là viên nén hoặc viên nén bao phim chứa cephalexin.

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

Hàm lượng cephalexin khan, $C_{16}H_{17}N_3O_4S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

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

Bản mỏng: *Silica gel*, không có chất kết dính, được chuẩn bị như sau: Đặt bản mỏng trong bình sắc ký có chứa hỗn hợp dung môi *n-hexan* và *tetradecan* (95 : 5) ngập khoảng 1 cm, để dung môi di chuyển theo chiều dài của bản mỏng, sau đó lấy bản mỏng ra khỏi bình sắc ký và để dung môi bay hơi.

Dung môi khai triển: Dung dịch acid citric 0,1 M - dung dịch dinatri hydrophosphat 0,1 M - dung dịch ninhydrin trong aceton có nồng độ 1 g trong 15 ml (60 : 40 : 1,5).

Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 30 mg cephalexin, hòa tan trong 10 ml *nước*, lọc.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch cephalexin chuẩn 0,3 % trong *nước*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 chiều dài bản mỏng. Lấy bản mỏng ra khỏi bình sắc ký, đánh dấu mức dung môi và để bản mỏng khô ngoài không khí, sấy bản mỏng ở 110 °C trong 10 min và quan sát dưới ánh sáng thường.

Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử và của dung dịch đối chiếu phải giống nhau về vị trí, màu sắc và kích thước.

B. Trong phần Định lượng, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có một pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic cephalexin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Nước

Không được quá 9,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,3 g bột viên.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giỏ quay.

Môi trường: 900 ml nước.

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 30 min.

Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Pha loãng một lượng dịch lọc với *nước* để được dung dịch có nồng độ cephalexin khoảng 20 µg/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 262 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là nước. Tính hàm lượng cephalexin, $C_{16}H_{17}N_3O_4S$, hòa tan trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ của dung dịch cephalexin chuẩn có nồng độ tương đương pha trong cùng dung môi.

Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng cephalexin, $C_{16}H_{17}N_3O_4S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 1,0 g *natri pentansulfonat (TT)* trong 1015 ml hỗn hợp *nước - acetonitril - methanol - triethylamin* (850 : 100 : 50: 15), điều chỉnh tới pH 3,0 ± 0,1 bằng *acid phosphoric (TT)*.

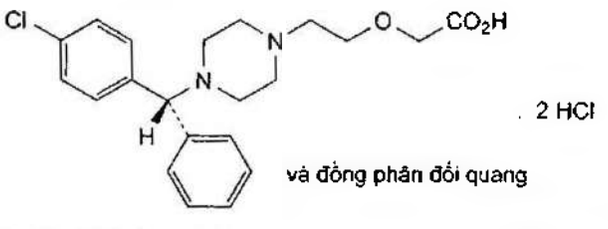
Dung dịch chuẩn nội: Cân chính xác khoảng 300 mg *1-hydroxy benzotriazol* vào bình định mức 1000 ml, hòa tan trong 10 ml *methanol (TT)* và pha loãng bằng pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng cephalexin chuẩn trong *nước* để thu được dung dịch chuẩn gốc có nồng độ khoảng 1,0 mg/ml. Hút chính xác 10,0 ml dung dịch chuẩn gốc vào bình nón nút mài, thêm chính xác 15,0 ml dung dịch chuẩn nội và trộn đều.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình viên. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 100 mg cephalexin vào bình định mức 100 ml, thêm 75 ml *nước* và lắc siêu âm 15 min, pha loãng bằng *nước* vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc. Hút chính xác 10,0 ml dịch lọc vào bình nón nút mài, thêm chính xác 15,0 ml dung dịch chuẩn nội và trộn đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm hoặc 10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn: trên sắc ký đồ thu được, độ phân giải giữa pic chuẩn nội và pic cephalexin không nhỏ hơn 5; độ lệch chuẩn tương đối của tỷ số giữa diện tích pic cephalexin và diện tích pic chuẩn nội của các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng cephalexin, $C_{16}H_{17}N_3O_4S$, từ tỷ số giữa diện tích pic cephalexin và diện tích pic chuẩn nội trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{17}N_3O_4S$ trong cephalexin chuẩn.

Bảo quản
Trong vỉ nhôm hoặc trong chai lọ nút kín.
Để nơi khô mát, nhiệt độ không quá 30 °C, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm cephalosporin.

Hàm lượng thường dùng
250 mg; 500 mg.

CETIRIZIN DIHYDROCLORID
Cetirizini hydrocloridum



$C_{21}H_{25}ClN_2O_3.2HCl$ P.t.l: 461,8

Cetirizin dihydroclorid là acid (*RS*)-2-[2-[4-[(4-clorophenyl) phenylmethyl]piperazin-1-yl]ethoxy] acetic phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{21}H_{25}ClN_2O_3.2HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan trong nước; thực tế không tan trong aceton và trong methylen clorid.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của cetirizin dihydroclorid chuẩn.
B. Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong 50 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Đo phổ hấp thụ tử ngoại của dung dịch thu được từ bước sóng 210 nm đến 350 nm (Phụ lục 4.1). Dung dịch phải một cực đại hấp thụ ở bước sóng 231 nm, độ hấp thụ riêng tại cực đại này phải từ 359 đến 381.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi khai triển: Amoniac - methanol - methylen clorid (1 : 10 : 90).
Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg cetirizin dihydroclorid chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg clorphenamin maleat chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi. Trộn đều 1 ml dung dịch thu được và 1 ml dung dịch đối chiếu (1).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng mỗi dung dịch 5 µl. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được 2/3 bản mỏng. Lấy bản mỏng ra để khô dưới luồng không khí mát. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử có vị trí và kích thước giống vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) có hai vết tách rõ rệt.
D. Chế phẩm cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* rồi pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu VN_7 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Từ 1,2 đến 1,8 (Phụ lục 6.2).
Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch acid sulfuric 10 % - nước - acetonitril (0,4 : 6,6 : 93).
Dung dịch thử: Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2 mg cetirizin dihydroclorid chuẩn; 2 mg tạp chất A chuẩn của cetirizin trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan cetirizin chuẩn dùng để định tính pic (chứa các tạp chất B, C, D, E và F) có trong một lọ chuẩn trong 5,0 ml pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi *silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của cetirizin.
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo cetirizin chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của các tạp chất B, C, D, E và F. Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) để xác định pic tạp chất A.
Thời gian lưu tương đối so với cetirizin (thời gian lưu khoảng 9 min): Tạp chất D khoảng 0,6; tạp chất B khoảng 0,8; tạp chất C khoảng 0,9; tạp chất E khoảng 1,2; tạp chất F khoảng 1,37; tạp chất A khoảng 1,42.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), tỷ số đỉnh - hõm (Hp/Hv) ít nhất là 5; trong đó Hp là chiều cao đỉnh pic tạp chất C so với đường nền và Hv là chiều cao tính từ đường nền lên đến đáy hõm giữa pic tạp chất C và pic cetirizin.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng: Tạp chất A là 0,7; tạp chất C là 1,9; tạp chất D là 0,6; tạp chất E là 1,3; tạp chất F là 1,9.
Tạp chất A, B, C, D, E, F: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu cần, không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,15 %).
Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: (*RS*)-1-[(4-clorophenyl)phenylmethyl]piperazin.
Tạp chất B: Acid (*RS*)-2-[4-[(4-clorophenyl)phenylmethyl] piperazin-1-yl]acetic.
Tạp chất C: Acid (*RS*)-2-[2-[4-[(2-clorophenyl)phenylmethyl] piperazin-1-yl]ethoxy]acetic.
Tạp chất D: 1,4-bis[(4-clorophenyl)phenylmethyl]piperazin.
Tạp chất E: Acid (*RS*)-2-[2-[4-[(4-clorophenyl)phenylmethyl] piperazin-1-yl]ethoxy]ethoxy]acetic(ethoxycetirizin).
Tạp chất F: Acid [2-[4-(diphenylmethyl)piperazin-1-yl]ethoxy] acetic.
Tạp chất G: Acid 2-[4-[(*RS*)-(4-clorophenyl)phenylmethyl]piperazin-1-yl]ethanol.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan khoảng 0,100 g chế phẩm trong 70 ml của hỗn hợp *nước - aceton* (30 : 70). Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* đến điểm uốn thứ hai. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Song song tiến hành chuẩn độ một mẫu trắng.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 15,39 mg $C_{21}H_{27}Cl_3N_2O_3$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng histamin; đối kháng thụ thể histamin H_1.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN CETIRIZIN
Tabellae Cetirizini

Là viên nén bao phim chứa cetirizin hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén", mục "Viên bao" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cetirizin hydroclorid, $C_{21}H_{27}Cl_3N_2O_3$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Amoniac - methanol - methylen clorid (1 : 10 : 90).
Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên tương ứng với khoảng 10 mg cetirizin hydroclorid hòa tan trong 5 ml *nước*, lọc.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg cetirizin hydroclorid chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg clorpheniramin maleat chuẩn trong *nước*, pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi. Lấy 1 ml dung dịch này thêm 1 ml dung dịch đối chiếu (1), trộn đều.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 2/3 chiều dài bản mỏng. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở 254 nm.
Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) có hai vết tách rõ ràng.
Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử và của dung dịch đối chiếu (1) phải giống nhau về vị trí, màu sắc và kích thước.
B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 1000 ml *nước*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành:
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động và *điều kiện sắc ký* thực hiện như trong phần Định lượng.
Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng cetirizin hydroclorid chuẩn với *nước* để thu được dung dịch có nồng độ tương đương với dung dịch thử.
Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng cetirizin hydroclorid, $C_{21}H_{27}Cl_3N_2O_3$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - dung dịch kali dihydrophosphat 0,01 M (150 : 850)
Dung dịch thử: Cân 20 viên đã loại bỏ lớp bao, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng khoảng 20 mg cetirizin hydroclorid vào bình định mức 100 ml, thêm 50 ml pha động, trộn đều và siêu âm 5 phút, thêm pha động đến định mức, lắc đều. Lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch cetirizin hydroclorid chuẩn 0,02 % trong pha động, lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic cetirizin hydroclorid trong 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng cetirizin hydroclorid, $C_{21}H_{27}Cl_3N_2O_3$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{21}H_{27}Cl_3N_2O_3$ của cetirizin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng histamin. Đối kháng thụ thể H_1.

Hàm lượng thường dùng
5 mg, 10 mg.

CETOSTEARYL ALCOL
Alcohol cetylicus et stearylicus

Cetostearyl alcol là hỗn hợp của các alcol rắn mạch thẳng, phải chứa không dưới 40,0 % stearyl alcol ($C_{18}H_{38}O$, p.t.l: 270,5) và không dưới 90,0 % tổng lượng cetyl alcol ($C_{16}H_{34}O$, p.t.l: 242.4) và stearyl alcol.

Tính chất
Hạt, vảy, khối giống sáp, màu trắng hay hơi vàng. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong ether, tan trong ethanol 90 % và ether dầu hỏa. Khi đun chảy hỗn hợp hòa với dầu béo, parafin lỏng và mỡ cừu nóng chảy.

Định tính
Trong phần Định lượng, hai pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với các pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (2).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 20 ml *ethanol 96 % (TT)* sôi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn màu mẫu N_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Nhiệt độ nóng chảy
49 °C đến 56 °C (Phụ lục 6.7).

Chỉ số acid
Không được quá 1,0 (Phụ lục 7.2).

Chỉ số hydroxyl
208 đến 228 (Phụ lục 7.4, phương pháp A).

Chỉ số iod
Không được quá 2,0 (Phụ lục 7.5).
Dùng 2,0 g chế phẩm hòa tan trong 25 ml *cloroform (TT)*.

Chỉ số xà phòng hóa
Không được quá 2,0 (Phụ lục 7.7).
Dùng 2,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *ethanol (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 60,0 mg cetyl alcol chuẩn trong *ethanol (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 40,0 mg stearyl alcol chuẩn trong *ethanol (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Trộn 1 ml dung dịch đối chiếu (1) với 1 ml dung dịch đối chiếu (2) và pha loãng thành 10,0 ml bằng *ethanol (TT)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (3 m × 4 mm) được nhồi *diatomit dùng cho sắc ký khí (TT)* tẩm 10 % (kl/kl) *poly-(dimethyl)siloxan (TT)*.
Khí mang: *Nitrogen dùng cho sắc ký khí (TT)*.
Lưu lượng khí: 30 ml/min.
Detector ion hóa ngọn lửa.
Nhiệt độ cột 200 °C, nhiệt độ buồng tiêm và detector 250 °C.
Thể tích tiêm: 2 µl.
Cách tiến hành:
Điều chỉnh tốc độ dòng sao cho hệ số phân giải của 2 pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử không nhỏ hơn 1,25.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), tỷ số tín hiệu trên nhiễu ít nhất là 5 đối với 2 pic chính.
Xác định hàm lượng cetyl alcol và stearyl alcol từ sắc ký đồ của dung dịch thử bằng phương pháp chuẩn hóa. Định tính các pic bằng cách so sánh với sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (2).

Bảo quản
Bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Tá dược.

CETYL ALCOL
Alcohol cetylicus

Cetyl alcol là hỗn hợp các alcol rắn, chủ yếu chứa hexadecan-1-ol ($C_{16}H_{34}O$; p.t.l: 242,4), có nguồn gốc từ động vật hoặc thực vật. Chứa ít nhất 95,0 % $C_{16}H_{34}O$.

Tính chất
Khối nhờn, bột, mảnh hay hạt màu trắng hoặc gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, hơi tan đến dễ tan trong ethanol 96 %. Khi đun chảy, hỗn hợp có thể hòa lẫn với dầu thực vật, mỡ động vật, parafin lỏng và lanolin nóng chảy.

Định tính
Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ dung dịch thử phải giống với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong 20 ml *ethanol 96 % (TT)* sôi, để nguội. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn màu mẫu N_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Nhiệt độ nóng chảy
Từ 46 °C đến 52 °C (Phụ lục 6.7).

Chỉ số acid
Không được quá 1,0 (Phụ lục 7.2).

Chỉ số hydroxyl
Từ 218 đến 238 (Phương pháp A, phụ lục 7.4).

Chỉ số iod
Không được quá 2,0 (Phương pháp A, phụ lục 7.5).
Hòa tan 2,00 g chế phẩm trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Chỉ số xà phòng hóa
Không được quá 2,0 (Phụ lục 7.7).

Định lượng
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50 mg cetyl alcol chuẩn trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 50 mg *stearyl alcol (TT)* trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Trộn đều 1 ml dung dịch đối chiếu (1) và 1 ml dung dịch đối chiếu (2) và pha loãng thành 10,0 ml bằng *ethanol 96 % (TT)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột (30 m × 0,32 mm) được phủ *poly(dimethyl)siloxan* (độ dày phim 1 µm).

Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký*.
Tỷ lệ chia dòng: 1 : 100.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 20	150 → 250
	20 - 40	250
Buồng tiêm		250
Detector		250

Detector: Ion hóa ngọn lửa.
Thể tích tiêm: 1 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và (3).
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic của cetyl alcol và pic của stearyl alcol ít nhất là 5,0.
Tính hàm lượng $C_{16}H_{34}O$ theo diện tích pic của cetyl alcol thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).

Bảo quản
Bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Tá dược.

CHYMOTRYPSIN
Chymotrypsinum

Chymotrypsin là enzym thủy phân protein được kết tinh từ dịch chiết tuyến tụy bò, *Bos taurus* Linné (Fam. *Bovidae*). Chế phẩm phải chứa không ít hơn 1000 đơn vị chymotrypsin trong mỗi mg, tính theo chế phẩm đã làm khô và phải chứa từ 90,0 % đến 110,0 % so với hoạt lực ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột kết tinh hoặc bột vô định hình màu trắng. Hơi tan trong nước. Dạng bột vô định hình dễ hút ẩm.

Định tính
A. Lấy khoảng 10 mg chế phẩm, hòa tan trong 10 ml *nước* đun sôi để nguội. Lấy 0,05 ml dung dịch thu được cho vào khay sứ trắng, thêm 0,2 ml *dung dịch cơ chất*. Màu đỏ tía xuất hiện trong vòng 3 min.
Dung dịch cơ chất: Cân chính xác 237,0 mg *acetyltyrosin ethyl ester (TT)* cho vào bình định mức 100 ml, thêm 2 ml *ethanol 96 % (TT)*, lắc đến khi tan. Thêm 20 ml dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (chuẩn bị trong phần Định lượng), thêm 1 ml *dung dịch đỏ methyl - xanh methylen* rồi pha loãng với *nước* vừa đủ đến vạch.
Dung dịch đỏ methyl - xanh methylen: Trộn đồng thể tích *dung dịch đỏ methyl 0,1 % trong ethanol 96 %* và *dung dịch xanh methylen 0,05 % trong ethanol 96 %*.
B. Lấy khoảng 30 mg chế phẩm hòa tan trong *dung dịch acid hydrocloric 0,001 M*, pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 220 đến 320 nm phải có cực đại ở bước sóng khoảng 281 nm và cực tiểu ở bước sóng khoảng 250 nm.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,00 g; 60 °C; trong chân không; 4 h).

Tro sulfat
Không được quá 2,5 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 0,100 g chế phẩm.

Trypsin
Không được quá 1 % (kl/kl).
Dung dịch thử: Hòa tan 100 mg chế phẩm trong 10,0 ml *nước*.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch trypsin trong *nước* có nồng độ 0,01 %.
Dung dịch đệm tris(hydroxymethyl)aminomethan pH 8,1 (0,08 M): Hòa tan 294 mg *calci clorid (TT)* trong 40 ml *dung dịch tris(hydroxymethyl)aminomethan 0,20 M*, điều chỉnh pH đến 8,1 bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 N (TT)* và pha loãng thành 100 ml với *nước*.
Dung dịch cơ chất: Cân 98,5 mg *tosylarginin methyl ester hydroclorid (TT)*, cho vào bình định mức dung tích 25 ml. Thêm 5 ml *dung dịch đệm tris(hydroxymethyl)aminomethan pH 8,1* và lắc cho đến khi hòa tan cơ chất. Thêm 0,25 ml *dung dịch đỏ methyl - xanh methylen* (pha ở phần Định tính) và thêm *nước* vừa đủ đến vạch.
Cách tiến hành:
Dùng micro pipet lấy 50 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu cho vào hai khay sứ trắng riêng biệt, thêm 0,2 ml dung dịch cơ chất vào mỗi dung dịch. Trong vòng 3 phút, khay sứ chứa dung dịch thử không được có màu đỏ tía tạo thành, khay sứ chứa dung dịch đối chiếu cho màu đỏ tía.

Định lượng
Dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (0,067 M): Hòa tan 4,54 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong *nước* và pha loãng vừa đủ 500 ml với cùng dung môi (dung dịch A). Hòa tan 4,73 g *dinatri hydrophosphat khan (TT)* trong *nước* và pha loãng vừa đủ 500 ml với cùng dung môi (dung dịch B). Trộn 38,9 ml dung dịch A với 61,1 ml dung dịch B. Điều chỉnh tới pH 7,0 bằng cách thêm từng giọt dung dịch B nếu cần.
Dung dịch cơ chất: Hòa tan 23,7 mg *acetyltyrosin ethyl ester (TT)* (loại thích hợp để dùng định lượng chymotrypsin) trong khoảng 50 ml dung dịch đệm phosphat pH 7,0 bằng cách làm ấm. Để nguội, thêm dung dịch đệm phosphat pH 7,0 vừa đủ 100 ml.
Lưu ý: Có thể bảo quản đông lạnh dung dịch cơ chất và được sử dụng sau khi rã đông, nhưng phải làm đông lạnh ngay sau khi pha.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng chế phẩm thích hợp (*W*) và hòa tan trong *dung dịch acid hydrocloric*

0,0012 M để thu được dung dịch có nồng độ từ 12 - 16 đơn vị chymotrypsin trong 1 ml. Dùng dung dịch có nồng độ thấp hơn hoặc cao hơn nếu cần sao cho trong quá trình định lượng sự thay đổi độ hấp thụ trong khoảng từ 0,008 đến 0,012 trong mỗi 30 s.

Cách tiến hành:

Định lượng bằng máy quang phổ tử ngoại thích hợp, có hệ thống điều nhiệt để duy trì nhiệt độ buồng chứa cốc đo ở 25 ± 0,1 °C. Xác định nhiệt độ trong cốc đo trước và sau khi đo độ hấp thụ để đảm bảo nhiệt độ không thay đổi quá 0,5 °C.

Hút chính xác 0,2 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,0012 M* và 3,0 ml dung dịch cơ chất vào cốc đo dày 1 cm. Đặt cốc đo vào máy quang phổ tử ngoại và điều chỉnh thiết bị để có độ hấp thụ là 0,200 ở 237 nm.

Hút chính xác 0,2 ml dung dịch thử cho vào cốc đo dày 1 cm, thêm 3,0 ml dung dịch cơ chất, trộn đều. Đặt cốc đo vào máy quang phổ tử ngoại và đo ngay độ hấp thụ.

Đo độ hấp thụ sau mỗi 30 s trong ít nhất 5 min. Lặp lại thí nghiệm cùng độ pha loãng ít nhất một lần. Giá trị tuyệt đối của độ hấp thụ không quan trọng bằng tốc độ suy giảm hằng định của độ hấp thụ. Nếu tốc độ suy giảm của độ hấp thụ không duy trì được hằng định trong khoảng thời gian ít nhất là 3 min, phải làm lại thí nghiệm, nếu cần sử dụng dung dịch thử có nồng độ thích hợp.

Vẽ đường biểu diễn độ hấp thụ theo thời gian, lấy giá trị độ hấp thụ làm tung độ và thời gian làm hoành độ. Chọn đoạn tuyến tính trong vòng 3 min để xác định hoạt lực của mẫu thử.

Một đơn vị chymotrypsin là hoạt tính làm thay đổi độ hấp thụ là 0,0075 trong mỗi phút với các điều kiện quy định của phương pháp định lượng này.

Tính hoạt lực (đơn vị) chymotrypsin có trong mỗi mg chế phẩm theo công thức:

$$\frac{(A_1 - A_2) \times D}{T \times 0{,}0075 \times W \times 0{,}2}$$

Trong đó:

A_1 là độ hấp thụ ở thời điểm đầu trong khoảng biến thiên độ hấp thụ tuyến tính;

A_2 là độ hấp thụ ở thời điểm cuối trong khoảng biến thiên độ hấp thụ tuyến tính;

T là khoảng thời gian giữa lần đọc đầu và lần đọc cuối (min);

D là độ pha loãng của dung dịch thử;

W là khối lượng mẫu thử (mg).

Giới hạn nhiễm khuẩn

Không được có *Pseudomonas aeruginosa*, các chủng *Salmonella* và *Staphylococcus aureus* (Phụ lục 13.6).

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Enzym thủy phân protein.

VIÊN NÉN CHYMOTRYPSIN

Tabellae Chymotrypsini

Là viên nén chứa chymotrypsin.

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

Hoạt lực chymotrypsin, từ 90,0 % đến 120,0 % so với hoạt lực ghi trên nhãn.

Định tính

A. Lấy một lượng bột viên tương ứng với 4,2 mg chymotrypsin, hòa tan trong 4 ml *nước* đun sôi để nguội, lọc. Lấy 0,05 ml dịch lọc cho vào khay sứ trắng, thêm 0,2 ml *dung dịch cơ chất*. Màu đỏ tía xuất hiện trong vòng 3 min.

Dung dịch cơ chất: Cân chính xác 237,0 mg *acetyltyrosin ethyl ester (TT)* cho vào bình định mức 100 ml, thêm 2 ml *ethanol (TT)*, lắc đến khi tan. Thêm 20 ml dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (chuẩn bị trong phần định lượng), thêm 1 ml *dung dịch đỏ methyl - xanh methylen* rồi pha loãng với *nước* vừa đủ.

Dung dịch đỏ methyl - xanh methylen: Trộn đồng thể tích *dung dịch đỏ methyl 0,1 % trong ethanol 96%* và *dung dịch xanh methylen 0,05 % trong ethanol 96%.*

B. Lấy một lượng bột viên tương ứng với 30 mg chymotrysin hòa tan trong *dung dịch acid hydrocloric 0,001 M,* pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi, lọc. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dịch lọc thu được trong khoảng bước sóng từ 220 đến 320 nm phải có cực đại ở bước sóng 281 nm và cực tiểu ở 250 nm.

Định lượng

Dung dịch đệm phosphat pH 7,0: Hòa tan 4,54 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 500 ml với cùng dung môi (dung dịch A). Hòa tan 4,73 g *dinatri hydrophosphat khan (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 500 ml với cùng dung môi (dung dịch B). Trộn 38,9 ml dung dịch A với 61,1 ml dung dịch B. Điều chỉnh tới pH 7,0 bằng cách thêm từng giọt dung dịch B nếu cần.

Dung dịch cơ chất: Hòa tan 23,7 mg *acetyltyrosin ethyl ester (TT)* (loại thích hợp để dùng định lượng chymotrypsin) trong khoảng 50 ml dung dịch đệm phosphat pH 7,0 bằng cách làm ấm. Để nguội, thêm dung dịch đệm phosphat pH 7,0 vừa đủ 100,0 ml. Lưu ý: Có thể bảo quản đông lạnh dung dịch cơ chất và được sử dụng sau khi rã đông, nhưng phải làm đông lạnh ngay sau khi pha.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên thích hợp và hòa tan trong *dung dịch acid hydrocloric 0,0012 M* để thu được dung dịch có nồng độ từ 12 đến 16 đơn vị chymotrypsin USP trong 1 ml. Dùng dung dịch có nồng độ thấp hơn hoặc cao hơn (nếu cần) để trong quá trình định lượng sự thay đổi độ hấp thụ trong khoảng từ 0,008 đến 0,012 trong mỗi 30 s.

Cách tiến hành

Lưu ý: Xác định sự thích hợp của cơ chất và kiểm tra sự điều chỉnh máy quang phổ tử ngoại bằng cách tiến hành sử dụng chymotrypsin chuẩn thay thế mẫu thử.

Định lượng bằng máy quang phổ tử ngoại thích hợp, có hệ thống điều nhiệt để duy trì nhiệt độ buồng chứa cốc đo ở 25 °C ± 0,1 °C. Xác định nhiệt độ trong cốc đo trước và sau khi đo độ hấp thụ để đảm bảo nhiệt độ không thay đổi quá 0,5 °C.

Hút chính xác 0,2 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,0012 M* và 3,0 ml *dung dịch cơ chất* vào cốc đo dày 1 cm. Đặt cốc đo vào máy quang phổ tử ngoại và điều chỉnh thiết bị để có độ hấp thụ là 0,200 ở 237 nm.

Hút chính xác 0,2 ml dung dịch thử cho vào cốc đo dày 1 cm, thêm chính xác 3,0 ml *dung dịch cơ chất*. Đặt cốc đo vào máy quang phổ tử ngoại (Chú ý: Thực hiện thêm mẫu vào cốc đo đúng theo thứ tự này, và bắt đầu ghi thời gian phản ứng ngay sau khi thêm dung dịch cơ chất).

Đo độ hấp thụ sau mỗi 30 s trong ít nhất 5 min. Lặp lại thí nghiệm cùng độ pha loãng ít nhất một lần. Giá trị tuyệt đối của độ hấp thụ không quan trọng bằng tốc độ suy giảm hằng định của độ hấp thụ. Nếu tốc độ suy giảm hằng định của độ hấp thụ này không duy trì được trong khoảng thời gian ít nhất là 3 min, phải làm lại thí nghiệm, nếu cần, sử dụng dung dịch thử có nồng độ thích hợp. Khi xác định lại lần thứ hai các dung dịch thử có cùng độ pha loãng phải có tốc độ suy giảm của độ hấp thụ như lần đầu.

Để xác định sự thay đổi độ hấp thụ trung bình trong mỗi phút, chỉ sử dụng các giá trị nằm trên đường biểu diễn sự suy giảm độ hấp thụ theo thời gian, đoạn có tốc độ suy giảm độ hấp thụ hằng định trong 3 min.

Một đơn vị chymotrypsin USP là hoạt tính làm thay đổi độ hấp thụ là 0,0075 trong mỗi phút với các điều kiện quy định của phương pháp định lượng này.

Tính hàm lượng (%) chymotrypsin trong viên so với hàm lượng ghi trên nhãn theo công thức:

$$\frac{(A_1 - A_2)\times D\times M\times 100}{T\times 0{,}0075\times W\times 0{,}2\times L}$$

Trong đó:

A_1 là độ hấp thụ ở thời điểm đầu trong khoảng biến thiên độ hấp thụ tuyến tính;

A_2 là độ hấp thụ ở thời điểm cuối trong khoảng biến thiên độ hấp thụ tuyến tính;

T là khoảng thời gian giữa lần đọc đầu và lần đọc cuối (phút);

D là độ pha loãng của dung dịch thử;

W là khối lượng bột viên mẫu thử (mg);

M là khối lượng trung bình viên (mg).

L là hàm lượng ghi nhãn (đơn vị chymotrypsin USP).

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

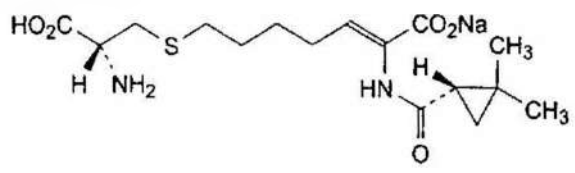
Enzym thủy phân protein.

Hàm lượng thường dùng

4,2 mg, 6,3 mg, 8,4 mg (tương đương với 4200, 6300, 8400 đơn vị chymotrypsin USP).

CILASTATIN NATRI

Cilastatinum natricum



$C_{16}H_{25}N_2NaO_5S$ P.t.l: 380,4

Cilastatin natri là natri (*Z*)-7-[[(*R*)-2-amino-2-carboxy ethyl] sulphanyl]-2-[[[(1*S*)-2,2-dimethylcyclopropyl]carbonyl] amino]hept-2-enoat, phải chứa từ 98,0 % đến 101,5 % $C_{16}H_{25}N_2NaO_5S$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột vô định hình màu trắng hay hơi vàng, hút ẩm. Rất dễ tan trong nước và methanol, khó tan trong ethanol khan, rất khó tan trong dimethyl sulfoxid, thực tế không tan trong aceton và methylen clorid.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của cilastatin natri chuẩn.

B. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử Góc quay cực riêng.

C. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của ion natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn dung dịch màu mẫu V_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Từ 6,5 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).

Dùng dung dịch S để thử.

Góc quay cực riêng

Từ +41,5° đến +44,5°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 1 thể tích *acid hydrocloric (TT)* và 120 thể tích *methanol (TT)*, sau đó pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Acetonitril - dung dịch acid phosphoric 0,1 % (tt/tt) trong nước (30 : 70).

Pha động B: Dung dịch acid phosphoric 0,1 % (tt/tt) trong nước.

Pha động được sử dụng theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 30	15 → 100	85 → 0
30 - 46	100	0
46 - 56	100 → 15	0 → 85

Dung dịch thử: Hòa tan 32,0 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 2,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với *nước*. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với *nước*. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 16 mg chế phẩm trong *dung dịch hydrogen peroxyd loãng (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Để yên trong 30 min. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 100 ml với *nước*.
Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 32 mg *mesityl oxyd (TT)* (tạp chất D) trong 100 ml *nước*. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 50 ml với *nước*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột: 50 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký:
Tiêm dung dịch đối chiếu (3): Trên sắc ký đồ sẽ có 3 pic chính trong đó 2 pic được rửa giải ra đầu tiên (tạp chất A) có thể không tách ra hoàn toàn.
Hệ số phân bố khối lượng: Ít nhất là 10 cho pic tương ứng với cilastatin (pic thứ 3) trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3).
Tiêm dung dịch đối chiếu (1): Tỷ số tín hiệu trên nhiễu phải ít nhất là 5,0 đối với pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1).
Tiêm dung dịch đối chiếu (2), dung dịch đối chiếu (4) và dung dịch thử.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:
Diện tích của bất kỳ pic phụ nào không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).
Tổng diện tích các pic phụ không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %).
Bỏ qua các pic có diện tích pic nhỏ hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %) và pic tương ứng với pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (4).
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid (*Z*)-7-[(*RS*)-[(*R*)-2-amino-2-carboxy-ethyl] sulfinyl]-2-[[[(1*S*)-2,2-dimethylcyclopropyl] carbonyl]-amino] hept-2-enoic,
Tạp chất B: Acid (*Z*)-7-[[(*R*)-2-[[(1*RS*)-1-methyl-3-oxobutyl] amino]2-carboxyethyl]sulfanyl]-2-[[[(1*S*)-2,2-dimethyl-cyclopropyl]carbonyl]amino]hept-2-enoic,
Tạp chất C: Acid (*Z*)-7-[[(*R*)-2-[(1,1-dimethyl-3-oxobutyl)amino]2-carboxyethyl]sulfanyl]-2-[[[(1S)-2,2-dimethyl-cyclopropyl] carbonyl]amino]hept-2-enoic,
Tạp chất D: 4-methylpent-3-en-2-on (mesityl oxyd).

Tạp chất D, aceton và methanol

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).
Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan 0,5 ml *propanol (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 1000 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong *nước*, thêm 2,0 ml dung dịch chuẩn nội và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 2,0 ml *aceton (TT)*, 0,5 ml *methanol (TT)* và 0,5 ml *mesityl oxyd (TT)* (tạp chất D) trong *nước (TT)* và pha loãng thành 1000 ml với cùng dung môi. Lấy 2,0 ml dung dịch thu được, thêm 2,0 ml dung dịch chuẩn nội và pha loãng thành 10,0 ml với *nước*. Dung dịch này có chứa 316 µg aceton, 79 µg methanol và 86 µg tạp chất D trong 1 ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột sắc ký: Silica nung chảy (30 m × 0,53 mm) được phủ pha tĩnh *macrogol 20 000* (lớp phim dày 1,0 µm).
Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký khí.*
Tốc độ dòng: 9 ml/min.
Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 2,5	50
	2,5 - 5	50 → 70
	5 - 5,5	70
Buồng tiêm mẫu		160
Detector		220

Detector ion hóa ngọn lửa.
Thể tích tiêm: 1 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu.
Tính hàm lượng % của aceton, methanol và tạp chất D theo công thức:

$$\left(\frac{C}{W}\right)\times\left(\frac{R_u}{R_s}\right)$$

Trong đó:
C là nồng độ của dung môi hữu cơ có trong dung dịch đối chiếu (µg/ml).
W là lượng cilastatin natri (mg) có trong dung dịch thử.
R_u là tỷ lệ diện tích pic dung môi hữu cơ tương ứng và diện tích pic propanol trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử.
R_s là tỷ lệ diện tích pic dung môi hữu cơ tương ứng và diện

tích pic propanol trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu.
Giới hạn:
Aceton: Không được quá 1,0 % (kl/kl);
Methanol: Không được quá 0,5 % (kl/kl);
Tạp chất D: Không được quá 0,4 % (kl/kl).

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 3. Dùng 2,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Không được quá 2,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,50 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 0,17 EU/mg (Phụ lục 13.2)
Nếu chế phẩm được dùng để sản xuất các dạng thuốc tiêm mà không có phương pháp hữu hiệu loại bỏ nội độc tố vi khuẩn thì phải đáp ứng yêu cầu của phép thử này.

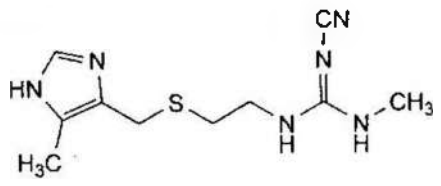
Định lượng
Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong 30 ml *methanol (TT)*, thêm 5 ml *nước*. Thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* đến khoảng pH 3,0.
Tiến hành định lượng theo phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2), dùng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Quá trình chuẩn độ trải qua ba bước nhảy điện thế. Chuẩn độ đến điểm tương đương thứ ba.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 19,02 mg của $C_{16}H_{25}N_2NaO_5S$.

Bảo quản
Đựng trong đồ bao gói kín, ở nhiệt độ không vượt quá 8 °C. Nếu chế phẩm vô khuẩn thì phải bảo quản trong bao bì kín, vô khuẩn.

Loại thuốc
Chất ức chế men dehydropeptidase-I, ức chế sự chuyển hóa imipenem ở thận.

Chế phẩm
Thuốc tiêm.

CIMETIDIN
Cimetidinum



$C_{10}H_{16}N_6S$ P.t.l: 252,3

Cimetidin là 2-cyano-1-methyl-3-[2-[[(5-methyl-1*H*-imidazol-4-yl)-methyl]sulfanyl]ethyl]guanidin, phải chứa từ 98,5 % đến 101,5 % $C_{10}H_{16}N_6S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột trắng hoặc gần như trắng. Đa hình. Tan trong ethanol 96 %, khó tan trong nước và thực tế không tan trong methylen clorid. Tan trong các acid vô cơ loãng.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của cimetidin chuẩn. Nếu phổ của chế phẩm có sự khác nhau so với phổ của cimetidin chuẩn thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và chuẩn trong *2-propanol (TT)*, bốc hơi đến khô và ghi lại phổ.
B. Điểm chảy (Phụ lục 6.7) từ 139 °C đến 144 °C. Nếu cần thiết, hòa tan chế phẩm trong *2-propanol (TT)*, bốc hơi đến khô và xác định lại điểm chảy.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}
Dung môi khai triển: Amoniac - methanol - ethyl acetat (15 : 20 : 65).
Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg cimetidin chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 3/4 bản mỏng. Làm khô bản mỏng dưới luồng không khí lạnh và đặt bản mỏng trong bình chứa iod đến khi vết tương phản tối đa và đem quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí và kích thước

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 3,0 g chế phẩm trong 12 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* và pha loãng thành 20 ml bằng *nước*. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu V_5 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Trộn 0,4 thể tích *dietylamin (TT)* với 780 thể tích *dung dịch natri hexanesulfonat 0,11 % (TT)*, điều chỉnh đến pH 2,8 bằng *acid phosphoric (TT)* sau đó thêm 250 thể tích *methanol (TT_2)*.
Pha động B: Methanol (TT_2).
Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động A. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động A.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan cimetidin chuẩn dùng để đánh giá tính phù hợp của hệ thống (chứa các tạp chất B, C, D, E, G và H) có trong 1 lọ chuẩn trong 1,0 ml pha động A.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 4 mg cimetidin chuẩn dùng để định tính pic (chứa tạp chất F) trong pha động A và pha loãng thành 10,0 ml bằng pha động A.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 1,1 ml/min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 60	100	0
60 - 65	100 → 90	0 → 10
65 - 120	90	10

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo cimetidin chuẩn dùng để đánh giá tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của các tạp chất B, C, D, E, G và H. Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo cimetidin chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của tạp chất F.
Thời gian lưu tương đối so với cimetidin (thời gian lưu khoảng 18 min): Tạp chất G khoảng 0,2; tạp chất E khoảng 0,4; tạp chất D khoảng 1,5; tạp chất C khoảng 1,6; tạp chất B khoảng 2,0; tạp chất H khoảng 2,3; tạp chất F khoảng 4,6.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất D với pic của tạp chất C ít nhất là 1,5.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng: Tạp chất C là 2,5; tạp chất D là 3,3; tạp chất E là 0,7; tạp chất G là 0,6.
Tạp chất B, C, D, E, F, G, H: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu cần, không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,25 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Methyl 3-cyano-1-[2-[[(5-methyl-1*H*-imidazol-4-yl) methyl]sulfanyl]ethyl]carbamimidothioat.
Tạp chất B: Methyl 3-cyano-1-[2-[[(5-methyl-1*H*-imidazol-4-yl) methyl]sulfanyl]ethyl]carbamimidat.
Tạp chất C: 1-[(Methylamino)[[2-[[(5-methyl-1*H*-imidazol-4-yl) methyl]sulfanyl]ethyl]amino]methyliden]ure.
Tạp chất D: 1-Methyl-3-[2-[[(5-methyl-1*H*-imidazol-4-yl) methyl]sulfanyl]ethyl]guanidin.
Tạp chất E: 2-Cyano-1-methyl-3[2-[[(5-methyl-1*H*-imidazol-4-yl) methyl]sulfinyl]ethyl]guanidin.
Tạp chất F: 2-Cyano-1,3-bis[2-[[(5-methyl-1*H*-imidazol-4-yl) methyl]sulfanyl]ethyl]guanidin.
Tạp chất G: 2-Cyano-1,3-dimethylguanidin.
Tạp chất H: 1,1'-(Disulfanediyldiethylene)bis(2-cyano-3-methyl-guanidin).
Tạp chất I: (5-Ethyl-1*H*-imidazol-4-yl)methanol.
Tạp chất J: 2-[[(5-Methyl-1*H*-imidazol-4-yl)methyl]sulfanyl] ethanamin.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 60 ml *acid acetic khan (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 25,23 mg $C_{10}H_{16}N_6S$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Đối kháng thụ thể H_2 histamin.

Chế phẩm
Viên nén, thuốc tiêm, siro, hỗn dịch uống.

VIÊN NÉN CIMETIDIN
Tabellae Cimetidini

Là viên nén hoặc viên bao phim chứa cimetidin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cimetidin, $C_{10}H_{16}N_6S$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lắc một lượng bột viên có chứa khoảng 0,1 g cimetidin với 10 ml *methanol (TT)* trong khoảng 10 min, lọc, bay hơi dịch lọc tới khô. Hòa tan cắn trong 5 ml *cloroform (TT)* và bay hơi tới khô. Sấy khô cắn ở 60 °C trong chân không. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được phải phù hợp với phổ chuẩn của cimetidin.
B. Trong phần Tạp chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (2) phải tương đương với vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (4).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển A: Amoniac - methanol - ethyl acetat (15 : 20 : 65).
Dung môi khai triển B: Amoniac - methanol - ethyl acetat (8 : 8 : 84).
Dung dịch thử (1): Lấy một lượng bột viên tương ứng 1 g cimetidin thêm 20 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm 2 min, tiếp tục lắc 3 min và lọc.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử (1) thành 10 thể tích bằng *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử (2) thành 20 thể tích bằng *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử (1) thành 100 thể tích bằng *methanol (TT)* và pha loãng 20 thể tích dung dịch thu được thành 100 thể tích bằng *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 5 thể tích dung dịch đối chiếu (2) thành 10 thể tích bằng *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (4): Dung dịch cimetidin chuẩn 0,5 % trong *methanol (TT)*.
Cách tiến hành:
A. Chấm riêng biệt lên bản mỏng 4 µl mỗi dung dịch trên. Để yên bản mỏng 15 min trong bình bão hòa hơi của dung môi khai triển A, sau đó triển khai sắc ký với hệ dung môi này. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Đặt bản mỏng vào bình có hơi iod cho tới khi xuất hiện vết và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại (254 nm).
B. Chấm riêng biệt lên bản mỏng 4 µl mỗi dung dịch trên, triển khai sắc ký với dung môi khai triển B. Lấy bản mỏng ra để khô tự nhiên. Sau đó đặt bản mỏng vào bình có hơi iod và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại 254 nm.
Đối với cả 2 cách: Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) không được đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %) và không có quá hai vết như vậy đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 % cho mỗi vết). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) cho các vết nhìn thấy rõ.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 15 min đối với viên nén và 45 min đối với viên bao.
Tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan và lọc, bỏ 10 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan để được dung dịch có nồng độ khoảng 5 µg đến 10 µg trong 1 ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 218 nm với mẫu trắng là *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*.
Tính hàm lượng cimetidin, $C_{10}H_{16}N_6S$, đã hòa tan theo A (1 %, 1 cm), lấy 774 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng (cực đại) 218 nm.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng cimetidin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong thời gian quy định.

Định lượng
Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên và nghiền thành bột mịn. Cân một lượng bột viên tương ứng 100 mg cimetidin vào bình định mức 500 ml, thêm 300 ml *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (TT)*, lắc 20 min, thêm *dung dịch acid sulfuric 0,05 M* đến định mức, lọc. Pha loãng 5 ml dịch lọc trên thành 100 ml với *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (TT)*, lắc đều. Pha dung dịch cimetidin chuẩn 0,001 % trong *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (TT)*. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử và dung dịch chuẩn ở hai bước sóng cực đại 218 nm và 260 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (TT)*.
Tính hàm lượng cimetidin, $C_{10}H_{16}N_6S$, dựa theo tỷ số của hiệu số độ hấp thụ ở 2 bước sóng cực đại của dung dịch thử so với dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{10}H_{16}N_6S$ của cimetidin chuẩn.

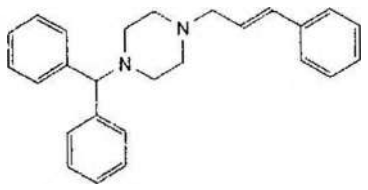
Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Đối kháng thụ thể histamin H_2.

Hàm lượng thường dùng
200 mg, 300 mg, 400 mg và 800 mg.

CINARIZIN

Cinnarizinum



$C_{26}H_{28}N_2$ P.t.l: 368,5

Cinarizin là (*E*)-1-(diphenylmethyl)-4-(3-phenylprop-2-enyl) piperazin, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{26}H_{28}N_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột màu trắng hay gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong methylen clorid, tan trong aceton, khó tan trong ethanol 96 % và methanol.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của cinarizin chuẩn.

B. Điểm nóng chảy (Phụ lục 6.7): từ 118 °C đến 122 °C.

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

Bản mỏng: Octadecylsilyl silica gel F_{254}.

Dung môi triển khai: Dung dịch natri clorid 1 M - methanol - aceton (20 : 30 : 50).

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg cinarizin chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg cinarizin chuẩn và 10 mg flunarizin hydroclorid chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch chuẩn và thử. Triển khai sắc ký trong bình không bão hòa dung môi cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng để khô tự nhiên, quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vị trí và kích thước của vết thu được từ dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) có 2 vết tách rõ ràng.

D. Hòa tan 0,2 g *acid citric khan (TT)* trong 10 ml *anhydrid acetic (TT)* bằng cách đun trong cách thủy ở 80 °C và tiếp tục để thêm 10 min. Thêm khoảng 20 mg chế phẩm, màu đỏ tía sẽ xuất hiện.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 20 ml *methylen clorid (TT)*. Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu VN_7 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Lấy 0,5 g chế phẩm thêm 15 ml *nước*, đun sôi trong 2 min. Làm lạnh và lọc. Pha loãng dịch lọc thành 20 ml bằng *nước không có carbon dioxyd (TT)* thu được dung dịch S. Lấy 10 ml dung dịch S thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* và 0,25 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (CĐ)*, dung dịch có màu hồng. Lấy 10 ml dung dịch S thêm 0,1 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)* và 0,25 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*, dung dịch có màu đỏ.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Dung dịch amoni acetat 1 % (TT).

Pha động B: Dung dịch acid acetic 0,2 % trong acetonitril (tt/tt).

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *methanol (TT)*. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng *methanol (TT)*.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 12,5 mg cinarizin chuẩn và 15,0 mg flunarizin hydroclorid chuẩn trong 100,0 ml *methanol (TT)*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng *methanol (TT)*.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (10 cm × 4,0 mm) nhồi pha tĩnh *base-deactivated octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (3 µm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 230 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Ghi chú
0 - 20	75 → 10	25 → 90	Gradient tuyến tính
20 - 25	10	90	Đẳng dòng
25 - 30	75	25	Chuyển dung môi về thành phần ban đầu
30 - 0	75	25	Bắt đầu lại chương trình gradient

(Cân bằng cột ít nhất 30 min với tỷ lệ dung môi 75 A : 25 B).

Điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao của pic chính khi tiêm dung dịch đối chiếu ít nhất khoảng 50 % của thang đo. Nếu cần, có thể điều chỉnh nồng độ dung dịch acid acetic trong pha động B để thu được đường nền phẳng.

Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, thời gian lưu của cinarizin khoảng 11 min, thời gian lưu của flunarizin khoảng 11,5 min. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa các pic của cinarizin và flunarizin ít nhất là 5. Nếu cần, có thể điều chỉnh chương trình thời gian rửa giải gradient.

Tiến hành sắc ký với mẫu trắng là *methanol (TT)*, dung dịch thử và dung dịch đối chiếu.

Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:
Bất cứ diện tích pic phụ nào, trừ pic chính, không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,25 %).
Tổng diện tích tất cả các pic phụ của dung dịch thử, trừ pic chính, không được lớn hơn 2 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (0,5 %).
Bỏ qua các pic của mẫu trắng và bất kỳ pic nào có diện tích nhỏ hơn 0,2 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 15 thể tích *nước* và 85 thể tích *aceton (TT)*. Thêm *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* đến khi tan hoàn toàn, pha loãng thành 20 ml với cùng hỗn hợp *nước - aceton* trên.
Lấy 12 ml dung dịch thu được thử theo phương pháp 2. Dùng 10 ml dung dịch chì mẫu 1 phần triệu thu được bằng cách pha loãng *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb (TT)* với hỗn hợp dung môi trên để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; áp suất giảm; 60 °C; 4 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp chuẩn độ trong môi trường khan (Phụ lục 10.6).
Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong 50 ml hỗn hợp gồm 1 thể tích *acid acetic khan (TT)* và 7 thể tích *ethyl methyl keton (TT)*. Chuẩn độ với *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, dùng 0,2 ml *dung dịch naphtholbenzein (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương ứng với 18,43 mg $C_{26}H_{28}N_2$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng histamin (H_1).

VIÊN NÉN CINARIZIN
Tabellae Cinnarizini

Là viên nén có chứa cinarizin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cinarizin, $C_{26}H_{28}N_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Lắc kỹ một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,25 g cinarizin trong 25 ml *ethanol (TT)*, đun nóng nhẹ để hòa tan. Lọc, làm bay hơi dịch lọc tới cắn, lấy cắn làm các phản ứng sau đây:
A. Lấy khoảng 20 mg cắn thêm 5 ml *ethanol (TT)*, đun nóng để hòa tan. Thêm 2 giọt *dung dịch kali hydroxyd 6,5 %*. Trộn kỹ. Thêm 2 đến 3 giọt *dung dịch kali permanganat 0,02 M*, màu tím lập tức bị biến mất.
B. Lấy khoảng 10 mg cắn, thêm vài giọt *dung dịch formaldehyd 2 %* trong *acid sulfuric (TT)*, xuất hiện màu đỏ.
C. Lấy khoảng 50 mg cắn cho vào một ống nghiệm. Đậy lên miệng ống nghiệm một miếng giấy lọc đã được thấm ướt trước với *dung dịch acid tricloracetic 2 %*, sau đó thêm 1 giọt *dung dịch p-dimethylaminobenzaldehyd 5 % trong acid hydrocloric* lên trên miếng giấy lọc đó. Đốt nóng ống nghiệm đến khi thu được một khối màu đen. Khói bay lên nhuộm giấy lọc thành màu tím.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4).
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 1000 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng 5 ml dịch lọc thành 20 ml với môi trường hòa tan. Đo độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 253 nm. Mẫu trắng là môi trường hòa tan.
Tính hàm lượng cinarizin, $C_{26}H_{28}N_2$, được hòa tan theo A (1 %, 1 cm). Lấy 575 là giá trị A (1 %, 1 cm) của cinnarizin ở bước sóng 253 nm.
Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng cinarizin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

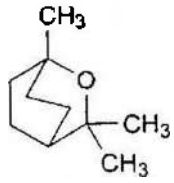
Định lượng
Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 30 mg cinarizin cho vào bình định mức 200 ml, thêm 150 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Lắc kỹ để hòa tan. Thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* vừa đủ đến vạch, trộn đều. Lọc. Lấy chính xác 5,0 ml dịch lọc cho vào bình định mức 100 ml, pha loãng với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* vừa đủ đến vạch, trộn đều.
Đo độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 253 nm, mẫu trắng là *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tính hàm lượng của cinarizin, $C_{26}H_{28}N_2$, theo A (1 %, 1 cm). Lấy 575 là giá trị A (1 %, 1 cm) của cinarizin ở bước sóng 253 nm.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng histamin (H_1).

Hàm lượng thường dùng
15 mg, 25 mg.

CINEOL
Cineolum
Eucalyptol



$C_{10}H_{18}O$ P.t.l: 154,3

Cineol là 1,3.3-trimethyl-2-oxabicyclo[2.2.2]octan.

Tính chất
Chất lỏng trong, không màu, có mùi đặc trưng. Thực tế không tan trong nước, trộn lẫn được với ethanol 96 % và dicloromethan.

Định tính
A. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Chỉ số khúc xạ.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Ethyl acetat - toluen (1 : 9).
Dung dịch thử: Lấy 1 ml dung dịch S (xem Độ trong và màu sắc của dung dịch), thêm *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ 25 ml.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 80 mg cineol chuẩn trong *ethanol 96 % (TT)* và thêm *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ 10 ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí. Phun *dung dịch anisaldehyd (TT)*. Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 5 min. Dung dịch thử phải cho vết chính có vị trí, màu sắc và kích thước tương ứng với vết chính của dung dịch đối chiếu.
C. Lấy 0,1 ml chế phẩm, thêm 4 ml *acid sulfuric đậm đặc (TT)* sẽ có màu đỏ cam. Thêm 0,2 ml *dung dịch formaldehyd (TT)*, màu chuyển sang nâu sẫm.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 2,00 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và thêm *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ 10,0 ml.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 1).

Góc quay cực
-0,10° đến +0,10° (Phụ lục 6.4).
Dùng dung dịch S để đo.

Chỉ số khúc xạ
1,456 đến 1,460 (Phụ lục 6.1).

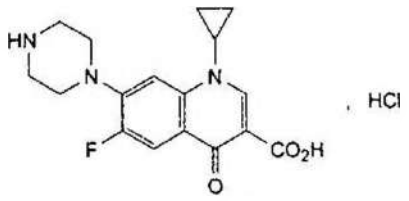
Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).
Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan 1,0 g *camphor (TT)* trong *heptan (TT)* và pha loãng thành 200 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (1): Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *heptan (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *heptan (TT)*, thêm 5,0 ml dung dịch chuẩn nội và pha loãng thành 25,0 ml bằng *heptan (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Lấy 2,0 ml dung dịch thử (1), thêm vào 20,0 ml dung dịch chuẩn nội và pha loãng thành 100,0 ml bằng *heptan (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 50 mg *1,4-cineol (TT)* và 50 mg chế phẩm trong *heptan (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột mao quản (50 m × 0,25 mm), pha tĩnh *macrogol 20 000* (phim dày 0,25 µm).
Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký.*
Tốc độ dòng: 45 cm/s.
Tỷ lệ chia dòng: 1 : 70.
Detector: Ion hóa ngọn lửa.
Nhiệt độ cột: Duy trì ở 50 °C trong 10 min, nâng nhiệt độ với tốc độ 2 °C/min lên đến 100 °C, sau đó nâng tiếp nhiệt độ với tốc độ 10 °C/min lên đến 200 °C và duy trì trong 10 min.
Nhiệt độ buồng tiêm: 220 °C.
Nhiệt độ detector: 250 °C.
Thể tích tiêm: 1 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với lần lượt các dung dịch trên.
Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic của 1,4-cineol và pic của cineol trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) ít nhất là 10.
Tính tỷ lệ R giữa diện tích của pic cineol và diện tích của pic tương ứng với chất chuẩn nội trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
Giới hạn: Trên sắc đồ của dung dịch thử (2), tính tỷ lệ giữa tổng diện tích của tất cả các pic, trừ pic chính và pic của chất chuẩn nội, và diện tích của pic tương ứng với chất chuẩn nội. Tỷ lệ này không được lớn hơn R (2 %). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,025 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Cắn sau khi bay hơi
Không được quá 0,1 %.
Cân 2,0 g chế phẩm, thêm 5 ml *nước*. Bốc hơi trên cách thủy tới khô và sấy cắn ở 100 °C đến 105 °C trong 1 h. Lượng cắn còn lại không được quá 2 mg.

Bảo quản
Trong lọ kín, tránh ánh sáng.

CIPROFLOXACIN HYDROCLORID

Ciprofloxacini hydrochloridum



$C_{17}H_{18}FN_3O_3.HCl$ P.t.l: 367,8

Ciprofloxacin hydroclorid là acid 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinolin-3-carboxylic hydroclorid, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{17}H_{18}FN_3O_3.HCl$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh màu vàng nhạt, hút ẩm nhẹ. Tan trong nước, khó tan trong methanol, rất khó tan trong ethanol, thực tế không tan trong aceton, ethyl acetat và methylen clorid.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của ciprofloxacin hydroclorid chuẩn.

B. Chế phẩm cho phản ứng định tính (B) của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Pha loãng 10 ml dung dịch S thành 20 ml với *nước không có carbon dioxyd (TT)*. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu VL_5 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

pH của dung dịch S phải từ 3,5 đến 4,5 (Phụ lục 6.2).

Acid fluoroquinolonic

Không được quá 0,2 %.

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Acetonitril - amoniac - methanol - methylen clorid (10 : 20 : 40 : 40).

Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg acid fluoroquinolonic chuẩn trong hỗn hợp gồm 0,1 ml *amoniac (TT)* và 90 ml *nước*, thêm *nước* vừa đủ 100 ml. Pha loãng 2 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng *nước*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch. Trong một bình sắc ký khác, đặt ở đáy bình một chiếc cốc miệng rộng, trong cốc có chứa 50 ml *amoniac (TT)*. Đặt bản mỏng vào bình, đậy kín bình và để bản mỏng tiếp xúc với hơi amoniac trong 15 min. Nhấc bản mỏng ra và triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Làm khô bản mỏng ngoài không khí, kiểm tra dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ dung dịch thử, vết tương ứng với acid fluoroquinolonic không được đậm màu hơn vết chính thu được từ dung dịch đối chiếu.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp gồm 13 thể tích *acetonitril (TT)* và 87 thể tích *dung dịch acid phosphoric 0,245 %* đã được điều chỉnh đến pH 3,0 bằng *triethylamin (TT)*.

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg ciprofloxacin hydroclorid dùng để định tính pic trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 278 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 50 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp hai lần thời gian lưu của ciprofloxacin.

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và thông số thời gian lưu tương đối so với ciprofloxacin để xác định các pic tạp chất.

Tiến hành sắc ký dung dịch đối chiếu (1), thời gian lưu tương đối so với ciprofloxacin (thời gian lưu khoảng 9 min) là: Tạp chất E khoảng 0,4; tạp chất F khoảng 0,5; tạp chất B khoảng 0,6; tạp chất C khoảng 0,7 và tạp chất D khoảng 1,2.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa hai pic của tạp chất B và tạp chất C ít nhất là 1,3.

Giới hạn:

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng các tạp chất, nhân diện tích pic đáp ứng của các tạp chất với hệ số sau: Tạp chất B bằng 0,7; tạp chất C bằng 0,6; tạp chất D bằng 1,4; tạp chất E bằng 6,7.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:

Các pic tương ứng với các tạp chất B, C, D và E không được có diện tích (đã hiệu chỉnh) lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).

Bất kỳ tạp chất nào khác không được có diện tích pic lớn hơn một nửa diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).

Tổng diện tích các pic tạp chất không được lớn hơn 2,5 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn hoặc bằng 0,25 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: Acid 7-cloro-1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinolin-3-carboxylic (acid fluoroquinolonic).

Tạp chất B: Acid 1-cyclopropyl-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinolin-3-carboxylic (hợp chất desfluoro).

Tạp chất C: Acid 7-[(2-aminoethyl)amino]-1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinolin-3-carboxylic (hợp chất ethylendiamin).

Tạp chất D: Acid 7-cloro-1-cyclopropyl-4-oxo-6-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinolin-3-carboxylic.

Tạp chất E: 1-cyclopropyl-6-fluoro-7-(piperazin-1-yl)quinolin-4(1*H*)-on.

Tạp chất F: Acid 1-cyclopropyl-6-hydroxy-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinolin-3-carboxylic.

Kim loại nặng

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

Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 30 ml với cùng dung môi, lọc. Lấy dịch lọc thử theo phương pháp 5. Dùng 5 ml *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Không được quá 6,7 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,200 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm trong chén platin.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan 25,0 mg ciprofloxacin hydroclorid chuẩn trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Tính hàm lượng $C_{17}H_{18}FN_3O_3.HCl$ dựa vào diện tích pic ciprofloxacin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{17}H_{18}FN_3O_3.HCl$ trong ciprofloxacin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm quinolon.

Chế phẩm

Viên nén, thuốc nhỏ mắt.

THUỐC NHỎ MẮT CIPROFLOXACIN

Collyrium Ciprofloxacini

Thuốc nhỏ mắt ciprofloxacin là dung dịch vô khuẩn của ciprofloxacin hydroclorid trong nước, có thể có thêm các tá dược thích hợp.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nhỏ mắt" (Phụ lục 1.14) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng ciprofloxacin, $C_{17}H_{18}FN_3O_3$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Methanol - dicloromethan - amoniac - acetonitril (40 : 40 : 20 : 10).

Dung dịch thử: Pha loãng chế phẩm thử trong *nước* để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 3 mg ciprofloxacin hydroclorid/ml.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch ciprofloxacin hydroclorid chuẩn trong *nước* có nồng độ 3 mg/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 3 µl mỗi dung dịch trên. Đặt bản mỏng trong bình chứa *amoniac (TT)* trong 15 min. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 chiều cao của bản sắc ký. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm và 365 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic ciprofloxacin hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

pH

4,0 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch acid phosphoric 0,025 M được điều chỉnh tới pH 3 bằng triethylamin - acetonitril (87 : 13).

Dung dịch thử: Pha loãng chính xác một thể tích dung dịch chế phẩm tương đương với 6 mg ciprofloxacin tới vừa đủ 50,0 ml bằng pha động. Lắc đều, lọc.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng ciprofloxacin hydroclorid chuẩn hòa tan trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,14 mg/ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (10 µm), nhiệt độ cột: 30 °C ± 1 °C.

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

Thể tích tiêm: 20 µl.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic ciprofloxacin trong 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng của ciprofloxacin, $C_{17}H_{18}FN_3O_3$, có trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn và dung dịch thử, và hàm lượng $C_{17}H_{18}FN_3O_3$ trong ciprofloxacin hydroclorid chuẩn.
1 mg ciprofloxacin hydroclorid, $C_{17}H_{18}FN_3O_3$.HCl, tương đương 0,9010 mg ciprofloxacin, $C_{17}H_{18}FN_3O_3$.

Bảo quản
Nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm quinolon.

Hàm lượng thường dùng
Dung dịch 0,3 %.

VIÊN NÉN CIPROFLOXACIN
Tabellae Ciprofloxacini

Là viên nén hoặc viên nén bao phim chứa ciprofloxacin hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận chung "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng ciprofloxacin, $C_{17}H_{18}FN_3O_3$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Methanol - dicloromethan - amoniac đậm đặc - acetonitril (40 : 40 : 20 : 10).
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với 100 mg ciprofloxacin với 10 ml *nước*, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan một lượng ciprofloxacin hydroclorid chuẩn trong *nước* để được dung dịch có nồng độ ciprofloxacin 10 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Trước khi triển khai, để bản mỏng vào một bình có hơi *amoniac (TT)* trong 15 min. Sau đó triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô dung môi ngoài không khí 15 min, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm và 365 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic ciprofloxacin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước cất*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc và pha loãng dịch lọc với *nước* đến nồng độ thích hợp. Đo độ hấp thụ của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 276 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm, dùng *nước* làm mẫu trắng. Song song đo độ hấp thụ của dung dịch chuẩn ciprofloxacin hydroclorid ($C_{17}H_{18}FN_3O_3$.HCl) trong *nước* có nồng độ tương đương. Tính hàm lượng ciprofloxacin, $C_{17}H_{18}FN_3O_3$, được hòa tan dựa theo hàm lượng của ciprofloxacin trong ciprofloxacin hydroclorid chuẩn.
1 mg ciprofloxacin hydroclorid, $C_{17}H_{18}FN_3O_3$.HCl, tương đương 0,9010 mg ciprofloxacin, $C_{17}H_{18}FN_3O_3$.
Yêu cầu: Không được ít hơn 80 % (Q) ciprofloxacin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

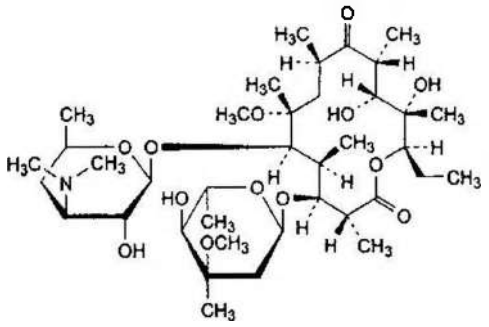
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch acid phosphoric 0,025 M được điều chỉnh đến pH 3,0 bằng triethylamin - acetonitril (87 : 13).
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 40 mg ciprofloxacin vào bình định mức 200 ml, thêm 150 ml pha động và lắc siêu âm 20 min. Pha loãng bằng pha động đến vạch, lắc đều.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng ciprofloxacin hydroclorid chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ ciprofloxacin khoảng 0,2 mg/ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), nhồi pha tĩnh C (5 µm), cột Nucleosil 120-C18 là phù hợp.
Nhiệt độ cột: 40 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 278 nm.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký dung dịch chuẩn, hiệu lực của cột xác định trên pic chính có số đĩa lý thuyết không dưới 2500, hệ số đối xứng không lớn hơn 2 và độ lệch chuẩn tương đối của 6 lần tiêm nhắc lại dung dịch chuẩn không lớn hơn 1,5 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Tính hàm lượng ciprofloxacin, $C_{17}H_{18}FN_3O_3$, có trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của ciprofloxacin trong ciprofloxacin hydroclorid chuẩn.
1 mg ciprofloxacin hydroclorid, $C_{17}H_{18}FN_3O_3$.HCl, tương đương 0,9010 mg ciprofloxacin, $C_{17}H_{18}FN_3O_3$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm quinolon.

Hàm lượng thường dùng
250 mg, 500 mg, 750 mg.

CLARITHROMYCIN
Clarithromycinum



$C_{38}H_{69}NO_{13}$ P.t.l: 748,0

Clarithromycin là (3*R*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,11*R*,12*R*,13*S*,-14*R*)-4-[(2,6-dideoxy-3-*C*-methyl-3-*O*-methyl-α-L-*ribo*-hexopyranosyl)oxy]-14-ethyl-12,13-dihydroxy-7-methoxy-3,5,7,9,11,13-hexamethyl-6-[[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)-β-D-*xylo*-hexopyranosyl] oxy] oxacyclotetradecan-2,10-dion (6-*O*-methylerythromycin A), phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{38}H_{69}NO_{13}$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, tan trong aceton và methylen clorid, khó tan trong methanol.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của clarithromycin chuẩn.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Dung dịch S phải trong hoặc không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu số II (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn dung dịch màu mẫu V_7 (Phụ lục 9.3).

Góc quay cực riêng
Từ -94° đến -102°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Dung dịch có chứa *kali dihydrophosphat* 0,476 %, điều chỉnh đến pH 4,4 bằng *dung dịch acid phosphoric loãng (TT)* hoặc bằng *dung dịch kali hydroxyd* 4,5 %. Lọc qua màng lọc C18.
Pha động B: Acetonitril (TT).
Dung dịch thử: Hòa tan 75,0 mg chế phẩm trong 25 ml *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan khoảng 75,0 mg clarithromycin chuẩn trong 25 ml *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml bằng hỗn hợp đồng thể tích của *acetonitril (TT)* và *nước*.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 10,0 ml bằng hỗn hợp đồng thể tích của *acetonitril (TT)* và *nước*.
Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan khoảng 15,0 mg hỗn hợp các tạp chuẩn của clarithromycin trong 5,0 ml *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch mẫu trắng: Pha loãng 25,0 ml *acetonitril (TT)* thành 50,0 ml bằng *nước*, trộn đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là *octadecylsilyl silica gel* (3,5 µm).
Nhiệt độ cột: 40 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 205 nm.
Tốc độ dòng: 1,1 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 32	75 → 40	25 → 60
32 - 34	40	60
34 - 36	40 → 75	60 → 25
36 - 42	75	25

Tiến hành sắc ký với dung dịch mẫu trắng, dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (2), (3) và (4).
Định tính các tạp chất: Dùng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của tạp chất G và H.
Thời gian lưu tương đối so với clarithromycin (thời gian lưu khoảng 11 min): Tạp chất I khoảng 0,38; của tạp chất A khoảng 0,42; của tạp chất J khoảng 0,63; tạp chất L khoảng 0,74; tạp chất B khoảng 0,79; tạp chất M khoảng 0,81; tạp chất C khoảng 0,89; của tạp chất D khoảng 0,96; của tạp chất N khoảng 1,15; của tạp chất E khoảng 1,27, tạp chất F khoảng 1,33; tạp chất P khoảng 1,35; tạp chất O khoảng 1,41; tạp chất K khoảng 1,59; tạp chất G khoảng 1,72 và tạp chất H khoảng 1,82.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), hệ số đối xứng không được quá 1,7 đối với pic của clarithromycin. Trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (4), tỷ số đỉnh - hõm (H_P/H_V) ít nhất bằng 3,0, trong đó H_P là chiều cao tính từ đường nền của pic tạp

chất D và H_V là chiều cao tính từ đường nền đến điểm thấp nhất của đường cong phân tách giữa pic tạp chất D và pic của clarithromycin.

Giới hạn:

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

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

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

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

Ghi chú:

Tạp chất A: Clarithromycin F.

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

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

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

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

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

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

Tạp chất H: 3''-*N*-demethyl-3'-*N*-formyl-6-*O*-methyl-erythromycin A.

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

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

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

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

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

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

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

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

Kim loại nặng

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

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

Nước

Không được quá 2,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,500 g chế phẩm.

Tro sulfat

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

Dùng 0,5 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.

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

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

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm macrolid.

Chế phẩm

Viên nén, nang, bột pha hỗn dịch uống.

NANG CLARITHROMYCIN

Capsulae Clarithromycini

Là nang cứng chứa clarithromycin.

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

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

Định tính

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

Nước

Không được quá 6,0 %.

Cân chính xác khoảng 0,25 g bột thuốc, sấy trong chân không dưới áp suất 5 mmHg ở 110 °C trong 3 h (Phụ lục 9.6).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

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

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

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 30 min.

Cách tiến hành:

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, *dung dịch chuẩn*, và *điều kiện sắc ký* thực hiện như trong phần Định lượng.

Dung dịch thử: Lấy 1 phần môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng một lượng chính xác dịch lọc với pha động để được dung dịch có nồng độ clarithromycin khoảng 125 µg/ml.

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

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hỗn hợp của *methanol (TT)* và *dung dịch kalidihydrophosphat 0,067 M* (65 : 35), điều chỉnh đến pH 4,0 bằng *acid phosphoric (TT)*. Điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.
Dung dịch thử: Cân 20 nang thuốc, tính khối lượng trung bình bột thuốc trong nang, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với 0,2 g clarithromycin vào bình định mức 50 ml, thêm khoảng 35 ml *methanol (TT)*, lắc trong 30 min rồi thêm *methanol (TT)* tới định mức, để lắng. Lấy đúng 3,0 ml dịch ở trên thêm pha động vừa đủ 100,0 ml, trộn đều.
Dung dịch chuẩn: Pha clarithromycin chuẩn trong *methanol (TT)*, lắc, siêu âm nếu cần để có dung dịch gốc có nồng độ clarithromycin chuẩn chính xác khoảng 625 µg/ml. Pha loãng 10,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml bằng pha động, trộn đều.
Dung dịch phân giải: Pha tạp chất E chuẩn của clarithromycin (6,11-đi-*O*-methylerythromycin A, $C_{39}H_{71}NO_{13}$) trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 625 µg/ml. Lấy 10,0 ml dung dịch này và 10,0 ml dung dịch chuẩn vào bình định mức 50 ml, thêm pha động vừa đủ đến vạch và trộn đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột duy trì ở khoảng 50 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống ký: Triển khai sắc ký đối với dung dịch phân giải, thời gian lưu tương đối của clarithromycin khoảng 0,75 và của tạp chất E là 1,0. Độ phân giải giữa hai pic clarithromycin và tạp chất E phải không nhỏ hơn 2,0.
Triển khai sắc ký đối với dung dịch chuẩn, xác định trên pic clarithromycin, số đĩa lý thuyết của cột không được nhỏ hơn 750; hệ số đối xứng không nhỏ hơn 0,9 và không lớn hơn 2,0; độ lệch chuẩn tương đối của 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.
Triển khai sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng clarithromycin, $C_{38}H_{69}NO_{13}$, có trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{38}H_{69}NO_{13}$ trong clarithromycin chuẩn.

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

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm macrolid.

Hàm lượng thường dùng
250 mg, 500 mg.

VIÊN NÉN CLARITHROMYCIN
Tabellae Clarithromycini

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

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

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

Nước
Không được quá 6,0 %.
Cân chính xác khoảng 0,25 g bột viên, sấy trong chân không dưới áp suất 5 mmHg ở 110 °C trong 3 h (Phụ lục 9.6).

Độ hoà tan (Phụ lục 11.4)
Môi trường hoà tan: 900 ml *dung dịch đệm natri acetat 0,1 M*.
Dung dịch đệm natri acetat 0,1 M: Hoà tan 13,61 g *natri acetat trihydrat (TT)* trong 1000 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 5,0 bằng *acid acetic 0,1 M (TT)*.
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành:
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, dung dịch chuẩn và *điều kiện sắc ký* thực hiện như trong phần Định lượng.
Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu, pha loãng dịch lọc với pha động để thu được dung dịch có nồng độ clarithromycin khoảng 125 µg/ ml.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng clarithromycin, $C_{38}H_{69}NO_{13}$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hỗn hợp của *methanol (TT)* và *dung dịch kali dihydrophosphat 0,067 M* (65 : 35), điều chỉnh đến pH 4,0 bằng *acid phosphoric (TT)*. Điều chỉnh tỷ lệ dung môi nếu cần.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 0,2 g clarithromycin vào bình định mức 50 ml, thêm khoảng 35 ml *methanol (TT)*, lắc trong 30 min rồi thêm *methanol (TT)* vừa đủ, để lắng. Lấy 3,0 ml dịch ở trên thêm pha động vừa đủ 100,0 ml, trộn đều.
Dung dịch chuẩn: Pha chính xác một lượng clarithromycin chuẩn trong *methanol (TT)*, lắc, siêu âm nếu cần để có dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 625 µg/ml. Pha loãng 10,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml bằng pha động, trộn đều.

Dung dịch phân giải: Pha tạp chất E chuẩn của clarithromycin (6,11-di-*O*-methylerythromycin A, $C_{39}H_{71}NO_{13}$) trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 625 µg/ml. Lấy 10,0 ml dung dịch này và 10,0 ml dung dịch chuẩn vào bình định mức 50 ml, thêm pha động đến vạch và trộn đều.

Điều kiện sắc ký:

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

Nhiệt độ cột duy trì ở khoảng 50 °C.

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, thời gian lưu tương đối của clarithromycin khoảng 0,75 và của tạp chất E là 1,0. Độ phân giải giữa pic của clarithrromycin và tạp chất E phải không nhỏ hơn 2,0.

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, xác định trên pic clarithromycin, số đĩa lý thuyết của cột không được nhỏ hơn 750, hệ số đối xứng không nhỏ hơn 0,9 và không lớn hơn 2,0 độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic clarithromycin của 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.

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

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

Bảo quản

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

Loại thuốc

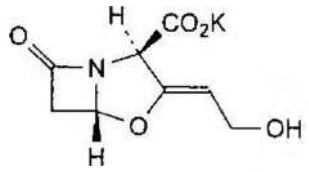
Kháng sinh nhóm macrolid.

Hàm lượng thường dùng

250 mg, 500 mg.

CLAVULANAT KALI

Kalii clavulanas



$C_8H_8KNO_5$ P.t.l: 237,3

Clavulanat kali là kali (2*R*,3*Z*,5*R*)-3-(2-hydroxyethyliden)-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylat, dạng muối kali của chế phẩm được tạo thành bằng cách nuôi cấy một số chủng *Streptomyces clavuligerus* hoặc bằng các phương pháp khác, phải chứa từ 96,5 % đến 102,0 % $C_8H_8KNO_5$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng, dễ hút ẩm. Dễ tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %, rất khó tan trong aceton.

Sản xuất

Phương pháp sản xuất, chiết xuất và tinh chế sao cho clavam-2-carboxylat không có hoặc không vượt quá 0,01 %.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của clavulanat kali chuẩn.

B. Chế phẩm phải cho phản ứng (B) của ion kali (Phụ lục 8.1).

pH

5,5 đến 8,0 (Phụ lục 6.2).

Dung dịch S: Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Pha loãng 5 ml dung dịch S thành 10 ml bằng *nước không có carbon dioxyd (TT)* để đo.

Góc quay cực riêng

Từ +53° đến +63°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4). Dùng dung dịch S để đo.

Độ hấp thụ

Tối đa là 0,40 ở bước sóng 278 nm (Phụ lục 4.1).

Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *dung dịch đệm phosphat 0,1 M pH 7,0* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thu được ngay lập tức.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Dung dịch natri dihydrophosphat 0,78 %, đã được điều chỉnh đến pH 4,0 bằng *acid phosphoric (TT)* và lọc qua màng lọc 0,5 µm.

Pha động B: Pha động A - methanol (1 : 1).

Chuẩn bị các dung dịch trước khi dùng.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động A.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 10 mg clavulanat lithi chuẩn và 10 mg amoxicilin trihydrat chuẩn bằng pha động A và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

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

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 → 4	100	0
4 → 15	100 → 50	0 → 50
15 → 18	50	50
18 → 24	50 → 100	50 → 0
24 → 39	100	0

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa pic thứ nhất (clavulanat) và pic thứ 2 (amoxicilin) ít nhất là 13.

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

Bất kỳ một tạp chất nào không được có diện tích lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %).

Tổng diện tích các pic tạp chất không được lớn hơn 2 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2,0 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn hoặc bằng 0,05 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,05 %).

Các amin mạch thẳng

Không được quá 0,2 %.

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Phương pháp dưới đây có thể dùng để xác định các amin mạch thẳng sau: 1,1-dimethylethylamin; diethylamin; *N,N,N',N'*-tetramethylethylendiamin; 1,1,3,3-tetramethylbutylamin; *N,N'*-diisopropylethylendiamin; 2,2'-oxydi(*N,N*)-dimethylethylamin.

Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan 50 µl *3-methylpentan-2-on* trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử: Cân 1,00 g chế phẩm vào ống ly tâm. Thêm 5,0 ml dung dịch chuẩn nội, 5,0 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*, 10,0 ml *nước*, 5,0 ml *2-methylpropanol (TT)* và 5 g *natri clorid (TT)*. Lắc mạnh trong 1 min. Ly tâm để tách lớp. Lấy lớp trên.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 80,0 mg mỗi chất sau: 1,1-dimethylethylamin (Tạp chất H); diethylamin (Tạp chất I); *N, N, N', N'*-tetramethylethylendiamin (Tạp chất J); 1,1,3,3-tetramethylbutylamin (Tạp chất K); *N,N'*-diisopropylethylendiamin (Tạp chất L) và 2,2'-oxybis(*N,N*-dimethylethylamin) (Tạp chất M) trong *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và pha loãng thành 200,0 ml với cùng dung môi. Hút 5,0 ml dung dịch này vào ống ly tâm. Thêm 5,0 ml dung dịch chuẩn nội, 10,0 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*, 5,0 ml *2-methylpropanol (TT)* và 5 g *natri clorid (TT)*. Lắc mạnh trong 1 min. Ly tâm để tách lớp. Lấy lớp trên.

Điều kiện sắc ký:

Cột silica nung chảy (50 m × 0,53 mm), được phủ pha tĩnh là *poly(dimethyl)(diphenyl) siloxan (TT)* (bề dày phim 5 µm).

Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký khí.*

Tốc độ dòng: 8 ml/min.

Tỷ lệ chia dòng: 1 : 10.

Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
	0 - 7	35
Cột	7 - 10,8	35 → 150
	10,8 - 25,8	150
Buồng tiêm		200
Detector		250

Detector ion hóa ngọn lửa.

Thể tích tiêm: 1 µl.

Cách tiến hành:

Thời gian lưu tương đối so với 3-methylpentan-2-on (thời gian lưu khoảng 11,4 min): Tạp chất H khoảng 0,55; tạp chất I khoảng 0,76; tạp chất J khoảng 1,07; tạp chất K khoảng 1,13; tạp chất L khoảng 1,33; tạp chất M khoảng 1,57.

Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của các pic tương ứng với các pic tạp chất không được lớn hơn diện tích của pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Acid 2-ethylhexanoic

Không được quá 0,8 % (Phụ lục 10.17).

Nước

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Thử vô khuẩn

Nếu chế phẩm dùng cho sản xuất thuốc tiêm phân liều mà không tiến hành tiệt khuẩn thì phải đạt yêu cầu phép Thử vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

Nội độc tố vi khuẩn

Không được quá 0,03 EU/mg. Nếu chế phẩm dùng cho sản xuất thuốc tiêm phân liều mà không tiến hành loại bỏ nội độc tố thì phải đạt yêu cầu phép thử Nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Methanol - dung dịch đệm phosphat pH 4,0 (hòa tan 15 g *natri dihydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 4,0 bằng *dung dịch acid phosphoric loãng)* (5 : 95).

Chỉ pha các dung dịch sau khi dùng.

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *dung dịch natri acetat 0,41 %* đã được điều chỉnh đến pH 6,0 bằng *acid acetic băng (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan 50,0 mg clavulanat lithi chuẩn trong *dung dịch natri acetat 0,41 %* đã được điều chỉnh đến pH 6,0 bằng *acid acetic băng (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 50,0 mg clavulanat lithi chuẩn và 50,0 mg amoxicilin trihydrat chuẩn trong *dung dịch natri acetat 0,41 %* được điều chỉnh đến pH 6,0 bằng *acid acetic băng (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (30 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là *octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa pic thứ nhất (clavulanat) và pic thứ hai (amoxicilin) ít nhất là 3,5.

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

1 mg clavulanat ($C_8H_9NO_5$) tương đương với 1,191 mg $C_8H_8KNO_5$.

Tính hàm lượng clavulanat $C_8H_9NO_5$ dựa vào diện tích pic clavulanat trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_8H_9NO_5$ trong clavulanat lithi chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C. Nếu chế phẩm vô khuẩn thì bảo quản trong bao gói kín khí và vô khuẩn.

Ghi nhãn

Ghi nhãn thuốc vô khuẩn và không có nội độc tố vi khuẩn, nếu chế phẩm đáp ứng các yêu cầu này.

Loại thuốc

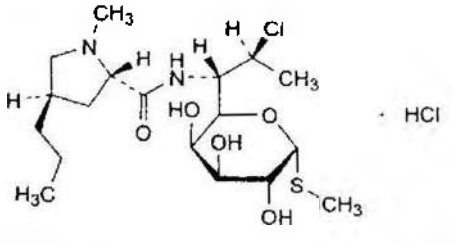
Thuốc ức chế beta-lactamase.

Chế phẩm

Viên nén bột pha hỗn dịch, thuốc tiêm kết hợp với amoxicilin.

CLINDAMYCIN HYDROCLORID

Clindamycini hydrochloridum



$C_{18}H_{33}ClN_2O_5S.HCl$ P.t.l: 461,5

Clindamycin hydroclorid là methyl 7-cloro-6,7,8-trideoxy-6-[[[(2*S*,4*R*)-1-methyl-4-propylpyrrolidin-2-yl]carbonyl] amino]-1-thio-L-threo-D-galacto-octopyranosid hydroclorid, phải chứa từ 84,0 % đến 93,0 % clindamycin, $C_{18}H_{33}ClN_2O_5S$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của clindamycin hydroclorid chuẩn.

B. Hòa tan 10 mg chế phẩm trong 2 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và đun nóng trong cách thủy 3 min. Thêm 3 ml *dung dịch natri carbonat 10 % (TT)* và 1 ml *dung dịch natri nitroprusiat 2 % (TT)*, màu đỏ tía xuất hiện.

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

Bản mỏng: Silica gel G (TT).

Dung môi khai triển: Isopropanol - dung dịch amoni acetat 15 % đã điều chỉnh đến pH 9,6 bằng amoniac - ethyl acetat (20 : 40 : 45). Trộn đều, để yên cho tách lớp và sử dụng lớp trên.

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg clindamycin hydroclorid chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg clindamycin hydroclorid chuẩn và 10 mg lincomycin hydroclorid chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra để bay hơi hết dung môi ngoài không khí. Phun *dung dịch kali permanganat 0,1 %*. Vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) cho hai vết tách khỏi nhau rõ rệt.

D. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được cho phản ứng A của clorid (Phụ lục 8.1).

pH

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được có pH từ 3,0 đến 5,0 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ +135° đến +150°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4). Hòa tan 1,000 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Định lượng.

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50,0 mg clindamycin hydroclorid chuẩn trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của pic clindamycin.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), thời gian lưu tương đối so với pic của clindamycin (thời gian lưu khoảng 10 min): Tạp chất A (lincomycin) khoảng 0,4; tạp chất B (clindamycin B) khoảng 0,65; tạp chất C (7-epiclindamycin) khoảng 0,8.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:
Tạp chất B: Diện tích của pic tương ứng với clindamycin B không được lớn hơn diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (2,0 %).
Tạp chất C: Diện tích của pic tương ứng với 7-epiclindamycin không được lớn hơn hai lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (4,0 %).
Diện tích pic của bất kỳ tạp chất liên quan nào khác ngoài hai tạp chất trên không được lớn hơn 1/2 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất liên quan không được lớn hơn 3 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (6,0 %).
Bỏ qua tất cả các pic có diện tích pic bằng 0,025 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Nước
Từ 3,0 % đến 6,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,500 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm phosphat pH 7,5: Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước* và điều chỉnh pH của dung dịch thu được đến 7,5 bằng *dung dịch kali hydroxyd 25 %*.
Pha động: *Dung dịch đệm phosphat pH 7,5 - acetonitril* (550 : 450). Tỷ lệ này có thể được điều chỉnh nếu cần (lưu ý: Tăng tỷ lệ acetonitril trong pha động sẽ làm giảm thời gian lưu, giảm tỷ lệ này sẽ làm tăng độ phân giải giữa 7- epiclindamycin và clindamycin).
Dung dịch thử: Sử dụng Dung dịch thử trong phần Tạp chất liên quan.
Dung dịch chuẩn: Sử dụng Dung dịch đối chiếu (1) trong phần Tạp chất liên quan.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích của pic clindamycin thu được giữa 6 lần sắc ký lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 0,85 %.
Tiến hành sắc ký dung dịch chuẩn và dung dịch thử với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của clindamycin.
Tính hàm lượng clindamycin từ các diện tích của pic clindamycin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và từ hàm lượng clindamycin, $C_{18}H_{33}ClN_2O_5S$, trong clindamycin hydroclorid chuẩn.

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

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm lincosamid.

Chế phẩm
Thuốc nang.

NANG CLINDAMYCIN
Capsulae Clindamycini

Là nang cứng có chứa clindamycin hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng clindamycin, $C_{18}H_{33}ClN_2O_5S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn

Định tính
A. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với pic clindamycin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
B. Phải có phản ứng đặc trưng của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Nước
Không được quá 7,0 %.
Dùng khoảng 1,00 g bột thuốc (Phụ lục 10.3).

Độ hoà tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hoà tan: 900 ml *đệm phosphat chuẩn pH 6,8 (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành: Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động và *điều kiện sắc ký* thực hiện như trong phần Định lượng.
Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ dịch lọc đầu.
Dung dịch chuẩn: Pha dung dịch clindamycin hydroclorid chuẩn trong *nước* có nồng độ tương tự như dung dịch thử.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng clindamycin, $C_{18}H_{33}ClN_2O_5S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

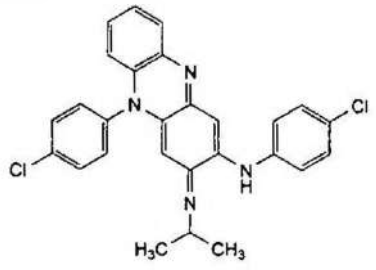
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - dung dịch A (30 : 21).
Dung dịch A: Hoà tan 2,88 g *amoni dihydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*, điều chỉnh tới pH 3,0 bằng *dung dịch acid phosphoric 80 %* .
Dung dịch thử: Cân thuốc trong 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong một nang, nghiền thành bột mịn, trộn đều. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 50 mg clindamycin hydroclorid chuyển vào bình định mức 25 ml, thêm 20 ml pha động, lắc siêu âm để hòa tan, thêm pha động tới vạch. Lắc đều và lọc.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg clindamycin hydroclorid chuẩn hòa tan trong pha động vừa đủ 25,0 ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, số đĩa lý thuyết của cột phải không ít hơn 1300.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng clindamycin, $C_{18}H_{33}ClN_2O_5S$, có trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{18}H_{33}ClN_2O_5S$ trong clindamycin hydroclorid chuẩn.

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

Loại thuốc
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
75 mg, 150 mg và 300 mg (tính theo clindamycin).

CLOFAZIMIN
Chlofaziminum



$C_{27}H_{22}Cl_2N_4$ P.t.l: 473,4

Clofazimin là *N*,5-bis(4-clorophenyl)-3-[(1-methylethyl) imono]-3,5-dihydrophenazin-2-amin, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{27}H_{22}Cl_2N_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột mịn màu nâu đỏ, đa hình. Thực tế không tan trong nước, tan trong methylen clorid, rất khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của clofazimin chuẩn. Nếu phổ của chế phẩm khác so với phổ của clofazimin chuẩn thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và chuẩn trong *methylen clorid (TT)*, bốc hơi đến khô và ghi lại phổ của các cắn thu được.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Propanol - methylen clorid (6 : 85).
Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg clofazimin chuẩn trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được khoảng 2/3 bản mỏng. Để khô bản mỏng bằng cách đặt bản mỏng nằm ngang ngoài không khí trong 5 min. Tiếp tục triển khai sắc ký lần thứ 2 đến khi dung môi đi được khoảng 2/3 bản mỏng, để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí và kích thước.
C. Hòa tan 2 mg chế phẩm trong 3 ml *aceton (TT)*, thêm 0,1 ml *acid hydrocloric (TT)*, màu tím đậm được tạo thành. Thêm 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 5 M (TT)*, dung dịch chuyển sang màu đỏ cam.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.
Pha động: Hòa tan 2,25 g *natri lauryl sulfat (TT)*; 0,85 g *tetrabutylamoni hydrosulfat (TT)* và 0,885 g *dinatri hydrophosphat (TT)* trong *nước*. Điều chỉnh đến pH 3,0 bằng *dung dịch acid phosphoric 10 % (TT)* và pha loãng thành 500 ml bằng *nước*. Trộn 35 thể tích dung dịch thu được và 65 thể tích *acetonitril (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5,0 mg clofazimin chuẩn dùng để đánh giá tính phù hợp của hệ thống trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của clofazimin.
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo clofazimin chuẩn dùng để đánh giá tính phù hợp của hệ thống để xác định pic của tạp chất B.
Thời gian lưu tương đối so với clofazimin (thời gian lưu khoảng 15 min): Tạp chất A khoảng 0,7; tạp chất B khoảng 0,8.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), pic của tạp chất B phải tách khỏi pic của clofazimin đến tận đường nền.
Giới hạn:
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).
Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).
Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: *N*,5-bis(4-Clorophenyl)-3-imino-3,5-dihydro-phenazin-2-amin.
Tạp chất B: 5-(4-Clorophenyl)-3-[(1-methylethyl)imino]-*N*-phenyl-3,5-dihydrophenazin-2-amin.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 2,0 g chế phẩm tiến hành thử theo Phương pháp 3. Dùng 2,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong 5 ml *methylen clorid (TT)*, thêm 20 ml *aceton (TT)* và 5 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 47,34 mg $C_{27}H_{22}Cl_2N_4$.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Điều trị bệnh phong.

Chế phẩm
Nang.

NANG CLOFAZIMIN
Capsulae Clofazimini

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

Hàm lượng clofazimin, $C_{27}H_{22}Cl_2N_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phép thử Tạp chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có giá trị R_f tương ứng với vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
B. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử và dung dịch chuẩn trong mục Định lượng phải có cùng bước sóng hấp thụ cực đại và cực tiểu khi tiến hành đo đồng thời.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}. Trước khi sử dụng, đặt bản mỏng vào bình sắc ký khác đã có sẵn một cốc chứa một lớp mỏng khoảng 25 ml *dung dịch amoniac*. Đậy nắp kín khoảng 30 min (chú ý không để bản mỏng tiếp xúc với dung dịch amoniac).
Dung dịch amoniac: Lấy 1 ml *amoniac (TT)* pha loãng thành 100 ml bằng *nước*, trộn đều (sử dụng trong ngày).
Dung môi khai triển: Methylen clorid - propan-1-ol (10 : 1)
Các dung dịch đối chiếu: Hòa tan một lượng clofazimin chuẩn trong *methylen clorid (TT)* để được dung dịch đối chiếu (1) có nồng độ khoảng 0,2 mg/ml. Pha loãng dung dịch đối chiếu (1) với *methylen clorid (TT)* để được dung dịch đối chiếu (2) và (3) có nồng độ tương ứng khoảng 0,1 mg/ml và 0,04 mg/ml.
Dung dịch thử: Lấy một lượng bột thuốc trong nang tương ứng 500 mg clofazimin, thêm 25 ml *methylen clorid (TT)* và 25 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M*, lắc siêu âm khoảng 30 min. Lấy lớp methylen clorid và lọc qua *natri sulfat khan (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, ngoài vết chính không được có vết phụ nào lớn hơn hoặc đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %) và tổng độ đậm của các vết phụ trên sắc ký đồ của dung dịch thử khi so sánh với các vết của các dung dịch đối chiếu không được lớn hơn 2,0 %.

Định lượng

Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang, trộn đều và nghiền thành bột mịn. Hòa tan một lượng bột thuốc đã được cân chính xác với *methylen clorid (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 0,075 mg/ml, lọc. Lấy 5,0 ml dịch lọc pha loãng thành 50,0 ml với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M trong methanol (TT)*, lắc đều.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng cân chính xác clofazimin chuẩn trong *methylen clorid (TT)* để được dung dịch chuẩn có nồng độ khoảng 0,075 mg/ml. Lấy 5,0 ml dung dịch thu được pha loãng thành 50,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M trong methanol (TT)*, lắc đều.

Dung dịch mẫu trắng: Lấy 5 ml *methylen clorid (TT)* cho vào bình định mức 50 ml, thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M trong methanol (TT)* đến vạch, lắc đều.

Đo độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn ở bước sóng cực đại khoảng 491 nm (Phụ lục 4.1), trong cốc đo dày 1 cm, với dung dịch mẫu trắng chuẩn bị ở trên.

Tính lượng clofazimin, $C_{27}H_{22}Cl_2N_4$, có trong nang dựa vào độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của clofazimin chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc trị bệnh phong.

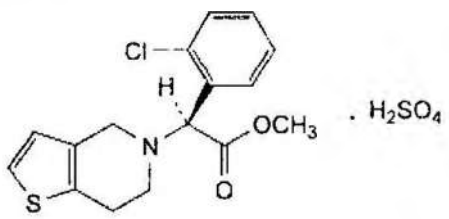
Hàm lượng thường dùng

50 mg.

CLOPIDOGREL HYDROSULFAT

Clopidogreli hydrogenosulfas

Clopidogel bisulfat



$C_{16}H_{16}ClNO_2S.H_2SO_4$ P.t.l: 419,9

Clopidogrel hydrosulfat là methyl (*2S*)-(2-clorophenyl) [6,7-dihydrothieno[3,2-*c*]pyridin-5(4*H*)-yl]acetatsulfat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{16}H_{16}ClNO_2S.H_2SO_4$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột màu trắng hay gần như trắng. Đa hình. Dễ tan trong nước và trong methanol, thực tế không tan trong cyclohexan.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B, D.

Nhóm II: A, C, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của clopidogrel hydrosulfat chuẩn.

Nếu so sánh phổ có sự sai khác thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và chất chuẩn trong *ethanol khan (TT)*, bốc hơi các dung dịch đến khô và ghi lại phổ mới của các cắn thu được (hoạt chất có thể dính vào bề mặt của dụng cụ sử dụng).

B. Góc quay cực riêng từ +54,0° đến +58,0°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

C. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Tạp chất đồng phân đối quang.

D. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của sulfat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu V_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 1).

Tạp chất đồng phân đối quang

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Ethanol khan - heptan (15 : 85).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 25,0 ml *ethanol khan (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng *heptan (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg clopidogrel chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký (có chứa tạp chất B và C) trong 2,5 ml *ethanol khan (TT)* và pha loãng thành 5,0 ml bằng *heptan (TT)*.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là *silica gel OJ dùng để tách các đồng phân đối quang* (10 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.

Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 1,25 lần thời gian lưu của clopidogrel.

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo clopidogrel chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu để xác định pic của tạp chất B và tạp chất C.

Thời gian lưu tương đối so với clopidogrel (thời gian lưu khoảng 18 min): tạp chất C khoảng 0,6; tạp chất B khoảng 0,7.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu, độ phân giải giữa pic của tạp chất C với pic của tạp chất B ít nhất là 2,0 và tỷ số tín hiệu trên nhiễu ít nhất là 20 đối với pic tạp chất C.
Giới hạn:
Tạp chất C không được quá 0,5 %.
Ghi chú:
Tạp chất C: Methyl (2*R*)-(2-clorophenyl)[6,7-dihydrothieno [3,2-*c*]pyridin-5(4*H*)-yl]acetat.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Trộn 5 thể tích *methanol (TT)* với 95 thể tích *dung dịch natri pentansulfonat monohydrat* - H_2SO_4 ½ *(TT)* đã được điều chỉnh đến pH 2,5 bằng *acid* H_2SO_4 *c (TT).*
Pha động B: Methanol (TT) - acetonitril (TT) (5 : 95).
Dung môi pha mẫu: Pha động A - acetonitril (TT) (40 : 60).
Dung dịch thử: Hòa tan 65 mg chế phẩm trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg tạp chất A chuẩn của clopidogrel trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 32 mg clopidogrel chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (có chứa tạp chất B và C) trong dung môi pha mẫu, thêm 0,5 ml dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng dung môi pha mẫu. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 3,9 mm) được nhồi pha tĩnh là *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Nhiệt độ cột: 30 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 3	89,5	10,5
3 - 48	89,5 → 31,5	10,5 → 68,5
48 - 68	31,5	68,5

Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2) và (3).
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo clopidogrel chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất A và tạp chất B.
Thời gian lưu tương đối so với clopidogrel (thời gian lưu khoảng 25 min): tạp chất A khoảng 0,4; tạp chất B khoảng 1,1.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), tỷ số đỉnh - hõm (H_p/H_v) ít nhất là 10; trong đó H_p là chiều cao đỉnh pic tạp chất B so với đường nền và H_v là chiều cao tính từ đường nền lên đến đáy hõm giữa pic tạp chất B và pic clopidogrel.
Giới hạn:
Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,3 %).
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,2 %).
Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,5 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid (2*S*)-(2-clorophenyl)[6,7-dihydrothieno[3,2-*c*] pyridin-5(4*H*)-yl]acetic.
Tạp chất B: Methyl (2*S*)-(2-clorophenyl)[4,7-dihydrothieno [2,3-*c*]pyridin-6(5*H*)-yl]acetat.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 1,00 g chế phẩm. Thay dung môi sau mỗi lần chuẩn độ.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,160 g chế phẩm trong một hỗn hợp gồm 10 ml *aceton (TT)*, 10 ml *methanol (TT)* và 30 ml *nước*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Tủa có thể tạo thành trong quá trình chuẩn độ.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 20,99 mg của $C_{16}H_{18}ClNO_6S_2$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Ức chế kết tập tiểu cầu.

Chế phẩm
Thuốc viên nén.

VIÊN NÉN CLOPIDOGREL
Tabellae Clopidogreli

Là viên nén hay viên nén bao phim chứa clopidogrel bisulfat. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng clopidogrel, $C_{16}H_{16}ClNO_2S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Cân một lượng bột viên tương ứng với 75 mg clopidogrel và hòa tan trong vừa đủ 100 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Lắc đều, lọc. Pha loãng 10 ml dịch lọc thành 50 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được đo trong khoảng 250 nm đến 300 nm phải tương ứng với phổ của dung dịch clopidogrel bisulfat đối chiếu có cùng nồng độ clopidogrel, pha trong cùng dung môi.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic clopidogrel trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Pha loãng dịch lọc thu được với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ thích hợp. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 240 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. Tính hàm lượng clopidogrel, $C_{16}H_{16}ClNO_2S$, hòa tan trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ của dung dịch clopidogrel chuẩn được pha bằng cách hòa tan một lượng chính xác clopidogrel bisulfat chuẩn trong 20,0 ml *methanol (TT)* và tiếp tục pha loãng trong môi trường hòa tan đến nồng độ tương đương nồng độ clopidogrel của dung dịch thử.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng clopidogrel, $C_{16}H_{16}ClNO_2S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

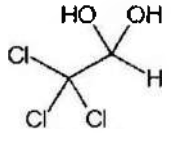
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm pH 7,0: Hòa tan 5,75 g *amoni dihydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*, điều chỉnh pH đến 7,0 bằng *triethylamin (TT)*.
Pha động: *Acetonitril - dung dịch đệm pH 7,0* (65 : 35).
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg clopidogrel bisulfat chuẩn hòa tan trong *methanol (TT)* và thêm *methanol (TT)* vừa đủ 50,0 ml. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với pha động.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 75 mg clopidogrel vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm trong 10 min, thêm *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều và lọc. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) hoặc cột tương đương, được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký 6 lần riêng biệt đối với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic clopidogrel không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng clopidogrel, $C_{16}H_{16}ClNO_2S$, có trong viên dựa vào diện tích pic clopidogrel trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{16}ClNO_2S$ trong clopidogrel bisulfat chuẩn.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, để nơi khô mát, nhiệt độ không quá 30 °C, tránh ẩm.

Loại thuốc
Ức chế kết tập tiểu cầu.

Hàm lượng thường dùng
75 mg. Hàm lượng tính theo clopidogrel.

CLORAL HYDRAT
Clorali hydras



$C_2H_3Cl_3O_2$ P.t.l: 165,4

Cloral hydrat là 2,2,2-tricloroethan-1,1-diol, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_2H_3Cl_3O_2$.

Tính chất
Tinh thể trong suốt, không màu, mùi đặc biệt, vị cay. Rất tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.
A. Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, hỗn hợp trở nên đục và khi đun nóng có mùi cloroform.
B. Lấy 1 ml dung dịch S, thêm 2 ml *dung dịch natri sulfit*

(TT) màu vàng xuất hiện và nhanh chóng trở nên nâu đỏ. Để yên trong một thời gian ngắn, tủa đỏ có thể xuất hiện.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3. phương pháp 2).

pH
pH của dung dịch S phải từ 3,5 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Pha loãng 10 ml dung dịch S thành 20 ml bằng *nước*. Lấy 12 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Clorid
Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.4.5).
Pha loãng 5 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Cloral alcolat
Đun nóng 1,0 g chế phẩm với 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, lọc và thêm từng giọt *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)* cho tới khi xuất hiện màu vàng. Để yên 1 h, không được xuất hiện tủa.

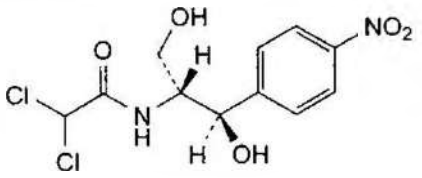
Cắn không bay hơi
Không được quá 0,1 %.
Bốc hơi 2,000 g chế phẩm trên cách thủy. Khối lượng cắn không được quá 2 mg.

Định lượng
Hòa tan 4,000 g chế phẩm trong 10 ml *nước* và thêm 40,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ)*. Để yên chính xác 2 min và chuẩn độ bằng *dung dịch acid sulfuric 1 N (CĐ)*, dùng 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* làm chỉ thị. Chuẩn độ dung dịch đã trung hòa với *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)*, dùng 0,2 ml *dung dịch kali cromat (TT)* làm chỉ thị. Tính số ml *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ)* đã dùng bằng cách lấy thể tích *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ)* cho vào lúc bắt đầu chuẩn độ trừ đi thể tích *dung dịch acid sulfuric 1 N (CĐ)* đã dùng trong lần chuẩn độ đầu tiên và hai phần mười lăm thể tích *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* dùng trong lần chuẩn độ thứ hai.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ)* tương đương với 165,4 mg $C_2H_3Cl_3O_2$.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc
Thuốc ngủ.

CLORAMPHENICOL
Chloramphenicolum



$C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ P.t.l: 323,1

Cloramphenicol là 2,2-dicloro-*N*-[(1*R*,2*R*)-2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)-2-(4-nitrophenyl)ethyl] acetamid, được điều chế bằng cách nuôi cấy một số chủng *Streptomyces venezuelae* trong môi trường thích hợp và thường được sản xuất bằng phương pháp tổng hợp. Chế phẩm phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng, trắng xám hoặc trắng vàng hay tinh thể hình kim hoặc phiến dài. Khó tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 % và trong propylen glycol.
Dung dịch trong ethanol thì hữu tuyền, trong ethyl acetat thì tả tuyền.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B.
Nhóm II: B, C, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của cloramphenicol chuẩn.
B. Điểm chảy từ 149 °C đến 153 °C (Phụ lục 6.7).
C. Trong phần Tạp chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ của 1 µl dung dịch thử phải tương đương với vết chính của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí và kích thước.
D. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 1 ml *ethanol 50 %*, thêm 3 ml *dung dịch calci clorid 1 %* và 50 mg *bột kẽm (TT)*, đun nóng trên cách thủy 10 min. Lọc dung dịch nóng và để nguội. Thêm 0,1 ml *benzoyl clorid (TT)* và lắc 1 min. Thêm 0,5 ml *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)* và 2 ml *cloroform (TT)*, lắc. Lớp nước có màu đỏ tím nhạt đến đỏ tía.
E. Lấy 50 mg chế phẩm vào chén sứ, thêm 0,5 g *natri carbonat khan (TT)*, đốt trên ngọn lửa trong 10 min, để nguội. Hòa tan cắn bằng 5 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* và lọc. Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 ml *nước*, dung dịch này phải cho phản ứng (A) của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Giới hạn acid - kiềm
Lắc 0,1 g chế phẩm với 20 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)*. Không quá 0,1 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,02 N (CĐ)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)* được dùng để làm chuyển màu của chỉ thị.

Góc quay cực riêng
Từ +18,5° đến +20,5° (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 1,50 g chế phẩm trong *ethanol (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Không được quá 0,5%.
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - nước (90 : 10 : 1).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *aceton (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,10 g cloramphenicol chuẩn trong *aceton (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 0,5 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100 ml bằng *aceton (TT)*.
Cách tiến hành:
Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl và 20 µl dung dịch thử, 1 µl dung dịch đối chiếu (1) và 20 µl dung dịch đối chiếu (2). Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Làm khô bản mỏng ngoài không khí, kiểm tra dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ thu được từ 20 µl dung dịch thử không được đậm màu hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).

Clorid
Không được quá 100 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).
Lấy 1,00 g chế phẩm, thêm 20 ml *nước* và 10 ml *acid nitric (TT)*, lắc trong 5 min. Lọc qua giấy lọc đã được rửa bằng cách lọc nhiều lần, mỗi lần với 5 ml *nước* cho đến khi 5 ml dịch lọc không bị đục khi thêm 0,1 ml *acid nitric (TT)* và 0,1 ml *dung dịch bạc nitrat 4,25 % (TT)*. Lấy 15 ml dịch lọc đem thử.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,0 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 2,0 g chế phẩm.

Chất gây sốt
Nếu chế phẩm dùng để pha chế thuốc tiêm truyền mà không xử lý loại chất gây sốt thì phải đạt yêu cầu phép Thử chất gây sốt (Phụ lục 13.4).
Tiêm 2,5 ml dung dịch chế phẩm trong *nước* có nồng độ 2 mg/ml cho mỗi kg cân nặng thỏ.

Định lượng
Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 500,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *nước*. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được tại bước sóng cực đại 278 nm. Tính hàm lượng $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ theo A (1 %, 1 cm), lấy 297 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 278 nm.

Bảo quản
Tránh ánh sáng. Nếu chế phẩm là vô khuẩn, bảo quản trong đồ đựng kín, tránh nhiễm khuẩn.

Nhãn
Phải quy định rõ điều kiện bảo quản. Phải ghi rõ nếu chế phẩm không có chất gây sốt.

Loại thuốc
Kháng khuẩn.

Chế phẩm
Viên nén, nang, thuốc nhỏ mắt.

NANG CLORAMPHENICOL
Capsulae Chloramphenicoli

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

Hàm lượng cloramphenicol, $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Lấy một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với khoảng 0,1 g cloramphenicol, lắc với 10 ml *ethanol (TT)*, lọc và bay hơi dịch lọc đến khô. Cắn thu được dùng trong các phép thử sau:
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - nước (90 : 10 : 1).
Dung dịch thử: Dung dịch 1 % cắn trong *ethanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch cloramphenicol chuẩn 1 % trong *ethanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản sắc ký ra và để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ, vết chính của dung dịch thử phải có giá trị R_f tương ứng với vết của dung dịch đối chiếu.
B. Hòa tan 10 mg cắn thu được trong 2 ml *ethanol 50 % (TT)*, thêm 4,5 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)*, 50 mg *kẽm bột (TT)* để yên 10 min, gạn lớp chất lỏng ở trên hoặc lọc nếu cần thiết. Làm lạnh dung dịch thu được trong nước đá, thêm 0,5 ml *dung dịch natri nitrit 10 % (TT)*, sau 2 min thêm 1 g *ure (TT)*, 1 ml *dung dịch 2-naphtol trong kiềm (TT)* và 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)*, màu đỏ xuất hiện. Làm lại thí nghiệm này không có bột kẽm, dung dịch sẽ không có màu đỏ.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.

Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy dịch hòa tan, lọc, bỏ dịch lọc đầu, pha loãng nếu cần. Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 278 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm, dùng môi trường hòa tan làm mẫu trắng. Tính lượng cloramphenicol, $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$, đã hòa tan trong mỗi nang theo A (1 %, 1 cm), lấy 297 là giá trị A (1 %, 1 cm) của cloramphenicol ở cực đại hấp thụ 278 nm.
Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng cloramphenicol, $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

2-Amino-1-(4-nitrophenyl) propan-1,3-diol
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch natri pentansulfonat 0,21 % - acetonitril - acid acetic băng (85 : 15 : 1).
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột thuốc trong nang đã trộn đều và nghiền mịn tương ứng với khoảng 40 mg cloramphenicol hòa tan với 100 ml pha động, lắc 10 min để hòa tan, thêm pha động vừa đủ 200,0 ml, trộn đều và lọc.
Dung dịch đối chiếu: Chứa 0,0002 % của 2-amino-1-(4-nitrophenyl) propan-1,3-diol chuẩn trong pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (Nucleosil C18 là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 272 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic nào tương ứng với 2-amino-1-(4-nitrophenyl) propan-1,3-diol không được lớn hơn diện tích của pic tương ứng trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu.

Định lượng
Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình bột thuốc trong nang. Trộn đều và nghiền thành bột mịn. Cân một lượng bột thuốc tương ứng với 40 mg cloramphenicol, thêm 4 ml *ethanol (TT)*, lắc đều, pha loãng với *nước* trong bình định mức 200 ml tới vạch. Lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu, lấy chính xác 10,0 ml dịch lọc pha loãng với *nước* vừa đủ 100,0 ml. Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 278 nm trong cốc dày 1 cm, mẫu trắng là *nước*. Tính hàm lượng cloramphenicol theo A (1 %, 1 cm), lấy 297 là giá trị A (1 %, 1 cm) của cloramphenicol ở cực đại 278 nm.

Bảo quản
Đựng trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
250 mg.

THUỐC NHỎ MẮT CLORAMPHENICOL
Collyrium Chloramphenicoli

Là dung dịch vô khuẩn của cloramphenicol trong nước. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nhỏ mắt" (Phụ lục 1.14) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cloramphenicol, $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong suốt, không màu.

Định tính
Lấy một thể tích dung dịch chứa khoảng 50 mg cloramphenicol vào bình lăng gạn, thêm 15 ml *nước*. Chiết 4 lần, mỗi lần 25 ml *ether (TT)*. Gộp các dịch chiết rồi để bay hơi đến khô. Cắn thu được làm các phép thử sau:
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - nước (90 : 10 : 1).
Dung dịch thử: Dung dịch 1 % cắn trong *ethanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch cloramphenicol chuẩn 1 % trong *ethanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản sắc ký ra và để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ, vết chính của dung dịch thử phải có giá trị R_f tương ứng với vết của dung dịch đối chiếu.
B. Hòa tan 10 mg cắn thu được trong 2 ml *ethanol 50 % (TT)*, thêm 4,5 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)*, 50 mg *kẽm bột (TT)* để yên 10 min, gạn lớp chất lỏng ở trên hoặc lọc nếu cần thiết. Làm lạnh dung dịch thu được trong nước đá, thêm 0,5 ml *dung dịch natri nitrit 10 % (TT)*, sau 2 min thêm 1 g *ure (TT)*. 1 ml *dung dịch 2-naphtol trong kiềm (TT)* và 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)*, màu đỏ xuất hiện. Làm lại thí nghiệm này không có bột kẽm, dung dịch sẽ không có màu đỏ.

pH
Từ 7,0 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).

2-Amino-1-(4-nitrophenyl)propan-1,3-diol
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch natri pentansulfonat 0,21 % - acetonitril - acid acetic băng (85 : 15 : 1).
Dung dịch thử: Pha loãng một thể tích chế phẩm với pha động để thu được dung dịch có chứa cloramphenicol 0,050 %.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch 2-amino-1-(4-nitrophenyl)propan-1,3-diol chuẩn 0,0040 % trong pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (Cột Nucleosil C18 là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 272 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic nào tương ứng với 2-amino-1-(4-nitrophenyl) propan-1,3-diol không được lớn hơn diện tích của pic tương ứng trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu.

Định lượng
Lấy chính xác một thể tích chế phẩm có chứa 20 mg cloramphenicol và pha loãng với *nước* thành 200,0 ml. Lấy 10,0 ml dung dịch này cho vào bình định mức 100 ml, thêm *nước* vừa đủ đến vạch. Lắc kỹ và đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 278 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm, dùng *nước* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng của cloramphenicol, $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$, theo A (1 %, 1 cm). Lấy 297 là giá trị A (1 %, 1 cm) của cloramphenicol ở cực đại 278 nm.

Bảo quản
Trong bao bì kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
0,4 %, 0,5 %.

THUỐC NHỎ TAI CLORAMPHENICOL
Auricularia Chloramphenicoli

Thuốc nhỏ tai cloramphenicol là dung dịch của cloramphenicol trong một dung môi thích hợp.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nhỏ tai và thuốc xịt vào tai" (Phụ lục 1.16) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cloramphenicol, $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Chất lỏng trong suốt, không màu đến màu vàng nhạt.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - nước (90 : 10 : 1).
Dung dịch thử: Pha loãng một thể tích chế phẩm có chứa khoảng 100 mg cloramphenicol với 10 ml *ethanol 96 % (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch cloramphenicol chuẩn 1 % trong *ethanol 96 % (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản sắc ký ra và để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ, vết chính của dung dịch thử phải tương đương với vết chính của dung dịch đối chiếu.
B. Pha loãng một thể tích chế phẩm có chứa khoảng 50 mg cloramphenicol với 10 ml *ethanol 50 % (TT)*. Lấy 2 ml dung dịch thu được thêm 4,5 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)*, 50 mg *kẽm bột (TT)*, để yên 10 min, gạn lớp chất lỏng ở trên hoặc lọc nếu cần thiết. Làm lạnh dung dịch thu được trong nước đá, thêm 0,5 ml *dung dịch natri nitrit 10 % (TT)*, sau 2 min thêm 1 g *ure (TT)*, 1 ml *dung dịch 2-naphtol trong kiềm (TT)* và 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)*, màu đỏ xuất hiện. Làm lại thí nghiệm này không có bột kẽm, dung dịch sẽ không có màu đỏ.

2-Amino-1-(4-nitrophenyl)propan-1,3-diol
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch natri pentansulfonat 0,21 % - acetonitril - acid acetic băng (85 : 15 : 1).
Dung dịch thử: Pha loãng một thể tích chế phẩm với pha động để thu được dung dịch có chứa cloramphenicol 0,050 %.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch 2-amino-1-(4-nitrophenyl) propan-1,3-diol chuẩn 0,0025 % trong pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (Cột Nucleosil C18 là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 272 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic nào tương ứng với 2-amino-1-(4-nitrophenyl) propan-1,3-diol không được lớn hơn diện tích của pic tương ứng trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu.

Định lượng
Lấy chính xác một thể tích chế phẩm có chứa 25 mg cloramphenicol và pha loãng với *nước* thành 250,0 ml. Lấy 10,0 ml dung dịch này cho vào bình định mức 100 ml, thêm *nước* vừa đủ đến vạch, trộn đều. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 278 nm, cốc đo dày 1 cm, dùng *nước* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng của cloramphenicol, $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$, theo A (1 %, 1 cm). Lấy 297 là giá trị A (1 %, 1 cm) của cloramphenicol ở cực đại 278 nm.

Bảo quản
Trong đồ đựng thích hợp, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
0,25 %.

VIÊN NÉN CLORAMPHENICOL
Tabellae Chloramphenicoli

Là viên nén chứa cloramphenicol.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cloramphenicol, $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,1 g cloramphenicol, lắc với 10 ml *ethanol (TT)*. Lọc, bay hơi dịch lọc đến khô. Cắn thu được dùng trong các phép thử sau:
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - nước (90 : 10 : 1).
Dung dịch thử: Dung dịch 1 % cắn trong *ethanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch cloramphenicol chuẩn 1 % trong *ethanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản sắc ký ra và để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ, vết chính của dung dịch thử phải có giá trị R_f tương ứng với vết của dung dịch đối chiếu.
B. Hòa tan 10 mg cắn thu được trong 2 ml *ethanol 50 % (TT)*, thêm 4,5 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)*, 50 mg *kẽm bột (TT)* để yên 10 min, gạn lớp chất lỏng ở trên hoặc lọc nếu cần thiết. Làm lạnh dung dịch thu được trong nước đá, thêm 0,5 ml *dung dịch natri nitrit 10 % (TT)*, sau 2 min thêm 1 g *ure (TT)*. 1 ml *dung dịch 2-naphtol trong kiềm (TT)* và 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)*, màu đỏ xuất hiện. Làm lại thí nghiệm này không có bột kẽm, dung dịch sẽ không có màu đỏ.

Độ hòa tan
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy dịch hòa tan, lọc, bỏ dịch lọc đầu, pha loãng nếu cần. Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 278 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm, dùng môi trường hòa tan làm mẫu trắng. Tính lượng cloramphenicol, $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$, đã hòa tan trong mỗi nang theo A (1 %, 1 cm), lấy 297 là giá trị A (1 %, 1 cm) của cloramphenicol ở cực đại hấp thụ 278 nm.
Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng cloramphenicol, $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

2-Amino-1-(4-nitrophyl) propan-1,3-diol
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch natri pentansulfonat 0,21 % - acetonitril - acid acetic băng (85 : 15 : 1).
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 40 mg cloramphenicol, hòa tan với 100 ml pha động, lắc 10 min để hòa tan, thêm pha động vừa đủ 200,0 ml, trộn đều và lọc.
Dung dịch đối chiếu: Chứa 0,0002 % của 2-amino-1-(4-nitrophenyl) propan-1,3-diol chuẩn trong pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (Nucleosil C18 là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 272 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic nào tương ứng với 2-amino-1-(4-nitrophenyl) propan-1,3-diol không được lớn hơn diện tích của pic tương ứng trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu.

Định lượng
Phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến (Phụ lục 4.1).
Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, nghiền mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng khoảng 40 mg cloramphenicol, thêm 4 ml *ethanol (TT)*, lắc đều, pha loãng với *nước* trong bình định mức 200 ml tới vạch. Lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu, lấy chính xác 10,0 ml dịch lọc pha loãng với *nước* vừa đủ 100,0 ml. Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 278 nm trong cốc dày 1 cm, mẫu trắng là *nước*. Tính hàm lượng cloramphenicol theo A (1 %, 1 cm), lấy 297 là giá trị A (1 %, 1 cm) của cloramphenicol ở cực đại 278 nm.

Bảo quản
Đựng trong bao bì kín, để nơi khô ráo, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
250 mg.

KEM CLORAMPHENICOL VÀ DEXAMETHASON NATRI PHOSPHAT
Cremoris Chloramphenicoli et Dexamethasoni natrii phosphas

Là kem bôi da có chứa cloramphenicol và dexamethason natri phosphat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc mềm dùng trên da và niêm mạc" (Phụ lục 1.12) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cloramphenicol, $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$, từ 90,0 % đến 130,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng dexamethason natri phosphat, $C_{22}H_{28}FNa_2O_8P$, từ 90,0 % đến 115,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Kem màu trắng ngà, thể chất mềm, mịn, đồng nhất.

Định tính

Chuyển một lượng chế phẩm có chứa khoảng 50 mg cloramphenicol vào bình gạn bằng 50 ml *ether (TT)*, thêm 10 ml *nước*, lắc kỹ rồi để phân lớp hoàn toàn. Chiết thêm 3 lần nữa, mỗi lần 25 ml *ether (TT)*. Gộp các dịch chiết ether rồi để bay hơi đến khô. Cắn thu được dùng trong phép thử A, dung dịch nước dùng trong phép thử B như sau:

A. Định tính cloramphenicol

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - nước (90 : 10 : 1).

Dung dịch thử: Dung dịch 1 % cắn trong *ethanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch cloramphenicol chuẩn 1 % trong *ethanol (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản sắc ký ra và để khô ngoài không khí. Quan sát dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ, vết chính của dung dịch thử phải có giá trị R_f tương ứng với vết của dung dịch đối chiếu.

B. Định tính dexamethason natri phosphat

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Butanol - acid acetic băng - nước (60 : 20 : 20).

Dung dịch thử: Pha loãng dung dịch thu được ở trên, nếu cần, với *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ dexamethason natri phosphat 0,05 % trong *methanol (TT)*

Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch dexamethason natri phosphat 0,05 % trong *methanol (TT)* .

Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch chứa dexamethason natri phosphat 0,05 % và prednisolon natri phosphat 0,05 % trong *methanol (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Sấy bản mỏng ở 110 °C trong 10 min, phun lên bản mỏng còn đang nóng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT)* và sấy ở 120 °C trong 10 min. Để nguội, quan sát bản mỏng dưới ánh sáng ban ngày và dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Trên sắc ký đồ, bằng cả hai cách quan sát, vết chính của dung dịch thử phải tương ứng với vết của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí, kích thước và màu sắc. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) có 2 vết, tuy nhiên 2 vết này có thể không tách nhau hoàn toàn.

C. Trong phần Định lượng, sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho 2 pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic cloramphenicol và pic dexamethason natri phosphat thu được từ sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch kali dihydrophosphat 0,01 M - methanol (55 : 45). Điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.

Dung dịch chuẩn (được pha ngay khi dùng): Hòa tan dexamethason natri phosphat chuẩn và cloramphenicol chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ chính xác lần lượt khoảng 20 µg/ml với dexamethason natri phosphat và 20C µg/ml với cloramphenicol (C là tỉ lệ lượng ghi trên nhãn của cloramphenicol và dexamethason natri phosphat), lọc.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng chế phẩm tương ứng với khoảng 10 mg dexamethason natri phosphat vào cốc có mỏ 200 ml, thêm 70 ml *methanol (TT)*, đặt trong cách thủy sôi, thỉnh thoảng lắc cho tan, chuyển vào bình định mức dung tích 100 ml đã có sẵn 20 ml *methanol (TT)*. Để nguội về nhiệt độ phòng, thêm *methanol (TT)* tới vạch, lắc đều. Chuyển 10,0 ml dung dịch này vào bình định mức 50 ml, thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm), cột Nucleosil C18 là thích hợp.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm cho cloramphenicol và 254 nm cho dexamethason natri phosphat.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic thu được từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %. Hệ số phân giải của pic cloramphenicol và pic dexamethason natri phosphat không được nhỏ hơn 2,5.

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

Tính hàm lượng cloramphenicol, $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$, và dexamethason natri phosphat, $C_{22}H_{28}FNa_2O_8P$, có trong 1 g chế phẩm dựa vào các diện tích pic chloramphenicol và dexamethason natri phosphat thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ trong cloramphenicol chuẩn và hàm lượng $C_{22}H_{28}FNa_2O_8P$ trong dexamethason natri phosphat chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh, chống viêm dùng ngoài da.

Hàm lượng thường dùng

Dexamethason natri phosphat 0,05 %.

Cloramphenicol 2 %.

THUỐC NHỎ MẮT CLORAMPHENICOL VÀ DEXAMETHASON NATRI PHOSPHAT

Collyrium Chloramphenicoli et Dexamethasoni natrii phosphas

Là dung dịch vô khuẩn của cloramphenicol và dexamethason natri phosphat trong nước cất pha tiêm.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nhỏ mắt" (Phụ lục 1.14) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cloramphenicol, $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$, từ 90,0 % đến 130,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng dexamethason natri phosphat, $C_{22}H_{28}FNa_2O_8P$, từ 90,0 % đến 115,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu.

Định tính
Lấy một thể tích dung dịch chứa khoảng 50 mg cloramphenicol vào bình gạn. Chiết 4 lần, mỗi lần 25 ml *ether (TT)*. Gộp các dịch chiết ether rồi để bay hơi đến khô. Cắn thu được dùng trong phép thử A, dung dịch nước dùng trong phép thử B như sau:
A. Định tính cloramphenicol.
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - nước (90 : 10 : 1).
Dung dịch thử: Dung dịch 1 % cắn trong *ethanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch cloramphenicol chuẩn 1 % trong *ethanol (TT)*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra và để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ, vết chính của dung dịch thử phải có giá trị R_f tương ứng với vết của dung dịch đối chiếu.
B. Định tính dexamethason natri phosphat.
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Butanol - acid acetic băng - nước (60 : 20 : 20).
Dung dịch thử: Pha loãng dung dịch nước thu được ở trên, nếu cần, với *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ dexamethason natri phosphat 0,05 % trong *methanol (TT)*
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch dexamethason natri phosphat 0,05 % trong *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch chứa dexamethason natri phosphat 0,05 % và prednisolon natri phosphat 0,05 % trong *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Sấy bản mỏng ở 110 °C trong 10 min, phun lên bản mỏng còn đang nóng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT)* và sấy ở 120 °C trong 10 min. Để nguội, quan sát bản mỏng dưới ánh sáng ban ngày và dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Trên sắc ký đồ, bằng cả hai cách quan sát, vết chính của dung dịch thử phải tương ứng với vết của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí, kích thước và màu sắc. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) có 2 vết, tuy nhiên 2 vết này có thể không tách nhau hoàn toàn.
C. Trong phần Định lượng, sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho 2 pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic cloramphenicol và pic dexamethason natri phosphat thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

pH
Từ 6,5 đến 8,0 (Phụ lục 6.2).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch kali dihydrophosphat 0,01 M - methanol (55 : 45). Điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.
Dung dịch chuẩn (được pha ngay khi dùng): Hòa tan dexamethason natri phosphat chuẩn và cloramphenicol chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ chính xác lần lượt khoảng 100 µg/ml với dexamethason natri phosphat và 400 µg/ml với cloramphenicol, lọc.
Dung dịch thử: Lấy chính xác một lượng chế phẩm tương ứng với khoảng 10 mg dexamethason natri phosphat pha loãng thành 100 ml bằng pha động và trộn đều, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm), cột Nucleosil C18 là thích hợp.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic thu được từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %. Hệ số phân giải của cloramphenicol và dexamethason natri phosphat không được nhỏ hơn 2,5 (cloramphenicol ra trước).
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Tính hàm lượng cloramphenicol, $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$, và dexamethason natri phosphat, $C_{22}H_{28}FNa_2O_8P$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic cloramphenicol và dexamethason natri phosphat thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng của cloramphenicol, $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$, trong cloramphenicol chuẩn và hàm lượng của dexamethason natri phosphat, $C_{22}H_{28}FNa_2O_8P$, trong dexamethason natri phosphat chuẩn.

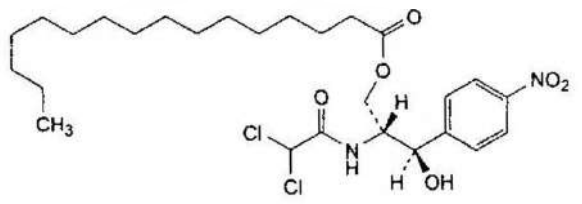
Bảo quản
Trong bao bì kín. Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh, chống viêm.

Hàm lượng thường dùng
0,4 % cloramphenicol và 0,1 % dexamethason natri phosphat.

CLORAMPHENICOL PALMITAT

Chloramphenicoli palmitas



$C_{27}H_{42}Cl_2N_2O_6$ P.t.l: 561,6

Cloramphenicol palmitat là (2*R*,3*R*)-2-[(dichloroacetyl)-amino]-3-hydroxy-3-(4-nitrophenyl)propyl hexadecanoat, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{27}H_{42}Cl_2N_2O_6$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột mịn màu trắng hoặc gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong aceton, hơi tan trong ethanol 96 %, rất khó tan trong n-hexan.

Khoảng nóng chảy từ 87 °C đến 95 °C.

Có tính đa hình. Dạng bền với nhiệt có sinh khả dụng thấp khi dùng đường uống.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel H đã được silan hóa.

Dung môi khai triển: Dung dịch có chứa 10,0 % amoni acetat - ethanol 96 % (30 : 70).

Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong hỗn hợp gồm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* và 5 ml *aceton (TT)*, để yên trong 30 min. Thêm 1,1 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* và 3 ml *aceton (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg cloramphenicol chuẩn trong *aceton (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg *acid palmitic (TT)* trong *aceton (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10 mg chế phẩm trong *aceton (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 4 µl các dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Làm khô bản mỏng ngoài không khí, phun lên bản mỏng *dung dịch diclorofluorescein 0,02 %* và *dung dịch rhodamin B 0,01 % trong ethanol 96 %*. Để khô bản mỏng ngoài không khí, kiểm tra dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ dung dịch thử cho ba vết tương ứng với các vết chính của các dung dịch đối chiếu (1), (2) và (3).

B. Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong 2 ml *pyridin (TT)*, thêm 2 ml *dung dịch kali hydroxyd 10 % (TT)*. Đun nóng trên cách thủy, màu đỏ tạo thành.

C. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 5 ml *ethanol 96 % (TT)*, thêm 4,5 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)* và 50 mg *bột kẽm (TT)*. Để yên trong 10 min, gạn lấy dịch trong hoặc lọc nếu cần. Làm lạnh dung dịch trong nước đá và thêm 0,5 ml *dung dịch natri nitrit 10 % (TT)*. Để yên 2 min, thêm 1 g *ure (TT)*, 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)* và 1 ml *dung dịch β-naphtol (TT)*. Màu đỏ tạo thành.

Giới hạn acid

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 5 ml hỗn hợp đồng thể tích *ethanol 96 % (TT)* và *ether (TT)*, làm ấm đến 35 °C. Thêm 0,2 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)*. Không quá 0,4 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* được dùng để tạo màu hồng bền vững trong 30 s.

Góc quay cực riêng

Từ +22,5° đến +25,5° (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 1,25 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Cloramphenicol tự do

Không được quá 450 phần triệu.

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 80 ml *xylen (TT)* bằng cách đun nóng nhẹ. Làm nguội, chiết ba lần, mỗi lần với 15 ml *nước*. Gộp các dịch chiết nước và pha loãng thành 50 ml với *nước* và lắc với 10 ml *toluen (TT)*. Để yên cho tách lớp, gạn bỏ lớp toluen. Lấy lớp nước đem ly tâm và đo độ hấp thụ A (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 278 nm. Mẫu trắng được chuẩn bị như trên, song không có chế phẩm. Độ hấp thụ của mẫu trắng không được lớn hơn 0,05.

Hàm lượng cloramphenicol tự do (phần triệu) được tính theo công thức:

$$\frac{A \times 10^4}{5,96}$$

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Cyclohexan - cloroform - methanol (50 : 40 : 10).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *aceton (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg cloramphenicol palmitat isomer chuẩn trong *aceton (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng *aceton (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 20 mg cloramphenicol dipalmitat chuẩn trong *aceton (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng *aceton (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5 mg cloramphenicol chuẩn trong *aceton (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng *aceton (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl dung dịch thử và các dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Làm khô bản mỏng ngoài không khí, kiểm tra dưới ánh sáng đèn tử ngoại

ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, các vết tương ứng với cloramphenicol palmitat isomer và cloramphenicol dipalmitat không được đậm màu hơn các vết của dung dịch đối chiếu (1) và (2) (2,0 %). Bất kỳ vết phụ nào ngoài vết chính và các vết tương ứng với cloramphenicol palmitat isomer, cloramphenicol dipalmitat không được đậm màu hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,5 %).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 80 °C; phosphor pentoxyd; áp suất không quá 0,1 kPa; 3 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

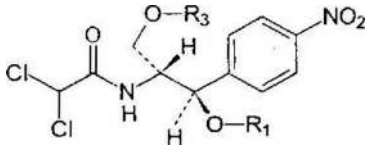
Định lượng
Hòa tan 90,0 mg chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch này thành 250,0 ml với *ethanol 96 % (TT)*. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được tại bước sóng cực đại 271 nm.
Tính hàm lượng $C_{27}H_{42}Cl_2N_2O_6$ theo A (1 %, 1 cm), lấy 178 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 271 nm.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh.

Chế phẩm
Viên nén, nang, bột pha hỗn dịch uống.

CLORAMPHENICOL NATRI SUCCINAT
Chloramphenicoli natrii succinas



Đồng phân 1: R1 = CO-CH_2-CH_2-CO_2Na, R3 =H
Đồng phân 3: R1 = H, R3 = CO-CH_2-CH_2-CO_2Na

$C_{15}H_{15}Cl_2N_2NaO_8$ P.t.l: 445,2

Cloramphenicol natri succinat là hỗn hợp với tỷ lệ khác nhau của natri (2*R*,3*R*)-2-[(dicloroacetyl)amino]-3-hydroxy-3-(4-nitrophenyl)propyl butandioat (đồng phân 3) và natri (1*R*,2*R*)-2-[(dicloroacetyl)amino]-3-hydroxy-1-(4-nitrophenyl)propyl butandioat (đồng phân 1), phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{15}H_{15}Cl_2N_2NaO_8$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột màu trắng hoặc trắng hơi vàng, hút ẩm. Rất tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Dung dịch acid acetic 2 M - methanol - cloroform (1 : 14 : 85).
Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong 2 ml *aceton (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg cloramphenicol natri succinat chuẩn trong 2 ml *aceton (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 20 mg cloramphenicol chuẩn trong 2 ml *aceton (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl các dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Làm khô bản mỏng ngoài không khí, kiểm tra dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ dung dịch thử cho hai vết chính có vị trí và kích thước tương ứng với các vết chính của dung dịch đối chiếu (1) và có vị trí khác với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).
B. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 1 ml *ethanol 50 %*, thêm 3 ml *dung dịch calci clorid 1 %* và 50 mg *bột kẽm (TT)*, đun nóng trên cách thủy trong 10 min. Lọc dung dịch nóng, làm nguội. Thêm 0,1 ml *benzoyl clorid (TT)* và lắc trong 1 min. Thêm 0,5 ml *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)* và *2 ml cloroform (TT)* và lắc. Lớp chất lỏng phía trên có màu đỏ tím nhạt đến màu đỏ tía.
C. Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 1 ml *pyridin (TT)*, thêm 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)* và 1,5 ml *nước*. Đun nóng trong cách thủy trong 3 min, màu đỏ tạo thành. Thêm 2 ml *acid nitric (TT)* và làm nguội bằng cách cho dòng nước chảy qua. Thêm 1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 M (TT)*, kết tủa màu trắng được tạo thành.
D. Chế phẩm cho phản ứng (A) của ion natri (Phụ lục 8.1).

pH
Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. pH của dung dịch thu được phải từ 6,4 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng
Từ +5,0° đến +8,0° tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Cloramphenicol và cloramphenicol dinatri disuccinat
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hỗn hợp *dung dịch acid phosphoric 2 % - methanol - nước* (5 : 40 : 55).
Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10,0 mg cloramphenicol chuẩn trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi (dung dịch A). Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg cloramphenicol dinatri disuccinat chuẩn trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi (dung dịch B). Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch phân giải: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong pha động, thêm 5 ml dung dịch (A) và 5 ml dung dịch (B), pha loãng thành 100 ml với pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 275 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký dung dịch phân giải, dung dịch thử và các dung dịch đối chiếu.
Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, hai pic tương ứng với các pic của dung dịch đối chiếu (1) và (2) được tách rõ ràng ra khỏi hai pic tương ứng với hai pic chính của dung dịch thử. Điều chỉnh tỷ lệ methanol trong pha động nếu cần thiết.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:
Diện tích của pic tương ứng với cloramphenicol không được lớn hơn diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (1) (2,0 %).
Diện tích của pic tương ứng với cloramphenicol dinatri disuccinat không được lớn hơn diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (2) (2,0 %).

Nước
Không được quá 2,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,500 g chế phẩm.

Chất gây sốt
Nếu chế phẩm dùng để pha chế thuốc tiêm mà không xử lý loại chất gây sốt thì phải đạt yêu cầu phép thử chất gây sốt (Phụ lục 13.4).
Tiêm 2,5 ml dung dịch chế phẩm trong nước cất để pha thuốc tiêm có nồng độ 2 mg/ml cho mỗi kg cân nặng thỏ.

Định lượng
Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 500,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *nước*. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được tại bước sóng cực đại 276 nm.
Tính hàm lượng $C_{15}H_{15}Cl_2N_2NaO_8$ theo A (1 %, 1 cm), lấy 220 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 276 nm.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng. Nếu chế phẩm vô khuẩn, bảo quản trong bao bì vô khuẩn, kín và tránh ánh sáng.

Nhãn
Ghi rõ chế phẩm không có chất gây sốt.

Loại thuốc
Kháng sinh.

Chế phẩm
Thuốc tiêm.

BỘT PHA TIÊM CLORAMPHENICOL
Chloramphenicoli pro injectione

Bột pha tiêm cloramphenicol là bột kết tinh vô khuẩn của cloramphenicol natri succinat đóng trong lọ thủy tinh nút kín. Chỉ pha với nước vô khuẩn để tiêm ngay trước khi dùng. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cloramphenicol, $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$, phải từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng ngà.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Dung dịch acid acetic 2 M - methanol - cloroform (1 : 14 : 85).
Dung dịch thử: Hòa tan một lượng bột chế phẩm tương ứng với 50 mg cloramphenicol natri sucinat trong 5 ml *aceton (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50 mg cloramphenicol natri succinat chuẩn trong 5 ml *aceton (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan khoảng 50 mg cloramphenicol chuẩn trong 5 ml *aceton (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có 2 vết chính tương ứng với 2 vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và có vị trí khác với vị trí của vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).
B. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 1 ml *ethanol 50 % (TT)*. Thêm 3 ml *dung dịch calci clorid 1 %* và 50 mg *kẽm bột (TT)*. Đun nóng trên nồi cách thủy 10 min, lọc dung dịch đang nóng, để nguội. Thêm 0,1 ml *benzoyl clorid (TT)* và lắc trong 1 min. Thêm 0,5 ml *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)*, 2 ml *cloroform (TT)* và lắc. Lớp nước có màu đỏ tím đến màu tía.
C. Có phản ứng đặc trưng của ion natri (Phụ lục 8.1).

Giới hạn acid - kiềm
Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng với 2,0 g cloramphenicol trong 10 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*. Dung dịch này có pH từ 6,0 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Cloramphenicol và cloramphenicol dinatri disuccinat
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Nước - methanol - dung dịch acid phosphoric 2 % (55 : 40 : 5).
Dung dịch thử: Hòa tan một lượng bột chế phẩm trong pha động để được dung dịch có nồng độ cloramphenicol 0,018 %.
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch cloramphenicol dinatri disuccinat chuẩn 0,0005 % trong pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch cloramphenicol chuẩn 0,0005 % trong pha động.
Dung dịch phân giải: Chứa 0,0005 % cloramphenicol dinatri disuccinat chuẩn và 0,0005 % cloramphenicol chuẩn và 0,025 % chế phẩm trong pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 275 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký đối với các dung dịch trên. Phép thử chỉ có giá trị khi 2 pic trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải tương ứng với các pic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và (2) được tách rõ ràng khỏi các pic tương ứng với hai pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử. Điều chỉnh nồng độ methanol trong pha động để đạt yêu cầu trên, nếu cần.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic nào tương ứng với cloramphenicol và cloramphenicol dinatri disucinat không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) và (1) tương ứng (2 % cho mỗi tạp chất).

Nước
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,5 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn
Tiến hành theo Phép thử nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2). Hòa tan một lượng chế phẩm trong *nước BET* để thu được dung dịch có nồng độ 10 mg/ml (dung dịch A). Nồng độ giới hạn nội độc tố của dung dịch A là 2,0 đơn vị trong 1 ml. Giá trị độ pha loãng tối đa của dung dịch A được tính từ độ nhạy của thuốc thử lysat dùng trong phép thử.

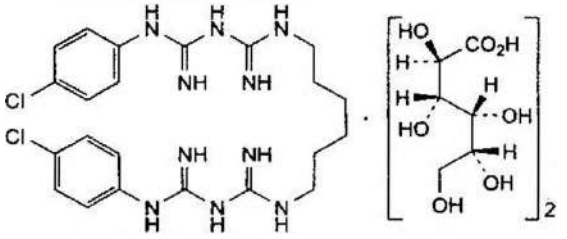
Định lượng
Cân nhanh thuốc trong 10 đơn vị chế phẩm, tính khối lượng trung bình. Trộn đều nhanh, cân một lượng bột chế phẩm tương ứng khoảng 0,200 g cloramphenicol hòa tan trong *nước* vừa đủ 500,0 ml. Lấy chính xác 5,0 ml dung dịch trên pha loãng với *nước* thành 100,0 ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 276 nm, dùng *nước* làm mẫu trắng.
Tính hàm lượng cloramphenicol, $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$, trong một đơn vị chế phẩm theo A (1 %, 1 cm). Lấy 297 là giá trị A (1 %, 1 cm) của cloramphenicol ở bước sóng 276 nm.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
1000 mg, tính theo cloramphenicol.

DUNG DỊCH CLORHEXIDIN GLUCONAT
Chlorhexidini digluconatis solutio



$C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}.2C_6H_{12}O_7$ P.t.l: 898,0

Dung dịch clorhexidin gluconat là dung dịch trong nước của 1,1'-(hexan-1,6-diyl)bis [5-(4-clorophenyl)-biguanid] di-D-gluconat, phải chứa từ 19,0 % đến 21,0 % $C_{22}H_{30}Cl_2N_{10}.2C_6H_{12}O_7$.

Tính chất
Chất lỏng gần như không màu hoặc có màu vàng nhạt. Có thể trộn lẫn với nước, tan trong aceton và ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2): Lấy 1 ml chế phẩm, thêm 40 ml *nước*, làm lạnh trong nước đá, kiềm hóa bằng cách vừa khuấy vừa thêm từng giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)*, với chỉ thị là *giấy vàng titan (TT)*, sau đó thêm dư 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)*. Lọc, rửa tủa thu được với *nước* tới khi dịch rửa hết tính kiềm, kết tinh lại tủa bằng ethanol 70 % (tt/tt) rồi sấy khô ở 100 °C đến 105 °C. Phổ hấp thụ hồng ngoại của tủa thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của clorhexidin chuẩn.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Ethyl acetat - amoniac đậm đặc - nước - ethanol 96 % (10 : 10 : 30 : 50).
Dung dịch thử: Pha loãng 10,0 ml chế phẩm với *nước* thành 50 ml.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 25 mg calci gluconat chuẩn trong 1 ml *nước*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên trên bản mỏng 5 µl các dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm. Sấy khô bản mỏng ở 100 °C trong 20 min, để nguội và phun *dung dịch kali dicromat 5 % trong dung dịch acid sulfuric 40 %.* Sau 5 min quan sát các vết trên bản mỏng. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử, có cùng màu sắc, vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

C. Lấy 1 ml chế phẩm, thêm 40 ml *nước*, làm lạnh trong nước đá, kiềm hóa bằng cách vừa khuấy vừa thêm từng giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)*, với chỉ thị là *giấy vàng titan (TT)*, sau đó thêm dư 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)*. Lọc, rửa tủa thu được với *nước* tới khi dịch rửa hết tính kiềm, kết tinh lại tủa bằng ethanol 70 % (tt/tt) rồi sấy khô ở 100 °C đến 105 °C. Tủa thu được nóng chảy (Phụ lục 6.7) trong khoảng từ 132 °C đến 136 °C.

D. Lấy 0,05 ml chế phẩm, thêm 5 ml *dung dịch cetrimid 1 %*, 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)* và 1 ml *nước brom (TT)*, màu đỏ thẫm được tạo thành.

Tỷ trọng

1,06 đến 1,07 (Phụ lục 6.5). Phương pháp dùng picnomet.

pH

Pha loãng 5,0 ml chế phẩm thành 100 ml bằng *nước không có carbon dioxyd (TT)*. Dung dịch thu được phải có pH từ 5,5 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Cloroanilin

Không được quá 0,25 %.

Pha loãng 2,0 ml chế phẩm thành 100 ml bằng *nước*. Lấy 10 ml dung dịch thu được, thêm 2,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và pha loãng hỗn hợp với *nước* thành 20 ml thu được dung dịch thử. Lần lượt thêm nhanh và lắc mạnh sau mỗi lần thêm các dung dịch sau: 0,35 ml *dung dịch natri nitrit 10 % (TT)*, 2 ml *dung dịch amoni sulfamat 5 %*, 5 ml *dung dịch naphthyl ethylendiamin dihydroclorid 0,1 %*, 1 ml *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng hỗn hợp thành 50 ml với *nước*, để yên 30 min. Màu lam đỏ của dung dịch tạo thành không được đậm hơn màu của dung dịch được chuẩn bị đồng thời và tương tự như dung dịch thử, nhưng thay 20 ml dung dịch thử bằng hỗn hợp gồm 10 ml dung dịch cloroanilin 0,010 g/l trong *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và 10 ml *nước*.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)

Pha động: Hòa tan 2,0 g *natri octansulfonat* trong hỗn hợp gồm 120 ml *acid acetic băng (TT)*, 270 ml *nước* và 730 ml *methanol (TT)*.

Dung dịch thử: Pha loãng 5,0 ml dung dịch chế phẩm thành 50,0 ml với pha động. Hút chính xác 5,0 ml dung dịch tạo thành và pha loãng bằng pha động thành 50,0 ml.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 3,0 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 50 ml bằng pha động.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 15 mg clorhexidin chuẩn để thử hiệu năng trong pha động vừa đủ 10 ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (20 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh *octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Cân bằng cột bằng pha động ít nhất 1 h để cho cột ổn định. Tiêm dung dịch đối chiếu (1), điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính trên sắc ký đồ thu được ít nhất bằng 50 % của thang đo.

Tiến hành sắc ký dung dịch phân giải, phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ thu được giống với sắc ký đồ mẫu của clorhexidin chuẩn để thử hiệu năng, trong đó các pic tạp chất A (1-(4-clorophenyl)-5-[6-(3-cyanoguanidino)-hexyl]biguanid) và pic tạp chất B ([[[6-[5-(4-cloro-phenyl) guanidino]hexyl]-amino]iminomethyl]-ure) ra trước pic clorhexidin. Nếu cần có thể điều chỉnh nồng độ acid acetic trong pha động (tăng nồng độ acid sẽ làm giảm thời gian lưu).

Tiến hành sắc ký các dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (2). Đối với các dung dịch đối chiếu (1) và (2), tiến hành sắc ký tới khi clorhexidin rửa giải hoàn toàn. Thời gian chạy đối với dung dịch thử gấp 6 lần thời gian lưu của pic clorhexidin.

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

Tổng diện tích của tất cả các pic, trừ pic chính, không được lớn hơn diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (1) (3,0 %).

Loại bỏ những pic có thời gian lưu nhỏ hơn hoặc bằng 0,25 lần thời gian lưu của pic chính và những pic có diện tích nhỏ hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Định lượng

Xác định tỷ trọng của chế phẩm (Phụ lục 6.5). Cân 1,00 g chế phẩm vào cốc có mỏ dung tích 250 ml và thêm 50 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 22,44 mg $C_{34}H_{54}Cl_2N_{10}O_{14}$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Sát trùng.

Chế phẩm

Dung dịch rửa, dung dịch súc miệng, gel hỗn hợp clorhexidin và lidocain, gel hỗn hợp clorhexidin và lignocain.

CLOROFORM

Chloroformium

Tricloromethan

$CHCl_3$ P.t.l: 119,4

Cloroform là tricloromethan có thể chứa 1,0 % đến 2,0 % ethanol hoặc 50 mg amylen trong một lít.

Tính chất

Chất lỏng không màu, dễ bay hơi. Khó tan trong nước, trộn lẫn được với ethanol, ether, các dầu béo, tinh dầu và đa số các dung môi hữu cơ theo mọi tỷ lệ.

Định tính

Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm được xác định sau khi đã rửa chế phẩm với *nước* và làm khan bằng *natri sulfat khan (TT)* phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của cloroform.

Khoảng chưng cất

Không được quá 5,0 % (tt/tt) chưng cất được dưới 60 °C và phần còn lại chưng cất được ở nhiệt độ 60 °C đến 62 °C (Phụ lục 6.8).

Khối lượng riêng

Từ 1,474 g/ml đến 1,479 g/ml (Phụ lục 6.5).

Giới hạn acid - kiềm

Dung dịch S: Lắc 10,0 ml chế phẩm với 20,0 ml *nước* vừa đun sôi để nguội trong 3 min. Để phân lớp, lấy lớp nước. Lấy 5,0 ml dung dịch S, thêm 0,1 ml *dung dịch quỳ (TT)* trung tính. Màu của dung dịch này phải giống màu thu được khi thêm 0,1 ml *dung dịch quỳ (TT)* trung tính vào 5,0 ml *nước* vừa đun sôi để nguội.

Clorid

Lấy 5,0 ml dung dịch S, thêm 5,0 ml *nước* và 0,2 ml *dung dịch bạc nitrat 5 % (TT)*. Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2).

Clor tự do

Lấy 10,0 ml dung dịch S, thêm 1 ml *dung dịch kẽm iodid 5,0 % (TT)* và 0,1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)*. Dung dịch không được có màu xanh.

Aldehyd

Lắc 5,0 ml chế phẩm với 5 ml *nước* và 0,2 ml *dung dịch kali tetraiodomercurat kiềm (TT)*, trong ống nghiệm có nắp. Để chỗ tối 15 min. Cả 2 lớp không được có màu, hoặc chỉ được có màu vàng nhạt.

Các hợp chất clor khác

Lắc 20,0 ml chế phẩm trong 5 min với 10,0 ml *acid sulfuric (TT)* trong bình có nút mài đã tráng trước bằng *acid sulfuric (TT)*. Để chỗ tối 30 min. Bỏ lớp acid. Lắc 15 ml lớp cloroform ở trên với 30,0 ml *nước* trong bình có nút mài trong 3 min. Để phân lớp. Cho vào lớp *nước* 0,2 ml *dung dịch bạc nitrat 5 % (TT)*. Để chỗ tối 5 min. Dung dịch không được đục.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch (1): Chứa 0,2 % *carbon tetraclorid* (tt/tt); 0,2 % *1,1,1-tricloroethan* (chất chuẩn nội) (tt/tt); 0,2 % *diclorometh*an (tt/tt); 0,2 % *ethanol* (tt/tt); 0,5 % *bromoclorometh*an (tt/tt) và 0,2 % chế phẩm (tt/tt) trong *propan-1-ol*.

Dung dịch (2): Chế phẩm.

Dung dịch (3): Chứa *1,1,1-tricloroethan* (chất chuẩn nội) 0,2 % (tt/tt) pha trong chế phẩm.

Dung dịch (4): Là *propan-1-ol*.

Điều kiện sắc ký:

Cột thủy tinh (4 m × 3,0 mm) được nhồi bằng *kieselguhr* đã được rửa bằng acid (từ 60 mesh đến 100 mesh) và được bao bằng *di-2-cyanoethyl ether* 15 % (kl/kl).

Khí mang: *Nitrogen dùng cho sắc ký khí*, lưu lượng 30 ml/min.

Nhiệt độ: Cột ở 40 °C, buồng tiêm ở 100 °C.

Detector ion hóa ngọn lửa ở 100 °C.

Thể tích tiêm: 0,1 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch (1):

Tính phù hợp của hệ thống: Phép thử chỉ có giá trị khi hiệu lực cột, được xác định trên pic cloroform thu được trên sắc ký đồ của dung dịch (1), có số đĩa lý thuyết lớn hơn 700 đĩa trên một mét và tổng số số đĩa lý thuyết lớn hơn 2500.

Các pic trên sắc ký đồ của dung dịch (1) được rửa giải theo thứ tự là: Carbon tetraclorid; 1,1,1-tricloroethan; diclorometh*an*; cloroform; ethanol; bromoclorometh*an*; propan-1-ol (dung môi).

Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch (4) để loại trừ ảnh hưởng của các pic phụ từ dung môi lên các pic trên sắc ký đồ của dung dịch (1).

Tiến hành sắc ký với dung dịch (3), trên sắc ký đồ thu được: Tỉ lệ diện tích của các pic carbon tetraclorid, diclorometh*an*, bromoclorometh*an* với diện tích pic 1,1,1-tricloroethan (chất chuẩn nội) không được lớn hơn các tỉ lệ này trên sắc ký đồ của dung dịch (1) và tỉ lệ của diện tích bất kì pic phụ nào khác rửa giải trước pic dung môi (ngoại trừ pic ethanol) so với diện tích pic 1,1,1-tricloroethan (chất chuẩn nội) cũng không được lớn hơn tỉ lệ diện tích pic cloroform so với diện tích pic 1,1,1-tricloroethan (chất chuẩn nội) trên sắc ký đồ của dung dịch (1).

Tính hàm lượng phần trăm theo thể tích của từng tạp chất xác định ở trên và của từng tạp chất khác được coi là có đáp ứng như cloroform.

Tổng hàm lượng của tất cả các tạp chất không được quá 1,0 % (tt/tt).

Ghi chú:

Tạp chất A: Carbon tetraclorid.

Tạp chất B: Diclorometh*an*.

Tạp chất C: Bromoclorometh*an*.

Ethanol

Phép thử áp dụng cho cloroform có chứa ethanol.

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.

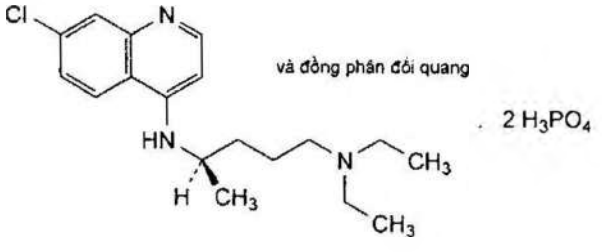
Dung dịch (1): Chứa 1,0 % *ethanol tuyệt đối* (tt/tt) và 1,0 % *propan-1-ol* (chất chuẩn nội) (tt/tt) trong *nước*.
Dung dịch (2): Là chế phẩm.
Dung dịch (3): Chứa 1,0 % chất chuẩn nội (tt/tt) pha trong chế phẩm.
Tính phù hợp của hệ thống: Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch (2), chiều cao của đáy hõm phân tách pic ethanol và pic cloroform phải nhỏ hơn 15 % chiều cao của pic ethanol.
Tính hàm lượng phần trăm của ethanol từ diện tích của pic ethanol và diện tích pic chuẩn nội trên sắc ký đồ dung dịch (1) và (3).

Chất không bay hơi
Không được quá 0,004 %.
Lấy 25,0 ml chế phẩm cho vào cốc thủy tinh đã cân bì sẵn. Bốc hơi cách thủy đến khô. Sấy cắn ở 105 °C đến khối lượng không đổi. Khối lượng cắn không được quá 1 mg.

Bảo quản
Trong lọ thủy tinh tối màu nút kín. Để chỗ mát, tránh ánh sáng.

Nhãn
Nhãn phải ghi rõ là chứa ethanol hay amylen.

CLOROQUIN PHOSPHAT
Cloroquini phosphas
Cloroquin diphosphat, nivaquin phosphat, aralen



$C_{18}H_{26}ClN_3.2H_3PO_4$ P.t.l: 515,9

Cloroquin phosphat là (*RS*)-4-(7-cloro-4-quinolylamino) pentyldiethylamin diphosphat, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{18}H_{26}ClN_3.2H_3PO_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, không mùi, vị đắng, dễ biến màu khi để ngoài ánh sáng, dễ hút ẩm.
Dễ tan trong nước, rất khó tan trong cloroform, ethanol 96 %, ether và methanol. Tồn tại ở 2 dạng, một dạng chảy ở khoảng 195 °C và dạng khác chảy ở khoảng 218 °C.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D.

A. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 10 ml *nước*, thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, chiết 2 lần, mỗi lần với 20 ml *methylen clorid (TT)*. Rửa dịch methylen clorid với *nước*, làm khan bằng *natri sulfat khan (TT)*, làm bay hơi đến khô và hòa cắn trong 2 ml *methylen clorid (TT)*.
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của dung dịch này phải giống phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của dung dịch thu được từ 80 mg cloroquin sulfat chuẩn với cách chuẩn bị tương tự.
B. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch chế phẩm 0,001 % trong *nước* ở bước sóng từ 210 nm đến 370 nm cho các cực đại hấp thụ lần lượt ở 220 nm, 235 nm, 256 nm, 329 nm và 342 nm. A (1 %, 1 cm) tương ứng lần lượt là 600 đến 660; 350 đến 390; 300 đến 330; 325 đến 355 và 360 đến 390.
C. Hòa tan 25 mg chế phẩm trong 20 ml *nước*, thêm 5 ml *dung dịch acid picric (TT)* sẽ xuất hiện tủa vàng. Lọc và rửa tủa lần lượt với *nước*, *ethanol 96 % (TT)* và *methylen clorid (TT)*. Tủa này có điểm chảy từ 206 °C đến 209 °C (Phụ lục 6.7).
D. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 10 ml *nước*, thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, chiết 2 lần, mỗi lần với 10 ml *methylen clorid (TT)*. Lớp nước sau khi được acid hóa bằng *acid nitric (TT)* cho phản ứng của phosphat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu VN_5 hay VL_5 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Dung dịch S: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)*, pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.
pH của dung dịch S phải từ 3,8 đến 4,3 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Cloroform - cyclohexan - diethylamin (50 : 40 : 10).
Dung dịch thử: Dung dịch 5,0 % chế phẩm trong *nước*.
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch 0,050 % chế phẩm trong *nước*.
Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch 0,025 % chế phẩm trong *nước*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất cứ vết phụ nào trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử cũng không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) và không có quá một vết đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2).

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong 10 ml *nước*, thêm 5 ml *dung dịch amoniac 13,5 M (TT)* và lắc với 40 ml *methylen clorid (TT)*. Lọc lấy lớp nước, trung hòa dịch lọc bằng *acid acetic băng (TT)*, đun nóng trên cách thủy để loại hết methylen clorid, làm lạnh và pha loãng với *nước* vừa đủ 20 ml. Lấy 12 ml dung dịch này tiến hành theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 2,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Định lượng
Cân 0,200 g chế phẩm, hòa tan trong 50 ml *acid acetic khan (TT)*, thêm 2 giọt *dung dịch tím tinh thể (TT)*. Định lượng bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* cho tới khi dung dịch chuyển sang màu xanh lục hoặc có thể xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 25,79 mg $C_{18}H_{26}ClN_3.2H_3PO_4$.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Trị sốt rét.

Chế phẩm
Thuốc tiêm, viên bao đường, viên nén.

VIÊN NÉN CLOROQUIN PHOSPHAT
Tabellae Chloroquini phosphatis

Là viên nén chứa cloroquin phosphat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cloroquin phosphat, $C_{18}H_{26}ClN_3.2H_3PO_4$, từ 93,0 % đến 107,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lắc kỹ một lượng bột viên tương ứng với khoảng 15 mg cloroquin phosphat trong 100 ml *nước*, trộn đều và lọc. Pha loãng 5 ml dịch lọc thành 100 ml với *nước*. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ của dung dịch cloroquin phosphat chuẩn có nồng độ tương đương, được chuẩn bị bằng cách hòa tan một lượng thích hợp cloroquin phosphat chuẩn trong *nước* và đo đồng thời. Tỷ số độ hấp thụ A_{343}/A_{329} phải từ 1,00 đến 1,15.
B. Lắc một lượng bột viên tương ứng với 20 mg cloroquin phosphat với 20 ml *nước*, lọc. Thêm 5 ml *dung dịch acid picric 1 % (TT)*, có tủa màu vàng. Lọc hút chân không qua màng lọc 0,45 µm và rửa tủa với *nước* đến khi nước rửa không màu. Làm khô tủa trong bình hút ẩm có chứa silica gel. Tủa thu được phải có điểm chảy (Phụ lục 6.7) từ 205 °C đến 210 °C.
C. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic cloroquin phosphat trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn.
D. Lấy một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,5 g cloroquin phosphat, thêm 25 ml *nước*, lắc, lọc. Thêm vào dịch lọc 2,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 5 M (TT)* và chiết 3 lần, mỗi lần với 10 ml *ether (TT)*. Lớp nước, sau khi trung tính bằng *dung dịch acid nitric loãng (TT)*, cho phản ứng của phosphat (Phụ lục 8.1).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cách khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Pha loãng dịch lọc với *nước* để thu được dung dịch có nồng độ thích hợp. Đo độ hấp thụ của dung dịch thử ở bước sóng cực đại khoảng 343 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *nước*. So sánh với dung dịch cloroquin phosphat chuẩn có cùng nồng độ pha trong *nước*.
Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng cloroquin phosphat, $C_{18}H_{26}ClN_3.2H_3PO_4$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Cloroform - cyclohexan - diethylamin (50 : 40 : 10).
Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên có chứa khoảng 1 g cloroquin phosphat, thêm 20 ml *nước*, lắc 30 min, ly tâm và dùng lớp chất lỏng ở trên, nếu cần thì lọc qua phễu thủy tinh xốp.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 ml dung dịch thử với *nước* thành 100 ml.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 25 ml dung dịch đối chiếu (1) với *nước* thành 50 ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí và quan sát dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và không có quá một vết đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

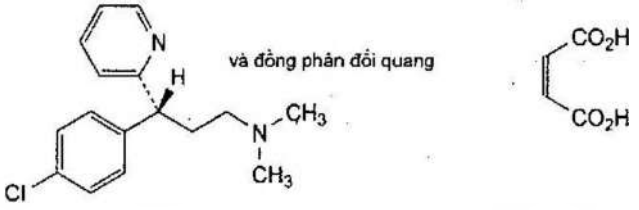
Pha động: Dung dịch đệm - methanol (78 : 22).
Dung dịch đệm: Hòa tan 13,6 g *kali dihydrophosphat(TT)* trong 2 lít *nước*.Thêm 2,0 ml *acid percloric (TT)*, trộn đều và điều chỉnh tới pH 2,5 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch cloroquin phosphat chuẩn 0,015 % trong *nước*.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 15 mg cloroquin phosphat chuyển vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml *nước*, lắc siêu âm trong 20 min, bổ sung *nước* đến định mức. Lắc đều, lọc.
Dung dịch phân giải: Dung dịch có chứa cloroquin phosphat chuẩn 0,015 % và amodiaquin hydroclorid chuẩn 0,015 % trong *nước*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 224 nm.
Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải. Thời gian lưu tương đối của cloroquin phosphat là 1 và amodiaquin là 1,3; độ phân giải giữa amodiaquin và cloroquin phosphat không nhỏ hơn 1,5; hệ số đối xứng của cả hai pic không lớn hơn 1,5; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic từ các lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng cloroquin phosphat, $C_{18}H_{26}ClN_3.2H_3PO_4$, trong viên dựa vào diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{18}H_{26}ClN_3.2H_3PO_4$ của cloroquin phosphat chuẩn.

Bảo quản
Đựng trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống sốt rét.

Hàm lượng thường dùng
50 mg, 500 mg.

CLORPHENIRAMIN MALEAT
Chlorpheniramini maleas



$C_{16}H_{19}ClN_2.C_4H_4O_4$ P.t.l: 390,9

Clorpheniramin maleat là (3*RS*)-3-(4 clorophenyl)-*N*,*N*-dimethyl-3-(pyridin-2-yl)propan-1-amin hydrogen (*Z*)-butendioat, phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $C_{16}H_{19}ClN_2.C_4H_4O_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan trong nước, tan trong ethanol 96 %.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của clorpheniramin maleat chuẩn.
B. Điểm chảy: Từ 130 °C đến 135 °C (Phụ lục 6.7).
C. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Góc quay cực.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu của màu mẫu VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực
Từ -0,10° đến +0,10°.
Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Acetonitril - dung dịch đệm pH 3,0* (20 : 80).
Dung dịch đệm pH 3,0: Dung dịch *amoni dihydrophosphat (TT)* 0,857 % được điều chỉnh đến pH 3,0 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 0,5 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5 mg tạp chất C chuẩn của clorpheniramin trong 5 ml dung dịch thử và pha loãng thành 50,0 ml bằng pha động. Pha loãng 2 ml dung dịch thu được thành 20 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 5 mg *2,2'-dipyridylamin (TT)* (tạp chất B) trong pha động và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (5): Hòa tan tạp chất A chuẩn của clorpheniramin có trong 1 lọ chuẩn trong 2 ml dung dịch thử, siêu âm trong 5 min.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (30 cm × 3,9 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 225 nm.
Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 3,5 lần thời gian lưu của clorpheniramin.

Thời gian lưu tương đối so với clorpheniramin (thời gian lưu khoảng 11 min): Acid maleic khoảng 0,2; tạp chất A khoảng 0,3; tạp chất B khoảng 0,4; tạp chất C khoảng 0,9; tạp chất D khoảng 3,0.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic của tạp chất C với pic của clorpheniramin ít nhất là 1,5.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng: Tạp chất A là 1,5; tạp chất B là 1,4.
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A đã hiệu chỉnh không được lớn hơn 0,4 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Tạp chất B, C, D: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu cần, không được lớn hơn 0,2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).
Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn 0,2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %); bỏ qua pic của mẫu trắng và acid maleic.
Ghi chú:
Tạp chất A: 2-(4-lorophenyl)-4-(dimethylamino)-2-[2-(dimethylamino) ethyl]butannitril.
TapchấtB:*N*-(Pyridin-2-yl)pyridin-2-amin(2,2'-dipyridylamin).
Tạp chất C: (3*RS*)-3-(4-Clorophenyl)-*N*-methyl-3-(pyridin-2-yl) propan-1-amin.
Tạp chất D: (2*RS*)-2-(4-Clorophenyl)-4-(dimethylamino)-2-(pyridin-2-yl)butannitril.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C; 4 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 %. (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan khoảng 0,150 g chế phẩm trong 25 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 19,54 mg $C_{20}H_{23}ClN_2O_4$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Đối kháng thụ thể histamin H_1.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN CLORPHENIRAMIN
Tabellae Chlorpheniramini

Là viên nén chứa clorpheniramin maleat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng clorpheniramin maleat, $C_{16}H_{19}ClN_2.C_4H_4O_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Dung dịch acid acetic 1 M - methanol - ethyl acetat (20 : 30 : 50)
Dung dịch thử: Lắc kỹ một lượng bột viên tương đương khoảng 5 mg clorpheniramin maleat với *cloroform (TT)*, lọc, bay hơi dịch lọc đến khô. Hòa tan cắn trong 1 ml *cloroform (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch clorpheniramin maleat chuẩn 0,5 % trong *cloroform (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Hai vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và màu sắc với hai vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Phun *thuốc thử kali iodobismuthat loãng (TT)* lên bản mỏng. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Trong mục Định lượng, sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho hai pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của hai pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Diethylamin - cloroform - cyclohexan (10 : 40 : 50)
Dung dịch thử: Lắc kỹ một lượng bột viên tương đương khoảng 50 mg clorpheniramin maleat với *cloroform (TT)*, lọc, bay hơi dịch lọc đến khô. Hòa tan cắn trong 1 ml *cloroform (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử với *cloroform (TT)* thành 500 thể tích.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,2 %). Bỏ qua các vết tại điểm xuất phát.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cách khuấy.
Môi trường hòa tan: Pha loãng 2,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)* với *nước* thành 250 ml.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Đo độ hấp thụ của dịch lọc thu được ở bước sóng 264 nm. Tính lượng clorpheniramin maleat đã hòa tan theo A (1 %,1 cm), lấy 217 là giá trị A (1 %, 1 cm) của clorpheniramin maleat ở bước sóng 264 nm.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng clorpheniramin maleat, $C_{16}H_{19}ClN_2.C_4H_4O_4$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)
Dung dịch chuẩn và điều kiện sắc ký như phần Định lượng.
Dung dịch thử: Lấy một viên cho vào bình định mức dung tích 25 ml nếu là viên có hàm lượng 2 mg hoặc bình định mức dung tích 50 ml nếu là viên có hàm lượng 4 mg, thêm 20 ml pha động, lắc đến khi viên rã hoàn toàn, thêm pha động đến vạch, lắc kỹ và lọc.

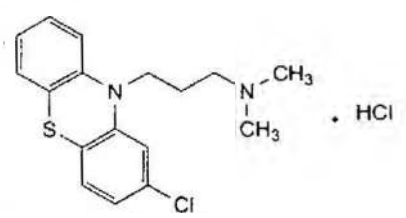
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm: Hòa tan 11,5 g *amoni dihydrophosphat (TT)* trong *nước*, thêm 1 ml *acid phosphoric (TT)* và pha loãng với *nước* thành 1000 ml.
Pha động: *Acetonitril - dung dịch đệm* (20 : 80). Điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng clorpheniramin maleat chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,08 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 4 mg clorpheniramin maleat vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml pha động và lắc siêu âm khoảng 10 min. Pha loãng bằng pha động vừa đủ đến vạch và trộn đều. Lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm).
Nhiệt độ cột: 30 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 262 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Thứ tự rửa giải lần lượt là acid maleic, clorpheniramin. Phép thử chỉ có giá trị khi số đĩa lý thuyết tính trên pic clorpheniramin không nhỏ hơn 4000.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng clorpheniramin maleat, $C_{16}H_{19}ClN_2.C_4H_4O_4$, có trong viên dựa vào diện tích pic clorpheniramin thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{19}ClN_2.C_4H_4O_4$ trong clorpheniramin maleat chuẩn.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng histamin.

Hàm lượng thường dùng
2 mg, 4 mg.

CLORPROMAZIN HYDROCLORID
Chlorpromazini hydrochloridum



$C_{17}H_{19}ClN_2S.HCl$ P.t.l: 355,3

Clorpromazin hydroclorid là 3-(2-cloro-10*H*-phenothiazin-10-yl)-*N,N*-dimethylpropan-1-amin hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{17}H_{19}ClN_2S.HCl$, tính theo chế phẩm đã được làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, đa hình. Bị phân hủy khi tiếp xúc với ánh sáng và không khí.
Rất dễ tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của clorpromazin hydroclorid chuẩn. Xác định bằng dung dịch chế phẩm 6,0 % trong *methylen clorid (TT)*, sử dụng cốc đo dày 0,1 mm.
B. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1): Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 500,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng

5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Ở dải bước sóng từ 230 nm đến 340 nm, dung dịch thu được có 2 cực đại hấp thụ ở bước sóng 254 nm và 306 nm. A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 254 nm từ 890 đến 960. (Chú ý: Chuẩn bị các dung dịch dưới ánh sáng dịu và đo ngay).

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

Bản mỏng: Kieselguhr G tráng sẵn. Thấm ướt bản mỏng bằng cách đặt bản mỏng vào bình kín chứa dung dịch 10 % (tt/tt) *phenoxylethanol (TT)* và 5 % *macrogol 300 (TT)* trong *aceton (TT)* sao cho bản mỏng ngập 5 mm. Khi dung dịch thấm lên đến ít nhất 17 cm tính từ mép dưới lấy bản mỏng ra để tiến hành sắc ký ngay lập tức. Tiến hành triển khai sắc ký cùng chiều với chiều thấm ướt.

Dung môi khai triển: Hỗn hợp chứa 50 ml *ether dầu hỏa (khoảng sôi 50 °C - 70 °C) (TT)* và 1 ml *diethylamin (TT)* bão hòa *phenoxyethanol (TT)* (thêm 3 - 4 ml *phenoxyethanol (TT)* vào hỗn hợp dung dịch trên lắc đến khi có độ đục đồng nhất, gạn bỏ phần phenoxyethanol thừa).

Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong *cloroform (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20 mg clorpromazin hydroclorid chuẩn trong *cloroform (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký trong điều kiện tránh ánh sáng tới khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm trong vài phút. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương tự với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, huỳnh quang và kích thước.

Phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng màu với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu và ổn định trong khoảng ít nhất 20 min như vết đối chiếu.

D. Chế phẩm phải cho phản ứng (B) của clorid (Phụ lục 8.1).

pH

Dung dịch chế phẩm 10 % trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* có pH 3,5 đến 4,5 (Phụ lục 6.2).

Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng và đo pH của dung dịch ngay sau khi pha.

Tạp chất F

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng và tránh ánh sáng.

Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.

Dung môi khai triển: *Aceton - dimethylamin - cyclohexan* (10 : 10 : 80).

Hỗn hợp dung môi: *Diethylamin - methanol* (5 : 95).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan tạp chất F chuẩn của clorpromazin có trong 1 lọ chuẩn vào 2 ml hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 300 µl dung dịch đối chiếu (1) thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 0,10 chế phẩm vào hỗn hợp dung môi, thêm 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 5,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (2) và (3). Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 3/4 bản mỏng. Để khô ngoài không khí, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Giá trị R_f của tạp chất F khoảng 0,5, của clorpromazin khoảng 0,6. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (3) vết của tạp chất F và clorpromazin tách rõ ràng.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, vết tương ứng với tạp chất F không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,15 %).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng và tránh ánh sáng.

Pha động: Trộn 0,2 thể tích *thiodiethylen glycol (TT)* với 50 thể tích *acetonitril (TT)* và 50 thể tích của dung dịch *acid trifluoroacetic* 0,5 % (tt/tt) đã được điều chỉnh đến pH 5,3 bằng *tetramethylendiamin (TT)*.

Dung dịch thử: Hòa tan 40,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 4 mg tạp chất D chuẩn của clorpromazin trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Thêm 1 ml dung dịch thử vào 1 ml dung dịch thu được và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 20,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 4,0 mg tạp chất A chuẩn của clorpromazin trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 4 mg promazin hydroclorid chuẩn (tạp chất C) và 4 mg tạp chất E chuẩn của clorpromazin trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh *base-deactived octylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 4 lần thời gian lưu của clorpromazin.

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của tạp chất A; sử dụng sắc

ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của tạp chất C và tạp chất E; sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) để xác định pic của tạp chất D.
Thời gian lưu tương đối so với clorpromazin (thời gian lưu khoảng 8 min): Tạp chất A khoảng 0,4; tạp chất B khoảng 0,5; tạp chất C khoảng 0,7; tạp chất D khoảng 0,9; tạp chất E khoảng 3,4.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất D với pic của clorpromazin ít nhất là 2,0.
Giới hạn:
Tạp chất B, C, D: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,6 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %).
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,15 %).
Tạp chất E: Diện tích pic tạp chất E không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,15 %).
Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn 0,2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).
Tổng hàm lượng của tất cả các tạp chất không được quá 1,0 %.
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 3-(2-cloro-10*H*-phenothiazin-10-yl)-*N*,*N*-dimethylpropan-1-amin *S*-oxyd (clorpromazin sulfoxyd).
Tạp chất B: *N*-[3-(2-cloro-10*H*-phenothiazin-10-yl)propyl]-*N*,*N*',*N*'-trimethylpropan-1,3-diamin.
Tạp chất C: 3-(10*H*-phenothiazin-10-yl)-*N*,*N*-dimethylpropan-1-amin (promazin).
Tạp chất D: 3-(2-cloro-10*H*-phenothiazin-10-yl)-*N*-methylpropan-1-amin (desmethylclorpromazin).
Tạp chất E: 2-cloro-10*H*-phenothiazin.
Tạp chất F: 3-(4-cloro-10*H*-phenothiazin-10-yl)-*N*,*N*-dimethylpropan-1-amin.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Dung môi: *Nước.*
Lấy 0,25 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 8. Dùng 0,25 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 5,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* và 50 ml *ethanol 96 % (TT).* Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ).* Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Đọc thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* thêm vào giữa hai điểm uốn.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 35,53 mg $C_{17}H_{20}Cl_2N_2S$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống loạn thần; đối kháng thụ thể dopamin.

Chế phẩm
Thuốc tiêm, dung dịch uống, viên nén.

THUỐC TIÊM CLORPROMAZIN HYDROCLORID
Injectio Chlorpromazini hydrochloridi

Là dung dịch vô khuẩn của clorpromazin hydroclorid trong nước để pha thuốc tiêm.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng clorpromazin hydroclorid, $C_{17}H_{19}ClN_2S.HCl$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu hoặc gần như không màu.

Định tính
A. Lấy một thể tích thuốc tiêm tương ứng với 0,1 g clorpromazin hydroclorid, thêm 20 ml *nước* và 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT).* Lắc đều và chiết với 25 ml *ether (TT).* Rửa lớp ether 2 lần, mỗi lần với 5 ml *nước.* Lọc dịch chiết ether qua *natri sulfat khan (TT),* bay hơi dịch chiết ether. Hòa cắn thu được trong 1 ml *cloroform (TT).* Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của dung dịch thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của clorpromazin.
B. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử (trong phần Định lượng) ở khoảng bước sóng từ 220 đến 340 nm phải có 2 cực đại hấp thụ ở 254 nm và 306 nm.
C: Chế phẩm phải cho phản ứng của clorid (Phụ lục 8.1).

pH
Từ 4,0 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4). Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Cyclohexan - aceton - diethylamin (80 : 10 : 10).
Dung dịch thử: Pha loãng một thể tích thích hợp thuốc tiêm, nếu cần, với hỗn hợp *methanol - diethylamin* (95 : 5)

để được dung dịch chứa clorpromazin hydroclorid 0,5 %.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử thành 20 thể tích bằng hỗn hợp *methanol - diethylamin* (95 : 5).
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử thành 200 thể tích bằng hỗn hợp *methanol - diethylamin* (95 : 5).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 10 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, bất kỳ một vết phụ nào ngoài vết chính không được có màu đậm hơn màu của vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) và không có quá 1 vết phụ có màu đậm hơn màu của vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2).

Nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2)
Không được quá 6,9 EU trong 1 mg clorpromazin hydroclorid.

Định lượng
Tiến hành phép thử trong điều kiện tránh ánh sáng.
Hòa loãng một thể tích thích hợp thuốc tiêm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* để được dung dịch có nồng độ clorpromazin hydroclorid khoảng 0,0005 %. Đo độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 254 nm, dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng clorpromazin hydroclorid, $C_{17}H_{19}ClN_2S.HCl$, trong chế phẩm theo A (1 %, 1 cm). Lấy 915 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng cực đại 254 nm.

Bảo quản
Để nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống loạn thần, chống nôn, chống rối loạn vận động.

Hàm lượng thường dùng
25 mg/ml.

VIÊN NÉN CLORPROMAZIN HYDROCLORID
Tabellae Chlorpromazini hydrochloridi

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

Hàm lượng clorpromazin hydroclorid, $C_{17}H_{19}ClN_2S.HCl$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lấy một lượng bột viên tương ứng với 40 mg clorpromazin hydroclorid, thêm 10 ml *nước* và 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)*. Lắc đều và chiết với 15 ml *ether (TT)*. Rửa lớp ether 2 lần, mỗi lần với 5 ml *nước*. Lọc dịch chiết ether qua *natri sulfat khan (TT)*, bay hơi dịch chiết ether. Hòa cắn thu được trong 0,4 ml *cloroform (TT)*. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của dung dịch thu được phải phù hợp với phổ đối chiếu của clorpromazin.
B. Phổ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử (trong phần Định lượng) ở khoảng bước sóng từ 220 đến 340 nm phải có 2 cực đại hấp thụ ở 254 nm và 306 nm.
C. Lắc một lượng bột viên tương ứng với 25 mg clorpromazin hydroclorid với 25 ml *nước*. Lọc, dịch lọc cho phản ứng của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Tạp chất liên quan
Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Cyclohexan - aceton - diethylamin (80 : 10 : 10).
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên đã nghiền nhỏ tương ứng với 0,1 g clorpromazin hydroclorid với 10 ml hỗn hợp *methanol - diethylamin* (95 : 5), lọc.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử thành 200 thể tích bằng hỗn hợp *methanol - diethylamin* (95 : 5).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 10 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất cứ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử (không kể vết còn lại ở điểm xuất phát) không được đậm màu hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %) .

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc và pha loãng một thể tích thích hợp dịch lọc với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* để được dung dịch có nồng độ clorpromazin hydroclorid khoảng 0,0005 %. Đo độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 254 nm, dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng clorpromazin hydroclorid, $C_{17}H_{19}ClN_2S.HCl$, được hòa tan, lấy 915 là giá trị A (1 %, 1 cm) của clorpromazin hydroclorid trong môi trường hòa tan ở cực đại hấp thụ 254 nm.
Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng clorpromazin hydroclorid, $C_{17}H_{19}ClN_2S.HCl$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

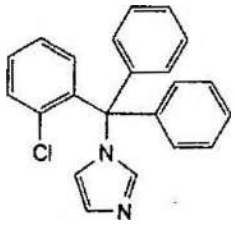
Định lượng
Thực hiện trong điều kiện tránh ánh sáng.
Cân 20 viên, loại bỏ lớp vỏ bao nếu cần, tính khối lượng trung bình của viên, nghiền mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 25 mg clorpromazin hydroclorid cho vào bình định mức 250 ml. Thêm khoảng 150 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, lắc khoảng 15 min, thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* đến vạch, trộn đều. Lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu, hút chính xác 5 ml dịch lọc, thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* vừa đủ 100,0 ml. Đo ngay độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch này ở bước sóng cực đại 254 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Tính hàm lượng clorpromazin hydroclorid, $C_{17}H_{19}ClN_2S$. HCl, trong viên theo A (1 %, 1 cm). Lấy 915 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở cực đại hấp thụ 254 nm.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống loạn thần, chống nôn, chống rối loạn vận động.

Hàm lượng thường dùng
10 mg và 25 mg.

CLOTRIMAZOL
Clotrimazolum



$C_{22}H_{17}ClN_2$ P.t.l: 344,8

Clotrimazol là 1-[(2-clorophenyl)diphenylmethyl]-1*H*-imidazol, phải chứa từ 98,5 % đến 100,5 % $C_{22}H_{17}ClN_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc vàng nhạt. Thực tế không tan trong nước, tan trong ethanol 96 % và methylen clorid.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của clotrimazol chuẩn.
B. Điểm chảy: Từ 141 °C đến 145 °C (Phụ lục 6.7).
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Amoniac 18 M - propanol - toluen (0,5 : 10 : 90).
Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50 mg clotrimazol chuẩn trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 2/3 bản mỏng. Để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương tự với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí và kích thước.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Hòa tan 1,0 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 0,5 g *tetrabutylamoni hydrosulfat (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 1000 ml với cùng dung môi.
Pha động B: Acetonitril (TT_1).
Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *acetonitril (TT_1)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *acetonitril (TT_1)*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng *acetonitril (TT_1)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan clotrimazol chuẩn dùng để định tính pic (chứa tạp chất A, B và F) có trong 1 lọ chuẩn trong 1,0 ml *acetonitril (TT_1)*.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5,0 mg imidazol chuẩn (tạp chất D) và 5,0 ml tạp chất E chuẩn của clotrimazol trong *acetonitril (TT_1)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml bằng *acetonitril (TT_1)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octylsilyl silica gel hình cầu dùng cho sắc ký* (5 µm).
Nhiệt độ cột: 40 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 3	75	25
3 - 25	75 → 20	25 → 80
25 - 30	20	80

Thời gian lưu tương đối so với clotrimazol (thời gian lưu khoảng 12 min): Tạp chất D khoảng 0,1; tạp chất F khoảng 0,9; tạp chất B khoảng 1,1; tạp chất E khoảng 1,5; tạp chất A khoảng 1,8.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất F với pic của clotrimazol ít nhất là 1,5; sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) phải giống với sắc ký đồ cung cấp kèm theo clotrimazol chuẩn dùng để định tính pic.
Giới hạn:
Tạp chất A, B: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Tạp chất D, E: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,2 %).
Tạp chất F: Diện tích pic tạp chất F không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: (2-clorophenyl)diphenylmethanol.
Tạp chất B: 1-[(4-clorophenyl)diphenylmethyl]-1*H*-imidazol.
Tạp chất C: 1-cloro-2-(clorodiphenylmethyl)benzen.
Tạp chất D: Imidazol.
Tạp chất E: (2-chlorophenyl) phenylmethanon (2-clorobenzophenon),
Tạp chất F: 1-(triphenylmethyl)-1*H*-imidazol (descloroclotrimazol).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp chuẩn độ trong môi trường khan (Phụ lục 10.6).
Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong 80 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, dùng *dung dịch naphtholbenzein (TT)* làm chỉ thị, đến khi màu chuyển từ vàng nâu sang màu xanh lục.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 34,48 mg $C_{22}H_{17}ClN_2$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống nấm tại chỗ, phổ rộng.

Chế phẩm
Viên đặt, kem thuốc.

KEM CLOTRIMAZOL
Cremoris Clotrimazoli

Là kem bôi da có chứa clotrimazol.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc mềm dùng trên da và niêm mạc" (Phụ lục 1.12) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng clotrimazol, $C_{22}H_{17}ClN_2$, 90,0 % đến 110 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Kem mịn màu trắng sữa, đồng nhất, hầu như không mùi.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic clotrimazol trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Lấy *ether ethylic (TT)* cho vào trong bình sắc ký. Sau đó, đặt cốc thủy tinh đựng sẵn 25 ml *amoniac 13,5 M (TT)* vào trong bình sắc ký trên, đậy kín, để bão hòa dung môi.
Dung dịch thử: Lắc một lượng chế phẩm có chứa khoảng 20 mg clotrimazol với 20 ml *ethanol (TT)*. Đặt trên bếp cách thủy cho chế phẩm chảy lỏng, khuấy kỹ để hòa tan hoạt chất. Sau đó đặt vào nước đá trong khoảng 20 min. Lọc lấy dung dịch trong.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch clotrimazol chuẩn 0,1 % trong *ethanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi một dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 254 nm hoặc phun *thuốc thử Dragendorff (TT)*. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về vị trí, kích thước và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Methanol - dung dịch dikali hydrophosphat 0,44 %* (70 : 30) (thay đổi tỷ lệ nếu cần).
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 30 mg clotrimazol chuẩn, hòa tan trong *ethanol (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử: Cân chính một lượng chế phẩm có chứa khoảng 30 mg clotrimazol vào cốc, thêm 25 ml *ethanol (TT)*, đặt trên bếp cách thủy khuấy cho tan, để lạnh trong nước đá ít nhất 30 min. Gạn và lọc qua giấy lọc đã thấm ướt bằng *ethanol (TT)*. Tiếp tục chiết như trên 2 lần nữa, mỗi lần 10 ml *ethanol (TT)*. Rửa cốc và giấy lọc bằng *ethanol (TT)*. Tập trung các dịch lọc và dịch rửa, thêm *ethanol (TT)* cho vừa đủ 50,0 ml.

Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 đến 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Số đĩa lý thuyết của cột không được nhỏ hơn 2500. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic clotrimazol trong 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng clotrimazol, $C_{22}H_{17}ClN_2$, có trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{22}H_{17}ClN_2$ trong clotrimazol chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng, để ở nơi khô và mát.

Loại thuốc
Thuốc chống nấm tại chỗ, phổ rộng.

Hàm lượng thường dùng
1 %, 3 %.

VIÊN NÉN ĐẶT ÂM ĐẠO CLOTRIMAZOL
Tabellae vaginalis Clotrimazoli

Là viên nén đặt âm đạo có chứa clotrimazol.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng clotrimazol, $C_{22}H_{17}ClN_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic clotrimazol trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Amoniac - propanol - toluen (0,5 : 10 : 90).
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,1 g clotrimazol với 10 ml *ethanol (TT)*, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch clotrimazol chuẩn 1 % trong *ethanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về vị trí, kích thước và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

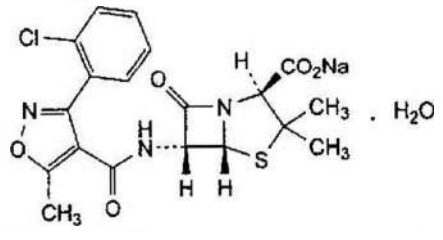
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hỗn hợp 30 thể tích *dung dịch acid phosphoric 0,02 M* và 70 thể tích *methanol (TT)*, điều chỉnh đến pH 7,5 với *dung dịch triethylamin 10 % trong methanol*.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 20 mg clotrimazol chuẩn, hòa tan với 70 ml *methanol (TT)* và thêm *dung dịch acid phosphoric 0,02 M* vừa đủ 100,0 ml. Pha loãng chính xác 1 thể tích dung dịch này thành 5 thể tích với một hỗn hợp gồm 70 thể tích *methanol (TT)* và 30 thể tích *dung dịch acid phosphoric 0,02 M*.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên có chứa khoảng 0,1 g clotrimazol, thêm 50 ml *methanol (TT)*, lắc 20 min, pha loãng thành 250 ml với *methanol (TT)*. Lọc, lấy 10,0 ml dịch lọc, thêm 60 ml *methanol (TT)* và thêm *dung dịch acid phosphoric 0,02 M* vừa đủ 100,0 ml, lọc.
Điều kiện sắc ký :
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Số đĩa lý thuyết của cột không được nhỏ hơn 2500.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng clotrimazol, $C_{22}H_{17}ClN_2$, có trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{22}H_{17}ClN_2$ trong clotrimazol chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống nấm tại chỗ, phổ rộng.

Hàm lượng thường dùng
100 mg và 500 mg.

CLOXACILIN NATRI
Cloxacilinum natricum



$C_{19}H_{17}ClN_3NaO_5S.H_2O$ P.t.l: 475,9

Cloxacilin natri là natri (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[[3-(2-clorophenyl)-5-methylisoxazol-4yl]carbonyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylat monohydrat, được bán tổng hợp từ một sản phẩm lên men, phải chứa từ 95,0 % đến 102,0 % $C_{19}H_{17}ClN_3NaO_5S$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng, hút ẩm. Dễ tan trong nước và methanol, tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của cloxacilin natri chuẩn. Chuẩn bị mẫu dạng đĩa nén.

B. Tiến hành sắc ký lớp mỏng như mô tả trong phần Định tính các penicilin (Phụ lục 8.2).

C. Tiến hành phản ứng B trong phép thử phản ứng màu của các penicilin và cephalosporin (Phụ lục 8.3).

D. Chế phẩm cho phản ứng (A) của natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) tại bước sóng 430 nm không được quá 0,04.

pH

Từ 5,0 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Dùng dung dịch S để đo.

Góc quay cực riêng

Từ +160° đến +169° tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Trộn 25 thể tích *acetonitril (TT)* và 75 thể tích *dung dịch kali dihydrophosphat 0,27 % (TT)* đã được điều chỉnh đến pH 5,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*.

Dung dịch thử (1): Hòa tan 50,0 g chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử (1) thành 50,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50,0 mg cloxacilin natri chuẩn trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử (2) thành 50,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5 mg flucloxacilin natri chuẩn và 5 mg cloxacilin natri chuẩn trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 225 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (2), (3).

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 5 lần thời gian lưu của cloxacilin.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic của cloxacilin (pic thứ nhất) với pic của flucloxacilin (pic thứ hai) ít nhất là 2,5.

Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1):

Diện tích pic của bất kỳ tạp chất nào không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (5,0 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: Acid (4*S*)-2-[carboxy[[[3-(2-clorophenyl) 5-methylisoxazol-4-yl]carbonyl]amino]methyl]-5,5 dimethylthiazolidin-4-carboxylic (acid peniciloic của cloxacilin).

Tạp chất B: (2*RS*,4*S*)-2-[[[[3-(2-clorophenyl)-5-methylisoxazol-4-yl]carbonyl]amino]methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic (acid peniloic của cloxacilin).

Tạp chất C: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-amino-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic (acid 6-aminopenicilanic).

Tạp chất D: Acid 3-(2-clorophenyl)-5-methylisoxazol-4-carboxylic.

Tạp chất E: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[[(2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[[3-(2-clorophenyl)-5-methylisoxazol-4-yl]carbonyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-yl]carbonyl] amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic (6-APA cloxacilin amid).

N,N-dimethylanilin

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16, phương pháp 2).

Acid 2-ethylhexanoic

Không được quá 0,8 % (kl/kl) (Phụ lục 10.17).

Nước

Từ 3,0 % đến 4,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,300 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn

Không được quá 0,20 EU/mg (Phụ lục 13.2), nếu chế phẩm được dự định để sản xuất các dạng thuốc tiêm mà không có các phương pháp thích hợp để loại bỏ nội độc tố vi khuẩn.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (1).
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic cloxacilin natri trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) thu được từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 1,0 %.
Tính hàm lượng của cloxacilin natri, $C_{19}H_{17}ClN_3NaO_5S$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng của cloxacilin natri chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, nhiệt độ không được quá 25 °C. Nếu chế phẩm là vô trùng, bảo quản trong bao bì kín, vô trùng.

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

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm penicilin.

Chế phẩm
Nang, thuốc tiêm truyền.

NANG CLOXACILIN
Capsulae Cloxacillini

Là nang cứng chứa cloxacilin natri.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau.

Hàm lượng cloxacilin, $C_{19}H_{18}ClN_3O_5S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có một pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic cloxacilin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
B. Hòa tan khoảng 50 mg chế phẩm trong 2 ml *nước*, lọc. Acid hóa dịch lọc bằng *dung dịch acid acetic loãng (TT)*, thêm 1 ml *dung dịch magnesi uranyl acetat (TT)*, cọ thành ống nghiệm bằng một đũa thủy tinh nếu cần, sẽ cho tủa kết tinh vàng.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *đệm phosphat chuẩn pH 6,8 (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, dung dịch chuẩn, điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Định lượng.
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc bằng pha động để thu được dung dịch thử có nồng độ cloxacilin 0,01 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt dung dịch chuẩn, dung dịch thử. Tính hàm lượng cloxacilin đã hòa tan dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng cloxacilin trong cloxacilin natri chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng cloxacilin, $C_{19}H_{18}ClN_3O_5S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Nước
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,300 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm: Pha dung dịch *kali dihydrophosphat (TT)* 0,02 M trong *nước*, điều chỉnh đến pH 6,8 bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*.
Pha động: *Dung dịch đệm - acetonitril* (70 : 30).
Dung dịch chuẩn: Pha cloxacilin natri chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ cloxacilin 0,01 %.
Dung dịch thử: Cân 20 nang, xác định khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 100 mg cloxacilin vào bình định mức 200 ml, thêm 150 ml pha động, lắc để hòa tan và thêm pha động vừa đủ đến vạch, trộn đều. Lọc và bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 25,0 ml bằng pha động, trộn đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 225 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích đáp ứng từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng cloxacilin, $C_{19}H_{18}ClN_3O_5S$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng cloxacilin trong cloxacilin natri chuẩn.

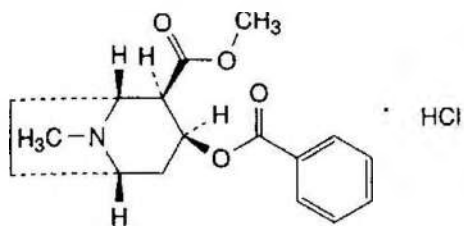
Bảo quản
Trong đồ đựng kín. Để nơi khô mát.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm penicilin.

Hàm lượng thường dùng
250 mg; 500 mg.

COCAIN HYDROCLORID

Cocaini hydrochloridum



$C_{17}H_{21}NO_4.HCl$ P.t.l: 339,8

Cocain hydroclorid là methyl (*1R,2R,3S,5S*)-3-(benzoyloxy)-8-methyl-8-azabicyclo[3.2.1]octan-2-carboxylat hydroclorid, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{17}H_{21}NO_4.HCl$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Tinh thể không màu hay bột kết tinh trắng. Rất dễ tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %, khó tan trong methylen clorid. Điểm chảy của chế phẩm khoảng 197 °C kèm theo phân hủy.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của cocain hydroclorid chuẩn.

B. Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong dải sóng từ 220 nm đến 350 nm có hai cực đại hấp thụ ở bước sóng 233 nm và 273 nm. Độ hấp thụ riêng ở bước sóng 233 nm là 378 đến 402.

C. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 5 ml *nước*. Thêm 1 ml *dung dịch amoniac loãng (TT)*. Kết tủa trắng tạo thành. Cọ nhẹ thành ống bằng đũa thủy tinh. Tinh thể thu được sau khi rửa bằng *nước* và làm khô trong chân không có điểm chảy từ 96 °C đến 99 °C.

D. Chế phẩm cho phản ứng đặc trưng của clorid (Phụ lục 8.1).

E. Chế phẩm cho phản ứng đặc trưng của alcaloid (Phụ lục 8.1).

Giới hạn acid

Thêm 0,05 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)* vào 10 ml dung dịch chế phẩm 2 % trong *nước không có carbon dioxyd (TT)*. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)* cần dùng để dung dịch chuyển sang màu vàng không quá 0,2 ml.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch chế phẩm 2,0 % trong *nước* phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực riêng

Từ -70° đến -73° (tính theo chế phẩm đã làm khô) (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch chế phẩm 2,5 % trong *nước* để đo.

Chất hữu cơ lạ

Thêm 2 ml *acid sulfuric đậm đặc (TT)* vào 0,2 g chế phẩm và để yên 15 min. Màu của dung dịch không được đậm hơn màu mẫu VN_5 (Phụ lục 9.3, phương pháp 1).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Triethylamin - tetrahydrofuran - acetonitril - nước (0,5 : 100 : 430 : 479,5).

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml bằng pha động. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT)*. Để yên trong 15 min.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi *end-capped octadecylsilyl silica gel* (5 µm) dùng cho sắc ký với diện tích bề mặt riêng 335 m^2/g, kích thước lỗ xốp là 10 nm và hàm lượng carbon 19,1 %.

Nhiệt độ cột: 35 °C.

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 216 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), thời gian lưu của cocain bằng khoảng 7,4 min. Thời gian lưu tương đối của sản phẩm phân hủy của cocain so với thời gian lưu của cocain khoảng 0,7.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của cocain và pic của sản phẩm phân hủy ít nhất là 5,0.

Giới hạn: Diện tích của bất cứ pic nào rửa giải sau pic chính đều không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %) và tổng diện tích của các pic đó không được lớn hơn 5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %). Loại bỏ các pic với diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng lượng chế phẩm đã làm khô ở trên.

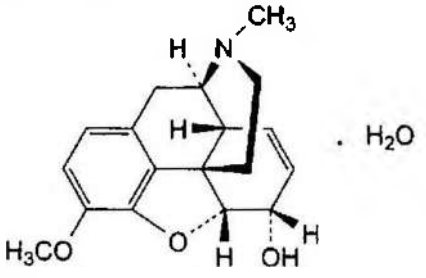
Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 5,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* và 50 ml *ethanol 96 % (TT)*. Định lượng bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ)*. Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Đọc thể tích thêm vào giữa 2 điểm uốn.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 33,98 mg $C_{17}H_{22}ClNO_4$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Gây tê tại chỗ.

Chế phẩm
Dung dịch dùng tại chỗ.

CODEIN
Codeinum monohydricum
Codein monohydrat



$C_{18}H_{21}NO_3.H_2O$ P.t.l: 317,4

Codein là 7,8-didehydro-4,5α-epoxy-3-methoxy-17-methylmorphinan-6α-ol monohydrat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{18}H_{21}NO_3$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Tinh thể không màu hoặc bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng.
Tan trong nước sôi, dễ tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, C.
Nhóm II: B, C, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của codein chuẩn. Chuẩn bị mẫu đo dưới dạng đĩa nén sử dụng *kali bromid (TT)*.
B. Thêm vào 2,0 ml dung dịch S (xem Độ trong và màu sắc của dung dịch) 50 ml *nước* và 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*. Đo phổ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở dải bước sóng từ 250 nm đến 350 nm. Dung dịch chỉ có duy nhất một cực đại hấp thụ ở bước sóng 284 nm. Độ hấp thụ riêng ở bước sóng cực đại khoảng 50, tính theo chế phẩm đã làm khô.
C. Điểm chảy: Từ 155 °C đến 159 °C (Phụ lục 6.7).
D. Thêm 1 ml *acid sulfuric (TT)* và 0,05 ml *dung dịch sắt (III) clorid 1,3 % (TT)* vào khoảng 10 mg chế phẩm và đun nóng trên cách thủy, sẽ xuất hiện màu xanh lam. Thêm 0,05 ml *acid nitric (TT)*, màu chuyển sang đỏ.
E. Chế phẩm cho phản ứng của các alcaloid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực riêng
Từ -142° đến -146°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi để đo.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 1,08 g *natri octansulfonat (TT)* trong hỗn hợp gồm 20 ml *acid acetic băng (TT)* và 250 ml *acetonitril (TT)*, sau đó pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm và 0,100 g *natri octansulfonat (TT)* trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5,0 mg tạp chất A chuẩn của codein trong pha động và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml bằng pha động. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (4): Thêm 2,5 ml dung dịch đối chiếu (1) vào 0,25 ml dung dịch thử.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 245 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 10 lần thời gian lưu của codein.
Thời gian lưu tương đối so với codein (thời gian lưu khoảng 6 min): Tạp chất B khoảng 0,6; tạp chất E khoảng 0,7; tạp chất A khoảng 2,0; tạp chất C khoảng 2,3; tạp chất D khoảng 3,6.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4), độ phân giải giữa pic của codein với pic của tạp chất A ít nhất là 3.

Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất C với 0,25.
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %).
Tạp chất B, C, D, E: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu cần, không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,2 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất trừ tạp chất A không được lớn hơn 10 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1,0 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 7,8-didehydro-4,5α-epoxy-3,6α-dimethoxy-17-methylmorphinan (methylcodein).
Tạp chất B: 7,8-didehydro-4,5α-epoxy-17-methylmorphinan-3,6α-diol (morphin).
Tạp chất C: 7,7',8,8'-tetradehydro-4,5α,4',5'α-diepoxy-3,3'-dimethoxy-17,17'-dimethyl-2,2'-bimorphinanyl-6α,6'α-diol (codein dimer).
Tạp chất D: 7,8-didehydro-2-[(7,8-didehydro-4,5α-epoxy-6α-hydroxy-17-methylmorphinan-3-yl)oxy]-4,5α-epoxy-3-methoxy-17-methylmorphinan-6α-ol (3-*O*-(codein-2-yl)morphin).
Tạp chất E: 7,8-didehydro-4,5α-epoxy-3-methoxy-17-methylmorphinan-6α,10-diol.
Tạp chất F: 7,8-didehydro-4,5α-epoxy-3-methoxy-17-methylmorphinan-6α,14-diol.
Tạp chất G: 6,7,8,14-tetradehydro-4,5α-epoxy-3,6-dimethoxy-17-methylmorphinan (thebain).

Mất khối lượng do làm khô
Từ 4,0 % đến 6,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

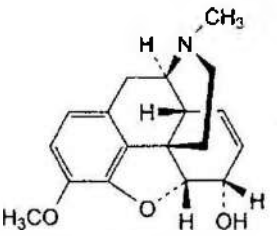
Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 10 ml *acid acetic khan (TT)*, thêm 20 ml *dioxan (TT)* và 0,05 ml *dung dịch tím tinh thể (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Song song làm mẫu trắng.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 29,94 mg $C_{18}H_{21}NO_3$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Giảm đau loại opioid.

Chế phẩm
Viên nén, viên nén kết hợp.

CODEIN PHOSPHAT
Codeini phosphas



. H_3PO_4 . $\frac{1}{2}H_2O$

$C_{18}H_{21}NO_3.H_3PO_4.1/2H_2O$ (hemihydrat) P.t.l: 406,4

Codein phosphat là 7,8-didehydro-4,5α-epoxy-3-methoxy-17-methylmorphinan-6α-ol phosphat hemihydrat, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{18}H_{21}NO_3.H_3PO_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Tinh thể nhỏ không màu hoặc bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng.
Dễ tan trong nước, khó tan hoặc rất khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, E, F.
Nhóm II: B, C, D, E, F, G.
A. Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong 4 ml *nước*, thêm 1 ml hỗn hợp đồng thể tích *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)* và *nước*. Để tạo kết tinh, có thể cọ vào thành ống nghiệm bằng một đũa thủy tinh và làm lạnh trong nước đá. Rửa tủa bằng *nước* và sấy khô ở 100 °C đến 105 °C. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của tủa thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của codein. Chuẩn bị mẫu đo dưới dạng đĩa nén kali bromid.
B. *Dung dịch S*: Hòa tan 1,00 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Pha loãng 1,0 ml dung dịch S thành 100,0 ml bằng *nước*. Thêm 25 ml *nước*, 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* vào 25,0 ml dung dịch thu được và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*. Đo phổ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch trên ở dải bước sóng từ 250 nm đến 350 nm. Dung dịch chỉ có duy nhất một cực đại hấp thụ ở bước sóng 284 nm. Độ hấp thụ riêng ở bước sóng cực đại khoảng 38, tính theo chế phẩm đã làm khô.
C. Điểm chảy của tủa thu được ở phép thử A phải từ 155 °C đến 159 °C (Phụ lục 6.7).
D. Thêm 1 ml *acid sulfuric (TT)* và 0,05 ml *dung dịch sắt (III) clorid 1,3 % (TT)* vào khoảng 10 mg chế phẩm và đun nóng trên cách thủy, sẽ xuất hiện màu xanh lam. Thêm 0,05 ml *acid nitric (TT)*, màu chuyển sang đỏ.
E. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử "Mất khối lượng do làm khô".
F. Dung dịch S phải cho phản ứng (A) của phosphat (Phụ lục 8.1).
G. Chế phẩm phải cho phản ứng của các alcaloid (Phụ lục 8.1).

pH
Từ 4,0 đến 5,0 (Phụ lục 6.2).
Dùng dung dịch S để đo.

Góc quay cực riêng
Từ -98° đến -102°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Pha loãng 5,0 ml dung dịch S thành 10,0 ml bằng *nước* để đo.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 1,08 g *natri octansulfonat (TT)* trong hỗn hợp gồm 20 ml *acid acetic băng (TT)* và 250 ml *acetonitril (TT)*, sau đó pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm và 0,100 g *natri octansulfonat (TT)* trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5,0 mg tạp chất A chuẩn của codein trong pha động và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml bằng pha động. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (4): Thêm 2,5 ml dung dịch đối chiếu (1) vào 0,25 ml dung dịch thử.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 245 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 10 lần thời gian lưu của codein.
Thời gian lưu tương đối so với codein (thời gian lưu khoảng 6 min): Tạp chất B và E khoảng 0,7; tạp chất A khoảng 2,0; tạp chất C khoảng 2,3; tạp chất D khoảng 3,6.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4), độ phân giải giữa pic của codein với pic của tạp chất A ít nhất là 3,0.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất C với 0,25.
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %).
Tổng tạp chất B và E: Tổng diện tích pic 2 tạp chất này không được lớn hơn 4 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,4 %).
Tạp chất C, D: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu cần, không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,2 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất trừ tạp chất A không được lớn hơn 10 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1,0 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 7,8-didehydro-4,5α-epoxy-3,6α-dimethoxy-17-methylmorphinan (methylcodein).
Tạp chất B: 7,8-didehydro-4,5α-epoxy-17-methylmorphinan-3,6α-diol (morphin).
Tạp chất C: 7,7',8,8'-tetradehydro-4,5α,4',5'α-diepoxy-3,3'-dimethoxy-17,17'-dimethyl-2,2'-bimorphinanyl-6α,6'α-diol (codein dimer).
Tạp chất D: 7,8-didehydro-2-[(7,8-didehydro-4,5α-epoxy-6α-hydroxy-17-methylmorphinan-3-yl)oxy]-4,5α-epoxy-3-methoxy-17-methylmorphinan-6α-ol(3-*O*-(codein-2-yl) morphin).
Tạp chất E: 7,8-didehydro-4,5α-epoxy-3-methoxy-17-methylmorphinan-6α,10-diol.
Tạp chất F: 7,8-didehydro-4,5α-epoxy-3-methoxy-17-methylmorphinan-6α,14-diol.
Tạp chất G: 6,7,8,14-tetradehydro-4,5α-epoxy-3,6-dimethoxy-17-methylmorphinan (thebain).

Mất khối lượng do làm khô
Từ 1,5 % đến 3,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.4.14).
Lấy 5 ml dung dịch S pha loãng thành 20 ml bằng *nước*, lấy 15 ml dung dịch thu được để đo.

Định lượng
Hòa tan 0,350 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 10 ml *acid acetic khan (TT)* và 20 ml *dioxan (TT)*, dùng 0,05 ml *dung dịch tím tinh thể (TT)* làm chỉ thị. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Song song làm mẫu trắng. 1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 39,74 mg $C_{18}H_{21}NO_3.H_3PO_4$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Giảm đau loại opioid.

Chế phẩm
Viên nén, dung dịch uống.

VIÊN NÉN CODEIN PHOSPHAT
Tabellae Codeini phosphatis

Là viên nén chứa codein phosphat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng codein phosphat, $C_{18}H_{21}NO_3.H_3PO_4.½H_2O$, từ 93,0 % đến 107,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lấy một lượng bột viên có chứa khoảng 100 mg codein phosphat, thêm 15 ml *nước* và 5 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)*, để yên 1 h. Lọc, rửa cắn không tan bằng vài ml *nước*, kiềm hóa dịch lọc bằng *dung dịch amoniac 6 M (TT)*, chiết 2 lần, mỗi lần 10 ml *cloroform (TT)*. Làm bay hơi dịch chiết cloroform trên cách thủy tới khô. Tiếp tục làm khô cắn ở 80 °C trong 4 h. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của codein thu được bằng cách xử lý 10 ml dung dịch codein phosphat chuẩn 1 % tương tự như mẫu thử.
B. Lấy lượng bột viên có chứa khoảng 100 mg codein phosphat thêm 10 ml *nước* và 2 giọt *dung dịch acid sulfuric 2 M (TT)*, đun nóng trong 15 min, thỉnh thoảng lắc. Lọc, trung tính hóa 5 ml dịch lọc với *dung dịch amoniac 6 M (TT)*, thêm *dung dịch bạc nitrat 5 % (TT)*, tủa bạc phosphat màu vàng được tạo thành, tủa này tan trong *acid nitric loãng (TT)* và *dung dịch amoniac 6 M (TT)*.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 500 ml *nước*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng nếu cần.
Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị một dung dịch codein phosphat chuẩn trong *nước* có nồng độ tương ứng với dung dịch thử.
Đo độ hấp thụ tử ngoại của dung dịch thử và dung dịch chuẩn ở bước sóng cực đại 284 nm.
Tính hàm lượng codein phosphat, $C_{18}H_{21}NO_3.H_3PO_4.½H_2O$, được hòa tan trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ đo được của các dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{18}H_{21}NO_3.H_3PO_4.½H_2O$ của codein phosphat chuẩn.
Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng codein phosphat, $C_{18}H_{21}NO_3.H_3PO_4.½H_2O$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Giới hạn morphin
Hòa tan khoảng 50 mg *kali ferricyanid (TT)* trong 10 ml *nước*, thêm 1 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)* và 1 ml dịch lọc từ phép thử B của phần định tính, màu xanh lam không được xuất hiện ngay.

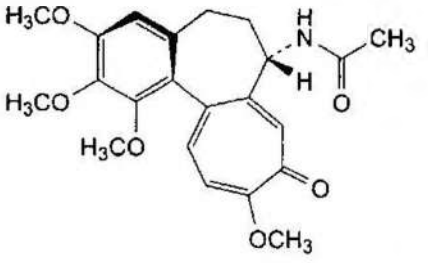
Định lượng
Cân 20 viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 0,15 g codein phosphat và chuyển vào bình định mức 100 ml. Thêm 20 ml *dung dịch acid sulfuric 0,25 M (TT)*, lắc 30 min và thêm *nước* vừa đủ 100 ml. Lọc, lấy 50,0 ml dịch lọc, kiềm hóa bằng *dung dịch amoniac 6 M (TT)* và chiết bằng *cloroform (TT)* 4 lần (25 ml, 15 ml, 15 ml, 15 ml). Gộp dịch chiết cloroform, bốc hơi trên cách thủy đến khô, thêm vào cắn 25,0 ml *dung dịch acid sulfuric 0,02 N (CĐ)*, đun nóng để hòa tan, để nguội, thêm 2 giọt *dung dịch đỏ methyl (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)*.
1 ml dung dịch *acid sulfuric 0,02 N (CĐ)* tương đương với 8,128 mg $C_{18}H_{21}NO_4.H_3PO_3.½H_2O$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Giảm đau loại opioid, giảm ho.

Hàm lượng thường dùng
15 mg; 30 mg.

COLCHICIN
Colchicinum



$C_{22}H_{25}NO_6$ P.t.l: 399,4

Colchicin là (-)-*N*-[(7*S*,12a*R*a)-1,2,3,10-tetramethoxy-9-oxo-5,6,7,9-tetrahydrobenzo[a]heptalen-7-yl]acetamid, phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % $C_{22}H_{25}NO_6$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh hoặc vô định hình, màu trắng hơi vàng.
Rất tan trong nước, kết tinh lại rất nhanh từ dung dịch đậm đặc dưới dạng ngậm 1,5 phân tử nước, dễ tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong cyclohexan.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của colchicin chuẩn. Chuẩn bị mẫu đo dưới dạng đĩa nén kali bromid.

B. Hòa tan 5 mg chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 25,0 ml với *ethanol 96 % (TT)*. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) trong khoảng từ 230 nm đến 400 nm, dung dịch thu được phải cho hai cực đại hấp thụ ở 243 nm và 350 nm. Tỷ số giữa độ hấp thụ ở bước sóng 243 nm và độ hấp thụ ở bước sóng 350 nm phải từ 1,7 đến 1,9.

C. Thêm 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và 0,15 ml *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)* vào 0,5 ml dung dịch S (xem ở mục Độ trong và màu sắc của dung dịch). Dung dịch có màu vàng và chuyển sang màu xanh lục sẫm khi đun sôi trong 30 s. Để nguội, thêm 2 ml *methylen clorid (TT)* và lắc. Lớp methylen clorid có màu vàng lục.

D. Hòa tan khoảng 30 mg chế phẩm trong 1 ml *ethanol 96 % (TT)*, thêm 0,15 ml *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)*. Sẽ xuất hiện màu đỏ nâu.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu VL_3 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)* vào 10 ml dung dịch S. Dung dịch không đổi màu hoặc chuyển sang màu xanh lục. Màu của dung dịch phải chuyển sang xanh lam khi thêm không quá 0,1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (CĐ)*.

Góc quay cực riêng

Từ -235° đến -250°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4). Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Trộn 450 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,68 %* với 530 ml *methanol (TT)*. Sau khi để nguội đến nhiệt độ phòng, thêm *methanol (TT)* đến vừa đủ 1000 ml. Điều chỉnh pH biểu kiến của dung dịch thu được đến 5,5 bằng *dung dịch acid phosphoric loãng (TT)*.

Dung dịch thử: Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong một hỗn hợp đồng thể tích của *methanol (TT)* và *nước*, và pha loãng thành 20,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20,0 mg colchicin chuẩn dùng để kiểm tra tính thích hợp của hệ thống trong một hỗn hợp đồng thể tích của *methanol (TT)* và *nước*, và pha loãng thành 20,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với một hỗn hợp đồng thể tích của *methanol (TT)* và *nước*.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 20,0 ml với một hỗn hợp đồng thể tích của *methanol (TT)* và *nước*.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với khoảng thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của pic colchicin.

Với điều kiện sắc ký như trên, thời gian lưu tương đối của các chất so với colchicin (thời gian lưu khoảng 7 min) như sau: Tạp chất D khoảng 0,4; tạp chất E khoảng 0,7; tạp chất B khoảng 0,8; tạp chất A khoảng 0,94; tạp chất C khoảng 1,2.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiêm dung dịch đối chiếu (1), tỷ số H_P/H_V không được nhỏ hơn 2, trong đó H_P là chiều cao so với đường nền của đỉnh pic tương ứng với tạp chất A và H_V là chiều cao so với đường nền của điểm thấp nhất trên đường cong tách pic này ra khỏi pic tương ứng với colchicin.

Giới hạn:

Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của pic tương ứng với tạp chất A không được lớn hơn 3,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (3,5 %); diện tích của bất kỳ pic phụ nào ngoài pic chính và pic tương ứng với tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1 %); tổng diện tích của tất cả các pic phụ ngoài pic chính không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (5 %). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3) (0,05 %).

Colchicein

Không được quá 0,2 %.

Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi. Thêm 0,1 ml *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)*. Dung dịch không được có màu đậm hơn màu của một hỗn hợp gồm 1 ml dung dịch gốc màu đỏ, 2 ml dung dịch gốc màu vàng và 2 ml dung dịch gốc màu xanh (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Cloroform

Không được quá 0,05 % (Phụ lục 10.14).

Ethyl acetat

Không được quá 6,0 % (theo khối lượng) (Phụ lục 10.14).

Nước

Không được quá 2,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,500 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 0,5 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm bằng cách đun nóng nhẹ trong

một hỗn hợp gồm 10 ml *anhydrid acetic (TT)* và 20 ml *toluen (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 39,94 mg $C_{22}H_{25}NO_6$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc điều trị bệnh gút.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN COLCHICIN
Tabellae Colchicin

Là viên nén chứa colchicin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng colchicin, $C_{22}H_{25}NO_6$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Lấy một lượng bột viên có chứa khoảng 20 mg colchicin nghiền với 20 ml *nước*, để lắng, lọc dung dịch trong phía trên vào một bình chiết. Chiết với 30 ml *cloroform (TT)*. Làm bay hơi dịch chiết cloroform tới khô bằng cách làm nóng nhẹ. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của colchicin chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 500 ml *nước*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 30 min.
Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu.
Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị một dung dịch colchicin chuẩn trong *nước* có nồng độ tương ứng với nồng độ colchicin của dung dịch thử.
Xác định hàm lượng colchicin được hòa tan bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tiêm riêng biệt 50 µl mỗi dung dịch thử và chuẩn vào hệ thống sắc ký. Sử dụng pha động và các điều kiện sắc ký như ở mục Định lượng.
Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng colchicin, $C_{22}H_{25}NO_6$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)
Dung dịch thử: Lấy 1 viên nghiền thành bột mịn, thêm khoảng 50 ml hỗn hợp *methanol (TT)* và *nước* (1 : 1), lắc 15 min, chuyển vào trong một bình định mức có thể tích phù hợp và pha loãng với cùng hỗn hợp dung môi để thu được một dung dịch có nồng độ khoảng 5 µg/ml, lọc.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng chất chuẩn colchicin đã được cân chính xác trong hỗn hợp *methanol - nước* (1 : 1) và pha loãng với cùng hỗn hợp dung môi để thu được một dung dịch có nồng độ khoảng 5 µg/ml.
Tiến hành xác định hàm lượng colchicin trong 1 viên bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Sử dụng pha động và các điều kiện sắc ký như ở mục Định lượng.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Pha loãng 45 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,5 M* với *nước* thành 450 ml, thêm khoảng 530 ml *methanol (TT)*, làm nguội tới nhiệt độ phòng và thêm *methanol (TT)* tới vừa đủ 1000 ml. Điều chỉnh đến pH = 5,5 ± 0,05 bằng *dung dịch acid phosphoric 0,5 M (TT)*.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng chất chuẩn colchicin đã được cân chính xác trong hỗn hợp *methanol (TT)* và *nước* (1 : 1) và pha loãng với cùng hỗn hợp dung môi để thu được một dung dịch có nồng độ khoảng 6 µg/ml. Dung dịch này ổn định trong 4 tháng khi được bảo quản trong lọ kín tránh ánh sáng.
Dung dịch thử (chuẩn bị dung dịch ngay trước khi sử dụng): Lấy 20 viên nghiền thành bột mịn. Chuyển một lượng bột viên đã được cân chính xác, tương đương với khoảng 0,6 mg colchicin vào một bình định mức 100 ml, thêm khoảng 50 ml hỗn hợp *methanol (TT)* và *nước* (1 : 1), lắc 15 min. Rửa thành bình và pha loãng đến vạch với cùng hỗn hợp dung môi, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (250 mm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch chuẩn và ghi diện tích pic đáp ứng. Xác định hiệu năng của cột, số đĩa lý thuyết tính trên pic colchicin không nhỏ hơn 4500; thời gian lưu của pic colchicin trong khoảng từ 5,5 đến 9,5 min; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic colchicin trong các lần tiêm lặp lại không quá 2,0 %.
Tiêm lần lượt các dung dịch chuẩn và thử. Tính hàm lượng colchicin, $C_{22}H_{25}NO_6$, trong viên dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử và dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{22}H_{25}NO_6$ của colchicin chuẩn,

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

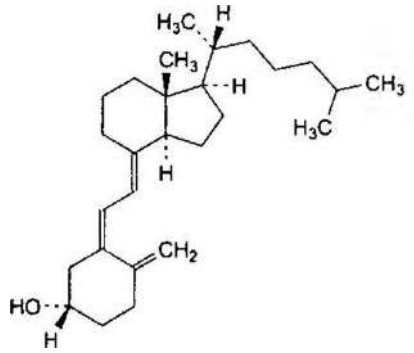
Loại thuốc
Thuốc điều trị bệnh gút.

Hàm lượng thường dùng
0,25 mg; 0,5 mg.

COLECALCIFEROL

Cholecalciferolum

Vitamin D_3



$C_{27}H_{44}O$ P.t.l: 384,6

Colecalciferol là (5*Z*,7*E*)-9,10-secocholesta-5,7,10(19)-trien-3β-ol, phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % $C_{27}H_{44}O$.
1 mg colecalciferol tương đương với 40 000 IU hoạt lực vitamin D chống còi xương trên chuột.

Tính chất

Tinh thể trắng hoặc gần như trắng, dễ biến đổi khi tiếp xúc với không khí, nhiệt độ và ánh sáng. Dễ tan trong ethanol 96 %, tan trong trimethylpentan và dầu béo, thực tế không tan trong nước.
Trong dung dịch, tùy thuộc vào nhiệt độ và thời gian mà có thể xảy ra hiện tượng chuyển đồng phân thuận nghịch thành pre-colecalciferol. Dung dịch trong các dung môi mà không có chất chống oxy hóa thì không ổn định, nên dùng ngay.

Định tính

Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của colecalciferol chuẩn.

Góc quay cực riêng

Từ +105° đến +112° (Phụ lục 6.4).
Hòa tan nhanh không làm nóng 0,200 g chế phẩm trong *ethanol không có aldehyd (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. Góc quay cực của dung dịch được xác định trong thời gian không quá 30 min kể từ lúc pha.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch tránh ánh sáng và không khí, dùng ngay sau khi pha.
Pha động: *Pentanol - hexan* (3 : 997).
Dung dịch thử: Hòa tan không làm nóng 10,0 mg chế phẩm trong *trimethylpentan (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan không làm nóng 10,0 mg colecalciferol chuẩn trong *trimethylpentan (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml colecalciferol chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa tạp chất A) thành 5,0 ml bằng pha động. Đun nóng trong cách thủy ở 90 °C dưới sinh hàn hồi lưu trong 45 min và làm nguội (tạo thành pre-colecalciferol).
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 10,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 265 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 5 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (2) và (3).
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của colecalciferol.
Thời gian lưu tương đối so với colecalciferol (thời gian lưu khoảng 19 min): Pre-colecalciferol khoảng 0,5; tạp chất A khoảng 0,6.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của pre-colecalciferol và pic của tạp chất A ít nhất là 1,5.
Giới hạn:
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 10 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1,0 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,05 %), bỏ qua pic của pre-colecalciferol.
Ghi chú:
Tạp chất A: (5*E*,7*E*)-9,10-secocholesta-5,7,10(19)-trien-3β-ol (*trans*-cholecalciferol, *trans*-vitamin D_3).
Tạp chất B: cholesta-5,7-dien-3β-ol (7,8-didehydrocholesterol, provitamin D_3).
Tạp chất C: 9β,10α-cholesta-5,7-dien-3β-ol (lumisterol$_3$).
Tạp chất D: (6*E*)-9,10-secocholesta-5(10),6,8(14)-trien-3β-ol (iso-tachysterol$_3$).
Tạp chất E: (6*E*)-9,10-secocholesta-5(10),6,8-trien-3β-ol (tachysterol$_3$).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1). Tính hàm lượng của $C_{27}H_{44}O$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng của $C_{27}H_{44}O$ trong colecalciferol chuẩn.

Bảo quản
Colecalciferol được bảo quản trong bình kín, dưới lớp khí nitrogen, tránh ánh sáng và ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C. Khi đã mở bình phải dùng ngay.

Loại thuốc
Vitamin.

Chế phẩm
Viên nén, thuốc uống dạng giọt.
Viên nén calci và colecalciferol.

VIÊN NÉN COLECALCIFEROL
Tabellae Colecalciferoli

Là viên nén hay viên bao chứa colecalciferol.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng colecalciferol, $C_{27}H_{44}O$, từ 90,0 % đến 125,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong mục Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic colecalciferol trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.
B. Lắc một lượng bột viên tương ứng với 400 IU vitamin D với 5 ml *cloroform không có ethanol (TT)*, lọc. Thêm vào 1 ml dịch lọc 9 ml *dung dịch antimony triclorid (TT)*, màu đỏ nâu tạo thành.

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)
Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) trong điều kiện tránh ánh sáng.
Pha động, Dung dịch chuẩn, Điều kiện sắc ký và *Cách tiến hành:* Như mô tả ở phần Định lượng.
Dung dịch thử: Chuyển toàn bộ lượng bột đã nghiền mịn của 1 viên vào bình nón dung tích 50 ml, thêm 20,0 ml *methanol 90 % (TT)*, đậy nút, lắc đều và siêu âm 5 min. Ly tâm và lọc qua phễu xốp thủy tinh (Whatman GF/C là thích hợp). Nếu cần, pha loãng dịch lọc với *methanol 90 % (TT)*, để thu được dung dịch có nồng độ colecalciferol khoảng 0,00005 %.
Tính hàm lượng colecalciferol trong mỗi viên, dựa vào diện tích (hay chiều cao) của pic colecalciferol trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{27}H_{44}O$ của colecalciferol chuẩn.

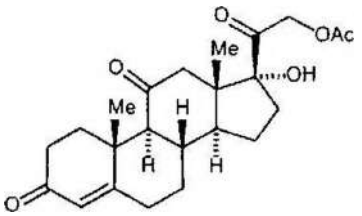
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3), tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Pha động: Methanol - nước (97 : 3).
Dung dịch chuẩn: Dung dịch colecalciferol chuẩn 0,00005 % trong *methanol 90 % (TT)*.
Dung dịch thử: Cân 20 viên (đã loại bỏ lớp vỏ bao nếu là viên bao), nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 µg colecalciferol vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml *methanol 90 % (TT)*, lắc trong 5 min, rồi để siêu âm 5 min. Thêm *methanol 90 % (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Ly tâm và lọc qua phễu xốp thủy tinh (Whatman GF/C là thích hợp).
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (Hypersil 5 ODS là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 264 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm riêng biệt dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng colecalciferol, $C_{27}H_{44}O$, trong viên, dựa vào diện tích (hay chiều cao) của pic colecalciferol trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{27}H_{44}O$ của colecalciferol chuẩn.
Ghi chú: 1 µg colecalciferol tương ứng với 40 IU vitamin D.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Vitamin.

Hàm lượng thường dùng
400 IU.

CORTISON ACETAT
Cortisoni acetas



$C_{23}H_{30}O_6$ P.t.l: 402,5

Cortison acetat là 17,21-dihydroxypregn-4-en-3,11,20-trion 21-acetat, chứa từ 97,0 % đến 103,0 % $C_{23}H_{30}O_6$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, đa hình, thực tế không tan trong nước, dễ tan trong methylen clorid, tan trong dioxan, hơi tan trong aceton, khó tan trong ethanol 96 %, ether và methanol.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B.

Nhóm II: C, D, E.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của cortison acetat chuẩn. Nếu phổ của chất chuẩn và chế phẩm được đo ở trạng thái rắn có sự khác nhau thì ghi lại phổ của dung dịch 5 % của chuẩn và chế phẩm trong *methylen clorid (TT)* trong cốc đo 0,2 mm.

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

Bản mỏng: Silica gel F_{254}.

Dung môi khai triển: Trộn đều hỗn hợp gồm 1,2 thể tích *nước,* 8 thể tích *methanol (TT)* với hỗn hợp gồm 15 thể tích *ether (TT)* và 77 thể tích *methylen clorid (TT).*

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (1 : 9), pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg cortison acetat chuẩn trong hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (1 : 9) rồi pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg hydrocortison acetat chuẩn trong dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 10 ml bằng dung dịch đối chiếu (1).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl của mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và soi dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí và kích thước của vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT).* Sấy bản mỏng ở 120 °C trong 10 min hoặc đến khi xuất hiện vết. Để nguội. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng ban ngày và tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc dưới ánh sáng ban ngày, huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại 365 nm và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách rõ ràng.

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

Bản mỏng: Silica gel F_{254}.

Dung môi khai triển: Trộn đều hỗn hợp gồm 1,2 thể tích *nước,* 8 thể tích *methanol (TT)* với hỗn hợp gồm 15 thể tích *ether (TT)* và 77 thể tích *methylen clorid (TT).*

Dung dịch thử (1): Hòa tan 25 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* bằng cách đun nóng nhẹ và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi. Dung dịch này cũng được dùng để chuẩn bị dung dịch thử (2). Pha loãng 2 ml dung dịch trên thành 10 ml với *methylen clorid (TT).*

Dung dịch thử (2): Chuyển 2 ml dung dịch thu được trong quá trình chuẩn bị của dung dịch thử (1) vào ống nghiệm thủy tinh dung tích 15 ml có nút mài hoặc nắp bằng polytetrafluoroethylen, thêm 10 ml dung dịch *bão hòa kali hydrocarbonat trong methanol (TT)* và ngay lập tức cho một luồng khí nitrogen đi nhanh qua dung dịch trong 5 min, đậy nắp ống nghiệm. Đun nóng trong cách thủy ở 45 °C, tránh ánh sáng trong 2 h 30 min. Để nguội.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg cortison acetat chuẩn trong *methanol (TT)* bằng cách làm nóng nhẹ và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi. Dung dịch này cũng được dùng để chuẩn bị dung dịch đối chiếu (2). Pha loãng 2 ml dung dịch trên thành 10 ml với *methylen clorid (TT).*

Dung dịch đối chiếu (2): Chuyển 2 ml dung dịch thu được trong quá trình chuẩn bị của dung dịch đối chiếu (1) vào một ống nghiệm thủy tinh có dung tích 15 ml có nút mài hoặc nắp bằng polytetra fluoroethylen, thêm 10 ml *dung dịch bão hòa kali hydrocarbonat trong methanol (TT)* và ngay lập tức cho một luồng khí nitrogen đi nhanh qua dung dịch trong 5 min, đậy nắp ống nghiệm. Đun nóng trong cách thủy ở 45 °C, tránh ánh sáng trong 2 h 30 min. Để nguội.

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên mỗi sắc ký đồ thu được của các dung dịch thử phải giống về vị trí, kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu tương ứng. Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT).* Sấy bản mỏng ở 120 °C trong 10 min hoặc tới khi vết xuất hiện. Để nguội. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày và ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính thu được trên mỗi sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc dưới ánh sáng ban ngày, huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm, và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu tương ứng. Những vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (2) có giá trị R_f thấp hơn so với giá trị R_f của vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (1).

D. Thêm 2 mg chế phẩm vào 2 ml *acid sulfuric (TT)* và lắc cho tan. Trong vòng 5 min, màu vàng nhạt xuất hiện. Thêm vào dung dịch trên 10 ml *nước* và trộn đều. Màu bị biến mất và dung dịch vẫn trong.

E. Khoảng 10 mg chế phẩm cho phản ứng đặc trưng của nhóm acetyl (Phụ lục 8.1).

Góc quay cực riêng

Từ +211° đến +220°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *dioxan (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Trộn đều 400 ml *acetonitril (TT)* với 550 ml *nước* và để cân bằng; điều chỉnh thể tích đến 1000 ml bằng *nước* và trộn đều lại.

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2 mg cortison acetat chuẩn và 2 mg hydrocortison acetat chuẩn trong pha động

và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là *octadecyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Cân bằng cột với pha động ở tốc độ dòng 1 ml/min trong khoảng thời gian 30 min.
Tiến hành sắc ký dung dịch đối chiếu (2), điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao của pic chính trong sắc ký đồ không dưới 50 % của thang đo.
Tiến hành sắc ký dung dịch đối chiếu (1), thời gian lưu của hydrocortison acetat khoảng 10 min và của cortison acetat khoảng 12 min. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa pic tương ứng với hydrocortison acetat và cortison acetat ít nhất là 4,2; nếu cần thiết, điều chỉnh nồng độ acetonitril trong pha động.
Tiến hành chạy sắc ký dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2) trong khoảng thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của pic chính.
Giới hạn: Trong sắc ký đồ của dung dịch thử:
Diện tích của bất kỳ pic nào ngoài pic chính không được lớn hơn 0,5 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).
Tổng diện tích của tất cả các pic phụ không được lớn hơn 1,5 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,5 %).
Bỏ qua bất kỳ pic phụ nào có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(0,500 g; 100 °C đến 105 °C).

Định lượng
Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng cùng dung môi. Hút 2,0 ml dung dịch trên, pha loãng thành 100,0 ml bằng *ethanol 96 % (TT)*. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch ở bước sóng cực đại 237 nm. Tính hàm lượng $C_{23}H_{30}O_6$ theo A (1 %, 1 cm), lấy giá trị A (1 %, 1 cm) của cortison acetat ở bước sóng 237 là 395.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Corticosteroid.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN CORTISON
Tabellae Cortisoni

Là viên nén chứa cortison acetat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cortison acetat, $C_{23}H_{30}O_6$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lấy một lượng bột viên tương ứng với khoảng 30 mg cortison acetat, thêm 15 ml *cloroform (TT)*, khuấy kỹ 15 min và lọc. Bay hơi dịch lọc đến khô trên cách thủy. Cắn thu được dùng cho các phép thử sau:
Hòa tan 1 mg cắn trong 10 ml *methanol (TT)*. Lấy 1 ml dung dịch, thêm 8 ml *dung dịch phenylhydrazin sulfat (TT)* mới pha, đun nóng ở 70 °C trong 15 min. Xuất hiện màu vàng.
Hòa tan khoảng 2 mg cắn trong 2 ml *acid sulfuric (TT)*, để yên 5 min. Xuất hiện màu vàng hay cam nhạt. Màu phai dần khi pha loãng với 10 ml *nước*, dung dịch vẫn trong.
B. Trong mục Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch natri lauryl sulfat 0,3 %*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch chuẩn: Dung dịch cortison acetat chuẩn 0,0028 % trong môi trường hòa tan.
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan và lọc, loại bỏ dịch lọc đầu.
Đo độ hấp thụ của các dung dịch ở bước sóng hấp thụ cực đại ở khoảng 242 nm (Phụ lục 4.1) trong cốc đo dày 1 cm, dùng môi trường hòa tan làm mẫu trắng. Tính hàm lượng cortison acetat, $C_{23}H_{30}O_6$, trong mỗi viên, dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{23}H_{30}O_6$ của cortison acetat chuẩn.
Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % (Q) lượng cortison acetat, $C_{23}H_{30}O_6$, so với hàm lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Trộn 400 ml *acetonitril (TT)* với 550 ml *nước*, để cân bằng, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml, lắc đều.
Các dung dịch sau pha ngay trước khi dùng.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 25 mg cortison acetat, thêm 10 ml pha động, lắc siêu âm 10 min, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với pha động, lắc đều.

Dung dịch phân giải: Dung dịch chứa 0,002 % cortison acetat chuẩn và 0,002 % hydrocortison acetat chuẩn trong pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (Hypersil ODS là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Cân bằng cột với pha động trong 30 min.
Tiêm dung dịch đối chiếu. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính trên sắc ký đồ thu được ít nhất bằng 50 % thang đo.
Tiêm dung dịch phân giải. Trên sắc ký đồ thu được với các điều kiện sắc ký đã mô tả, thời gian lưu của hydrocortison acetat khoảng 10 min và của cortison acetat khoảng 12 min. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic hydrocortison acetat và cortison acetat ít nhất là 4,2. Nếu cần, điều chỉnh tỷ lệ acetonitril trong pha động.
Tiêm riêng biệt dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Tiến hành sắc ký với thời gian gấp đôi thời gian lưu của pic chính. Trong sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào không được lớn hơn 1/2 diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (0,5 %), tổng diện tích của tất cả các pic phụ không được lớn hơn 1,5 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1,5 %). Không tính đến các pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (0,05 %).

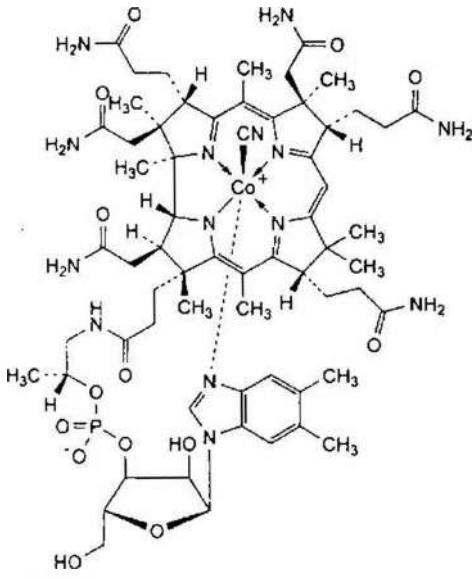
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol 60 %
Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị dung dịch chứa 0,02 % cortison acetat chuẩn trong *methanol (TT)*. Tiếp tục pha loãng 50,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với *nước*, lắc đều.
Dung dịch phân giải: Chuẩn bị dung dịch chứa 0,02 % cortison acetat chuẩn và 0,02 % prednisolon chuẩn trong *methanol (TT)*. Tiếp tục pha loãng 50,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với *nước*, lắc đều.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 10 mg cortison acetat, thêm 50 ml *methanol (TT)*, lắc kỹ, rồi để siêu âm 2 min, thêm *nước* vừa đủ 100,0 ml, lắc đều, ly tâm. Sử dụng dịch trong ở trên.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm) (Hypersil ODS là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 240 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch phân giải và ghi lại sắc ký đồ. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic cortison acetat và prednisolon ít nhất là 5,0.
Tiêm riêng biệt dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng cortison acetat, $C_{23}H_{30}O_6$, trong viên, dựa vào diện tích (hay chiều cao) của pic cortison acetat trong sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{23}H_{30}O_6$ của cortison acetat chuẩn.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Corticosteroid.

Hàm lượng thường dùng
25 mg.

CYANOCOBALAMIN
Cyanocobalaminum



$C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$ P.t.l: 1355,0

Cyanocobalamin là α-(5,6-dimethylbenzimidazol-1-yl) cobamid cyanid, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh hoặc tinh thể màu đỏ đậm, hơi tan trong nước và trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong aceton và trong ether. Dạng khan rất hút ẩm.

Định tính
A. Hòa tan 2,5 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến (Phụ lục 4.1) của dung dịch trên trong khoảng dài sóng từ 260 nm đến 610 nm có 3 cực đại hấp thụ ở 278 nm, 361 nm và 547 nm đến 559 nm. Tỷ số độ hấp

thụ cực đại ở 361 nm so với độ hấp thụ cực đại ở 547 nm đến 559 nm từ 3,15 đến 3,45. Tỷ số độ hấp thụ cực đại ở 361 nm so với độ hấp thụ ở 278 nm từ 1,70 đến 1,90.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4). Quá trình sắc ký được tiến hành tránh ánh sáng.

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Dung dịch amoniac 10 % - methanol - dicloromethan (9 : 30 : 45).

Dung dịch thử: Hòa tan 2 mg chế phẩm trong 1 ml hỗn hợp đồng thể tích *ethanol 96 % (TT)* và *nước*.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 2 mg cyanocobalamin chuẩn trong 1 ml hỗn hợp đồng thể tích *ethanol 96 % (TT)* và *nước*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký trong bình sắc ký không bão hòa dung môi đến khi dung môi đi được 12 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Trộn 26,5 thể tích *methanol (TT)* với 73,5 thể tích *dung dịch dinatri hydrophosphat 1,0 %*, điều chỉnh đến pH 3,5 bằng *acid phosphoric (TT)*. Pha động này chỉ dùng được trong thời gian 2 ngày.

Dung dịch thử: Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Dùng trong vòng 1 h.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 3,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Dùng trong vòng 1 h.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml bằng pha động. Lấy 1,0 ml dung dịch này pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động. Dùng trong vòng 1 h.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong 10 ml *nước*, làm nóng nếu cần thiết. Để nguội và thêm 5 ml *dung dịch cloramin T 0,1 %* và 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,05 M (TT)*. Pha loãng thành 25 ml bằng *nước*. Lắc và để yên trong 5 min. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 10,0 ml bằng pha động và tiêm ngay.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi *octylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 361 nm.

Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của cyanocobalamin.

Phép thử này chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải có 2 pic chính với độ phân giải giữa 2 pic này ít nhất là 2,5, và trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) có 1 pic chính mà tỷ số giữa chiều cao của pic này so với độ nhiễu đường nền không nhỏ hơn 5.

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

Tổng diện tích của các pic phụ không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (3,0 %).

Bỏ qua tất cả các pic có diện tích nhỏ hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 12,0 % (Phụ lục 9.6).

(20,00 mg; áp suất giảm; phosphor pentoxyd; 100 °C đến 105 °C; 2 h).

Định lượng

Hòa tan 25,00 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 1000,0 ml với cùng dung môi. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch trên ở bước sóng cực đại 361 nm. Tính hàm lượng $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$ theo A (1 %, 1 cm), lấy 207 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 361 nm.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Vitamin.

Chế phẩm

Viên nén, thuốc tiêm.

THUỐC TIÊM CYANOCOBALAMIN

Injectio Cyanocobalamini

Thuốc tiêm vitamin B_{12}.

Là dung dịch vô khuẩn của cyanocobalamin trong nước để pha thuốc tiêm, có thể chứa một số chất ổn định.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cyanocobalamin, $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$, từ 95,0 % đến 115,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, màu từ hồng đến đỏ.

Định tính

Trong phần Định lượng, phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử có các hấp thụ cực đại ở 278 nm, 361 nm và ở khoảng 547 đến 559 nm. Tỷ số độ hấp thụ ở cực đại 361 nm so với độ hấp thụ ở cực đại khoảng 547 nm đến 559 nm từ 3,15 đến 3,45. Tỷ số độ hấp thụ ở cực đại 361 nm so với độ hấp thụ ở cực đại 278 nm từ 1,70 đến 1,90.

pH

Từ 4,0 đến 6,0 (Phụ lục 6.2).

Nội độc tố vi khuẩn

Không được quá 0,4 EU/µg cyanocobalamin (Phụ lục 13.2).

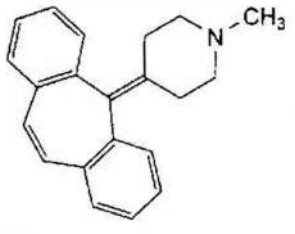
Định lượng
Lấy chính xác một thể tích chế phẩm, pha loãng với *nước* để thu được dung dịch có nồng độ cyanocobalamin khoảng 25 µg/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 361 nm, trong cốc đo dày 1 cm, so với mẫu trắng là nước. Tính hàm lượng cyanocobalamin, $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$, trong thuốc tiêm theo A (1 %; 1 cm). Lấy 207 là giá trị A (1 %; 1 cm) ở bước sóng 361 nm.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Vitamin.

Hàm lượng thường dùng
200 µg/ml; 500 µg/ml.

CYPROHEPTADIN HYDROCLORID
Cyproheptadini hydrochloridum



. HCl . 1½ H_2O

$C_{21}H_{21}N.HCl.\ 1½\ H_2O$ P.t.l: 350,9

Cyproheptadin hydroclorid là 4-(5*H*-dibenzo[*a,d*][7]anulen-1-methylpiperidin hydroclorid sesquihydrat, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{21}H_{21}N.HCl$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc vàng nhạt. Khó tan trong nước, dễ tan trong methanol, hơi tan trong ethanol 96 %.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của cyproheptadin hydroclorid chuẩn.
B. Dung dịch chế phẩm bão hòa trong *nước* cho phản ứng (B) của clorid (Phụ lục 8.1).

Giới hạn acid
Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi. Thêm 0,1 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)*. Dung dịch sẽ chuyển màu khi thêm không quá 0,15 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)*.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm pH 4,5: Hòa tan 6,12 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 900 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 4,5 bằng *acid phosphoric (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Pha động A: Dung dịch đệm pH 4,5 - acetonitril dùng trong phương pháp sắc ký (60 : 40).
Pha động B: Dung dịch đệm pH 4,5 - acetonitril dùng trong phương pháp sắc ký (40 : 60).
Dung dịch thử: Hòa tan 40,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động A. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động A.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 2,0 mg dibenzocyclohepten chuẩn (tạp chất A); 2,0 mg dibenzosuberon chuẩn (tạp chất B) và 2,0 mg tạp chất C chuẩn của cyproheptadin trong pha động A, thêm 1,0 ml dung dịch thử và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động A.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 10,0 ml bằng pha động A.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 10,0	100	0
10,0 - 10,1	100 → 0	0 → 100
10,1 - 35	0	100

Thời gian lưu tương đối so với cyproheptadin (thời gian lưu khoảng 8 min): Tạp chất C khoảng 0,7; tạp chất B khoảng 2,6; tạp chất A khoảng 3,9.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất C và pic của cyproheptadin ít nhất là 7,0.
Giới hạn:
Tạp chất A, B, C: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,15 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 5*H*-dibenzo[*a,d*][7]annulen (dibenzocyclohepten).
Tạp chất B: 10,11-dihydro-5*H*-dibenzo[*a,d*][7]annulen-5-on (dibenzosuberon).
Tạp chất C: 5-(1-methylpiperidin-4-yl)-5*H*-dibenzo[*a,d*][7]annulen-5-ol.

Nước
Từ 7,0 % đến 9,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,200 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 5,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* và 50 ml *ethanol 96 % (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Đọc thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* được thêm vào giữa hai điểm uốn.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 32,39 mg $C_{21}H_{21}N.HCl$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng histamin H_1.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN CYPROHEPTADIN HYDROCLORID
Tabellae Cyproheptadini hydrocloridi

Là viên nén chứa cyproheptadin hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng cyproheptadin hydroclorid, $C_{21}H_{21}N.HCl$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lấy một lượng bột viên tương ứng với khoảng 20 mg cyproheptadin hydroclorid khan, thêm 10 ml *nước* và 2,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*. Chiết với 10 ml *dicloromethan (TT)*, lọc qua *natri sulfat khan (TT)* đã được làm ẩm bằng *dicloromethan (TT)*. Bốc hơi dịch lọc đến khô. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của cyproheptadin hoặc với phổ hồng ngoại của cyproheptadin hydroclorid chuẩn tiến hành song song trong cùng điều kiện.
B. Trong phần Tạp chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (2) phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3).
C. Chiết một lượng bột viên tương ứng với khoảng 20 mg cyproheptadin hydroclorid khan trong 7 ml *nước*, lọc, thêm vào dịch lọc 0,3 ml *dung dịch amoniac 5 M (TT)*, lọc một lần nữa. Dịch lọc thu được phải cho phản ứng A của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 500 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu, pha loãng bằng môi trường hòa tan nếu cần. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở cực đại 285 nm, dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng. Tiến hành so sánh với độ hấp thụ của dung dịch cyproheptadin hydroclorid đối chiếu có nồng độ tương đương pha trong môi trường hòa tan.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng cyproheptadin hydroclorid, $C_{21}H_{21}N.HCl$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel 60.
Dung môi khai triển: Methanol - dicloromethan (10 : 90).
Dung dịch thử (1): Hòa tan một lượng bột viên tương ứng với 50 mg cyproheptadin hydroclorid khan trong 5 ml dung môi khai triển, lắc trên máy lắc trong 10 min, lọc.
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch dibenzocycloheptен chuẩn 0,002 % trong dung môi khai triển.
Dung dịch thử (2): Lấy 1 thể tích dung dịch thử (1) pha loãng thành 10 thể tích với dung môi khai triển.
Dung dịch đối chiếu (2): Lấy 1 thể tích dung dịch thử (1) pha loãng thành 100 thể tích với dung môi khai triển. Pha loãng tiếp 10 lần với dung môi khai triển.
Dung dịch đối chiếu (3): Dung dịch cyproheptadin hydroclorid chuẩn 0,1 % trong dung môi khai triển.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Phun *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT)*. Sấy bản mỏng ở 110 °C trong 30 min. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm.
Bất kỳ vết nào tương ứng với dibenzocycloheptен trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (1) không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %). Bất kỳ vết phụ nào khác trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (1) không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).

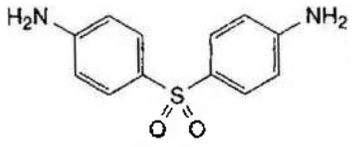
Định lượng
Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên và nghiền thành bột mịn. Hòa tan một lượng bột viên tương ứng với khoảng 1,5 mg cyproheptadin hydroclorid khan trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Lọc nếu cần. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch này ở bước sóng cực đại 286 nm. Tính hàm lượng cyproheptadin hydroclorid, $C_{21}H_{21}N.HCl$, trong chế phẩm theo A (1 %, 1 cm). Lấy 355 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở cực đại 286 nm.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Thuốc kháng histamin H_1.

Hàm lượng thường dùng
4 mg.

DAPSON
Dapsonum



$C_{12}H_{12}N_2O_2S$ P.t.l: 248,3

Dapson là 4,4'-sulphonyldianilin, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{12}H_{12}N_2O_2S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc trắng hơi vàng, không mùi. Rất khó tan trong nước, dễ tan trong aceton, dễ tan trong các dung dịch acid vô cơ loãng, hơi tan trong ethanol 96 %.

Định tính
A. Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml với *methanol (TT)*. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) trong khoảng bước sóng từ 230 nm đến 350 nm của dung dịch này có hai cực đại hấp thụ ở bước sóng 260 nm và 295 nm. A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 260 nm từ 700 đến 760 và ở bước sóng 295 nm từ 1150 đến 1250.
B. Trong phần Tạp chất liên quan, vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải tương tự về vị trí, màu sắc và kích thước so với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
C. Điểm chảy: 175 °C đến 181 °C (Phụ lục 6.7).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G.*
Dung môi khai triển: *Amoniac đậm đặc - methanol - ethyl acetat - heptan* (1 : 6 : 20 : 20).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg dapson chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (2) thành 10 ml bằng *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 2 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 10 ml bằng *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl dung dịch thử (2), 1 µl dung dịch đối chiếu (1), 10 µl dung dịch thử (1), 10 µl dung dịch đối chiếu (2), 10 µl dung dịch đối chiếu (3). Triển khai sắc ký trong bình không bão hòa tới khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Phun lần lượt *dung dịch natri nitrit 0,5 %* trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M* và trên bản sắc ký đang ướt, phun tiếp *dung dịch naphthylethylendiamin dihydroclorid 0,1 %*. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Bất kỳ vết nào, trừ vết chính, trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %) và không quá 2 vết như vậy đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,2 %).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 50 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*, thêm 3,0 g *kali bromid (TT)*, làm lạnh trong nước đá và chuẩn độ chậm bằng *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)* tương đương với 12,42 mg $C_{12}H_{12}N_2O_2S$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc điều trị phong.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN DAPSON
Tabellae Dapsoni

Là viên nén chứa dapson.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

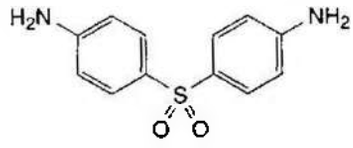
Hàm lượng dapson, $C_{12}H_{12}N_2O_2S$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lắc kỹ một lượng bột viên chứa khoảng 50 mg dapson với 50 ml *methanol (TT)* và lọc. Pha loãng 1,0 ml dịch lọc thành 200 ml với *methanol (TT)*, lắc đều. Phổ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được, trong khoảng từ 230 nm đến 350 nm, có các hấp thụ cực đại ở khoảng 261 nm và 296 nm.
B. Trong mục Tạp chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (2) phải tương đương về vị

Loại thuốc
Thuốc kháng histamin H_1.

Hàm lượng thường dùng
4 mg.

DAPSON
Dapsonum



$C_{12}H_{12}N_2O_2S$ P.t.l: 248,3

Dapson là 4,4'-sulphonyldianilin, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{12}H_{12}N_2O_2S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc trắng hơi vàng, không mùi. Rất khó tan trong nước, dễ tan trong aceton, dễ tan trong các dung dịch acid vô cơ loãng, hơi tan trong ethanol 96 %.

Định tính
A. Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml với *methanol (TT)*. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) trong khoảng bước sóng từ 230 nm đến 350 nm của dung dịch này có hai cực đại hấp thụ ở bước sóng 260 nm và 295 nm. A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 260 nm từ 700 đến 760 và ở bước sóng 295 nm từ 1150 đến 1250.
B. Trong phần Tạp chất liên quan, vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải tương tự về vị trí, màu sắc và kích thước so với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
C. Điểm chảy: 175 °C đến 181 °C (Phụ lục 6.7).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G.*
Dung môi khai triển: *Amoniac đậm đặc - methanol - ethyl acetat - heptan* (1 : 6 : 20 : 20).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg dapson chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (2) thành 10 ml bằng *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 2 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 10 ml bằng *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl dung dịch thử (2), 1 µl dung dịch đối chiếu (1), 10 µl dung dịch thử (1), 10 µl dung dịch đối chiếu (2), 10 µl dung dịch đối chiếu (3). Triển khai sắc ký trong bình không bão hòa tới khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Phun lần lượt *dung dịch natri nitrit 0,5 %* trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M* và trên bản sắc ký đang ướt, phun tiếp *dung dịch naphthylethylendiamin dihydroclorid 0,1 %*. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Bất kỳ vết nào, trừ vết chính, trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %) và không quá 2 vết như vậy đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,2 %).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 50 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*, thêm 3,0 g *kali bromid (TT)*, làm lạnh trong nước đá và chuẩn độ chậm bằng *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)* tương đương với 12,42 mg $C_{12}H_{12}N_2O_2S$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc điều trị phong.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN DAPSON
Tabellae Dapsoni

Là viên nén chứa dapson.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng dapson, $C_{12}H_{12}N_2O_2S$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lắc kỹ một lượng bột viên chứa khoảng 50 mg dapson với 50 ml *methanol (TT)* và lọc. Pha loãng 1,0 ml dịch lọc thành 200 ml với *methanol (TT)*, lắc đều. Phổ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được, trong khoảng từ 230 nm đến 350 nm, có các hấp thụ cực đại ở khoảng 261 nm và 296 nm.
B. Trong mục Tạp chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (2) phải tương đương về vị

trí, kích thước và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (3).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 1000 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,25 M (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 60 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch chuẩn: Pha dung dịch dapson chuẩn trong môi trường hòa tan có nồng độ chính xác khoảng 0,05 mg/ml. Lấy 2,0 ml dung dịch thu được vào bình định mức 25 ml, thêm 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, pha loãng với *nước* vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Dung dịch thử: Lấy một phần môi trường đã hòa tan mẫu thử và lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Lấy một thể tích chính xác dịch lọc chứa khoảng 0,1 mg dapson vào bình định mức 25 ml, thêm 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, pha loãng với *nước* vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Đo độ hấp thụ của các dung dịch ở bước sóng hấp thụ cực đại ở khoảng 290 nm (Phụ lục 4.1) trong cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. Tính hàm lượng dapson, $C_{12}H_{12}N_2O_2S$, đã hòa tan trong mỗi viên, dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{12}H_{12}N_2O_2S$ của dapson chuẩn.
Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng dapson, $C_{12}H_{12}N_2O_2S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Hệ dung môi khai triển: n-Heptan - ethyl acetat - methanol - amoniac 13,5 M (20 : 20 : 6 : 1).
Dung dịch thử (1): Cân một lượng bột viên tương ứng với 100 mg dapson, thêm 10 ml *methanol (TT)*, lắc kỹ trong 10 min, lọc.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 10,0 ml với *methanol (TT)*, lắc đều.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (2) thành 10,0 ml với *methanol (TT)*, lắc đều.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 5,0 ml với *methanol (TT)*, lắc đều.
Dung dịch đối chiếu (3): Dung dịch dapson chuẩn 0,1 % trong *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (2), 1 µl dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (3). Triển khai sắc ký trong bình không bão hòa dung môi đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí. Phun *dung dịch 4-dimethylaminocinnamaldehyd 0,1 %* trong *dung dịch acid hydrocloric 1 % (tt/tt) trong ethanol 96 %* và kiểm tra dưới ánh sáng ban ngày.
Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (1), bất kỳ vết phụ nào không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %) và có không quá hai vết phụ đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).

Định lượng
Cân 20 viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,25 g dapson, thêm 30 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*, lắc kỹ để hòa tan, thêm 3 g *kali bromid (TT)*, làm lạnh trong nước đá và chuẩn độ chậm với *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)*, lắc liên tục trong quá trình định lượng. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp đo điện (Phụ lục 10.1 hoặc 10.2).
1 ml *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)* tương ứng với 12,42 mg $C_{12}H_{12}N_2O_2S$.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc điều trị bệnh phong.

Hàm lượng thường dùng
50 mg; 100 mg.

DẦU PARAFIN
Paraffinum liquidum

Là một hỗn hợp các hydrocarbon lỏng bão hòa lấy từ dầu mỏ, đã được tinh chế.

Tính chất
Chất lỏng trơn nhờn, trong suốt, không màu, không phát quang dưới ánh sáng ban ngày.
Thực tế không tan trong nước, hơi tan trong ethanol 96 %, hòa trộn được với các hydrocarbon.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm 1: A, C.
Nhóm 2: B, C.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của parafin lỏng.
B. Lấy 1 ml chế phẩm, thêm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*, đun sôi cẩn thận trong 30 s, vừa đun vừa lắc đều. Để nguội ở nhiệt độ phòng và để 2 lớp tách hoàn toàn. Thêm vào lớp nước 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)*, dung dịch có màu đỏ.
C. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu phép thử Độ nhớt.

Giới hạn acid - kiềm
Thêm 20 ml *nước* sôi vào 10 ml chế phẩm và lắc mạnh trong 1 min. Gạn lấy lớp nước và lọc. Thêm vào 10 ml dịch lọc 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)*, dung dịch không màu. Màu của chỉ thị phải chuyển sang hồng khi thêm không quá 0,1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*.

Tỷ trọng tương đối
Từ 0,827 đến 0,890 (Phụ lục 6.5).

Độ nhớt
Từ 110 mPa·s đến 230 mPa·s (Phụ lục 6.3).

Hydrocarbon thơm đa vòng
Sử dụng các thuốc thử dùng cho quang phổ tử ngoại.
Lấy 25,0 ml chế phẩm vào bình gạn dung tích 125 ml (không bôi trơn cổ và nút mài). Thêm 25 ml *hexan (TT)* đã được lắc trước 2 lần với *dimethyl sulfoxid (TT)*, theo tỷ lệ *dimethyl sulfoxid - hexan* (1 : 5). Trộn đều và thêm 5,0 ml *dimethyl sulfoxid (TT)*. Lắc mạnh trong 1 min và để yên đến khi hỗn hợp tách thành 2 lớp. Gạn lớp dưới sang một bình gạn khác, thêm 2 ml *hexan (TT)* và lắc mạnh hỗn hợp. Để yên đến khi hỗn hợp tách thành 2 lớp trong. Tách lớp dưới và đo phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 260 nm đến 420 nm, mẫu trắng được chuẩn bị bằng cách lắc mạnh 5,0 ml *dimethyl sulfoxid (TT)* với 25 ml *hexan (TT)* trong 1 min, lấy lớp trong ở dưới. Dung dịch đối chiếu là dung dịch *naphthalen (TT)* nồng độ 7 mg/l trong *trimethylpentan (TT)*. Đo độ hấp thụ của dung dịch đối chiếu ở bước sóng 275 nm, dùng *trimethylpentan (TT)* là mẫu trắng. Độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thử trong khoảng bước sóng từ 260 nm đến 420 nm không được có giá trị nào lớn hơn 1/3 giá trị độ hấp thụ đo được của dung dịch đối chiếu ở bước sóng 275 nm.

Chất dễ carbon hóa
Lấy một ống nghiệm nút mài dài 125 mm, đường kính trong 18 mm, chia vạch 5 ml và 10 ml. Tráng rửa lần lượt bằng *nước* nóng (không dưới 60 °C), *aceton (TT)*, *heptan (TT)* và cuối cùng bằng *aceton (TT)*. Sấy khô ở 100 °C đến 110 °C, để nguội trong bình hút ẩm. Lấy 5 ml chế phẩm vào ống nghiệm, thêm 5 ml *acid sulfuric không có nitrogen (TT_1)*, đóng nút mài và lắc mạnh đến mức có thể trong 5 s theo chiều dọc của ống. Nới lỏng nút và ngay lập tức đun cách thủy trong 10 min, tránh để ống tiếp xúc với đáy và thành của nồi cách thủy. Cứ sau 2 min, 4 min, 6 min, 8 min lại lấy ống ra và lắc mạnh đến mức có thể trong 5 s theo chiều dọc của ống. Sau 10 min, lấy ống ra và để yên 10 min. Ly tâm với tốc độ 2000 r/min trong 5 min. Lớp dưới có màu không được đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu là hỗn hợp gồm 0,5 ml dung dịch gốc màu xanh, 1,5 ml dung dịch gốc màu đỏ, 3,0 ml dung dịch gốc màu vàng và 2 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* (Phụ lục 9.3).

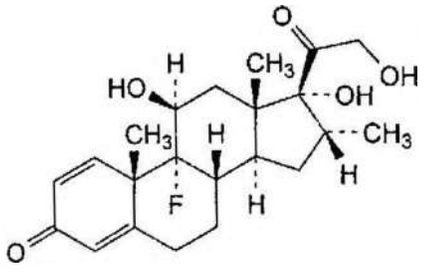
Parafin rắn
Làm khô một lượng thích hợp chế phẩm ở 100 °C trong 2 h và để nguội trong bình hút ẩm có chứa *acid sulfuric (TT)*. Chuyển chế phẩm sang một ống thủy tinh có đường kính trong khoảng 25 mm, đậy nút ống lại và nhúng ống vào nước đá. Sau 4 h, chất lỏng trong ống phải trong đối trong khi nhìn trên nền một vạch đen có chiều rộng 0,5 mm, dễ dàng quan sát trên nền trắng đặt ở đằng sau và theo phương thẳng góc với ống nghiệm.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Nhuận tràng.

Chế phẩm
Nhũ dịch uống.

DEXAMETHASON
Dexamethasonum



$C_{22}H_{29}FO_5$ P.t.l: 392,5

Dexamethason là 9-fluoro-11β,17,21-trihydroxy-16α-methyl-pregna-1,4-dien-3,20-dion, phải chứa từ 97,0 % đến 103,0 % $C_{22}H_{29}FO_5$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng.
Thực tế không tan trong nước, hơi tan trong ethanol khan, khó tan trong methylen clorid.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, C.
Nhóm II: B, C, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của dexamethason chuẩn.
B. Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong *ethanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Lấy 2,0 ml dung dịch thu được cho vào ống nghiệm thủy tinh có nút mài, thêm 10,0 ml *dung dịch phenylhydrazin - acid sulfuric (TT)*, trộn đều và đun nóng trong cách thủy ở 60 °C trong 20 min. Làm nguội ngay. Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được đo ở bước sóng cực đại 419 nm không được nhỏ hơn 0,4.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Butanol bão hòa nước - toluen - ether (5 : 10 : 85).
Hỗn hợp dung môi: Methanol - methylen clorid (1 : 9).
Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg dexamethason chuẩn trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg betamethason chuẩn trong dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 10 ml bằng dung dịch đối chiếu (1).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 2/3 bản mỏng. Để bản mỏng khô ngoài không khí và kiểm tra dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương tự về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT)*. Sấy bản mỏng ở 120 °C trong khoảng 10 min hoặc đến khi xuất hiện các vết. Để nguội. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày và ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính thu được trong sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc khi quan sát dưới ánh sáng ban ngày, huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại ở 365 nm và kích thước với vết chính thu được từ dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết, tuy vậy 2 vết này có thể không tách rời nhau hoàn toàn.
D. Thêm khoảng 2 mg chế phẩm vào 2 ml *acid sulfuric (TT)* và lắc để hòa tan. Trong vòng 5 min, màu nâu đỏ nhạt xuất hiện. Cho dung dịch trên vào 10 ml *nước* và trộn đều, màu biến mất.
E. Trộn khoảng 5 mg chế phẩm với 45 mg *magnesi oxyd nặng (TT)* và nung trong chén nung đến khi thu được cắn gần như trắng hoàn toàn (thường dưới 5 min). Để nguội, thêm 1 ml *nước*, 0,05 ml *dung dịch phenolphtalein (TT_1)* và khoảng 1 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* để làm mất màu dung dịch, lọc. Thêm 1 ml dịch lọc vào một hỗn hợp mới pha gồm 0,1 ml *dung dịch alizarin S (TT)* và 0,1 ml *dung dịch zirconyl nitrat (TT)*. Trộn đều và để yên 5 min, so sánh màu của dung dịch thu được với màu của một mẫu trắng được chuẩn bị trong cùng điều kiện. Dung dịch thử có màu vàng và dung dịch mẫu trắng có màu đỏ.

Góc quay cực riêng
Từ +86° đến +92°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *ethanol (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi để đo.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Trộn đều 250 ml *acetonitril (TT)* với 700 ml *nước* và để cho cân bằng, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml và trộn đều.
Pha động B: *Acetonitril (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong 1,5 ml *acetonitril (TT)* và 5 ml pha động A, siêu âm cho đến khi chế phẩm tan hoàn toàn, pha loãng thành 10,0 ml bằng pha động A.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg dexamethason chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa tạp chất B, F, G) trong 0,5 ml *acetonitril (TT)*, thêm 1 ml pha động A và siêu âm cho đến khi chế phẩm tan hoàn toàn và pha loãng thành 2,0 ml bằng pha động A.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động A. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động A.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột: 45 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 15	100	0
15 - 40	100 → 0	0 → 100

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo dexamethason chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) để xác định pic của tạp chất B, F, G.
Thời gian lưu tương đối so với dexamethason (thời gian lưu khoảng 15 min): Tạp chất B khoảng 0,94; tạp chất F khoảng 1,5; tạp chất G khoảng 1,7.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), tỷ số đỉnh - hõm (Hp/Hv) ít nhất là 2,0; trong đó Hp là chiều cao đỉnh pic tạp chất B so với đường nền và Hv là chiều cao tính từ đường nền lên đến đáy hõm giữa pic tạp chất B và dexamethason.
Giới hạn:
Tạp chất G: Diện tích pic tạp chất G không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %).
Tạp chất B, F: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,15 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 14-fluoro-11β,17,21-trihydroxy-16α-methylpregna-1,4-dien-3,20-dion.
Tạp chất B: 9-fluoro-11β,17,21-trihydroxy-16β-methylpregna-1,4-dien-3,20-dion (betamethason).
Tạp chất C: 9-fluoro-11β,17,21-trihydroxy-16α-methylpregn-4-en-3,20-dion.
Tạp chất D: 17,21-dihydroxy-16α-methyl-9β,11β-epoxypregna-1,4-dien-3,20-dion.

Tạp chất E. 17,21-dihydroxy-16α-methylpregna-1,4,9(11)-trien-3,20-dion.
Tạp chất F: 9-fluoro-11β,21-dihydroxy-16α-methylpregna-1,4-dien-3,20-dion.
Tạp chất G: 9-fluoro-11β,17-dihydroxy-16α-methyl-3,20-dioxopregna-1,4-dien-21-yl acetat (dexamethason acetat).
Tạp chất H: 17-hydroxy-16α-methyl-3,20-dioxopregna-1,4,9(11)-trien-21-yl acetat.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(0,500 g; 105 °C).

Định lượng
Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch trên thành 100,0 ml bằng *ethanol 96 % (TT)* và đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) ở bước sóng cực đại 238,5 nm. Tính hàm lượng $C_{22}H_{29}FO_5$ theo A (1 %, 1 cm), lấy giá trị A (1 %, 1 cm) của dexamethason ở bước sóng 238,5 nm là 394.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Glucocorticoid.

Chế phẩm
Viên nén, hỗn dịch nhỏ mắt.

VIÊN NÉN DEXAMETHASON
Tabellae Dexamethasoni

Là viên nén chứa dexamethason.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng của dexamethason, $C_{22}H_{29}FO_5$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Lắc một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng khoảng 20 mg dexamethason với 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*, thêm 50 ml *dicloromethan (TT)* và lắc siêu âm trong 20 min, lọc và bay hơi dịch lọc. Sấy cắn ở 105 °C trong 2 h. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của dexamethason.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Dung dịch acetonitril 15 % (tt/tt).
Pha động B: Acetonitril (TT).
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 2,5 mg dexamethason, thêm 10 ml *acetonitril (TT)* và lắc siêu âm, lọc qua màng lọc 0,45 µm. Pha loãng 4 ml dịch lọc thành 10 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng pha động A.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20 ml bằng pha động A.
Dung dịch đối chiếu phân giải: Hòa tan 2 mg dexamethason chuẩn và 2 mg methylprednisolon chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm), cột Hypersil ODS là phù hợp.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Nhiệt độ cột: 45 °C.
Tốc độ dòng: 2,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Ghi chú
0	100	0	Đẳng dòng
15	100 → 0	0 → 100	Bắt đầu gradient tuyến tính
40	0	100	Kết thúc chương trình, quay trở lại 100 % pha động A
41	100	0	Cân bằng với pha động A
46 = 0	100	0	Kết thúc cân bằng cột, bắt đầu lần chạy sắc ký tiếp theo

Tiến hành sắc ký dung dịch phân giải, với điều kiện sắc ký như trên, thời gian lưu của methylprednisolon khoảng 13 min, của dexamethason khoảng 16 min, phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa 2 pic ít nhất bằng 2,8. Có thể điều chỉnh tỷ lệ acetonitril trong pha động A nếu cần.
Tiến hành sắc ký dung dịch đối chiếu (1), dung dịch đối chiếu (2) và dung dịch thử. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %), tổng diện tích các pic phụ không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %). Bỏ qua các pic của pha động A và các pic có có diện tích nhỏ hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Độ đồng đều hàm lượng
Phải đáp ứng yêu cầu Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2). Pha động và điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Định lượng.

Dung dịch thử: Nghiền một viên, hòa tan trong một lượng vừa đủ *methanol 50 %* (tt/tt) để được dung dịch có chứa 0,0025 % dexamethason, lắc trong 10 min và lọc.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch dexamethason chuẩn 0,0025 % trong *methanol* 50 % (tt/tt).

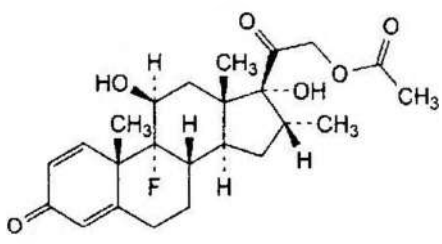
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - nước (47 : 53).
Dung dịch chuẩn: Dung dịch dexamethason chuẩn 0,0125 % trong *methanol* 50 % (tt/tt).
Dung dịch thử: Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 2,5 mg dexamethason. Thêm chính xác 20 ml *methanol 50 % (tt/tt)*, lắc 20 min và lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (20 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 238 nm.
Tốc độ dòng: 1,4 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng dexamethason, $C_{22}H_{29}FO_5$, có trong viên dựa vào diện tích các pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{22}H_{29}FO_5$ trong dexamethason chuẩn.

Bảo quản
Đựng trong lọ nút kín, tránh ánh sáng, để nơi khô mát.

Loại thuốc
Glucocorticoid.

Hàm lượng thường dùng
0,5 mg.

DEXAMETHASON ACETAT
Dexamethasoni acetas



$C_{24}H_{31}FO_6$ P.t.l: 434,5

Dexamethason acetat là 9-fluoro-11β,17-dihydroxy-16α-methyl-3,20-dioxopregna-1,4-dien-21-yl acetat, phải chứa từ 97,0 % đến 103,0 % $C_{24}H_{31}FO_6$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, đa hình.
Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %, khó tan trong methylen clorid.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, C.
Nhóm II: B, C, D, E, F.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của dexamethason acetat chuẩn. Nếu phổ thu được của mẫu thử và mẫu chuẩn ở trạng thái rắn khác nhau thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và chất chuẩn trong *methylen clorid (TT)*, bay hơi đến khô, đo phổ mới của cắn thu được.
B. Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong *ethanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Lấy 2,0 ml dung dịch thu được cho vào ống nghiệm thủy tinh có nút mài, thêm 10,0 ml *dung dịch phenylhydrazin - acid sulfuric (TT)*, trộn đều và đun nóng trong cách thủy ở 60 °C trong 20 min. Làm nguội ngay. Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được đo ở bước sóng cực đại 419 nm không được nhỏ hơn 0,35.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Trộn đều hỗn hợp gồm 1,2 thể tích *nước* và 8 thể tích *methanol (TT)* và hỗn hợp gồm 15 thể tích *ether (TT)* và 77 thể tích *methylen clorid (TT)*.
Hỗn hợp dung môi: Methanol - methylen clorid (1 : 9).
Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong 10 ml hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg dexamethason acetat chuẩn trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg *cortison acetat (TT)* trong dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 10 ml bằng dung dịch đối chiếu (1).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 3/4 bản mỏng. Để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính của dung dịch thử phải giống về vị trí và kích thước với vết chính của dung dịch đối chiếu (1).
Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT)*. Sấy bản mỏng ở 120 °C trong khoảng 10 min hoặc đến khi xuất hiện các vết. Để nguội. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày và ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính thu được trong sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc dưới ánh sáng ban ngày, huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại ở 365 nm, và kích thước với vết chính thu được từ dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách riêng biệt rõ.
D. Thêm khoảng 2 mg chế phẩm vào 2 ml *acid sulfuric (TT)* và lắc để hòa tan. Trong vòng 5 min, màu nâu đỏ nhạt

xuất hiện. Cho dung dịch trên vào 10 ml *nước* và trộn đều. Màu biến mất và dung dịch vẫn trong.
E. Trộn khoảng 5 mg chế phẩm với 45 mg *magnesi oxyd nặng (TT)* và nung trong chén nung đến khi thu được cắn gần như trắng hoàn toàn (thường dưới 5 min). Để nguội, thêm 1 ml *nước*, 0,05 ml *dung dịch phenolphtalein (TT_1)* và khoảng 1 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* để làm mất màu dung dịch, lọc. Thêm 1 ml dịch lọc vào một hỗn hợp mới pha gồm 0,1 ml *dung dịch alizarin S (TT)* và 0,1 ml *dung dịch zirconyl nitrat (TT)*. Trộn đều và để yên 5 min, so sánh màu của dung dịch thu được với màu của một mẫu trắng được pha chế trong cùng điều kiện. Dung dịch thử có màu vàng và dung dịch mẫu trắng có màu đỏ.
F. Khoảng 10 mg chế phẩm cho phản ứng của nhóm acetyl (Phụ lục 8.1).

Góc quay cực riêng
Từ +94° đến +99°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4). Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *ethanol (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi để đo.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Pha động: Trộn đều 380 ml *acetonitril (TT)* với 550 ml *nước* và để cho cân bằng, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml và trộn đều.
Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong 4 ml *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2 mg dexamethason chuẩn (tạp chất A) và 2 mg betamethason acetat chuẩn (tạp chất D) trong 100,0 ml pha động, siêu âm khoảng 10 min (dung dịch A). Pha loãng 6,0 ml dung dịch thử và 1,0 ml dung dịch A thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan tạp chất E chuẩn của dexamethason acetat có trong 1 lọ chuẩn trong 1,0 ml pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2,5 lần thời gian lưu của dexamethason acetat.
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) để xác định pic của tạp chất A và tạp chất D, sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của tạp chất E.
Thời gian lưu tương đối so với dexamethason acetat (thời gian lưu khoảng 22 min): Tạp chất A khoảng 0,4; tạp chất D khoảng 0,9; tạp chất E khoảng 1,2.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất D và pic của dexamethason acetat ít nhất là 3,3.
Giới hạn:
Tạp chất D: Diện tích pic tạp chất D không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %).
Tạp chất A, E: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5) (0,5 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 9-fluoro-11β,17,21-trihydroxy-16α-methylpregna-1,4-dien-3,20-dion (dexamethason).
Tạp chất B: 14-fluoro-11β,17-dihydroxy-16α-methyl-3,20-dioxopregna-1,4-dien-21-yl acetat.
Tạp chất C: 9-fluoro-11β,17β-dihydroxy-16α-methyl-3,20-dioxopregna-1,4-dien-21-yl acetat.
Tạp chất D: 9-fluoro-11β,17-dihydroxy-16β-methyl-3,20-dioxopregna-1,4-dien-21-ylacetat (betamethason acetat).
Tạp chất E: 9-fluoro-11β,17-dihydroxy-16α-methyl-3,20-dioxopregn-4-en-21-yl acetat.
Tạp chất F: 17-hydroxy-16α-methyl-3,20-dioxo-9β,11β-epoxypregna-1,4-dien-21-yl acetat.
Tạp chất G: 9-fluoro-11β-hydroxy-16α-methyl-3,20-dioxopregna-1,4-dien-21-yl acetat.
Tạp chất H: 17-hydroxy-16α-methyl-3,20-dioxopregna-1,4,9(11)-trien-21-yl acetat.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(0,500 g; chân không; 105 °C).

Định lượng
Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch trên với *ethanol 96 % (TT)* thành 100,0 ml. Đo độ hấp thụ của dung dịch thu được (Phụ lục 4.1) ở bước sóng cực đại 238,5 nm. Tính hàm lượng $C_{24}H_{31}FO_6$ theo A (1 %, 1 cm), lấy giá trị A (1 %, 1 cm) của dexamethason acetat ở bước sóng 238,5 nm là 357.

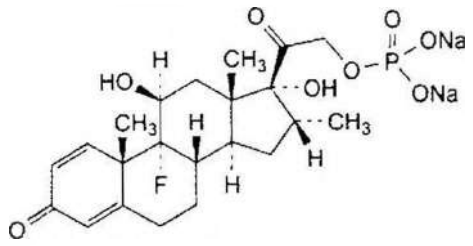
Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Glucocorticoid.

Chế phẩm
Hỗn dịch tiêm.

DEXAMETHASON NATRI PHOSPHAT

Dexamethasoni natrii phosphas



$C_{22}H_{28}FNa_2O_8P$ P.t.l: 516,4

Dexamethason natri phosphat là 9-fluoro-11β,17-dihydroxy-16α-methyl-3,20-dioxopregna-1,4-dien-21-yl dinatri phosphat, phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % $C_{22}H_{28}FNa_2O_8P$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột trắng hoặc gần như trắng, đa hình, rất dễ hút ẩm. Dễ tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong methylen clorid.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, G.

Nhóm II: B, C, D, E, F.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của dexamethason natri phosphat chuẩn. Nếu phổ thu được của mẫu thử và mẫu chuẩn ở trạng thái rắn không giống nhau thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và chất chuẩn trong một thể tích tối thiểu *ethanol 96 % (TT)*, làm bay hơi đến khô trên cách thủy và ghi lại phổ mới của cắn thu được.

B. Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong 5 ml *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với *ethanol (TT)*. Lấy 2,0 ml dung dịch thu được cho vào ống nghiệm thủy tinh trò có nút mài, thêm 10,0 ml *dung dịch phenylhydrazin - acid sulfuric (TT)*, trộn đều và đun nóng trong cách thủy ở 60 °C trong 20 min. Làm nguội ngay. Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được đo ở bước sóng cực đại 419 nm không được nhỏ hơn 0,20.

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

Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.

Dung môi khai triển: *Acid acetic băng - nước - butanol* (2 : 2 : 6).

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg dexamethason natri phosphat chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg prednisolon natri phosphat chuẩn trong dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 10 ml bằng dung dịch đối chiếu (1).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 3/4 chiều dài bản mỏng. Để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT)*. Sấy bản mỏng ở 120 °C trong khoảng 10 min hoặc đến khi vết xuất hiện. Để nguội. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày và ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc dưới ánh sáng ban ngày, huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm và kích thước với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết, tuy nhiên 2 vết này có thể không tách rời nhau hoàn toàn.

D. Thêm khoảng 2 mg chế phẩm vào 2 ml *acid sulfuric (TT)* và lắc để hòa tan. Trong vòng 5 min, một màu nâu vàng nhạt xuất hiện. Cho dung dịch trên vào 10 ml *nước* và trộn đều. Màu nhạt dần và dung dịch vẫn trong.

E. Trộn khoảng 5 mg chế phẩm với 45 mg *magnesi oxyd nặng (TT)* và nung trong chén nung đến khi thu được cắn gần như trắng hoàn toàn (thường dưới 5 min). Để nguội, thêm 1 ml *nước*, 0,05 ml *dung dịch phenolphtalein* (TT_1) và khoảng 1 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* để làm mất màu dung dịch, lọc. Thêm 1 ml dịch lọc vào một hỗn hợp mới pha gồm 0,1 ml *dung dịch alizarin S (TT)* và 0,1 ml *dung dịch zirconyl nitrat (TT)*. Trộn đều và để yên 5 min, so sánh màu của dung dịch thu được với màu của một mẫu trắng được chuẩn bị trong cùng điều kiện. Dung dịch thử có màu vàng và dung dịch mẫu trắng có màu đỏ.

F. Thêm vào 40 mg chế phẩm 2 ml *acid sulfuric (TT)* và đun nhẹ cho đến khi khói trắng bay lên, thêm từng giọt *acid nitric (TT)*, tiếp tục đun nóng cho đến khi dung dịch gần như không màu, làm nguội. Thêm 2 ml *nước*, đun cho đến khi khói trắng bay lên một lần nữa, làm nguội, thêm 10 ml *nước* và trung tính hóa bằng *dung dịch amoniac loãng (TT)* dùng *giấy quỳ đỏ (TT)* làm chỉ thị. Dung dịch thu được cho phản ứng (A) của natri và phản ứng (B) của phosphat (Phụ lục 8.1).

G. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu và có diện tích pic tương ứng với pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm màu hơn màu mẫu N_7 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Từ 7,5 đến 9,5 (Phụ lục 6.2).

Pha loãng 1 ml dung dịch S thành 5 ml với *nước không có carbon dioxyd (TT)* để đo.

Góc quay cực riêng
Từ +75° đến +83°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4). Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi để đo.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch A: Hòa tan 7,0 g *amoni acetat (TT)* trong 1000 ml *nước*.
Pha động A: Trộn đều 300 ml dung dịch A và 350 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 3,8 bằng *acid acetic (TT)*, sau đó thêm 350 ml *methanol (TT)*.
Pha động B: Điều chỉnh 300 ml dung dịch A đến pH 4,0 bằng *acid acetic (TT)* sau đó thêm 700 ml *methanol (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm bằng pha động A và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2 mg betamethason natri phosphat chuẩn (tạp chất B) và 2 mg dexamethason natri phosphat chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 2 mg dexamethason natri phosphat chuẩn dùng để định tính pic (chứa tạp chất A, C, D, E, F và G) trong pha động A và pha loãng thành 2,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động A. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động A.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (12,5 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Nhiệt độ cột: 30 °C.
Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 3,5	90	0
3,5 - 23,5	90 → 60	10 → 40
23,5 - 34,5	60 → 5	40 → 95
34,5 - 50	5	95

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo dexamethason natri phosphat chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của các tạp chất A, C, D, E, F và G. Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) để xác định pic của tạp chất B. Thời gian lưu tương đối so với dexamethason natri phosphat (thời gian lưu khoảng 22 min): Tạp chất C khoảng 0,5; tạp chất D khoảng 0,6; tạp chất E khoảng 0,8; tạp chất F khoảng 0,92; tạp chất B khoảng 0,95; tạp chất A khoảng 1,37; tạp chất G khoảng 1,41.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất B và pic của dexamethason natri phosphat ít nhất là 2,0.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất A với 0,75.
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A đã hiệu chỉnh không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,5 %).
Tạp chất G: Diện tích pic tạp chất G không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,3 %).
Tạp chất B, C, D, E, F: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,2 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 10 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1,0 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 9-fluoro-11β,17,21-trihydroxy-16α-methylpregna-1,4-dien-3,20-dion (dexamethason).
Tạp chất B: 9-fluoro-11β,17-dihydroxy-16β-methyl-3,20-dioxopregna-1,4-dien-21-yl dihydrogen phosphat (betamethason phosphat).
Tạp chất C, D, E, F: Với mỗi tạp chất, là một hay nhiều đồng phân đối quang của (9-fluoro-11β,17a-dihydroxy-16-methyl-3,17-dioxo-*D*-homo-androsta-1,4-dien-17a-yl)methyl dihydrogen phosphat (không xác định được hóa học lập thể ở C-16 và C-17a), hoặc (9-fluoro-11β,17-dihydroxy-16α-methyl-3,17a-dioxo-*D*-homo-androsta-1,4-dien-17-yl)methyl dihydrogen phosphat (không xác định được hóa học lập thể ở C-17).
Tạp chất G: Acid 9-fluoro-11β,17-dihydroxy-16α-methyl-3-oxoandrosta-1,4-dien-17β-carboxylic.
Tạp chất H: 9-fluoro-11β,17-dihydroxy-16α-methyl-3,20-dioxopregn-4-en-21-yl dihydrogen phosphat.

Phosphat vô cơ
Không được quá 1 %.
Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 100 ml *nước*. Thêm vào 10 ml dung dịch này 5 ml *thuốc thử molybdovanadic (TT)*, trộn đều và để yên trong 5 min. Màu vàng của dung dịch không được đậm hơn màu vàng của mẫu đối chiếu được chuẩn bị đồng thời và theo cách tương tự với 10 ml *dung dịch phosphat mẫu 5 phần triệu PO_4 (TT)*.

Ethanol
Không được quá 3,0 % (kl/kl).
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).
Dung dịch chuẩn nội: Pha loãng 1,0 ml *propanol (TT)* thành 100,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong 5,0 ml dung dịch chuẩn nội và pha loãng thành 10,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch chuẩn: Pha loãng 1,0 g *ethanol (TT)* thành 100,0 ml bằng *nước*. Lấy 2,0 ml dung dịch thu được, thêm vào 5,0 ml dung dịch chuẩn nội và pha loãng thành 10,0 ml bằng *nước*.
Điều kiện sắc ký:
Cột (1 m × 3,2 mm) được nhồi *ethylvinylbenzen-divinylbenzen copolymer* (150 µm đến 180 µm).
Khí mang là nitrogen dùng cho sắc ký khí, lưu lượng 30 ml/min.
Detector ion hóa ngọn lửa.
Duy trì nhiệt độ cột ở 150 °C, nhiệt độ của buồng tiêm 250 °C và nhiệt độ detector 280 °C.
Thể tích tiêm: 2 µl.

Ethanol và nước
Xác định hàm lượng nước (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,200 g chế phẩm.
Tổng hàm lượng phần trăm của ethanol tìm thấy ở phép thử ethanol và hàm lượng phần trăm nước không được quá 13,0 % (kl/kl).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Trộn đều 520 ml *nước* với 2 ml *acid phosphoric (TT)*, điều chỉnh nhiệt độ dung dịch đến 20 °C và chỉnh đến pH 2,6 bằng *natri hydroxyd (TT)*. Trộn dung dịch thu được với 36 ml *tetrahydrofuran (TT)* và 364 ml *methanol (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 30,0 mg chế phẩm bằng pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng pha động.
Dung dịch chuẩn (1): Hòa tan 2 mg dexamethason chuẩn (tạp chất A) và 2 mg dexamethason natri phosphat chuẩn trong 2 ml *tetrahydrofuran (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng pha động
Dung dịch chuẩn (2): Hòa tan 30,0 mg dexamethason natri phosphat chuẩn trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (7 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của dexamethason natri phosphat.
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch chuẩn (1) để xác định pic của tạp chất A.
Thời gian lưu tương đối so với dexamethason natri phosphat (thời gian lưu khoảng 8 min) của tạp chất A khoảng 2,0.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn (1), độ phân giải giữa pic của dexamethason natri phosphat và pic của tạp chất A ít nhất là 6,0.
Tính hàm lượng phần trăm của $C_{22}H_{28}FNa_2O_8P$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn (2) và hàm lượng của $C_{22}H_{28}FNa_2O_8P$ trong dexamethason natri phosphat chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Glucocorticoid.

Chế phẩm
Thuốc tiêm, thuốc nhỏ mắt.

THUỐC TIÊM DEXAMETHASON
Injectio Dexamethasoni

Là dung dịch vô khuẩn của dexamethason natri phosphat trong nước để pha thuốc tiêm. Chế phẩm có thể chứa các chất ổn định.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng dexamethason phosphat, $C_{22}H_{30}FO_8P$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel F_{254}.
Dung môi khai triển: Butanol - acid acetic băng - nước (60 : 20 : 20).
Dung dịch thử: Pha loãng dung dịch chế phẩm, nếu cần, với *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ dexamethason phosphat 0,1 % trong *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch dexamethason phosphat 0,1 % trong *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch chứa dexamethason phosphat 0,1 % và prednisolon natri phosphat 0,1 % trong *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Sấy bản mỏng ở 110 °C trong 10 min, phun lên bản mỏng còn đang nóng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT)* và sấy ở 120 °C trong 10 min. Để nguội, quan sát bản mỏng dưới ánh sáng ban ngày và dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Trên sắc ký đồ, vết chính của dung dịch thử phải tương ứng với vết của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí, kích thước, màu sắc dưới ánh sáng ban ngày, huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại ở 365 nm. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) có 2 vết, tuy nhiên 2 vết này có thể không tách nhau hoàn toàn.

B. Trong phần Định lượng, sắc ký đồ của dung dịch thử phải có một pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic dexamethason natri phosphat trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

pH
Từ 7,0 đến 8,5 (Phụ lục 6.2).

Nội độc tố vi khuẩn
Tiến hành theo chuyên luận "Phép thử nội độc tố vi khuẩn" (Phụ lục 13.2).
Không được quá 31,3 EU/mg dexamethason phosphat.

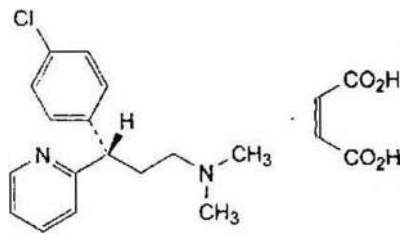
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch kali dihydrophosphat 0,01 M trong hỗn hợp đồng thể tích của *methanol (TT)* và *nước*.
Dung dịch chuẩn (được pha chế ngay khi dùng): Dung dịch dexamethason natri phosphat chuẩn trong pha động có nồng độ chính xác khoảng 80 µg/ml, tính theo dexamethason phosphat.
Dung dịch thử: Lấy chính xác một lượng chế phẩm tương ứng với khoảng 8 mg dexamethason phosphat pha loãng thành 100 ml bằng pha động và trộn đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm), cột Lichrosorb RP 18 là thích hợp.
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,6 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành: Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic thu được từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch thử và dung dịch chuẩn.
Tính hàm lượng dexamethason phosphat, $C_{22}H_{30}FO_8P$, trong 1 ml chế phẩm dựa vào các diện tích pic dexamethason natri phosphat thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng của dexamethason phosphat, $C_{22}H_{30}FO_8P$, trong dexamethason natri phosphat chuẩn.
Lấy 472,45/516,41 là hệ số chuyển đổi từ dexamethason natri phosphat sang dexamethason phosphat.

Bảo quản
Để nơi mát, trong điều kiện tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Glucocorticoid.

Hàm lượng thường dùng
4 mg/2 ml và 4 mg/1 ml (tính theo dexamethason phosphat).

DEXCLORPHENIRAMIN MALEAT
Dexchlorpheniramini maleas



$C_{16}H_{19}ClN_2.C_4H_4O_4$ P.t.l: 390,9

Dexclorpheniramin maleat là (3*S*)-3-(4-clorophenyl)-*N,N*-dimethyl-3-(pyridin-2-yl)propan-1-amin (*Z*)-butendioat, phải chứa từ 98,0 % đến 100,5 % $C_{16}H_{19}ClN_2.C_4H_4O_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng. Rất tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %, methanol và methylen clorid.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, C, E.
Nhóm II: B, C, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại của chế phẩm (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của dexclorpheniramin maleat chuẩn.
B. Điểm chảy từ 110 °C đến 115 °C (Phụ lục 6.7).
C. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Góc quay cực riêng.
D. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Nước - acid formic khan - methanol - di-isopropyl ether (3 : 7 : 20 : 70).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 56 mg *acid maleic (TT)* trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 12 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho 2 vết tách rõ ràng, vết phía trên có vị trí và kích thước tương ứng với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
E. Cân 0,15 g chế phẩm vào chén sứ, thêm 0,5 g *natri carbonat khan (TT)*. Đốt khoảng 10 min, để nguội. Hòa tan cắn trong 10 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)*, lọc. Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 ml *nước*. Dung dịch thu được phải cho phản ứng (A) của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 20,0 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn màu mẫu VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong 20 ml *nước*. pH của dung dịch thu được phải từ 4,5 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng
Từ +22° đến +23°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4). Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).
Dung dịch thử: Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong 1,0 ml *methylen clorid (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 5,0 mg brompheniramin maleat chuẩn trong 0,5 ml *methylen clorid (TT)* và thêm 0,5 ml dung dịch thử. Pha loãng 0,5 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng *methylen clorid (TT)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột thủy tinh (2,3 m × 2 mm) được nhồi diatomit đã silan hóa dùng cho sắc ký khí (135 µm đến 175 µm) đã rửa acid-base và tẩm 3 % (kl/kl) hỗn hợp gồm 50 % *poly-(dimethyl) siloxan* và 50 % *poly(diphenyl)-siloxan (TT)*.
Khí mang là *nitrogen dùng cho sắc ký khí (TT)*, lưu lượng 20 ml/min.
Detector ion hóa ngọn lửa.
Nhiệt độ: Cột ở 205 °C, buồng tiêm và detector ở 250 °C.
Thể tích tiêm: 1 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch đối chiếu. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu độ phân giải giữa pic dexclorpheniramin và pic brompheniramin ít nhất là 1,5. Tiêm dung dịch thử, tiến hành sắc ký với thời gian ít nhất gấp 2,5 lần thời gian lưu của pic chính.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, không được có pic nào, trừ pic chính, có diện tích lớn hơn 0,8 lần diện tích pic dexclorpheniramin của dung dịch đối chiếu (0,4 %); tổng diện tích của các pic phụ không được lớn hơn 2 lần diện tích pic dexclorpheniramin của dung dịch đối chiếu (1 %).

Tạp chất đồng phân đối quang
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Diethylamin - isopropanol - hexan* (3 : 20 : 980).
Dung dịch thử: Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong 3 ml *nước*, thêm vài giọt *amoniac đậm đặc (TT)* đến khi dung dịch có phản ứng kiềm, thêm 5 ml *methylen clorid (TT)*, lắc, để cho tách lớp. Bốc hơi lớp methylen clorid ở dưới trên cách thủy đến khi thu được cắn dầu. Hòa tan cắn dầu trong *isopropanol (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10,0 mg dexclorpheniramin maleat chuẩn trong 3 ml *nước* và tiếp tục tiến hành như dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg clorpheniramin maleat chuẩn trong 3 ml *nước* và tiếp tục tiến hành như dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50 ml bằng *isopropanol (TT)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi *dẫn chất amylose của silica gel dùng cho sắc ký*.
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Với các điều kiện sắc ký trên, pic đồng phân (S) xuất hiện đầu tiên.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic đồng phân đối quang (R) và pic đồng phân đối quang (S) ít nhất là 1,5. Thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1) phải là thời gian lưu của đồng phân đối quang (S).
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của pic tương ứng với đồng phân đối quang (R) không được lớn hơn diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (3) (2 %) và diện tích của bất kỳ pic nào, ngoài pic chính và pic đồng phân đối quang (R), không được lớn hơn 0,25 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (3) (0,5 %).

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm, tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 65 °C; 4 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong 25 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 19,54 mg $C_{16}H_{19}ClN_2.C_4H_4O_4$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng histamin.

VIÊN NÉN DEXCLORPHENIRAMIN
Tabellae Dexchlorpheniramini

Là viên nén chứa dexclorpheniramin maleat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng dexclorpheniramin maleat,
$C_{16}H_{19}ClN_2.C_4H_4O_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Dung dịch acid acetic 1 M - methanol - ethyl acetat (20 : 30 : 50).
Dung dịch thử: Lắc kỹ một lượng bột viên tương đương khoảng 5 mg dexclorpheniramin maleat với *cloroform (TT)*, lọc, bay hơi dịch lọc đến cắn. Hòa tan cắn trong 1 ml *cloroform (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch dexclorpheniramin maleat chuẩn 0,5 % trong *cloroform (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Hai vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và màu sắc với hai vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Sau đó, phun *dung dịch kali iodobismuthat (TT)* lên bản sắc ký. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Lắc kỹ một lượng bột viên tương đương khoảng 150 mg dexclorpheniramin maleat với 100 ml *dung dịch acid acetic 1 M (TT)* trong 10 min, lọc qua phễu lọc thủy tinh, chỉnh pH của dịch lọc đến pH 11 bằng *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, chiết dung dịch này 6 lần, mỗi lần 100 ml *hexan (TT)*. Tập trung các dịch chiết hexan và bốc hơi trên cách thủy đến cắn. Chuyển hết lượng cắn vào một ống nghiệm thủy tinh có vạch, hòa tan cắn trong *dimethylformamid (TT)* đến vừa đủ 15 ml, lắc đều, ly tâm nếu cần. Góc quay cực (Phụ lục 6.4) của dung dịch này, trong ống đo 100 mm, phải từ +0,24° đến +0,35°, dùng *dimethylformamid (TT)* làm mẫu trắng (phân biệt với clorpheniramin maleat).

Tạp chất liên quan
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Diethylamin - cloroform - cyclohexan (10 : 40 : 50)
Dung dịch thử: Lắc kỹ một lượng bột viên tương đương khoảng 50 mg dexclorpheniramin maleat với *cloroform (TT)*, lọc, bay hơi dịch lọc đến cắn. Hòa tan cắn trong 1 ml *cloroform (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử với *cloroform (TT)* thành 500 thể tích.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,2 %). Loại bỏ các vết tại điểm xuất phát.

Định lượng
Phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1).
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 40 mg dexclorpheniramin maleat chuẩn vào bình định mức dung tích 100 ml, thêm *nước* vừa đủ đến vạch, lắc kỹ. Lấy chính xác 10,0 ml dung dịch này cho vào bình gạn, điều chỉnh đến pH 11 bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, để nguội đến nhiệt độ phòng. Chiết 2 lần, mỗi lần với 50 ml *hexan (TT)* và lắc kỹ trong 2 min. Tập trung dịch chiết hexan vào bình gạn thứ 2. Chiết dịch chiết hexan 2 lần, mỗi lần với 40 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Tập trung dịch chiết acid vào bình định mức dung tích 100 ml, thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* đến vạch, lắc kỹ. Lọc, bỏ 10 ml dịch lọc đầu, dịch lọc thu được là dung dịch chuẩn (40 µg/ml).
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương đương khoảng 8 mg dexclorpheniramin maleat vào bình gạn 250 ml có chứa sẵn 50 ml *nước*, lắc kỹ trong 10 min, điều chỉnh đến pH 11 bằng *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, để nguội đến nhiệt độ phòng. Chiết hỗn hợp trên 2 lần, mỗi lần với 75 ml *hexan (TT)*. Tập trung dịch chiết hexan vào bình gạn thứ 2. Chiết dịch chiết hexan 3 lần, mỗi lần với 50 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Tập trung dịch chiết acid vào bình định mức 200 ml, thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* đến vạch, lắc kỹ. Lọc, bỏ 10 ml dịch lọc đầu, dịch lọc là dung dịch thử (40 µg/ml).
Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch chuẩn và dung dịch thử ở bước sóng cực đại khoảng 264 nm, dùng mẫu trắng là *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tính hàm lượng của dexclorpheniramin maleat, $C_{16}H_{19}ClN_2.C_4H_4O_4$, có trong chế phẩm dựa vào độ hấp thụ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{16}H_{19}ClN_2.C_4H_4O_4$ trong dexclorpheniramin maleat chuẩn.

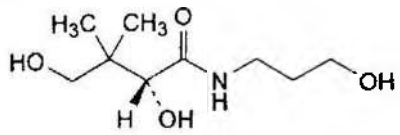
Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng histamin.

Hàm lượng thường dùng
2 mg.

DEXPANTHENOL

Dexpanthenolum



$C_9H_{19}NO_4$ P.t.l: 205,3

Dexpanthenol là (2R)-2,4-dihydroxy-*N*-(3-hydroxypropyl)-3,3-dimethylbutanamid, phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $C_9H_{19}NO_4$, tính theo chế phẩm đã làm khan.

Tính chất

Chất lỏng nhớt, không màu hoặc màu hơi vàng, dễ hút ẩm, hay bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng. Rất tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: B, C, D.
Nhóm II: A, B.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của dexpanthenol chuẩn. Kiểm tra các chất sử dụng viên nén dẹt, được chuẩn bị bằng cách nhỏ từng giọt 0,5 ml dung dịch 0,5 % của mẫu thử và mẫu chuẩn trong *ethanol (TT)* lên viên nén dẹt *kali bromid (TT)*, sấy khô ở 100 °C đến 105 °C trong 15 min.
B. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử Góc quay cực riêng.
C. Trong phần 3-Aminopropanol, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải giống về vị trí, màu sắc và kích thước so với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
D. Thêm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* và 0,1 ml *dung dịch đồng sulfat 12,5 % (TT)* vào 1 ml dung dịch S, xuất hiện màu xanh da trời.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,500 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu N_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

pH của dung dịch S không được lớn hơn 10,5 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ +29,0° đến +32,0°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Dùng dung dịch S để đo.

3-Aminopropanol

Không được quá 0,5 %.
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Amoniac đậm đặc - methanol - butanol (20 : 25 : 55).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong *ethanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng *ethanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50 mg dexpanthenol chuẩn trong *ethanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 25 mg *3-aminopropanol (TT)* trong *ethanol (TT)* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí, phun *dung dịch acid tricloracetic 10 % trong methanol (TT)*. Sấy bản mỏng ở 150 °C trong 10 min. Sau đó phun tiếp *dung dịch ninhydrin 0,1 % trong methanol* và sấy ở 120 °C đến khi xuất hiện màu. Bất kỳ vết nào tương ứng với 3-aminopropanol trong sắc ký đồ của dung dịch thử (1) không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 12 ml dung dịch S thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 1,000 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Thêm 50,0 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* vào 0,400 g chế phẩm. Đun sôi dưới ống sinh hàn ngược trong 5 h (tránh ẩm). Để nguội, dùng 50 ml *dioxan (TT)* để rửa ống sinh hàn (tránh ẩm). Thêm 0,2 ml *dung dịch naphtholbenzein (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch kali hydrophtalat 0,1 M (CĐ)* cho đến khi màu chuyển từ xanh sang vàng. Song song làm mẫu trắng.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 20,53 mg $C_9H_{19}NO_4$.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc

Thuốc tương tự vitamin B_5.

VIÊN NÉN DEXPANTHENOL
Tabellae Dexpanthenoli

Là viên nén chứa dexpanthenol.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng dexpanthenol, $C_9H_{19}NO_4$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lấy một lượng bột viên tương ứng với khoảng 5 mg dexpanthenol, thêm 1 ml *ethanol (TT)*. Lọc và nhỏ từng giọt khoảng 0,5 ml dịch lọc vừa nhỏ vừa thổi một luồng khí nóng để bốc hơi ethanol tạo một màng mỏng trên đĩa *kali bromid tinh khiết IR (TT)*. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của màng mỏng thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của dexpanthenol.
B. Hòa tan một lượng bột viên tương ứng với khoảng 2,5 g dexpanthenol trong 50 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*. Lọc, thêm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* và 0,1 ml *dung dịch đồng sulfat 12,5 %* vào 1 ml dịch lọc, xuất hiện màu xanh da trời.
C. Trong phần Định lượng, sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic dexpanthenol trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

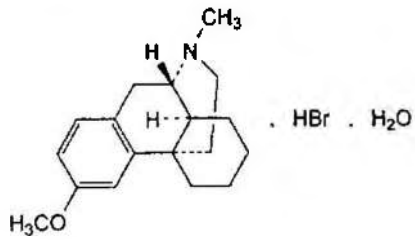
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch A - methanol (60 : 40).
Dung dịch A: Thêm 1 ml *acid phosphoric (TT)* vào 1000 ml *nước*, trộn đều.
Dung dịch chuẩn: Pha dung dịch dexpanthenol chuẩn có nồng độ 0,2 mg/ml trong pha động.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,1 g dexpanthenol chuyển vào bình định mức dung tích 100 ml, thêm khoảng 60 ml pha động, lắc kỹ cho tan, thêm pha động vừa đủ đến vạch, trộn đều. Lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Lấy chính xác 10,0 ml dịch lọc pha loãng với pha động thành 50,0 ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) nhồi pha tĩnh C (5 µm hoặc 10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic thu được từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Tính hàm lượng của dexpanthenol, $C_9H_{19}NO_4$, trong viên dựa vào các diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử, và hàm lượng $C_9H_{19}NO_4$ trong dexpanthenol chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Thuốc tương tự vitamin B_5.

Hàm lượng thường dùng
100 mg.

DEXTROMETHORPHAN HYDROBROMID
Dextromethorphani hydrobromidum



$C_{18}H_{25}NO.HBr.H_2O$ P.t.l: 370,3

Dextromethorphan hydrobromid là *ent*-3-methoxy-17-methylmorphinan hydrobromid monohydrat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{18}H_{25}NO.HBr$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh gần như trắng. Dễ tan trong ethanol 96 %, hơi tan trong nước.
Chảy ở khoảng 125 °C kèm theo phân hủy.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, C, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của dextromethorphan hydrobromid chuẩn.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Amoniac - methylen clorid - methanol - ethyl acetat - toluen (2 : 10 : 13 : 20 : 55).
Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 25 mg dextromethorphan hydrobromid chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 2/3 chiều dài bản mỏng. Để khô bản mỏng ngoài không khí và phun *dung dịch kali iodobismuthat (TT)*. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí và kích thước.
C. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử Góc quay cực riêng.
D. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của bromid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Hòa tan 0,4 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* bằng cách đun nóng nhẹ, để nguội và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Thêm 0,1 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)* và 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)*. Dung dịch có màu vàng. Không quá 0,4 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* được dùng để chuyển màu của chỉ thị sang màu đỏ.

Góc quay cực riêng
Từ +28° đến +30°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi để đo.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 3,11 g *natri docusat (TT)* vào hỗn hợp gồm 400 ml *nước* và 600 ml *acetonitril (TT)*, thêm 0,56 g *amoni nitrat (TT)* và điều chỉnh đến pH 2,0 bằng *acid acetic băng (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 10,0 mg chế phẩm vào pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2 mg tạp chất A chuẩn của dextromethorphan trong 2 ml dung dịch thử và pha loãng thành 25,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 200,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của dextromethorphan.
Thời gian lưu tương đối so với dextromethorphan (thời gian lưu khoảng 22 min): Tạp chất B khoảng 0,4; tạp chất C khoảng 0,8; tạp chất D khoảng 0,9; tạp chất A khoảng 1,1.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của dextromethorphan và pic của tạp chất A ít nhất là 1,5.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất C với 0,2.
Tạp chất A, B, C, D: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu cần, không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %) và không được có quá 1 pic có diện tích lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (2) (0,25 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: *ent*-3-methoxymorphinan.
Tạp chất B: *ent*-17-methylmorphinan-3-ol.
Tạp chất C: *ent*-3-methoxy-17-methylmorphinan-10-on.
Tạp chất D: *ent*-(14*S*)-3-methoxy-17-methylmorphinan.

N,N-Dimethylanilin
Không được quá 10 phần triệu.
Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong 20 ml *nước* bằng cách đun nóng. Để nguội, thêm 2 ml *dung dịch acid acetic loãng (TT)*, 1 ml *dung dịch natri nitrit 1 % (TT)* và *nước* vừa đủ 25 ml, dung dịch này không được có màu đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu được chuẩn bị trong cùng thời gian, trong cùng điều kiện nhưng dùng 20 ml dung dịch *dimethylanilin (TT)* 0,25 mg/l thay cho 20 ml dung dịch chế phẩm.

Nước
Từ 4,0 % đến 5,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,200 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong một hỗn hợp gồm 5,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* và 20 ml *ethanol 96 % (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Đọc thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* được thêm vào giữa 2 điểm uốn.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 35,23 mg $C_{18}H_{25}NO.HBr$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc giảm ho.

Chế phẩm
Viên nén, siro, dung dịch thuốc dạng phối hợp.

VIÊN NÉN DEXTROMETHORPHAN HYDROBROMID

Tabellae Dextromethorphani hydrobromidi

Là viên nén chứa dextromethorphan hydrobromid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng dextromethorphan hydrobromid, $C_{18}H_{25}NO.HBr$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Amoniac - methylen clorid - methanol - ethyl acetat - toluen (2 : 10 : 13 : 20 : 55).
Dung dịch thử: Lắc kỹ một lượng bột viên tương đương khoảng 15 mg dextromethorphan hydrobromid với 5 ml *methanol (TT)*, ly tâm lấy dịch trong.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch dextromethorphan hydrobromid chuẩn 0,3 % trong *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, sau đó phun *dung dịch kali iodobismuthat (TT)* lên bản sắc ký và quan sát dưới ánh sáng thường. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic dextromethorphan hydrobromid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
C. Lấy một lượng bột viên tương đương với 20 mg dextromethorphan hydrobromid, thêm 5 ml *nước* lắc kỹ, ly tâm lấy dung dịch trong, thêm 5 giọt *dung dịch acid nitric 10 % (TT)* và 1 ml *dung dịch bạc nitrat 2 % (TT)* sẽ xuất hiện tủa vàng. Lọc lấy tủa, rửa tủa 3 lần, mỗi lần với 1 ml *nước*. Phân tán tủa trong 2 ml *nước*, thêm 1,5 ml *dung dịch amoniac 10 M (TT)*, tủa khó tan.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch chứa *natri docusat 0,007 M* và *amoni nitrat 0,007 M* trong hỗn hợp *acetonitril - nước* (70 : 30). Điều chỉnh đến pH 3,4 bằng *acid acetic băng (TT)*.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương đương với khoảng 10 mg dextromethorphan hydrobromid vào bình định mức dung tích 100 ml, hòa tan và pha loãng với pha động vừa đủ đến vạch. Lắc đều, lọc.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch dextromethorphan hydrobromid chuẩn 0,01 % trong pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic dextromethorphan trong 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 % và hệ số đối xứng của pic dextromethorphan không được lớn hơn 2,5.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng dextromethorphan hydrobromid, $C_{18}H_{25}NO.HBr$, dựa vào các diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{18}H_{25}NO.HBr$ trong dextromethorphan hydrobromid chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

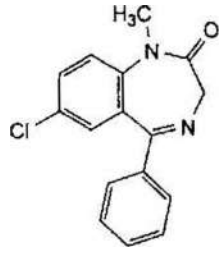
Thuốc giảm ho.

Hàm lượng thường dùng

5 mg, 10 mg, 15 mg.

DIAZEPAM

Diazepamum



$C_{16}H_{13}ClN_2O$ P.t.l: 284,7

Diazepam là 7-cloro-1-methyl-5-phenyl-1,3-dihydro-2*H*-1,4-benzodiazepin-2-on, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{16}H_{13}ClN_2O$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hay gần như trắng. Rất khó tan trong nước, tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của diazepam chuẩn.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch tránh ánh sáng mạnh.
Pha động: Trộn đều 22 thể tích *acetonitril (TT)*, 34 thể tích *methanol (TT)* và 44 thể tích *dung dịch kali dihydrophosphat 0,34 % (TT)* đã được điều chỉnh trước về pH 5,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*.

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong 0,5 ml *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan diazepam chuẩn dùng để đánh giá tính phù hợp của hệ thống (chứa các tạp chất A, B và E) có trong 1 lọ chuẩn trong 1,0 ml pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octylsilyl silica gel hình cầu dùng cho sắc ký* (5 µm).
Nhiệt độ cột: 30 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 4 lần thời gian lưu của diazepam.
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo diazepam chuẩn dùng để đánh giá tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất A, B và E.
Thời gian lưu tương đối so với diazepam (thời gian lưu khoảng 9 min): Tạp chất E khoảng 0,7; tạp chất A khoảng 0,8; tạp chất B khoảng 1,3.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất E và pic của tạp chất A ít nhất là 2,5; độ phân giải giữa pic của tạp chất A và pic của diazepam ít nhất là 6,0.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất B và tạp chất E với 1,3.
Tạp chất A, B, E: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu cần, không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 7-cloro-5-phenyl-1,3-dihydro-2*H*-1,4-benzodiazepin-2-on (nordazepam).
Tạp chất B: 2-cloro-*N*-(4-cloro-2-benzoylphenyl)-*N*-methylacetamid.
Tạp chất C: 3-amino-6-cloro-1-methyl-4-phenylquinolin-2(1*H*)-on.
Tạp chất D: [5-cloro-2-(methylamino)phenyl]phenylmethanon.
Tạp chất E: 6-cloro-1-methyl-4-phenylquinazolin-2(1*H*)-on.
Tạp chất F: 7-cloro-2-methoxy-5-phenyl-3*H*-1,4-benzodiazepin.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 2,0 g chế phẩm thử theo phương pháp 3. Dùng 4,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; chân không; 60 °C; 4 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 50 ml *anhydrid acetic (TT)*, chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Song song tiến hành mẫu trắng.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 28,47 mg $C_{16}H_{13}ClN_2O$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
An thần, gây ngủ.

Chế phẩm
Viên nén, thuốc đạn, thuốc tiêm.

THUỐC TIÊM DIAZEPAM
Injectio Diazepami

Là dung dịch vô khuẩn của diazepam trong nước để pha thuốc tiêm hoặc dung môi thích hợp. Chế phẩm có thể chứa các chất ổn định.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng diazepam, $C_{16}H_{13}ClN_2O$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu.

Định tính
A. Trong mục Định lượng, phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử phải có cực đại ở 368 nm.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi triển khai: Cloroform - methanol (100 : 10)
Dung dịch thử: Pha loãng dung dịch chế phẩm với *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ diazepam 0,10 % trong *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch diazepam chuẩn 0,10 % trong *methanol (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bảng mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra và phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*. Sấy ở 105 °C trong 10 min. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có R_f, màu sắc và kích thước phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

pH
Từ 6,2 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Định lượng
Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương ứng với 10 mg diazepam, thêm 20 ml *đệm phosphat hỗn hợp pH 7,0 (TT)*, lắc đều. Chiết 4 lần, mỗi lần với 20 ml *cloroform (TT)*, lọc từng dịch chiết cloroform qua cùng một phễu lọc có chứa 5 g *natri sulfat khan (TT)*. Tập trung dịch chiết vào bình định mức 100 ml, thêm *cloroform (TT)* đến vạch, lắc đều. Lấy chính xác 10 ml dung dịch thu được bốc hơi dưới luồng khí nitrogen đến cắn. Hòa tan cắn trong 25,0 ml *dung dịch acid sulfuric 0,05 M trong methanol*.
Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 368 nm. Tính hàm lượng diazepam, $C_{16}H_{13}ClN_2O$, theo A (1 %, 1 cm), lấy 151 là giá trị A (1 %, 1 cm) của diazepam ở bước sóng 368 nm.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
An thần, giải lo âu, gây ngủ.

Hàm lượng thường dùng
Ống tiêm 10 mg/2 ml; lọ 50 mg/10 ml.

VIÊN NÉN DIAZEPAM
Tabellae Diazepami

Là viên nén chứa diazepam.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng của diazepam, $C_{16}H_{13}ClN_2O$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Định lượng: Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử đo trong khoảng bước sóng từ 230 nm đến 350 nm phải có hai cực đại ở 242 nm và 284 nm.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol (100 : 10).
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với 50 mg diazepam với 10 ml *methanol (TT)*. Để lắng và lấy dịch trong ở trên.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch diazepam chuẩn trong *methanol (TT)* nồng độ 5 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra và phun *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT)*. Sấy ở 105 °C trong 10 min. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Tạp chất liên quan và sản phẩm phân hủy
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Ethylacetat - hexan (1 : 1).
Dung dịch thử: Lấy lượng bột viên tương đương 50 mg diazepam lắc với 5 ml *ethanol 96 % (TT)*, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 ml dung dịch thử pha loãng với *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ 50 ml.
Cách tiến hành: Chấm lên bản mỏng 20 µl dung dịch thử và 5 µl dung dịch đối chiếu vừa mới pha. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra để khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm hơn vết của dung dịch đối chiếu.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu và pha loãng dịch lọc với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* để được dung dịch có nồng độ thích hợp. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 286 nm với mẫu trắng là *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Tính hàm lượng diazepam, $C_{16}H_{13}ClN_2O$, theo A (1 %, 1 cm). Lấy 488 là giá trị A (1 %,1 cm) của diazepam ở bước sóng cực đại 286 nm.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng diazepam so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Độ đồng đều hàm lượng
Viên nén chứa ít hơn 10 mg diazepam, phải đáp ứng yêu cầu "Độ đồng đều hàm lượng" (Phụ lục 11.2). Thực hiện phép thử giống như phần Định lượng.
Dung dịch thử: Lấy 1 viên, thêm 1 ml *nước* và để yên 15 min cho rã, thêm 80 ml *dung dịch acid sulfuric 0,5 % trong methanol*, lắc 15 min và thêm dung môi này cho tới vừa đủ 100,0 ml. Pha loãng nếu cần với cùng dung môi để được dung dịch có nồng độ thích hợp.

Định lượng
Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng

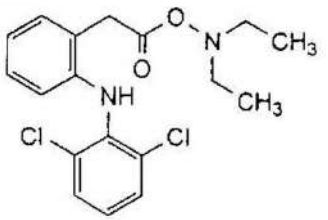
với khoảng 10 mg diazepam cho vào bình định mức dung tích 100 ml, thêm 5 ml *nước*, trộn đều rồi để yên 15 min, thêm khoảng 70 ml *dung dịch acid sulfuric 0,5 % trong methanol*, lắc 15 min và thêm dung môi này vừa đủ tới vạch, lắc đều, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng 10,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml với cùng dung môi trên. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 284 nm, trong cốc đo 1 cm. Mẫu trắng là *dung dịch acid sulfuric 0,5 % trong methanol*. Tính hàm lượng diazepam theo A (1 %, 1 cm). Lấy 450 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng cực đại 284 nm.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
An thần, giải lo âu, gây ngủ.

Hàm lượng thường dùng
2 mg, 5 mg, 10 mg.

DICLOFENAC DIETHYLAMIN
Diclofenacum diethylaminum



$C_{18}H_{22}Cl_2N_2O_2$ P.t.l: 369,29

Diclofenac diethylamin là diethylamoni 2-[(2,6-dicloroanilino) phenyl]acetat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{18}H_{22}Cl_2N_2O_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng đến màu be sáng. Hơi tan trong nước và aceton; dễ tan trong ethanol 96 % và methanol; thực tế không tan trong dung dịch natri hydroxyd 1 M.
Nóng chảy ở khoảng 154 °C, kèm theo phân hủy.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của diclofenac diethylamin.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G.*
Dung môi khai triển: *Acid hydrocloric - nước - acid acetic băng - ethyl acetat* (1 : 1 : 6 : 11).
Dung dịch thử: Dung dịch chế phẩm 5,0 % trong *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch diclofenac diethylamin chuẩn 5,0 % trong *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô trong luồng không khí ấm trong 10 min. Phun *dung dịch ninhydrin (TT)* và sấy ở 110 °C trong 15 min. Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu cho hai vết tách rõ ràng. Hai vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc và kích thước với hai vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Giới hạn acid - kiềm
pH của dung dịch chế phẩm 1 % trong *ethanol 10 % (TT)* phải từ 6,4 đến 8,4 (Phụ lục 6.2).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch chế phẩm 5 % trong *methanol (TT)* phải trong (Phụ lục 9.2). Độ hấp thụ của dung dịch này đo ở bước sóng 440 nm không được lớn hơn 0,05 (Phụ lục 4.1).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Dung dịch A - methanol* (34 : 66).
Dung dịch A: Dung dịch chứa 0,5 g/l *acid phosphoric (TT)* và 0,8 g/l *natri dihydrophosphat (TT)* được điều chỉnh đến pH 2,5 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch thử: Dung dịch chế phẩm 0,10 % trong pha động.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 2,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 1 mg tạp chất A chuẩn của diclofenac trong 1 ml dung dịch thử và pha loãng thành 200 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm) (Cột end-capped Zorbax C8 là phù hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 1,5 lần thời gian lưu của diclofenac.
Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), thời gian lưu của diclofenac khoảng 25 min và tạp chất A khoảng 12 min. Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic diclofenac và pic tạp chất A không nhỏ hơn 6,5.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:
Diện tích của bất kỳ pic phụ nào không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Tổng diện tích của các pic phụ không được lớn hơn 2,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,25 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Ghi chú:
Tạp chất A: 1-(2,6-dichlorophenyl)-1,3-dihydro-2*H*-indol-2-on.
Tạp chất B: 2-[(2,6-dichlorophenyl)amino]benzaldehyd.
Tạp chất C: [2-[(2,6-dichlorophenyl)amino]phenyl]methanol.
Tạp chất D: Acid 2-[2-[(2-bromo-6-chlorophenyl)amino]phenyl] acetic.
Tạp chất E: 1,3-dihydro-2*H*-indol-2-on.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 2 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3.
Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1 g; áp suất không quá 1 kPa, 24 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1 g chế phẩm.

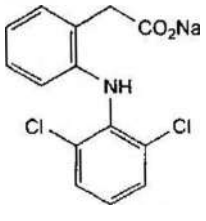
Định lượng
Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong 30 ml *acid acetic khan (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 36,93 mg $C_{18}H_{22}Cl_2N_2O_2$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Ức chế cyclo-oxygenase, giảm đau và chống viêm.

Chế phẩm
Gel bôi da.

DICLOFENAC NATRI
Diclofenacum natricum



$C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$ P.t.l: 318,1

Diclofenac natri là natri 2-[(2,6-dichlorophenyl)amino]phenyl] acetat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc hơi vàng, hút ẩm nhẹ. Dễ tan trong methanol, tan trong ethanol 96 %, hơi tan trong nước, khó tan trong aceton.
Chảy ở khoảng 280 °C kèm theo phân hủy.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của diclofenac natri chuẩn.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Amoniac đậm đặc - methanol - ethyl acetat (10 : 10 : 80).
Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg diclofenac natri chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg indomethacin chuẩn trong dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 2 ml bằng dung dịch đối chiếu (1).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl của mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và soi dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách rõ ràng.
C. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 10 ml *ethanol 96 % (TT)*. Hút 1 ml dung dịch thu được thêm 0,2 ml hỗn hợp đồng thể tích (pha ngay trước khi sử dụng) của *dung dịch kali fericyanid 0,6 %* và *dung dịch sắt (III) clorid 0,9 %*. Để yên khoảng 5 min, tránh ánh sáng. Thêm 3 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Để yên khoảng 15 min, tránh ánh sáng. Dung dịch xuất hiện màu xanh lam và tủa được tạo thành.
D. Hòa tan 60 mg chế phẩm trong 0,5 ml *methanol (TT)* và 0,5 ml *nước*. Dung dịch phải cho phản ứng đặc trưng của ion natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong của dung dịch
Hòa tan 1,25 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2). Độ hấp thụ của dung dịch (Phụ lục 4.1) đo ở bước sóng 440 nm không được lớn hơn 0,05.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hỗn hợp A - methanol (34 : 66).

Hỗn hợp A: 1000 ml dung dịch có chứa 0,5 g *acid phosphoric (TT)* và 0,8 g *natri dihydrophosphat (TT)*, được điều chỉnh về pH 2,5 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hút 2,0 ml dung dịch thử pha loãng với *methanol (TT)* thành 100,0 ml. Hút 1,0 ml dung dịch này pha loãng với *methanol (TT)* thành 10,0 ml.
Dung dịch đối chiếu (2): Hút 1,0 ml dung dịch thử chuyển vào bình định mức 200 ml, thêm 5,0 ml dung dịch tạp chất A chuẩn của diclofenac trong *methanol (TT)* nồng độ 0,2 mg/ml và pha loãng bằng *methanol (TT)* đến định mức, lắc đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi *end-capped octylsilyl silica gel cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min
Thể tích tiêm: 20 µl.
Thời gian chạy sắc ký bằng 1,5 lần thời gian lưu của diclofenac.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký dung dịch đối chiếu (2), với điều kiện sắc ký đã mô tả ở trên, thời gian lưu của pic tạp chất A khoảng 12 min, của pic diclofenac khoảng 25 min. Độ phân giải giữa 2 pic không nhỏ hơn 6,5.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1). Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %). Tổng diện tích các pic phụ không được lớn hơn 2,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,25 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 1-(2,6-dichlorophenyl)-1,3-dihydro-2*H*-indol-2-on.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong 20 ml *methanol (TT)* và tiến hành thử theo phương pháp 8. Chuẩn bị dung dịch đối chiếu từ dung dịch chì mẫu 1 phần triệu thu được bằng cách pha loãng *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb (TT)* với *methanol (TT)*.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9. 6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 3 h).

Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 60 ml *acid acetic băng (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10. 2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 31,81 mg $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$.

Bảo quản
Đựng trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống viêm không steroid.

Chế phẩm
Viên nén, thuốc tiêm.

THUỐC TIÊM DICLOFENAC NATRI
Injectio Diclofenaci natrii

Là thuốc tiêm chứa diclofenac natri.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng diclofenac natri, $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu hoặc có màu vàng nhạt.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Cloroform - aceton - acid formic (90 : 5 : 5)
Dung dịch thử: Pha loãng một thể tích dung dịch chế phẩm tương ứng khoảng 25 mg diclofenac natri với *methanol (TT)* vừa đủ 10 ml.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch 0,25 % diclofenac natri trong *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra và làm khô bằng luồng khí nóng nhẹ. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về vị trí, hình dạng và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic diclofenac natri trong sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

pH
Từ 8,0 đến 9,0 (Phụ lục 6.2).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)
Pha động: Dung dịch acid phosphoric 0,01 M - dung dịch natri dihydrophosphat 0,01 M - methanol (10 : 25 : 65).
Dung dịch chuẩn: Dung dịch diclofenac natri chuẩn 0,005 % trong hỗn hợp *methanol - nước* (65 : 35)

Dung dịch thử: Pha loãng một thể tích chính xác dung dịch chế phẩm bằng hỗn hợp *methanol - nước* (65 : 35) để thu được dung dịch có nồng độ diclofenac natri khoảng 0,005 %.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Nhiệt độ cột: 35 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống. Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic chính từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng diclofenac natri, $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$ trong diclofenac natri chuẩn.

Bảo quản
Đóng ống thủy tinh hàn kín, để nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống viêm không steroid.

Hàm lượng thường dùng
Ống tiêm 75 mg/2 ml; 75 mg/3 ml.

VIÊN NÉN BAO TAN TRONG RUỘT DICLOFENAC
Tabellae Diclofenaci

Là viên nén bao tan trong ruột chứa diclofenac natri. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" mục "Viên bao" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng diclofenac natri, $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Loại bỏ lớp bao của viên, nghiền thành bột mịn. Lấy một lượng bột tương ứng với khoảng 150 mg diclofenac natri. Thêm 0,5 ml *acid acetic băng (TT)* và 15 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm. Lọc dung dịch qua giấy lọc vào cốc đựng 15 ml *nước*, xuất hiện tủa. Lọc lấy tủa dưới áp suất giảm. Rửa tủa lại 4 lần, mỗi lần với 5 ml *nước*. Sấy ở 105 °C trong 2 h đến 3 h. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của tủa đã sấy khô phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của diclofenac.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với Pha động và Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Định lượng.
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với 50 mg diclofenac natri với 70 ml pha động trong 30 min, thêm pha động vừa đủ 100,0 ml. Lắc đều, ly tâm lấy dịch trong.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 25,0 ml bằng pha động.
Dung dịch phân giải: Dung dịch chứa 0,0005 % diclofenac natri chuẩn và 0,0005 % tạp chất A chuẩn của diclofenac trong pha động.
Cách tiến hành:
Thời gian chạy sắc ký bằng 1,5 lần thời gian lưu của diclofenac.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký dung dịch phân giải, với điều kiện sắc ký đã mô tả ở trên, thời gian lưu của pic tạp chất A khoảng 12 min, của pic diclofenac khoảng 25 min. Độ phân giải giữa 2 pic không nhỏ hơn 6,5.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (0,2 %). Tổng diện tích các pic phụ không được lớn hơn 2,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (0,5 %). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,25 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (0,05 %) và các pic có thời gian lưu tương đối so với pic chính bằng khoảng 0,67 và 0,1.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Giai đoạn trong môi trường acid
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 2 h.
Cách tiến hành: Sau thời gian qui định, lấy viên ra khỏi môi trường hòa tan và chuyển ngay sang thực hiện Giai đoạn trong môi trường đệm.
Thêm 20 ml *dung dịch natri hydroxyd 5 M (TT)* vào cốc thử đựng môi trường hòa tan còn lại ở trên, trộn đều, lọc nếu cần. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 276 nm, mẫu trắng là hỗn hợp *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và *dung dịch natri hydroxyd 5 M* (900 : 20). So sánh với dung dịch chuẩn được chuẩn bị như sau: Cân chính xác khoảng 68 mg diclofenac natri chuẩn vào bình định mức 100 ml, thêm 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M*, thêm *nước* vừa đủ, lắc đều. Hút chính xác 2 ml dung dịch này vào một bình định mức 100 ml khác, thêm mẫu trắng vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Yêu cầu: Không quá 10 % lượng diclofenac natri, $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$, so với lượng ghi trên nhãn hòa tan trong 2 h.
Giai đoạn trong môi trường đệm
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch đệm phosphat pH 6,8.*
Dung dịch đệm phosphat pH 6,8: Hòa tan 76 g *natri phosphat tribasic (TT)* trong vừa đủ 1000 ml *nước*. Trộn đều 250 ml dung dịch này với 750 ml *dung dịch acid*

hydroclorid 0,1 M (TT), điều chỉnh đến pH 6,8 ± 0,1 bằng *dung dịch acid hydroclorid 2 M (TT)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 60 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng với dung dịch đệm phosphat pH 6,8 để được dung dịch có nồng độ diclofenac natri khoảng 0,02 mg/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 276 nm trong cốc đo dày 1 cm, dùng dung dịch đệm phosphat pH 6,8 làm mẫu trắng. So sánh với dung dịch chuẩn được chuẩn bị như sau: Cân chính xác khoảng 68 mg diclofenac natri chuẩn vào bình định mức dung tích 100 ml, thêm 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M*, thêm *nước* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Hút chính xác 3,0 ml dung dịch này vào một bình định mức dung tích 100 ml khác, thêm dung dịch đệm phosphat pH 6,8 vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng diclofenac natri, $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$, so với lượng ghi trên nhãn hòa tan trong cả hai giai đoạn.

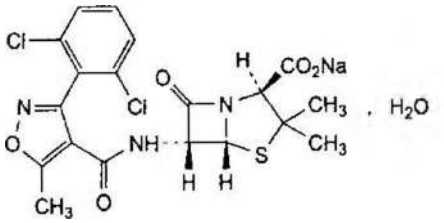
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hỗn hợp A - methanol (34 : 66).
Hỗn hợp A: 1000 ml dung dịch có chứa 0,5 g *acid phosphoric (TT)* và 0,8 g *natri dihydrophosphat (TT)*, được điều chỉnh về pH 2,5 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg diclofenac natri vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml pha động, lắc siêu âm trong 5 min, thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 50,0 ml bằng pha động.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg diclofenac natri chuẩn hòa tan trong vừa đủ 100,0 ml pha động. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng pha động.
Dung dịch phân giải: Dung dịch chứa 0,0005 % diclofenac natri chuẩn và 0,0005 % tạp chất A chuẩn của diclofenac trong pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi *end-capped octylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký dung dịch phân giải, với điều kiện sắc ký đã mô tả ở trên, thời gian lưu của pic tạp chất A khoảng 12 min, của pic diclofenac khoảng 25 min. Độ phân giải giữa 2 pic không nhỏ hơn 6,5.
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic diclofenac từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Tính hàm lượng diclofenac natri, $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$, trong viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$ trong diclofenac natri chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống viêm không steroid.

Hàm lượng thường dùng
25 mg, 50 mg.

DICLOXACILIN NATRI
Dicloxacillinum natricum



$C_{19}H_{16}Cl_2N_3NaO_5S.H_2O$ P.t.l: 510,3

Dicloxacilin natri là natri (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[[3-(2,6-diclorophenyl)-5-methylisoxazol-4-yl]-carbonyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylat monohydrat, phải chứa từ 95,0 % đến 102,0 % $C_{19}H_{16}Cl_2N_3NaO_5S$, tính theo chế phẩm khan.
Sản phẩm bán tổng hợp từ một sản phẩm lên men.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hay gần như trắng, hút ẩm.
Dễ tan trong nước, tan trong ethanol 96 % và methanol.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của dicloxacilin natri chuẩn.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel đã được silan hóa.
Dung môi khai triển: Aceton - dung dịch amoni acetat 15,4 % được chỉnh đến pH 5,0 bằng *acid acetic băng* (30 : 70).
Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong 5 ml *nước*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg dicloxacilin natri chuẩn trong 5 ml *nước*.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 25 mg cloxacilin natri chuẩn, 25 mg dicloxacilin natri chuẩn và 25 mg flucloxacilin natri chuẩn trong 5 ml *nước*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và đặt bản mỏng vào bình có hơi iod cho đến khi xuất hiện các vết. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 3 vết tách rõ ràng.
C. Lấy khoảng 2 mg chế phẩm vào một ống nghiệm dài khoảng 15 cm và đường kính trong khoảng 1,5 cm. Làm ẩm bằng 0,05 ml *nước* và thêm 2 ml *dung dịch formaldehyd trong acid sulfuric (TT)*. Trộn các thành phần trong ống bằng cách lắc tròn, dung dịch xuất hiện màu vàng ánh xanh. Để ống nghiệm trong bể cách thủy khoảng 1 min, dung dịch chuyển sang màu vàng.
D. Chế phẩm cho phản ứng của natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2). Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch S đo ở bước sóng 430 nm không được lớn hơn 0,04.

pH
Từ 5,0 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).
Dùng dung dịch S để đo.

Góc quay cực riêng
Từ +128° đến +143°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Dung dịch kali dihydrophosphat 0,27 %* được điều chỉnh tới pH 5,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd loãng* - *acetonitril* (75 : 25).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử (1) thành 50,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50,0 mg dicloxacilin natri chuẩn trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử (2) thành 50,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5 mg flucloxacilin natri chuẩn và 5 mg dicloxacilin natri chuẩn trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 225 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (2) và (3).
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 5 lần thời gian lưu của dicloxacilin.
Thời gian lưu của dicloxacilin khoảng 10 min.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic của flucloxacilin (pic thứ nhất) và pic của dicloxacilin (pic thứ 2) ít nhất là 2,5.
Giới hạn:
Tạp chất bất kỳ: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (5 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid (4*S*)-2-[carboxy[[[3-(2,6-dichlorophenyl)-5-methylisoxazol-4-yl]carbonyl]amino]methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic (các acid penicilloic của dicloxacilin).
Tạp chất B: Acid (2*RS*,4*S*)-2-[[[[3-(2,6-dichlorophenyl)-5-methylisoxazol-4-yl]carbonyl]amino]methyl]-5,5-dimethyl-thiazolidin-4-carboxylic (các acid penilloic của dicloxacilin).
Tạp chất C: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-amino-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic (acid 6-aminopenicilanic).
Tạp chất D: Acid 3-(2,6-dichlorophenyl)-5-methylisoxazol-4-carboxylic.

N,N-Dimethylanilin
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16, phương pháp 2).

Acid 2- ethylhexanoic
Không được quá 0,8 % (kl/kl) (Phụ lục 10.17).

Nước
Từ 3,0 % đến 4,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,300 g chế phẩm.

Chất gây sốt
Nếu chế phẩm dự định dùng để sản xuất thuốc tiêm mà không có phương pháp loại bỏ chất gây sốt thì chế phẩm phải đáp ứng phép thử chất gây sốt (Phụ lục 13.4).
Tiêm 1 ml dung dịch chứa 20 mg chế phẩm trong 1 ml *nước cất pha tiêm* cho 1 kg trọng lượng thỏ.

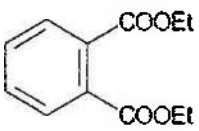
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (1).
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic dicloxacilin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) thu được từ 6 lần tiêm không được lớn hơn 1,0 %.
Tính hàm lượng phần trăm $C_{19}H_{16}Cl_2N_3NaO_5S$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng $C_{19}H_{16}Cl_2N_3NaO_5S$ trong dicloxacilin natri chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, ở nhiệt độ dưới 25 °C. Nếu là chế phẩm vô khuẩn thì bao bì phải được tiệt trùng, kín, chống nhiễm khuẩn.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm penicilin.

Chế phẩm
Nang, bột pha tiêm.

DIETHYL PHTALAT
Diethylis phthalas



$C_{12}H_{14}O_4$ P.t.l: 222,2

Diethyl phtalat là diethyl benzen-1,2-dicarboxylat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % (kl/kl) $C_{12}H_{14}O_4$.

Tính chất
Chất lỏng sánh, trong suốt, không màu hoặc có màu vàng rất nhạt. Thực tế không tan trong nước, hòa lẫn với ethanol 96 % và với ether.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, C.
Nhóm II: B, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của diethyl phtalat chuẩn, dùng kỹ thuật phim mỏng.
B. Tỷ trọng tương đối: Từ 1,117 đến 1,121 (Phụ lục 6.5).
C. Chỉ số khúc xạ: Từ 1,500 đến 1,505 (Phụ lục 6.1).
D. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}
Dung môi khai triển: Heptan - ether (30 : 70).
Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *ether (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50 mg diethylphtalat chuẩn trong *ether (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí rồi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí và kích thước với vết chính thu được từ sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
E. Lấy khoảng 0,1 ml chế phẩm, thêm 0,25 ml *acid sulfuric (TT)* và 50 mg *resorcinol (TT)*. Đun trên cách thủy trong 5 min. Để nguội, thêm 10 ml *nước* và 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 42 % (TT)*. Dung dịch trở nên vàng hoặc vàng nâu và có huỳnh quang xanh lục.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Chế phẩm phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu V_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid
Hòa tan 20,0 g chế phẩm trong 50 ml *ethanol 96 % (TT)* đã được trung hòa trước với *dung dịch phenolphtalein (TT)*. Nhỏ *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tới khi xuất hiện lại màu hồng. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tiêu thụ không được quá 0,1 ml.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2), dùng *naphtalen (TT)* làm chuẩn nội.
Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan 60 mg *naphtalen (TT)* trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (1): Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *methylen clorid (TT)*, thêm 2,0 ml dung dịch chuẩn nội và pha loãng thành 20,0 ml bằng *methylen clorid (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 1,0 ml dung dịch thử (1), thêm 10,0 ml dung dịch chuẩn nội và và pha loãng thành 100,0 ml bằng *methylen clorid (TT)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột thủy tinh có chiều dài 2 m và đường kính trong 2 mm, được nhồi *diatomit đã silan hóa dùng cho sắc ký khí (TT)* (150 µm đến 180 µm) được tẩm 3 % (kl/kl) *polymethyl phenylsiloxan (TT)*.
Khí mang là *nitơ dùng cho sắc ký (TT)* có lưu lượng 30 ml/min.
Detector ion hóa ngọn lửa.
Giữ nhiệt độ của cột ở 150 °C, nhiệt độ của buồng tiêm mẫu và detector ở 225 °C.
Thể tích tiêm: 1 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký dung dịch đối chiếu, các chất được rửa giải theo thứ tự như sau: Naphtalen và diethylphtalat. Điều chỉnh độ nhạy của detector sao cho chiều cao của pic

naphtalen không được nhỏ hơn 50 % thang đo. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa các pic naphtalen và diethyl phtalat ít nhất là 10.
Tiến hành sắc ký dung dịch thử (1), trên sắc ký đồ thu được không có pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của chuẩn nội.
Tiến hành sắc ký dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu. Tiến hành sắc ký dung dịch thử trong thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của diethylphtalat.
Từ sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu, tính tỷ lệ (R) giữa diện tích pic của diethyphtalat và diện tích pic của chuẩn nội. Từ sắc ký đồ của dung dịch thử (2), tính tỷ lệ giữa tổng diện tích của các pic ngoài pic chính, pic chuẩn nội và pic dung môi, với diện tích pic của chuẩn nội, tỷ lệ này không được lớn hơn R (1,0 %).

Nước
Không được quá 0,2 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 5,0 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

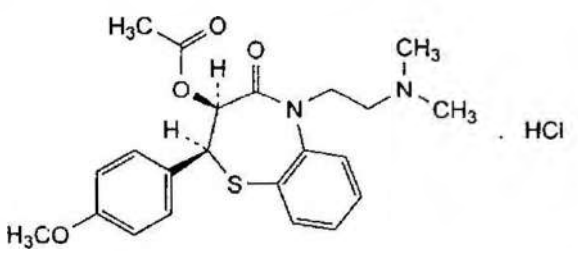
Định lượng
Cân 0,750 g chế phẩm vào bình thủy tinh dung tích 250 ml. Thêm 25,0 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol (CĐ)* và vài viên đá bọt. Đun sôi trên cách thủy dưới ống sinh hàn ngược trong 1 h. Thêm 1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* và chuẩn độ ngay bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,5 N (CĐ)*. Song song làm mẫu trắng.
1 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol (CĐ)* tương đương với 55,56 mg $C_{12}H_{14}O_4$.

Bảo quản
Trong lọ kín, để nơi khô mát.

Loại thuốc
Trị ghẻ, ngứa.

Chế phẩm
Thuốc mỡ DEP.

DILTIAZEM HYDROCLORID
Diltiazemi hydrochloridum



$C_{22}H_{26}N_2O_4S.HCl$ P.t.l: 451,0

Diltiazem hydroclorid là (2*S*,3*S*)-5-[2-(dimethylamino) ethyl]-2-(4-methoxyphenyl)-4-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-1,5-benzothiazepin-3-yl acetat hydroclorid, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{22}H_{26}N_2O_4S.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng.
Dễ tan trong nước, trong methanol và trong methylen clorid, khó tan trong ethanol. Nóng chảy ở 213 °C kèm theo phân hủy.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của diltiazem hydroclorid chuẩn.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Acid acetic - nước - methylen clorid - ethanol (1 : 3 : 10 : 12)
Dung dịch thử: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,10 g diltiazem hydroclorid chuẩn trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
C. Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 5 ml *nước*. Thêm 1 ml *dung dịch amoni reineckat (TT)*, tủa màu hồng được tạo thành.
D. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 1,00 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Pha loãng 2,0 ml dung dịch S thành 10,0 ml với *nước không có carbon dioxyd (TT)*, pH của dung dịch thu được phải từ 4,3 đến 5,3 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng
Từ +115° đến +120°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Xác định trên dung dịch thu được bằng cách pha loãng 5,0 ml dung dịch S thành 25,0 ml với *nước*.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm pH 4,5: Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 1 lít *nước*, thêm 0,1 ml *N,N-dimethyl octylamin (TT)*, điều chỉnh đến pH 4,5 bằng dung dịch *acid phosphoric loãng (TT)*.
Pha động: Ethanol - acetonitril - dung dịch đệm pH 4,5 (5 : 25 : 70).
Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 200,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50,0 mg diltiazem hydroclorid chuẩn trong pha động và pha loãng thành 200,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 3 mg tạp chất A chuẩn của diltiazem trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với pha động. Lấy 1,0 ml dung dịch này, thêm 1,2 ml dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 100,0 ml với pha động.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 0,3 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 240 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch đối chiếu (3): Điều chỉnh độ nhạy của detector sao cho chiều cao của pic chính trên sắc ký đồ ít nhất bằng 10 % thang đo.
Tiêm dung dịch đối chiếu (2): Độ phân giải giữa 2 pic diltiazem hydroclorid và tạp chất A không được nhỏ hơn 4,0; hệ số đối xứng của pic tạp chất A và pic diltiazem hydroclorid không được lớn hơn 2,0. Nếu cần, điều chỉnh nồng độ của N,N-dimethyloctylamin trong pha động.
Tiêm dung dịch thử: Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 5 lần thời gian lưu của pic chính.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, tổng diện tích của tất cả các pic (trừ pic chính) không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3) (0,3 %), bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,025 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3).
Ghi chú:
Tạp chất A: (2*R*,3*S*)-5-[2-(dimethylamino)ethyl]-2- (4-methoxyphenyl)-4-oxo-2,3,4,5-tetrahydro-1,5-benzo-thiazepin-3-yl acetat.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 20,0 ml với *nước*. Lấy 12,0 ml dung dịch này, tiến hành thử theo phương pháp 1, dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C - 105 °C, 2 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong một hỗn hợp gồm 2 ml *acid formic khan (TT)* và 60 ml *anhydrid acetic (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 45,1 mg $C_{22}H_{26}N_2O_4S.HCl$

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc đối kháng calci, trị đau thắt ngực và tăng huyết áp.

Chế phẩm
Viên nén, viên nén giải phóng chậm, nang.

VIÊN NÉN DILTIAZEM
Tabellae Diltiazemi

Là viên nén hay viên nén bao phim chứa diltiazem hydroclorid. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng diltiazem hydroclorid, $C_{22}H_{26}N_2O_4S.HCl$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lấy một lượng bột viên tương ứng với 1 viên, thêm 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* lắc kỹ và lọc. Thêm 2 ml dung dịch amoni cobalthiocyanat vào 2 ml dịch lọc và thêm 5 ml *cloroform (TT)*. Lắc kỹ, màu xanh lam xuất hiện trong lớp cloroform.
Dung dịch amoni cobalthiocyanat: Hòa tan 17,4 g *amoni thiocyanat (TT)* và 8,0 g *cobalt clorid (TT)* bằng *nước* trong bình định mức 100 ml rồi thêm *nước* vừa đủ thể tích, lắc đều.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic diltiazem hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, dung dịch phân giải, điều kiện sắc ký như mô tả trong mục Định lượng.
Dung dịch thử: Hòa tan một lượng bột viên trong *ethanol 96 % (TT)* để được dung dịch có nồng độ diltiazem 1 mg/ml.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử trong 200,0 ml *ethanol 96 % (TT)*.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu. Điều chỉnh độ

nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính trên sắc ký đồ thu được ít nhất bằng 20 % thang đo.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch đối chiếu và dung dịch thử, chạy sắc ký với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của pic chính.
Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử không được có pic phụ nào có diện tích lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %) và tổng diện tích của tất cả các pic phụ không được hơn 2 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 30 min, 180 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan qui định (30 min và 180 min), lấy 10 ml dịch hòa tan, bù thể tích đã lấy ra ở thời điểm 30 min. Lọc và pha loãng dịch lọc thu được với *nước* để được dung dịch có nồng độ khoảng 8 µg/ml (dung dịch thử). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử ở bước sóng 240 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *nước*.
Tính hàm lượng diltiazem hydroclorid, $C_{22}H_{26}N_2O_4S.HCl$, hòa tan trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ của dung dịch diltiazem hydroclorid chuẩn có nồng độ tương đương dung dịch thử trong cùng dung môi.
Yêu cầu: Không quá 60 % (Q) lượng diltiazem hydroclorid, $C_{22}H_{26}N_2O_4S.HCl$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min và không ít hơn 75 % (Q) được hòa tan trong 180 min.
Tại thời điểm 30 min, đánh giá theo Q như sau: bước S_1, lượng dược chất hòa tan từ mỗi viên không lớn hơn Q; bước S_2, lượng dược chất hòa tan trung bình của 12 viên không lớn hơn Q và từ mỗi viên không lớn hơn Q + 10 %; bước S_3, lượng dược chất hòa tan trung bình của 24 viên không lớn hơn Q và không quá 2 viên lớn hơn Q + 10 %, không có viên nào lớn hơn Q + 25 %.

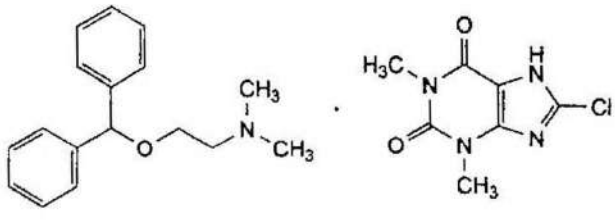
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch A: Hòa tan 1,16 g *acid d-camphor sulfonic* trong *dung dịch natri acetat 0,01 M* và hòa loãng thành 1000 ml với cùng dung môi, điều chỉnh đến pH 6,2 bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*.
Pha động: *Dung dịch A - acetonitril - methanol (50 : 25 : 25)*. Điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan diltiazem hydroclorid chuẩn trong *ethanol 96 % (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ diltiazem chính xác khoảng 0,1 mg/ml.
Dung dịch phân giải: Lấy 5,0 ml dung dịch chuẩn thêm 2 giọt *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*, lắc kỹ trong 1 min, thêm 2 giọt *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và trộn đều.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên đã loại bỏ lớp bao phim và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 10 mg diltiazem hydroclorid vào bình định mức 100 ml, thêm 50 ml *ethanol 96 % (TT)*, lắc siêu âm trong 10 min, thêm *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc kỹ và lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) hoặc cột tương đương, được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 240 nm.
Tốc độ dòng: 1,6 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký:
Tiến hành sắc ký đối với dung dịch phân giải, trên sắc ký đồ thu được số đĩa lý thuyết của cột tính theo pic diltiazem không được nhỏ hơn 1200, hệ số phân giải giữa pic diltiazem và desacetyl diltiazem (thời gian lưu tương đối so với diltiazem khoảng 0,65) phải lớn hơn 2,5.
Tiến hành sắc ký 6 lần riêng biệt đối với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic diltiazem không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng diltiazem hydroclorid, $C_{22}H_{26}N_2O_4S.HCl$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{22}H_{26}N_2O_4S.HCl$ của diltiazem hydroclorid chuẩn.

Bảo quản
Trong vỉ nhôm hay trong chai lọ nút kín.
Để nơi khô mát, nhiệt độ không quá 30 °C, tránh ẩm và ánh sáng.

Loại thuốc
Đối kháng calci, trị đau thắt ngực và tăng huyết áp.

Hàm lượng thường dùng
60 mg.

DIMENHYDRINAT
Dimenhydrinatum



$C_{17}H_{21}NO,C_7H_7ClN_4O_2$ P.t.l: 470,0

Dimenhydrinat là diphenhydramin [2-(diphenylmethoxy)-*N,N*-dimethylethalamin] 8-clorotheophylin (8-cloro -1,3-dimethyl-3,7-dihydro-1*H*-purin-2,6-dion), phải chứa từ 53,0 % đến 55,5 % diphenhydramin ($C_{17}H_{21}NO$; p.t.l: 255,4) và từ 44,0 % đến 46,5 % 8-clorotheophylin ($C_7H_7ClN_4O_2$; p.t.l: 214,6), tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng, hoặc tinh thể không màu. Khó tan trong nước và dễ tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của dimenhydrinat chuẩn.

B. Điểm chảy: Từ 102 °C đến 106 °C (Phụ lục 6.7).

C. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 3 ml *nước* và 3 ml *ethanol 96 % (TT)*, thêm 6 ml *nước* và 1 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*, làm lạnh trong nước đá trong 30 min, nếu cần cọ thành ống nghiệm bằng đũa thủy tinh để tạo tủa kết tinh. Hòa tan khoảng 10 mg tủa tạo thành trong 1 ml *acid hydrocloric (TT)*, thêm 0,1 g *kali clorat (TT)* và bốc hơi đến khô trong một đĩa sứ. Cặn màu đỏ tạo thành, màu sẽ chuyển sang đỏ tím khi đặt vào trong hơi amoniac.

D. Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong 10 ml *ethanol 96 % (TT)*. Thêm 10 ml *dung dịch acid picric 1 % (TT)* và cọ vào thành ống nghiệm bằng đũa thủy tinh để tạo tủa kết tinh. Rửa tủa bằng *nước* và sấy ở 100 °C đến 105 °C, nhiệt độ nóng chảy của tủa từ 130 °C đến 134 °C (Phụ lục 6.7).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Thêm vào 0,4 g chế phẩm 20 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, lắc trong 2 min và lọc. pH của dịch lọc thu được phải từ 7,1 đến 7,6 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Hòa tan 10,0 g *triethylamin (TT_1)* trong 950 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 2,5 bằng *acid phosphoric (TT)* và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*.

Pha động B: *Acetonitril (TT_1)*.

Hỗn hợp dung môi: *Acetonitril - nước* (18 : 82).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 57 mg diphenhydramin hydroclorid chuẩn trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5,0 mg tạp chất A chuẩn của diphenhydramin (tạp chất F) trong 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 50,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan dimenhydrinat chuẩn dùng để định tính pic (chứa tạp chất A và E) có trong một lọ chuẩn trong 1,0 ml hỗn hợp dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 225 nm.

Nhiệt độ cột: 30 °C.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Tốc độ dòng (ml/min)
0 - 2	82	18	1,2
2 - 15	82 → 50	18 → 50	1,2
15 - 20	50 → 20	50 → 80	1,2 → 2,0
20 - 30	20	80	2,0

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo dimenhydrinat chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) để định tính tạp chất A và E; sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để định tính tạp chất F.

Thời gian lưu tương đối so với diphenhydramin (thời gian lưu khoảng 13 min): tạp chất A khoảng 0,3; tạp chất E khoảng 0,7 min; tạp chất F khoảng 0,95.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic của tạp chất F và pic của diphenhydramin không được nhỏ hơn 1,5.

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

Tạp chất A và F: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).

Tạp chất E: Diện tích pic tạp chất E không được lớn hơn 0,75 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,15 %).

Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 2,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,25 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: 1,3-dimethyl-3,7-dihydro-1*H*-purin-2,6-dion (theophylin).

Tạp chất C: 1,3,7-trimethyl-3,7-dihydro-1*H*-purin-2,6-dion (cafein).

Tạp chất D: *N*-[2-(diphenylmethoxy)ethyl]-*N*,*N*',*N*'-trimethylethan-1,2-diamin.

Tạp chất E: 8-cloro-1,3,7-trimethyl-3,7-dihydro-1*H*-purin-2,6-dion (8-clorocafein).

Tạp chất F: 2-(diphenylmethoxy)-*N*-methylethanamin (tạp chất A của diphenhydramin).
Tạp chất G: *N,N*-dimethyl-2-[(*RS*)-(4-methylphenyl)(phenyl) methoxy]ethanamin (4-methyldiphenhydramin).
Tạp chất H: 2-[(*RS*)-(4-bromophenyl)-(phenyl)methoxy]-*N,N*-dimethylethanamin (4-bromodiphenhydramin).
Tạp chất I: diphenylmethanol (benzhydrol).
Tạp chất J: diphenylmethanon (benzophenon).
Tạp chất K: [oxybis(methanetriyl)]tetrabenzen.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; trong chân không).

Tro sulfat
Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Diphenhydramin
Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 60 ml *acid acetic khan (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 25,54 mg $C_{17}H_{21}NO$.
8-Clorotheophylin
Thêm 50 ml *nước*, 3 ml *dung dịch amoniac loãng (TT)* và 0,6 g *amoni nitrat (TT)* vào 0,800 g chế phẩm, đun nóng trên cách thủy trong 5 min. Thêm 25,0 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* và tiếp tục đun nóng trên cách thủy trong 15 min, thường xuyên lắc. Để nguội, thêm 25 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)* và pha loãng thành 250,0 ml với *nước*. Lọc và bỏ 25 ml dịch lọc đầu. Sử dụng 5 ml *dung dịch sắt (III) amoni sulfat 10 % (TT)* làm chỉ thị, chuẩn độ 100,0 ml dịch lọc bằng *dung dịch amoni thiocyanat 0,1 N (CĐ)* đến màu nâu vàng.
1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 21,46 mg $C_7H_7ClN_4O_2$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Đối kháng thụ thể histamin H_1.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN DIMENHYDRINAT
Tabellae Dimenhydrinati

Là viên nén chứa dimenhydrinat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng dimenhydrinat, $C_{17}H_{21}NO.C_7H_7ClN_4O_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng 8-clorotheophylin, $C_7H_7ClN_4O_2$, từ 43,4 % đến 47,9 % của hàm lượng dimenhydrinat.

Định tính
Trong phần Định lượng, hai pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của hai pic 8-clorotheophylin và diphenhydramin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, pha loãng dịch lọc đến nồng độ khoảng 14 µg/ml với *nước*, nếu cần. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 276 nm với mẫu trắng là *nước*. So sánh với dung dịch chuẩn có nồng độ tương đương pha trong *nước*.
Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng dimenhydrinat so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, điều kiện sắc ký, dung dịch thử, dung dịch phân giải, kiểm tra tính phù hợp của hệ thống như mô tả trong phần Định lượng.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 2,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu, điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic 8-clorotheophylin trên sắc ký đồ bằng khoảng 10 % chiều cao của thang đo. Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu và dung dịch thử, thời gian ghi sắc ký bằng 2 lần thời gian lưu của pic diphenhydramin.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ đạt được của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic nào tương ứng với pic theophylin không được lớn hơn 0,75 lần diện tích pic 8-clorotheophylin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Tổng diện tích của các pic phụ, không được lớn hơn diện tích của pic chính 8-clorotheophylin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - dung dịch đệm triethylamin pH 3,2 (1 : 1).
Dung dịch đệm triethylamin pH 3,2: Hỗn hợp gồm 8 ml *acid phosphoric (TT)* và 14 ml *triethylamin (TT)* trong vừa đủ 1000 ml *nước*, điều chỉnh về pH 3,2 với *triethylamin (TT)*, thêm 500 ml *nước* và trộn đều.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng cân chính xác dimenhydrinat chuẩn trong pha động để được dung dịch có nồng độ khoảng 0,3 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 30 mg dimenhydrinat vào bình định mức 100 ml, thêm pha động và lắc siêu âm để hòa tan, hòa loãng với pha động đến vừa đủ định mức, lắc kỹ và lọc.

Dung dịch phân giải: Hòa tan một lượng theophylin chuẩn và dimenhydrinat chuẩn trong pha động để được dung dịch có nồng độ mỗi chất khoảng 20 µg/ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 225 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải. Thứ tự rửa giải các pic lần lượt là: theophylin, 8-clorotheophylin và diphenhydramin; độ phân giải giữa pic theophylin và 8-clorotheophylin không nhỏ hơn 1,5; số đĩa lý thuyết của cột tính theo pic diphenhydramin không được dưới 2000. Tiến hành tiêm lặp lại dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích đáp ứng không được lớn hơn 2,0 %.

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

Tính hàm lượng dimenhydrinat, $C_{17}H_{21}NO.C_7H_7ClN_4O_2$ và hàm lượng 8-clorotheophylin, $C_7H_7ClN_4O_2$, có trong viên dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{17}H_{21}NO.C_7H_7ClN_4O_2$ của dimenhydrinat chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng, để nơi mát.

Loại thuốc

Thuốc kháng histamin (H_1).

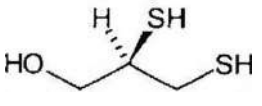
Hàm lượng thường dùng

15 mg, 25 mg, 50 mg.

DIMERCAPROL

Dimercaprolum

B.A.L



và đồng phân đối quang

$C_3H_8OS_2$ P.t.l: 124,2

Dimercaprol là (2*RS*)-2,3-disulfanylpropan-1-ol, phải chứa từ 98,5 % đến 101,5 % $C_3H_8OS_2$.

Tính chất

Chất lỏng trong suốt không màu hoặc màu vàng nhạt, có mùi tỏi.

Tan trong nước và dầu lạc, hòa lẫn với ethanol 96 % và benzyl benzoat.

Định tính

A. Hòa tan 0,05 ml chế phẩm trong 2 ml *nước*, thêm 1 ml *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)*. Màu của iod biến mất ngay.

B. Hòa tan 0,1 ml chế phẩm trong 5 ml *nước*, thêm 2 ml *dung dịch đồng sulfat 12,5 % (TT)*. Tủa màu xanh đen xuất hiện và chuyển nhanh sang màu xám đen.

C. Trong bình nón có nút mài trộn 0,6 g *natri bismuthat (TT)* (đã được đun trước đó ở 200 °C trong 2 h) với hỗn hợp gồm 2,8 ml *dung dịch acid phosphoric 10 % (TT)* và 6 ml *nước*. Thêm 0,2 ml chế phẩm, trộn đều và để 10 min, thỉnh thoảng lắc. Lấy 1 ml chất lỏng phía trên, thêm 5 ml *dung dịch muối natri của acid cromotropic 0,4 % trong acid sulfuric đậm đặc*, trộn đều. Đun trong cách thủy 15 min, màu đỏ tím xuất hiện.

Độ trong và màu sắc của chế phẩm

Chế phẩm phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm hơn màu mẫu N_6 hoặc VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Thêm 0,25 ml *dung dịch lục bromocresol (TT_1)* và 0,3 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*. Màu của dung dịch phải vàng. Để chuyển sang màu xanh, không được dùng quá 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)*.

Chỉ số khúc xạ

Từ 1,568 đến 1,574 (Phụ lục 6.1).

Halogen

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong 25 ml *dung dịch kali hydroxyd trong ethanol (TT)*, đun hồi lưu 2 h. Làm bay hơi ethanol bằng cách bốc hơi trong luồng khí nóng, thêm 20 ml *nước*, để nguội. Thêm vào hỗn hợp 40 ml *nước* và 10 ml *dung dịch hydrogen peroxyd đậm đặc (TT)*, đun sôi nhẹ trong 10 min, để nguội, lọc nhanh. Thêm 10 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)*, 5,0 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* và 2 ml *dung dịch sắt (III) amoni sulfat (TT)*, định lượng bằng *dung dịch amoni thiocyanat 0,1 N (CĐ)* cho đến màu vàng đỏ. Thực hiện song song mẫu trắng trong cùng điều kiện. Thể tích dung dịch chuẩn độ dùng cho 2 lần định lượng không được lệch nhau quá 1,0 ml.

Định lượng

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 40 ml *methanol (TT)*. Thêm 20 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* và 50,0 ml *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)*. Để yên 10 min rồi chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)*. Thực hiện song song mẫu trắng trong cùng điều kiện.

1 ml *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)* tương đương với 6,21 mg $C_3H_8OS_2$.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, đổ đầy. Tránh ánh sáng, ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.

Loại thuốc
Trị ngộ độc arsen, vàng và thủy ngân.

Chế phẩm
Thuốc tiêm.

THUỐC TIÊM DIMERCAPROL
Injectio Dimercaproli

Thuốc tiêm dimercaprol là dung dịch vô khuẩn của dimercaprol trong hỗn hợp benzyl benzoat và dầu thực vật. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng dimercaprol, $C_3H_8OS_2$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu hoặc màu vàng nhạt, có mùi khó chịu.

Định tính
Lấy một lượng chế phẩm tương ứng với 30 mg dimercaprol, lắc với hỗn hợp gồm 1 giọt *dung dịch cobalt clorid 0,5 %* và 5 ml *nước*, xuất hiện màu vàng nâu.

pH
Lắc một lượng chế phẩm với cùng một thể tích *nước* trong 2 min và để tách lớp. Lọc lớp nước qua giấy lọc trung tính, pH của dung dịch nước thu được từ 4,5 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Thử vô khuẩn
Thử theo phương pháp màng lọc (Phụ lục 13.7).

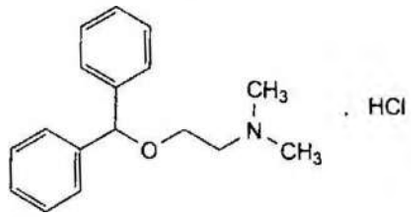
Định lượng
Cân chính xác một lượng chế phẩm tương ứng với khoảng 0,1 g dimercaprol vào một bình nón, thêm 50 ml hỗn hợp *methanol - ether* (3 : 1), lắc đều. Chuẩn độ bằng *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)* đến khi có màu vàng bền vững. Song song tiến hành mẫu trắng.
1 ml dung dịch *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)* tương đương với 6,21 mg $C_3H_8OS_2$.
Xác định khối lượng riêng (g/ml) của chế phẩm (Phụ lục 6.5) để tính hàm lượng dimercaprol ra phần trăm khối lượng/ thể tích.

Bảo quản
Trong bao bì kín, ở nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Điều trị ngộ độc kim loại nặng.

Hàm lượng thường dùng
5 g/100 ml; 10 g/100 ml.

DIPHENHYDRAMIN HYDROCLORID
Diphenhydraminum hydrochloridum



$C_{17}H_{21}NO.HCl$ P.t.l: 291,8

Diphenhydramin hydroclorid là 2-(diphenylmethoxy)-*N,N*-dimethylethanamin hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{17}H_{21}NO.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hay gần như trắng. Rất dễ tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của diphenhydramin hydroclorid chuẩn, chuẩn bị mẫu đo dạng đĩa nén.
B. Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Đo phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 230 nm đến 350 nm. Phổ thu được có 3 cực đại hấp thụ ở các bước sóng 253 nm, 258 nm và 264 nm. Tỷ số độ hấp thụ cực đại đo ở bước sóng 258 nm so với độ hấp thụ cực đại đo ở bước sóng 253 nm trong khoảng từ 1,1 đến 1,3. Tỷ số độ hấp thụ cực đại đo ở bước sóng 258 nm so với độ hấp thụ cực đại đo ở bước sóng 264 nm trong khoảng từ 1,2 đến 1,4.
C. Điểm chảy từ 168 °C đến 172 °C (Phụ lục 6.7).
D. Chế phẩm phải cho các phản ứng đặc trưng của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S và dung dịch pha loãng 5 lần từ dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2). Màu của dung dịch S không được đậm hơn màu VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid kiềm
Thêm 0,15 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)* và 0,25 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* vào 10 ml dung dịch S. Dung dịch thu được có màu hồng. Dung dịch này phải chuyển sang màu vàng khi thêm không quá 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ).*

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - dung dịch kali dihydrophosphat 0,54 % được điều chỉnh đến pH 3,0 bằng acid phosphoric (TT) (35 : 65).
Dung dịch thử: Hòa tan 70 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 10,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg tạp chất A chuẩn của diphenhydramin và 5 mg *diphenylmethanol (TT)* trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được và 1,5 ml dung dịch thử thành 10,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *base-deactivated octylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 7 lần thời gian lưu của diphenhydramin.
Thời gian lưu tương đối so với diphenhydramin (thời gian lưu khoảng 6 min): Tạp chất A khoảng 0,9; tạp chất B khoảng 1,5; tạp chất C khoảng 1,8; tạp chất D khoảng 2,6; tạp chất E khoảng 5,1.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của diphenhydramin và pic của tạp chất A ít nhất là 2,0.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất D với 0,7.
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu cần, không được lớn hơn 0,6 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 2-(diphenylmethoxy)-*N*-methylethanamin.
Tạp chất B: 2-[(*RS*)-(4-methylphenyl)phenylmethoxy]-*N,N*-dimethylethanamin.
Tạp chất C: 2-[(*RS*)-(4-bromophenyl)phenylmethoxy]-*N,N*-dimethylethanamin.
Tạp chất D: diphenylmethanol (benzhydrol).
Tạp chất E: diphenylmethanon (benzophenon).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 50 ml *ethanol 96 % (TT)* và thêm 5,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Đọc thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* thêm vào giữa hai điểm uốn.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 29,18 mg $C_{17}H_{22}ClNO$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng histamin, chất đối kháng thụ thể histamin H_1.

Chế phẩm
Viên nén, nang, thuốc tiêm, kem bôi, dung dịch uống.

DUNG DỊCH THUỐC DIPHENHYDRAMIN
Solutio Diphenhydramini

Là dung dịch thuốc uống chứa diphenhydramin hydroclorid, có thể chứa các chất tạo màu và mùi vị phù hợp.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Dung dịch thuốc" (Phụ lục 1.3) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng diphenhydramin hydroclorid, $C_{17}H_{21}NO.HCl$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G.*
Dung môi khai triển: Ethanol 96 % - acid acetic băng - nước (50 : 30 : 20)
Dung dịch thử: Acid hóa một thể tích dung dịch thuốc tương ứng 50 mg diphenhydramin hydroclorid bằng *dung dịch acid hydrochloric 2 M (TT)*, lắc 3 lần, mỗi lần với 20 ml *ether (TT)*, bỏ lớp ether, chiết lớp nước 2 lần, mỗi lần với 20 ml *cloroform (TT)*. Lắc dịch chiết cloroform thu được với *natri sulfat khan (TT)*. Lọc, bốc hơi dịch lọc đến khô. Hòa tan cắn đã để nguội trong 5 ml *cloroform (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Chứa 1 % diphenhydramin hydroclorid chuẩn trong *cloroform (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 5 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và phun *dung dịch kali iodobismuthat (TT)* (Thuốc thử Dragendorff). Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí và màu sắc.

B. Bốc hơi 1 ml dung dịch thử ở phép thử A, hòa tan cắn trong 0,15 ml *nước*, thêm 2 ml *acid sulfuric (TT)*, màu vàng được tạo thành. Thêm 0,5 ml *acid nitric (TT)*, màu chuyển thành đỏ. Thêm 15 ml *nước*, để nguội, thêm 5 ml *cloroform (TT)*, lắc và để yên cho tách lớp, lớp cloroform có màu tím.

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel H.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol (80 : 20)

Dung dịch thử: Sử dụng dung dịch thử ở phép thử A ở mục Định tính.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng *cloroform (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 5 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Để khô bản mỏng và triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô bản mỏng ngoài không khí và phun *dung dịch kali iodobismuthat (TT)*. Bất kỳ vết phụ nào ngoài vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải không được đậm màu hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - nước - triethylamin (50 : 50 : 0,5), điều chỉnh bằng *acid acetic băng (TT)* đến pH 6,5. Có thể điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.

Dung dịch thử: Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương đương với khoảng 50 mg diphenhydramin hydroclorid vào bình định mức 100 ml, pha loãng với *nước* đến vạch và lắc đều.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng cân chính xác diphenhydramin hydroclorid chuẩn trong *nước* để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,5 mg/ml.

Dung dịch phân giải: Hòa tan khoảng 5 mg benzophenon trong 5 ml *acetonitril (TT)*, pha loãng với *nước* thành 100 ml và lắc đều. Lấy 1,0 ml dung dịch này và 5 mg diphenhydramin hydroclorid chuẩn vào bình định mức 10 ml, thêm *nước* đến vạch, lắc đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *silica gel được biến đổi hóa học gắn với nhóm cyano* (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiêm dung dịch phân giải. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic benzophenon và pic diphenhydramin không nhỏ hơn 2. Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic diphenhydramin đáp ứng từ các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %. Hệ số đối xứng của pic diphenhydramin không được lớn hơn 2,0.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử, tính hàm lượng của diphenhydramin hydroclorid, $C_{17}H_{21}NO.HCl$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{17}H_{21}NO.HCl$ trong diphenhydramin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc kháng histamin.

Hàm lượng thường dùng

12,5 mg/5 ml.

VIÊN NÉN DIPHENHYDRAMIN

Tabellae Diphenhydramini

Là viên nén chứa diphenhydramin hydroclorid.

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

Hàm lượng diphenhydramin hydroclorid, $C_{17}H_{21}NO.HCl$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

A. Lấy một lượng bột viên tương đương với 50 mg diphenhydramin hydroclorid, chiết bằng *cloroform (TT)* 2 lần, mỗi lần 10 ml. Lọc dịch chiết, bốc hơi dịch lọc đến cắn, lấy khoảng 5 mg cắn hòa tan trong 0,15 ml *nước*, thêm 2 ml *acid sulfuric (TT)*, màu vàng được tạo thành. Thêm 0,5 ml *acid nitric (TT)*, màu chuyển thành đỏ. Thêm 15 ml *nước*, để nguội, thêm 5 ml *cloroform (TT)*, lắc và để yên cho tách lớp, lớp cloroform có màu tím.

B. Trong mục Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel H.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - diethylamin (80 : 20 : 1)

Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên tương ứng với 100 mg diphenhydramin hydroclorid, chiết 3 lần, mỗi lần 10 ml *cloroform (TT)*. Gộp và lọc dịch chiết, để bay hơi dịch chiết đến gần khô. Hòa tan cắn trong 5 ml *cloroform (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng *cloroform (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 5 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí 5 min, phun lên bản mỏng *acid sulfuric (TT)* và sấy ở 120 °C trong 10 min hoặc đến khi xuất hiện các vết. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được có vết phụ nào đậm hơn vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %).

Độ hòa tan

Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 500 ml *nước*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch diphenhydramin hydroclorid chuẩn trong *nước* có nồng độ tương đương nồng độ diphenhydramin hydroclorid của dung dịch thử.
Xác định hàm lượng diphenhydramin hydroclorid hòa tan bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Sử dụng pha động và các điều kiện sắc ký như ở phần Định lượng, thể tích tiêm là 50 µl.
Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % (Q) lượng diphenhydramin hydroclorid, $C_{17}H_{21}NO.HCl$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - nước - triethylamin (50 : 50 : 0,5), điều chỉnh bằng *acid acetic băng (TT)* đến pH 6,5. Có thể điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân một lượng bột viên tương đương với 50 mg diphenhydramin hydroclorid, hòa tan bằng *nước* và thêm *nước* vừa đủ 100,0 ml, lọc.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng cân chính xác diphenhydramin hydroclorid chuẩn trong *nước* để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,5 mg/ml.
Dung dịch phân giải: Hòa tan khoảng 5 mg benzophenon trong 5 ml *acetonitril (TT)*, pha loãng với *nước* thành 100 ml và lắc đều. Lấy 1,0 ml dung dịch này và 5 mg diphenhydramin hydroclorid chuẩn vào bình định mức 10 ml, thêm *nước* đến vạch, lắc đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) nhồi pha tĩnh *silica gel được biến đổi hóa học gắn với nhóm cyano* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiêm dung dịch phân giải. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic benzophenon và pic diphenhydramin không nhỏ hơn 2. Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic diphenhydramin từ các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %. Hệ số đối xứng của pic diphenhydramin không được lớn hơn 2,0.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử, tính hàm lượng của diphenhydramin hydroclorid, $C_{17}H_{21}NO.HCl$, trong viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{17}H_{21}NO.HCl$ trong diphenhydramin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín.

Loại thuốc

Thuốc kháng histamin.

Hàm lượng thường dùng

25 mg; 50 mg.

DỊCH TRUYỀN RINGER - LACTAT

Infusio Ringer-Lactate

Là dung dịch vô trùng để truyền tĩnh mạch có chứa: 0,027 % calci clorid, 0,04 % kali clorid, 0,6 % natri clorid và 0,32 % natri lactat trong nước để pha thuốc tiêm.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng natri, Na, từ 0,27 % đến 0,32 %.

Hàm lượng kali, K, từ 0,019 % đến 0,022 %.

Hàm lượng clorid toàn phần, Cl, từ 0,37 % đến 0,42 %.

Hàm lượng calci clorid dihydrat, $CaCl_2.2H_2O$, từ 0,025 % đến 0,029 %.

Hàm lượng lactat, $C_3H_6O_3$, từ 0,23 % đến 0,28 %.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu.

Định tính

A. Làm ấm chế phẩm cùng với *kali permanganat (TT)*, tạo thành acetaldehyd (định tính lactat).
B. Trong phần Định lượng lactat, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
C. Định tính natri và kali: Dùng một dây bạch kim, lấy một ít cắn thu được sau khi bốc hơi dung dịch chế phẩm, đưa vào ngọn lửa khí đốt hay đèn cồn, ngọn lửa sẽ nhuộm màu vàng. Khi quan sát ngọn lửa qua kính màu xanh lam thì ngọn lửa nhuộm màu đỏ tía.
D. Dung dịch chế phẩm phải cho phản ứng (B) của ion calci (Phụ lục 8.1).
E. Dung dịch chế phẩm phải cho phản ứng (A) của ion clorid (Phụ lục 8.1).

pH
Từ 5,0 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).

Nội độc tố vi khuẩn
Không quá 0,25 EU/ml.
Tiến hành theo chuyên luận "Phép thử nội độc tố vi khuẩn" (Phụ lục 13.2).

Định lượng calci clorid dihydrat
Lấy chính xác 50,0 ml dung dịch chế phẩm vào bình nón dung tích 250 ml, thêm 5,0 ml *dung dịch magnesi sulfat 0,01 M (CĐ)* và 5 ml *đệm amoniac pH 10,9*, lắc đều. Chuẩn độ bằng *dung dịch Trilon B 0,01 M (CĐ)*, sử dụng *dung dịch đen eriocrom T (TT)* làm chỉ thị.
Tính kết quả từ hiệu thể tích *dung dịch Trilon B 0,01 M (CĐ)* và thể tích *dung dịch magnesi sulfat 0,01 M (CĐ)* đã thêm vào.
1 ml *dung dịch Trilon B 0,01 M (CĐ)* tương ứng với 1,470 mg $CaCl_2.2H_2O$

Định lượng kali
Phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử (Phụ lục 4.4, Phương pháp 1).
Dung dịch chuẩn: Tiến hành pha loãng dung dịch chuẩn kali nồng độ 600 phần triệu từng bước bằng *nước trao đổi ion (TT)* để thu được dung dịch chuẩn kali có nồng độ thích hợp.
Dung dịch thử: Tiến hành pha loãng dung dịch chế phẩm, từng bước bằng *nước trao đổi ion (TT)*, để thu được dung dịch có nồng độ kali thích hợp.
Cách tiến hành:
Tiến hành đo cường độ phát xạ của dung dịch chuẩn và dung dịch thử bằng phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử (Phụ lục 4.4), tại bước sóng 766,5 nm.

Định lượng natri
Phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử (Phụ lục 4.4, Phương pháp 1).
Dung dịch chuẩn: Tiến hành pha loãng dung dịch chuẩn natri nồng độ 200 phần triệu từng bước bằng *nước trao đổi ion (TT)* để thu được dung dịch chuẩn natri có nồng độ thích hợp.
Dung dịch thử: Tiến hành pha loãng dung dịch chế phẩm từng bước bằng *nước trao đổi ion (TT)*, để thu được dung dịch có nồng độ natri thích hợp.
Cách tiến hành:
Tiến hành đo cường độ phát xạ của dung dịch chuẩn và thử bằng phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử (Phụ lục 4.4), tại bước sóng 589,0 nm.

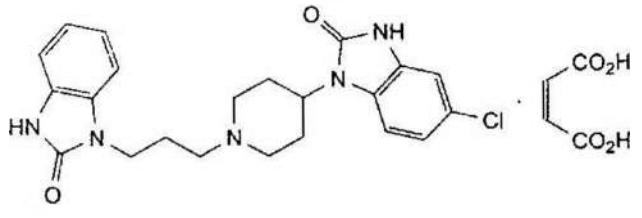
Định lượng tổng clorid
Lấy chính xác 20,0 ml dung dịch chế phẩm vào bình nón dung tích 250 ml, thêm 30 ml *nước*, thêm 50,0 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* và 2 ml *acid nitric (TT)*, lắc kỹ. Lọc, rửa tủa bằng *nước* đã được acid hóa bằng *acid nitric (TT)*. Gộp dịch lọc và dịch rửa, định lượng dung dịch bạc nitrat dư bằng *dung dịch amoni thiocyanat 0,1 N (CĐ)*, chỉ thị là *dung dịch sắt (III) amoni sulfat 10 % (TT)*.
1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 3,545 mg Cl.

Định lượng lactat
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hỗn hợp *nước* và *dung dịch octylamin 2 % (tt/tt) trong acetonitril* (90 : 10), điều chỉnh hỗn hợp đến pH 7,0 bằng *dung dịch acid phosphoric 10 % (TT)*.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch lithi lactat 0,28 % pha trong pha động.
Dung dịch thử: Sử dụng dung dịch chế phẩm không pha loãng.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm đến 10 µm), cột Nucleosil C18 là thích hợp.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính nồng độ phần trăm lactat, $C_3H_6O_3$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_3H_6O_3$ trong lithi lactat chuẩn.

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

Loại thuốc
Dịch truyền bù nước và điện giải, cân bằng toan - kiềm.

DOMPERIDON MALEAT
Domperidoni maleas



$C_{22}H_{24}ClN_5O_2.C_4H_4O_4$ P.t.l: 542,0

Domperidon maleat là 5-cloro-1-[1-[3-(2-oxo-2,3-dihydro-1*H*-benzimidazol-1-yl)propyl]piperidin-4-yl]-1,3-dihydro-2*H*-benzimidazol-2-onhydro(z)-buten-dioat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{22}H_{24}ClN_5O_2.C_4H_4O_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột đa hình màu trắng hay gần như trắng. Hơi tan trong dimethylformamid, khó tan trong methanol, rất khó tan trong nước và ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của domperidon maleat chuẩn.

Nếu hai phổ có sự khác nhau thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và chất chuẩn trong thể tích tối thiểu *isopropanol (TT)*, bốc hơi đến khô trên cách thủy, lấy các cắn ghi lại phổ.

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

Bản mỏng: Octadecylsilyl silica gel.

Dung môi khai triển: Dung dịch amoni acetat - dioxan - methanol (20 : 40 : 40).

Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg domperidon maleat chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 20 mg domperidon maleat chuẩn và 20 mg droperidol chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Làm khô bản mỏng bằng luồng khí nóng khoảng 15 min và đặt bản mỏng vào bình bão hòa hơi iod đến khi hiện vết. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí và kích thước với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (2) cho hai vết tách hoàn toàn.

C. Trộn 0,1 g chế phẩm với hỗn hợp gồm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 40 % (TT)* và 3 ml *nước*, lắc 3 lần, mỗi lần với 5 ml *ether (TT)*. Bỏ lớp ether. Lấy 0,1 ml lớp nước, thêm dung dịch gồm 10 mg *resorcinol (TT)* hòa tan trong 3 ml *acid sulfuric (TT)*, đun nóng trên cách thủy 15 min, dung dịch không được có màu. Lấy lớp nước còn lại ở trên, thêm 2 ml *nước brom (TT)*, đun nóng trên cách thủy 15 min và sau đó đun đến sôi, làm nguội. Lấy 0,1 ml dung dịch thu được, thêm dung dịch gồm 10 mg *resorcinol (TT)* hòa tan trong 3 ml *acid sulfuric (TT)*, đun nóng trên cách thủy 15 min, màu tím xuất hiện.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong *dimethylformamid (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn màu mẫu V_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp *methanol* và *dung dịch amoni acetat 0,5 %* (3 : 7), chuyển thành *methanol* bằng gradient tuyến tính trong 10 min, tiếp theo rửa giải bằng *methanol (TT)* trong 2 min.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *dimethylformamid (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *dimethylformamid (TT)*. Pha loãng tiếp 5,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng *dimethylformamid (TT)*.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 10,0 mg domperidon maleat chuẩn và 15,0 mg droperidol chuẩn trong *dimethylformamid (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi *base-deactivated octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (3 µm).

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 280 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Cân bằng cột bằng *methanol (TT)* ít nhất 30 min, sau đó bằng thành phần pha động ban đầu ít nhất 5 min.

Tiến hành sắc ký dung dịch đối chiếu, điều chỉnh độ nhạy của hệ thống để chiều cao của pic chính ít nhất bằng 50 % thang đo.

Tiến hành sắc ký dung dịch phân giải, thời gian lưu của domperidon maleat khoảng 6,5 min và của droperidol khoảng 7 min. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic domperidon maleat và pic droperidol ít nhất là 2,0. Nếu cần, điều chỉnh nồng độ methanol của pha động hay chương trình thời gian cho gradient tuyến tính.

Tiến hành sắc ký với mẫu trắng là dimethylformamid, dung dịch thử và dung dịch đối chiếu.

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

Diện tích của bất kỳ pic phụ nào không được lớn hơn diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,25 %).

Tổng diện tích của các pic phụ, không được lớn hơn 2 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %).

Bỏ qua các pic thu được với mẫu trắng, pic acid maleic ở đầu sắc ký đồ và các pic có diện tích nhỏ hơn 0,2 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 4. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong 50 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* đến khi màu chuyển từ vàng cam sang xanh lá, dùng 0,2 ml *dung dịch naphtholbenzein (TT)* làm chỉ thị.

1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 54,20 mg $C_{22}H_{24}ClN_5O_2.C_4H_4O_4$.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống nôn, đối kháng dopamin.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN DOMPERIDON
Tabellae Domperidoni

Là viên nén chứa domperidon maleat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng domperidon, $C_{22}H_{24}ClN_5O_2$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung dịch natri acetat pH 4,7: Hòa tan 1,36 g *natri acetat (TT)* trong 50 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 4,7 bằng *acid acetic loãng (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml.
Dung môi khai triển: Dung dịch natri acetat pH 4,7 - methanol - dicloromethan - ethyl acetat (5 : 18 : 23 : 54).
Dung dịch thử: Lắc kỹ một lượng bột viên tương đương khoảng 10 mg domperidon với 10 ml hỗn hợp đồng thể tích *dicloromethan (TT)* và *methanol (TT)*, lọc qua phễu lọc thủy tinh (Whatman GF/C là thích hợp).
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch domperidon maleat chuẩn 0,127 % trong hỗn hợp đồng thể tích *dicloromethan (TT)* và *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm, sau đó phun *dung dịch kali iodobismuthat (TT)* và quan sát. Trong cả hai lần quan sát, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic domperidon maleat trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng tới nồng độ thích hợp với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* (nếu cần). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 286 nm, cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng. So sánh với dung dịch domperidon maleat chuẩn 0,001 % pha trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tính hàm lượng domperidon, $C_{22}H_{24}ClN_5O_2$, đã hòa tan trong mỗi viên từ độ hấp thụ đo được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng domperidon, $C_{22}H_{24}ClN_5O_2$, trong domperidon maleat chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng domperidon, $C_{22}H_{24}ClN_5O_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)
Pha động: Nước - acetonitril - acid acetic băng - triethylamin (500 : 500 : 5 : 5).
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 63,5 mg domperidon maleat chuẩn vào bình định mức dung tích 100 ml, hòa tan và pha loãng với pha động đến vạch. Lắc đều. Lấy chính xác 5 ml dung dịch trên cho vào bình định mức dung tích 50 ml và pha loãng với pha động đến vạch, lắc đều.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương đương với khoảng 25 mg domperidon vào bình định mức dung tích 50 ml, hòa tan và pha loãng với pha động đến vạch. Lắc đều, lọc. Lấy chính xác 5,0 ml dịch lọc trên cho vào bình định mức dung tích 50 ml và pha loãng với pha động đến vạch, lắc đều, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột: 40 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic domperidon giữa các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch thử và dung dịch chuẩn.
Tính hàm lượng domperidon, $C_{22}H_{24}ClN_5O_2$, dựa vào diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{22}H_{24}ClN_5O_2$ trong domperidon maleat chuẩn.
1 mg domperidon maleat tương ứng với 0,7858 mg domperidon.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

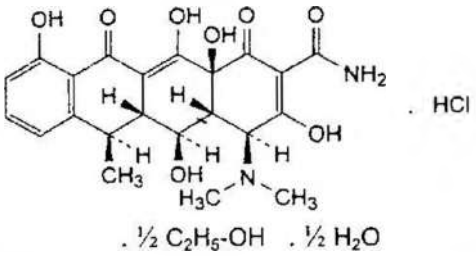
Loại thuốc
Thuốc chống nôn.

Hàm lượng thường dùng
10 mg.

DOXYCYCLIN HYDROCLORID

Doxycyclini hydrochloridum

Doxycyclin hyclat



. ½ C_2H_5-OH . ½ H_2O

$C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl.½C_2H_6O.½H_2O$ P.t.l: 512,9

Doxycyclin hydroclorid là *(4S,4aR,5S,5aR,6R,12aS)*-4-(dimethylamino)-3,5,10,12,12a-pentahydroxy-6-methyl-1,11-dioxo-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahydrotetracen-2-carboxamid hydroclorid hemiethanol hemihydrat, bán tổng hợp từ oxytetracyclin hoặc metacyclin, hoặc bằng các phương pháp khác. Chế phẩm phải chứa từ 95,0 % đến 102,0 % $C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$, tính theo chế phẩm khan và không có ethanol.

Tính chất

Bột kết tinh màu vàng, hút ẩm. Dễ tan trong nước và trong methanol, hơi tan trong ethanol 96 %, tan trong dung dịch kiềm hydroxyd và carbonat.

Định tính

A. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

B. Thêm 5 ml *acid sulfuric (TT)* vào khoảng 2 mg chế phẩm, màu vàng tạo thành.

C. Chế phẩm cho phản ứng (A) của ion clorid (Phụ lục 8.1).

pH

Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. pH của dung dịch thu được phải từ 2,0 đến 3,0 (Phụ lục 6.2)

Góc quay cực riêng

Từ -105° đến -120°, tính theo chế phẩm khan và không có ethanol (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong hỗn hợp *dung dịch acid hydrocloric 1 M - methanol* (1 : 99) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi. Đo góc quay cực trong vòng 5 min kể từ khi pha dung dịch.

Độ hấp thụ riêng

Độ hấp thụ riêng tại bước sóng 349 nm phải từ 300 đến 335, tính theo chế phẩm khan và không có ethanol (Phụ lục 4.1).

Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong trong hỗn hợp *dung dịch acid hydrocloric 1 M - methanol* (1 : 99) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với hỗn hợp *dung dịch acid hydroclorid 1 M - methanol* (1 : 99). Đo độ hấp thụ trong vòng 1 h kể từ khi pha dung dịch.

Tạp chất hấp thụ ánh sáng

Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong hỗn hợp *dung dịch acid hydrocloric 1 M - methanol* (1 : 99) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi. Đo độ hấp thụ của dung dịch trong vòng 1 h kể từ khi pha dung dịch, tại bước sóng 490 nm (Phụ lục 4.1). Độ hấp thụ không được lớn hơn 0,07 (tính theo chế phẩm khan và không có ethanol).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Cân 60,0 g *tertbutanol (TT)*, chuyển vào bình định mức dung tích 1000 ml với 200 ml *nước*. Thêm 400 ml *dung dịch đệm phosphat pH 8,0 (TT)*, 50 ml *dung dịch tetrabutylamoni hydrosulfat 1 %* đã được điều chỉnh đến pH 8,0 với *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)* và 10 ml *dung dịch natri edetat 4 %* đã được điều chỉnh pH đến 8,0 với *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*. Thêm *nước* vừa đủ 1000,0 ml.

Dung dịch thử: Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20,0 mg doxycyclin hydroclorid chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 20,0 mg 6-epidoxycylin hydroclorid chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 20,0 mg metacyclin hydroclorid chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Trộn 4,0 ml dung dịch đối chiếu (1); 1,5 ml dung dịch đối chiếu (2) và 1,0 ml dung dịch đối chiếu (3), pha loãng thành 25,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (5): Trộn 2,0 ml dung dịch đối chiếu (2) và 2,0 ml dung dịch đối chiếu (3), pha loãng thành 100,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *styren-divinylbenzen copolymer* (8 µm).

Nhiệt độ cột: 60 °C.

Detector quang phổ tử ngoại tại bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (4) và dung dịch đối chiếu (5).

Thời gian lưu tương đối so với doxycyclin: Tạp chất E khoảng 0,2; tạp chất D khoảng 0,3; tạp chất C khoảng 0,5 và tạp chất F khoảng 1,2.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4), độ phân giải giữa các pic của tạp chất B (metacyclin, pic thứ nhất) và tạp chất A (6-epidoxycyclin, pic thứ hai) ít nhất là 1,25; độ phân giải giữa pic của tạp chất A và của doxycylin (pic thứ ba) ít nhất là 2,0 (điều chỉnh nồng độ của tert-butanol trong pha động nếu cần). Hệ số đối xứng của pic doxycyclin không được lớn hơn 1,25.

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

Diện tích pic của tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic của tạp chất A trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5) (2,0 %)

Diện tích pic của tạp chất B không được lớn hơn diện tích pic của tạp chất B trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5) (2,0 %).

Diện tích các pic phụ khác không được lớn hơn 0,25 lần diện tích pic của tạp chất A trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5) (0,5 %).

Bỏ qua các pic phụ có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic của tạp chất A trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5) (0,1 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: (4*S*,4a*R*,5*S*,5a*R*,6*S*,12a*S*)-4-(dimethylamino)-3,5,10,12,12a-pentahydroxy-6-methyl-1,11 dioxo-1,4,4a,5,5a, 6,11,12a-octahydrotetracen-2-carboxamid (6-epidoxycyclin).

Tạp chất B: (4*S*,4a*R*,5*S*,5a*R*,12a*S*)-4-(dimethylamino)-3,5,10,12,12a-pentahydroxy-6-methylen-1,11-dioxo-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahydrotetracen-2-carboxamid (metacyclin).

Tạp chất C: (4*R*,4a*R*,5*S*,5a*R*,6*R*,12a*S*)-4-(dimethylamino)-3,5,10,12,12a-pentahydroxy-6-methyl-1,11-dioxo 1,4,4a, 5,5a, 6,11,12a-octahydrotetracen-2-carboxamid (4-epidoxycyclin).

Tạp chất D: (4*R*,4a*R*,5*S*,5a*R*,6*S*,12a*S*)-4-(dimethylamino)-3,5,10,12,12a-pentahydroxy-6-methyl-1,11-dioxo-1,4,4a, 5,5a,6,11,12a-octahydrotetracen-2-carboxamid(4-epi-6-epidoxycyclin).

Tạp chất E: Oxytetracyclin.

Tạp chất F: (4*S*,4a*R*,5*S*,5a*R*,6*R*,12a*S*)-2-acetyl-4-(dimethyl amino)-3,5,10,12,12a-pentahydroxy-6-methyl4a,5a,6,12a-tetrahydrotetracen-1,11(4*H*,5*H*)-dion (2-acetyl- 2-decarbamoyl-doxycyclin).

Ethanol

Phải từ 4,3 % đến 6,0 %.

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch chuẩn nội: Pha loãng 0,50 ml *propanol (TT)* thành 1000,0 ml với *nước*.

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong dung dịch chuẩn nội và pha loãng thành 10,0 ml với dung dịch chuẩn nội.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 0,50 ml *ethanol (TT)* thành 100,0 ml với dung dịch chuẩn nội. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml với dung dịch chuẩn nội.

Điều kiện sắc ký:

Cột sắc ký với chiều dài 1,5 m và đường kính 4,0 mm được nhồi pha tĩnh *ethylvinylbenzen-divinylbenzen copolymer* (150 µm đến 180 µm).

Khí mang: *Nitrogen dùng cho sắc ký khí.*

Tốc độ dòng: 60 ml/min.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Nhiệt độ: Cột ở 135 °C, buồng tiêm và detector ở 150 °C.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch thử (1), (2) và dung dịch đối chiếu.

Tính hàm lượng ethanol dựa vào tỷ số diện tích pic đáp ứng của ethanol và pic của chuẩn nội trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu.

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

Kim loại nặng

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

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

Nước

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

Dùng 1,20 g chế phẩm.

Tro sulphat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn

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

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.

Tiến hành sắc ký dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1). Tính hàm lượng doxycyclin dựa vào các diện tích pic của doxycyclin thu được.

Khối lượng phân tử của $C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$ là 480,9.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng. Nếu chế phẩm vô khuẩn, bảo quản trong bao bì vô khuẩn, bảo đảm và kín.

Nhãn

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

Loại thuốc

Kháng sinh.

Chế phẩm

Nang.

NANG DOXYCYCLIN
Capsulae Doxycyclini

Là nang cứng chứa doxycyclin hydroclorid (doxycyclin hyclat).
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

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

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel H. Sau khi tráng bản mỏng, phun đều lên lớp mỏng *dung dịch natri edetat 10 %* đã chỉnh đến pH 9,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)* (khoảng 10 ml cho một bản 100 × 200 mm). Để khô ở vị trí nằm ngang trong ít nhất 1 h. Trước khi sử dụng, hoạt hóa bản mỏng ở 110 °C trong 1 h.
Dung môi khai triển: Nước - methanol - dicloromethan (6 : 35 : 59).
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột thuốc tương ứng 50 mg doxycyclin với 100 ml *methanol (TT)* trong 1 min đến 2 min, ly tâm lấy phần dung dịch trong ở trên.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan một lượng doxycyclin hydroclorid chuẩn tương ứng với 50 mg doxycyclin trong 100 ml *methanol (TT).*
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 50 mg tetracyclin hydroclorid chuẩn và 50 mg doxycyclin hydroclorid trong 100 ml *methanol (TT).*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 1 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Sau khi triển khai dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí, màu sắc và kích thước. Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách biệt rõ rệt .
B. Lấy một lượng bột thuốc tương ứng với 0,5 mg doxycyclin, thêm 2 ml *acid sulfuric (TT)*, màu vàng tạo thành.
C. Lấy một lượng bột thuốc tương ứng với 10 mg doxycyclin, lắc kỹ với 10 ml *nước*, lọc, dịch lọc cho phản ứng đặc trưng của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành: Lấy một phần dịch môi trường, lọc và pha loãng, nếu cần, với *nước*. Đo độ hấp thụ của dung dịch ở bước sóng cực đại 276 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *nước*. Tiến hành so sánh với dung dịch doxycyclin hydroclorid chuẩn trong *nước* có nồng độ tương đương. Tính hàm lượng của doxycyclin, $C_{22}H_{24}N_2O_8$, đã hòa tan dựa vào hàm lượng của doxycyclin trong doxycyclin hydroclorid chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng doxycyclin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Nước
Không được quá 8,5 % (Phụ lục 10.3).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)
Pha động: Chuyển 2,72 g *kali dihydrophosphat (TT)*, 0,74 g *natri hydroxyd (TT)*, 0,5 g *tetrabutylamoni hydrosulfat (TT)* và 0,4 g *natri edetat (TT)* vào bình định mức dung tích 1000 ml. Thêm khoảng 850 ml *nước* và lắc kỹ để hòa tan. Thêm 60 g *tert-butanol (TT)*, lắc trộn đều. Thêm *nước* vừa đủ đến vạch, và điều chỉnh tới pH 8,0 ± 0,1 bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*. Lọc qua màng lọc 0,5 µm. Điều chỉnh tỷ lệ pha động nếu cần. Giảm nồng độ *tert-butanol (TT)* để có thời gian lưu của doxycyclin dài hơn và cải thiện sự tách biệt của doxycyclin với các tạp chất liên quan khác.
Dung môi pha loãng: Dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT).
Dung dịch chuẩn: Chuyển khoảng 60 mg doxycyclin hydroclorid chuẩn, cân chính xác, vào bình định mức dung tích 50 ml, thêm 30 ml dung môi pha loãng, lắc siêu âm cho tới khi hòa tan hoàn toàn (khoảng 5 min), thêm dung môi pha loãng tới vạch và trộn đều.
Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang, trộn đều. Cân chính xác một lượng bột tương ứng với khoảng 0,12 g doxycyclin hydroclorid chuyển vào bình định mức dung tích 100 ml. Thêm khoảng 75 ml dung môi pha loãng, trộn đều và lắc siêu âm trong khoảng 5 min, sau đó tiếp tục lắc cơ học trong 15 min. Để nguội, thêm dung môi pha loãng vừa đủ đến vạch và trộn đều. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu.
Dung dịch phân giải: Chuẩn bị dung dịch doxycyclin hydroclorid chuẩn trong dung môi pha loãng để được dung dịch có chứa 6 mg doxycyclin trong 1 ml. Chuyển 5 ml dung dịch này vào bình định mức dung tích 25 ml, đun nóng trên nồi cách thủy trong 60 min và làm bay hơi tới khô trên một đĩa nóng, chú ý tránh để cắn cháy thành than. Hòa tan cắn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*, pha loãng với dung môi pha loãng tới vạch và trộn, lọc dung dịch qua màng lọc 0,5 µm hoặc kích thước nhỏ hơn. Sử dụng dung dịch này làm dung dịch phân giải. Dung dịch này có chứa hỗn hợp của 4-epidoxycyclin, 6-epidoxycyclin và doxycyclin. Nếu bảo quản trong tủ lạnh, dung dịch này có thể sử dụng trong vòng 14 ngày.
Chú ý: Bảo vệ các dung dịch chuẩn và thử khỏi tác động của ánh sáng.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (250 × 4,6 mm) nhồi pha tĩnh *styren-divinylbenzen copolymer* (5 - 10 µm).
Nhiệt độ cột: 60 ± 1 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 270 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, thời gian lưu tương đối của 4-epidoxycyclin (sản phẩm phân hủy chính) là 0,4; 6-epidoxycyclin là 0,7 và doxycyclin là 1,0. Độ phân giải giữa pic 4-epidoxycyclin và pic doxycyclin không nhỏ hơn 3,0 và hệ số đối xứng cho pic doxycyclin là không quá 2,0. Tiến hành sắc ký 6 lần với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic doxycyclin không quá 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Ghi lại sắc ký đồ trong khoảng thời gian bằng 1,7 lần thời gian lưu của doxycyclin và xác định diện tích các pic chính.
Tính hàm lượng doxycyclin, $C_{22}H_{24}N_2O_8$, có trong viên dựa vào diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng doxycyclin, $C_{22}H_{24}N_2O_8$, trong doxycyclin hydroclorid chuẩn.

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

Loại thuốc
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
100 mg.

ĐỒNG SULFAT
Cupri sulfas

$CuSO_4.5H_2O$ P.t.l: 249,7

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

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

Định tính
A. Thêm vài giọt *dung dịch amoniac 2 M (TT)* vào 1 ml dung dịch S (xem Độ trong của dung dịch), tủa màu xanh lam tạo thành. Tủa này tan khi cho thêm *dung dịch amoniac 2 M (TT)* và dung dịch có màu xanh lam đậm.
B. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Mất khối lượng do làm khô.
C. Pha loãng 1 ml dung dịch S thành 5 ml bằng *nước*, thêm 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và vài giọt *dung dịch bari clorid 5 % (TT)*, tủa trắng xuất hiện.

Độ trong của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 5 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2).

Clorid
Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.4.5).
Pha loãng 10 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử. Quan sát dọc theo ống nghiệm trên nền đen.

Sắt
Không được quá 0,01 %.
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 10 ml *nước*, thêm 2,5 ml *acid nitric không có chì (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch chuẩn: Pha các dung dịch chuẩn bằng cách dùng *dung dịch sắt mẫu 20 phần triệu Fe (TT)*, thêm 2,5 ml *acid nitric không có chì (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml bằng *nước*.
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 248,3 nm, dùng đèn cathod rỗng sắt làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - butan.

Chì
Không được quá 50 phần triệu.
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong 10,0 ml *nước*, thêm 2,5 ml *acid nitric không có chì (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch chuẩn: Pha các dung dịch chuẩn bằng cách dùng *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb (TT)*, thêm 2,5 ml *acid nitric không có chì (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml bằng *nước*.
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 217,0 nm, dùng đèn cathod rỗng chì làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - butan.

Mất khối lượng do làm khô
Từ 35,0 % đến 36,5 % (Phụ lục 9.6).
(0,500 g; 250 °C).

Định lượng
Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 50 ml *nước*, thêm 2 ml *acid sulfuric đậm đặc (TT)* và 3 g *kali iodid (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)*, chỉ thị là 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* cho vào cuối phép chuẩn độ. 1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 24,97 mg $CuSO_4.5H_2O$.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín.

ĐỒNG SULFAT KHAN
Cupri sulfas anhydricus

$CuSO_4$ P.t.l: 159,6

Chế phẩm phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $CuSO_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột màu xám xanh, rất hút ẩm.
Dễ tan trong nước, khó tan trong methanol, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Định tính
A. Thêm vài giọt *dung dịch amoniac 2 M (TT)* vào 1 ml dung dịch S (xem Độ trong của dung dịch), tủa màu xanh lam tạo thành. Tủa này tan khi cho thêm *dung dịch amoniac 2 M (TT)* và dung dịch có màu xanh lam đậm.
B. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Mất khối lượng do làm khô.
C. Pha loãng 1 ml dung dịch S thành 5 ml bằng *nước*, thêm 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và vài giọt *dung dịch bari clorid 5 % (TT)*, tủa trắng xuất hiện.

Độ trong của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 1,6 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50 ml bằng *nước*.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2).

Clorid
Không được quá 0,015 % (Phụ lục 9.4.5).
Pha loãng 10 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử. Quan sát dọc theo ống nghiệm trên nền đen.

Sắt
Không được quá 0,015 %.
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,32 g chế phẩm trong 10 ml *nước*, thêm 2,5 ml *acid nitric không có chì (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch chuẩn: Pha các dung dịch chuẩn bằng cách dùng *dung dịch sắt chuẩn 20 phần triệu Fe (TT)*, thêm 2,5 ml *acid nitric không có chì (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml bằng *nước*.
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 248,3 nm, dùng đèn cathod rỗng sắt làm nguồn bức xạ và ngọn lửa acetylen - không khí nén.

Chì
Không được quá 80 phần triệu.
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1). Tiến hành theo một trong hai phương pháp dưới đây.
Phương pháp 1
Dung dịch thử: Hòa tan 1,6 g chế phẩm trong 10 ml *nước*, thêm 2,5 ml *acid nitric không có chì (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch chuẩn: Pha các dung dịch chuẩn bằng cách dùng *dung dịch chì chuẩn 100 phần triệu Pb (TT)*, thêm 2,5 ml *acid nitric không có chì (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml bằng *nước*.
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 217,0 nm, dùng đèn cathod rỗng chì làm nguồn bức xạ và ngọn lửa acetylen - không khí nén.

Phương pháp 2
Dung dịch thử: Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 10 ml dung dịch acid nitric 1 % [được chuẩn bị bằng cách pha loãng *acid nitric không có chì (TT)* trong nước khử ion] và pha loãng thành 25 ml bằng cùng dung môi.
Dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch chì chuẩn 1000 phần triệu Pb (TT)* bằng dung dịch acid nitric 1 % để thu được các dung dịch chì chuẩn có nồng độ lần lượt là 1, 2, 4 phần triệu. Sử dụng các dung dịch này để xây dựng đường chuẩn.
Đo độ hấp thụ ở bước sóng bước sóng 217,0 nm trên thiết bị quang phổ hấp thụ nguyên tử được trang bị đèn cathod rỗng chì làm nguồn bức xạ và ngọn lửa acetylen - không khí nén. Tính toán hàm lượng chì (theo phần triệu) trong mẫu thử dựa trên đường chuẩn thiết lập và độ hấp thụ đo được của dung dịch thử.

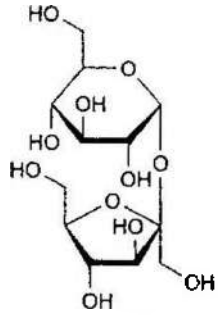
Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(0,500 g; 250 °C).

Định lượng
Hòa tan 0,125 g chế phẩm trong 50 ml *nước*, thêm 2 ml *acid sulfuric đậm đặc (TT)* và 3 g *kali iodid (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)*, chỉ thị là 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* cho vào cuối phép chuẩn độ.
1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 15,96 mg $CuSO_4$.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc
Điều trị thiếu hụt đồng.

ĐƯỜNG TRẮNG
Saccharum



$C_{12}H_{22}O_{11}$ P.t.l: 342,3

Đường trắng là β-D-fructofuranosyl α-D-glucopyranosid. Không chứa chất phụ gia.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng hay tinh thể trắng, gần như trắng hoặc không màu, bóng. Rất dễ tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong ethanol tuyệt đối.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại của chế phẩm (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của đường trắng chuẩn.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Dung dịch acid boric bão hòa lạnh - dung dịch acid acetic băng 60 % (tt/tt) - ethanol - aceton - ethyl acetat (10 : 15 : 20 : 60 : 60).

Hỗn hợp dung môi: Nước - methanol (2 : 3).

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 20 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg đường trắng chuẩn trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 20 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg mỗi chất chuẩn sau: Fructose, glucose, lactose và đường trắng trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 20 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên và để khô hoàn toàn các vết chấm. Triển khai bản mỏng trong bình sắc ký chưa bão hòa hơi dung môi đến khi dung môi đi được 15 cm. Làm khô bản mỏng bằng không khí ấm. Phun dung dịch gồm 0,5 g *thymol (TT)* trong hỗn hợp có 5 ml *acid sulfuric (TT)* và 95 ml *ethanol 96 % (TT)*. Sấy bản mỏng ở 130 °C trong 10 min. Trên sắc ký đồ dung dịch thử cho vết chính có vị trí, màu sắc và kích thước giống với vết chính của dung dịch đối chiếu (1), phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (2) cho 4 vết tách riêng rẽ rõ ràng.

C. Pha loãng 1 ml dung dịch S (xem Độ trong của dung dịch) thành 100 ml bằng *nước*. Lấy 5 ml dung dịch thu được thêm 0,15 ml *dung dịch đồng (II) sulfat 12,5 % (TT)* mới pha và 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)* mới pha. Dung dịch thu được có màu xanh lam, trong và không thay đổi khi đun sôi. Thêm 4 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* vào dung dịch đang nóng trên, đun sôi 1 min. Thêm 4 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, tủa đa cam xuất hiện ngay.

Độ trong của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 50,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2).

Điện dẫn suất

Không được quá 35 µS·cm^{-1} ở 20 °C.

Dung dịch thử: Hòa tan 31,3 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* được pha chế từ *nước cất* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Đo độ dẫn điện của dung dịch thử (C_1), khuấy nhẹ bằng máy khuấy từ trong khi đo. Đo độ dẫn điện của nước dùng để chuẩn bị dung dịch thử (C_2). Kết quả phải ổn định, chênh lệch không quá 1 % trong 30 s.

Tính độ dẫn điện của dung dịch kiểm tra theo công thức sau: $C_1 - 0{,}35C_2$.

Góc quay cực riêng

Từ +66,3° đến +67,0° (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 26,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Chỉ số màu sắc

Không được quá 45.

Hòa tan 50,0 g chế phẩm trong 50,0 ml *nước*, lọc qua màng lọc kích thước 0,45 µm và loại khí. Đo độ hấp thụ của dung dịch ở bước sóng 420 nm (Phụ lục 4.1), sử dụng cóng đo có chiều dài ít nhất là 4 cm (Chiều dài cóng đo là 10 cm hoặc lớn hơn 10 cm). Tính chỉ số màu sắc theo công thức sau:

$$\frac{A \times 1000}{b \times c}$$

Trong đó:

A là độ hấp thụ ở bước sóng 420 nm;

b là chiều dài cóng tính bằng cm;

c là nồng độ dung dịch g/ml, tính từ chỉ số khúc xạ của dung dịch (Phụ lục 6.1) ở bảng dưới và nội suy giá trị nếu cần.

STT	n_D^{20}	C (g/ml)
1	1,4138	0,570
2	1,4159	0,585
3	1,4179	0,600
4	1,4200	0,615
5	1,4221	0,630
6	1,4243	0,645
7	1,4264	0,661

Độ lặp lại: Sự khác nhau về độ hấp thụ giữa 2 kết quả không được quá 3.

Dextrin

Nếu chế phẩm dùng để pha dung dịch tiêm truyền thì phải thử chỉ tiêu này.

Lấy 2 ml dung dịch S, thêm 8 ml *nước*, 0,05 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và 0,05 ml *dung dịch iod 0,1 M (TT)*, dung dịch phải có màu vàng.

Đường khử

Cho 5 ml dung dịch S cho vào ống nghiệm dài khoảng 150 mm và có đường kính khoảng 16 mm. Thêm 5 ml *nước*, 1,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* và 1,0 ml *dung dịch xanh methylen 0,1 % (TT)*. Trộn đều và đặt vào bể cách thủy. Sau đúng 2 min, lấy ống nghiệm ra và quan sát dung dịch ngay. Màu xanh lam của dung dịch không

được mất hoàn toàn. Bỏ qua màu xanh ở bề mặt phân cách giữa không khí và dung dịch.

Sulfit

Không được quá 15 phần triệu tính theo SO_2.

Dung dịch thử: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 40 ml *nước*, thêm 2,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng *nước*. Lấy 10,0 ml dung dịch trên, thêm 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 3 N (TT)*, 2,0 ml *dung dịch fuchsin đã khử màu (TT_1)* và 2,0 ml *dung dịch formaldehyd 0,5 % (tt/tt)*. Để yên 30 min và đo độ hấp thụ ở bước sóng cực đại 583 nm.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 76 mg *natri metabisulfit (TT)* trong *nước* và thêm *nước* vừa đủ 50,0 ml. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *nước*. Lấy 3,0 ml dung dịch này, thêm 4,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* và pha loãng với *nước* thành 100,0 ml. Lấy 10,0 ml dung dịch thu được, thêm ngay 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 3 N (TT)*, 2,0 ml *dung dịch fuchsin đã khử màu (TT_1)* và 2,0 ml *dung dịch formaldehyd 0,5 % (tt/tt)*. Để yên 30 min rồi đo độ hấp thụ ở bước sóng 583 nm.

Mẫu trắng: Lấy 10,0 ml *nước* và xử lý giống như dung dịch thử và dung dịch đối chiếu.

Độ hấp thụ của dung dịch thử không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch đối chiếu. Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu có màu đỏ tím rõ ràng.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.6).

(2,000 g; 105 °C; 3 h).

Nội độc tố vi khuẩn

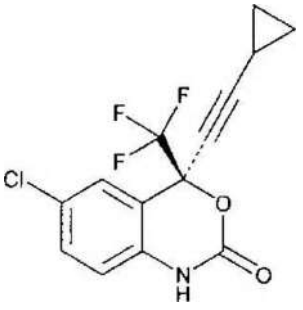
Phải ít hơn 0,25 EU/mg (Phụ lục 13.2). Nếu chế phẩm dùng để pha dung dịch tiêm truyền thì phải đáp ứng chỉ tiêu này.

Nhãn

Trên nhãn phải ghi rõ nếu chế phẩm dùng để sản xuất thuốc tiêm truyền.

EFAVIRENZ

Efavirenzum



$C_{14}H_9ClF_3NO_2$ P.t.l: 315,7

Efavirenz là (4*S*)-6-cloro-4-(2-cyclopropylethynyl)-4-(trifluoromethyl)-1,4-dihydro-2*H*-3,1-benzoxazin-2-on, phải chứa từ 97,0 % đến 103,0 % $C_{14}H_9ClF_3NO_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc hơi hồng. Dễ tan trong methanol, thực tế không tan trong nước.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của efavirenz chuẩn hoặc phổ chuẩn của efavirenz. Nếu phổ thu được không phù hợp với phổ chuẩn thì lặp lại phép thử bằng cách hòa tan riêng rẽ chế phẩm và efavirenz chuẩn bằng một lượng nhỏ *methanol (TT)* và bay hơi đến khô, đo phổ của cặn thu được. Phổ hấp thụ hồng ngoại của cặn thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của efavirenz chuẩn.

B. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử ở mục Định lượng trong khoảng bước sóng từ 210 nm đến 300 nm, trong cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *methanol (TT)*, phổ thu được phải có cực đại ở 247 nm, độ hấp thụ riêng A (1 %, 1 cm) tại bước sóng cực đại phải từ 526 đến 574.

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

Bản mỏng: Silica gel F_{254}.

Dung môi khai triển: Dicloromethan - methanol - acid acetic băng (90 : 10 : 3).

Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong 5 ml *methanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch efavirenz chuẩn trong *methanol (TT)* nồng độ 5 mg/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng rẽ lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 3/4 chiều dài bản mỏng. Để khô bản mỏng hoàn toàn ngoài không khí hoặc làm khô bằng một luồng khí mát, phát hiện vết bằng đèn tử ngoại 254 nm. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, hình dạng và độ lớn.

D. Góc quay cực riêng (Phụ lục 6.4).

Từ -89° đến -100°, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Dùng dung dịch chế phẩm nồng độ 0,3 % trong *methanol (TT)* để đo.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3), các dung dịch được chuẩn bị ngay trước khi dùng.

Các dung dịch mẫu thử sau khi pha được bảo quản tránh ánh sáng và nên dùng lọ sắc ký bằng polypropylen để tránh hiện tượng phân hủy do một số loại thủy tinh gây ra.

Pha động:

Pha động A: Dung dịch acid trifluoroacetic 0,05 % - methanol (90 : 10).

được mất hoàn toàn. Bỏ qua màu xanh ở bề mặt phân cách giữa không khí và dung dịch.

Sulfit

Không được quá 15 phần triệu tính theo SO_2.

Dung dịch thử: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 40 ml *nước*, thêm 2,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng *nước*. Lấy 10,0 ml dung dịch trên, thêm 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 3 N (TT)*, 2,0 ml *dung dịch fuchsin đã khử màu (TT_1)* và 2,0 ml *dung dịch formaldehyd 0,5 % (tt/tt)*. Để yên 30 min và đo độ hấp thụ ở bước sóng cực đại 583 nm.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 76 mg *natri metabisulfit (TT)* trong *nước* và thêm *nước* vừa đủ 50,0 ml. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *nước*. Lấy 3,0 ml dung dịch này, thêm 4,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* và pha loãng với *nước* thành 100,0 ml. Lấy 10,0 ml dung dịch thu được, thêm ngay 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 3 N (TT)*, 2,0 ml *dung dịch fuchsin đã khử màu (TT_1)* và 2,0 ml *dung dịch formaldehyd 0,5 % (tt/tt)*. Để yên 30 min rồi đo độ hấp thụ ở bước sóng 583 nm.

Mẫu trắng: Lấy 10,0 ml *nước* và xử lý giống như dung dịch thử và dung dịch đối chiếu.

Độ hấp thụ của dung dịch thử không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch đối chiếu. Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu có màu đỏ tím rõ ràng.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.6).
(2,000 g; 105 °C; 3 h).

Nội độc tố vi khuẩn

Phải ít hơn 0,25 EU/mg (Phụ lục 13.2). Nếu chế phẩm dùng để pha dung dịch tiêm truyền thì phải đáp ứng chỉ tiêu này.

Nhãn

Trên nhãn phải ghi rõ nếu chế phẩm dùng để sản xuất thuốc tiêm truyền.

EFAVIRENZ

Efavirenzum



$C_{14}H_9ClF_3NO_2$ P.t.l: 315,7

Efavirenz là (4*S*)-6-cloro-4-(2-cyclopropylethynyl)-4-(trifluoromethyl)-1,4-dihydro-2*H*-3,1-benzoxazin-2-on, phải chứa từ 97,0 % đến 103,0 % $C_{14}H_9ClF_3NO_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc hơi hồng. Dễ tan trong methanol, thực tế không tan trong nước.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của efavirenz chuẩn hoặc phổ chuẩn của efavirenz. Nếu phổ thu được không phù hợp với phổ chuẩn thì lặp lại phép thử bằng cách hòa tan riêng rẽ chế phẩm và efavirenz chuẩn bằng một lượng nhỏ *methanol (TT)* và bay hơi đến khô, đo phổ của cắn thu được. Phổ hấp thụ hồng ngoại của cắn thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của efavirenz chuẩn.

B. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử ở mục Định lượng trong khoảng bước sóng từ 210 nm đến 300 nm, trong cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *methanol (TT)*, phổ thu được phải có cực đại ở 247 nm, độ hấp thụ riêng A (1 %, 1 cm) tại bước sóng cực đại phải từ 526 đến 574.

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

Bản mỏng: Silica gel F_{254}.

Dung môi khai triển: Dicloromethan - methanol - acid acetic băng (90 : 10 : 3).

Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong 5 ml *methanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch efavirenz chuẩn trong *methanol (TT)* nồng độ 5 mg/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng rẽ lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 3/4 chiều dài bản mỏng. Để khô bản mỏng hoàn toàn ngoài không khí hoặc làm khô bằng một luồng khí mát, phát hiện vết bằng đèn tử ngoại 254 nm. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, hình dạng và độ lớn.

D. Góc quay cực riêng (Phụ lục 6.4).

Từ -89° đến -100°, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Dùng dung dịch chế phẩm nồng độ 0,3 % trong *methanol (TT)* để đo.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3), các dung dịch được chuẩn bị ngay trước khi dùng.

Các dung dịch mẫu thử sau khi pha được bảo quản tránh ánh sáng và nên dùng lọ sắc ký bằng polypropylen để tránh hiện tượng phân hủy do một số loại thủy tinh gây ra.

Pha động:

Pha động A: Dung dịch acid trifluoroacetic 0,05 % - methanol (90 : 10).

Pha động B: *Dung dịch acid trifluoroacetic 0,05 % - methanol* (10 : 90).
Hỗn hợp dung môi: Hỗn hợp đồng thể tích *acetonitril - nước*.
Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng tiếp 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch phân giải: Hòa tan 1 mg tạp chất B chuẩn của efavirenz trong 10 ml hỗn hợp dung môi. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 25 ml với cùng dung môi. Hòa tan 1 mg efavirenz chuẩn trong 10 ml dung dịch thu được.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *silica gel được biến đổi hóa học gắn với nhóm cyanopropylsilyl* (cột nitril, 3,5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 250 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 35 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Ghi chú
0 - 16	60 → 50	40 → 50	Gradient tuyến tính
16 - 23	50 → 35	50 → 65	Gradient tuyến tính
23 - 28	35 → 30	65 → 70	Gradient tuyến tính
28 - 29	30 → 20	70 → 80	Gradient tuyến tính
29 - 31	20	80	Đẳng dòng
31 - 32	20 → 60	80 → 40	Trở về tỷ lệ ban đầu
32 - 40	60	40	Cân bằng lại cột

Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, thời gian lưu của efavirenz khoảng 20 min, thời gian lưu tương đối của tạp chất B so với efavirenz là khoảng 0,9. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic tạp chất B và pic efavirenz ít nhất bằng 3.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của pic tương ứng với tạp chất B không được lớn hơn 4 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,4 %); diện tích của bất kỳ pic nào khác ngoài pic chính và pic tạp chất B không được lớn hơn 2 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,2 %) và không được có quá 3 pic phụ như vậy có diện tích lớn hơn diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,1 %). Tổng diện tích của các pic tạp chất không được lớn hơn 8 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,8 %). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: *N*-[4-cloro-2-[(1*S*)-3-cyclopropyl-1-hydroxy-1-(trifluoromethyl)prop-2-ynyl]phenyl]-4-methoxybenzamid,
Tạp chất B: (4*S*)-6-cloro-4-[(1*E*)-2-cyclopropylethenyl]-4-(trifluoromethyl)-1,4-dihydro-2H-3,1-benzoxazin-2-on,
Tạp chất C: (4*S*)-6-cloro-4-(pent-1-ynyl)-4-(trifluoromethyl)-1,4-dihydro-2*H*-3,1-benzoxazin-2-on,
Tạp chất D: (4*S*)-6-cloro-4-(2-cyclopropylethynyl)-1-(4-methoxybenzyl)-4-(trifluoromethyl)-1,4-dihydro-2*H*-3,1-benzoxazin-2-on,
Tạp chất E: (2*S*)-2-(2-amino-5-clorophenyl)-4-cyclopropyl-1,1,1-trifluorobut-3-yn-2-ol,
Tạp chất F: 6-cloro-2-cyclopropyl-4-(trifluoromethyl)quinolin,
Tạp chất G: (4*S*)-6-cloro-4-[2-(2-methylcyclopropyl)ethynyl]-4-(trifluoromethyl)-1,4-dihydro-2*H*-3,1-benzoxazin-2-on (hỗn hợp của 4 đồng phân lập thể),
Tạp chất H: methyl [4-cloro-2-[(1*S*)-3-cyclopropyl-1-hydroxy-1-(trifluoromethyl)prop-2-ynyl]phenyl]carbamat,
Tạp chất I: (2*S*)-2-[5-cloro-2-[[(4-methoxyphenyl)methyl] amino]phenyl]-4-cyclopropyl-1,1,1-trifluorobut-3-yn-2-ol,
Tạp chất J: (2*RS*,4*S*)-6-cloro-4-(2-cyclopropylethynyl)-2-(4-methoxyphenyl)-4-(trifluoromethyl)-1,4-dihydro-2*H*-3,1-benzoxazin.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, 105 °C, 4 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 1).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Cân chính xác khoảng 25 mg chế phẩm hòa tan trong *methanol (TT)* và thêm *methanol (TT)* vừa đủ 50,0 ml. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với cùng dung môi. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 247 nm, trong cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *methanol (TT)*. Tính hàm lượng efavirenz, $C_{14}H_9ClF_3NO_2$, lấy giá trị A (1 %, 1 cm) ở 247 nm là 550.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng retrovirus.

Chế phẩm
Viên nén, nang, sirô.

NANG EFAVIRENZ
Capsulae Efavirenzi

Là nang cứng chứa efavirenz.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng efavirenz, $C_{14}H_9ClF_3NO_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lắc một lượng bột thuốc trong nang, tương ứng với khoảng 0,05 g efavirenz, với 100 ml *methanol (TT)*, lọc và pha loãng 1 ml dịch lọc thành 50 ml với *methanol (TT)*. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở dải sóng từ 220 nm đến 350 nm phải phù hợp với phổ của dung dịch efavirenz chuẩn có nồng độ tương đương, trong cùng dung môi.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch *natri lauryl sulfat* 1 %.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan (nếu cần) để thu được dung dịch có nồng độ efavirenz khoảng 0,01 mg/ml.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 20 mg efavirenz chuẩn, chuyển vào bình định mức 100 ml, thêm 10 ml *methanol (TT)* để hòa tan và thêm môi trường hòa tan đến định mức, lắc đều. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với môi trường hòa tan.
Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch chuẩn, dung dịch thử ở bước sóng hấp thụ cực đại khoảng 247 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. Tính hàm lượng efavirenz, $C_{14}H_9ClF_3NO_2$, hòa tan từ mỗi nang dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{14}H_9ClF_3NO_2$ trong efavirenz chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng efavirenz, $C_{14}H_9ClF_3NO_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm phosphat pH 3,0, pha động, dung dịch chuẩn, dung dịch thử và điều kiện sắc ký: Chuẩn bị như mục Định lượng.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký đối với dung dịch thử và ghi lại sắc đồ trong khoảng thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của pic efavirenz.
Hàm lượng các tạp chất nếu có trên sắc ký đồ của dung dịch thử được tính theo phương pháp chuẩn hóa (Phụ lục 5).
Giới hạn: Mỗi tạp chất không được quá 1,0 %, tổng các tạp chất không được quá 2,0 %. Bỏ qua các pic của mẫu trắng và các pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 %.
Tính hàm lượng từng tạp chất dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử so với tổng diện tích các pic đáp ứng trên sắc đồ của dung dịch thử.

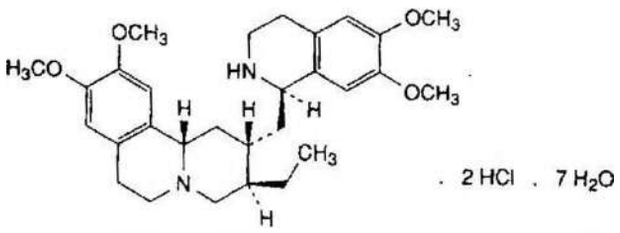
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm phosphat pH 3,0: Hòa tan 8,6 g *amoni dihydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước* và điều chỉnh đến pH 3,0 ± 0,05 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Pha động: *Acetonitril - dung dịch đệm phosphat pH 3,0* (50 : 50).
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng efavirenz chuẩn trong *methanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ efavirenz khoảng 1,2 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân 20 nang, xác định khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang, cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 60 mg efavirenz vào bình định mức 50 ml, thêm 40 ml *methanol (TT)* và lắc siêu âm 20 min. Pha loãng bằng *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều và lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 252 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký:
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn: số đĩa lý thuyết của cột tính theo pic efavirenz không được nhỏ hơn 6000; hệ số đối xứng của pic efavirenz không được lớn hơn 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic efavirenz từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng efavirenz, $C_{14}H_9ClF_3NO_2$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic efavirenz thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{14}H_9ClF_3NO_2$ trong efavirenz chuẩn.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín. Để nơi khô mát, nhiệt độ không quá 30 °C, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng virus.

Hàm lượng thường dùng
50 mg; 100 mg và 200 mg.

EMETIN HYDROCLORID
Emetini hydrochloridum



$C_{29}H_{40}N_2O_4.2HCl.7H_2O$ P.t.l.: 679,7

Emetin hydroclorid là (2*S*,3*R*,11b*S*)-2-[[(1*R*)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-1-yl]methyl]-3-ethyl-9,10-dimethoxy-1,3,4,6,7,11b-hexahydro-2*H*-benzo[a] quinolizin dihydroclorid heptahydrat, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{29}H_{40}N_2O_4.2HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hay hơi vàng nhạt.
Dễ tan trong nước và ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, E.
Nhóm II: B, C, D và E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của emetin hydroclorid chuẩn.
B. Trong mục thử Tạp chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, màu sắc huỳnh quang và kích thước với vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3).
C. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 2 ml *dung dịch hydrogen peroxyd 10 thể tích (TT)*, thêm 1 ml *acid hydrocloric (TT)* và đun nóng, có màu da cam xuất hiện.
D. Rắc khoảng 5 mg chế phẩm lên bề mặt của 1 ml *dung dịch amoni molybdat 0,5 % trong acid sulfuric đậm đặc (TT)*, xuất hiện màu xanh sáng.
E. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 1,25 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn dung dịch màu đối chiếu V_5 hay VN_5 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Pha loãng 4 ml dung dịch S thành 10 ml với *nước không có carbon dioxyd (TT)*, pH của dung dịch thu được phải từ 4,0 đến 6,0 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng
Từ +16° đến +19°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng với 1,250 g chế phẩm đã làm khô trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. Dùng dung dịch thu được để đo.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cloroform - 2-methoxyethanol - methanol - nước - diethylamin (200 : 40 : 10 : 4 : 1).
Chuẩn bị các dung dịch sau ngay trước khi dùng, pha trong dung môi là *methanol (TT)* chứa 1 % (theo thể tích) *dung dịch amoniac 2 M (TT)*.
Dung dịch thử: Chứa 0,5 mg chế phẩm trong 1 ml.
Dung dịch đối chiếu (1): Chứa 0,01 mg isoemetin hydrobromid chuẩn trong 1 ml.
Dung dịch đối chiếu (2): Chứa 0,01 mg cephaelin hydroclorid chuẩn trong 1 ml.
Dung dịch đối chiếu (3): Chứa 0,5 mg emetin hydroclorid chuẩn trong 1 ml.
Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 1 ml dung dịch đối chiếu (3) thành 100 ml.
Dung dịch đối chiếu (5): Thêm 1 ml dung dịch đối chiếu (1) và 1 ml dung dịch đối chiếu (2) vào 1 ml dung dịch đối chiếu (3).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1), (2), (3), (4) và 30 µl dung dịch đối chiếu (5). Sau khi triển khai được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng để khô ngoài không khí đến khi bay hết hơi dung môi. Phun *dung dịch iod 0,5 % trong cloroform*, sấy bản mỏng ở 60 °C trong 15 min và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Bất kỳ vết nào tương ứng với vết của isoemetin và cephaelin trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử không được đậm màu hơn các vết tương ứng trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) và (2) (2,0 %) và bất kỳ một vết phụ nào khác cũng không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (4) (1,0 %).
Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (5) có 3 vết tách riêng rõ rệt.

Mất khối lượng do làm khô
Từ 15,0 % đến 19,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,00 g, 105 °C; 3 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 5,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* và 50 ml *ethanol 96 % (TT)*. Tiến hành chuẩn độ bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2), dùng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Đọc thể tích của dung dịch chuẩn độ đã tiêu thụ giữa hai điểm uốn.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương 27,68 mg $C_{29}H_{40}N_2O_4.2HCl$.

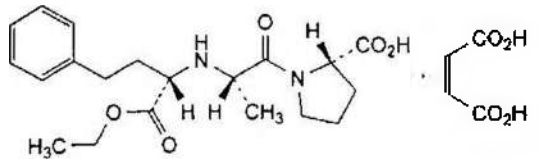
Bảo quản
Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Trị giun sán.

Chế phẩm
Thuốc tiêm.

ENALAPRIL MALEAT

Enalaprili maleas



$C_{20}H_{28}N_2O_5.C_4H_4O_4$ P.t.l: 492,5

Enalapril maleat là acid (2*S*)-1-[(2*S*)-2[[(1*S*)-1-(ethoxycarbonyl)-3-phenylpropyl]amino]propanoyl] pyrrolidin-2-carboxylic (*Z*)-butendioat, phải chứa từ 98,5 % đến 101,5 % $C_{20}H_{28}N_2O_5.C_4H_4O_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng. Hơi tan trong nước, dễ tan trong methanol, thực tế không tan trong methylen clorid, tan trong các dung dịch hydroxyd kiềm loãng.
Điểm chảy khoảng 144 °C (Phụ lục 6.7).

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của enalapril maleat chuẩn.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Từ 2,4 đến 2,9 (Phụ lục 6.2).
Dùng dung dịch S để đo.

Góc quay cực riêng
Từ -48° đến -51°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm A: Hòa tan 2,8 g *natri dihydrophosphat monohydrat (TT)* trong 950 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 2,5 bằng *acid phosphoric (TT)* và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*.
Dung dịch đệm B: Hòa tan 2,8 g *natri dihydrophosphat monohydrat (TT)* trong 950 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 6,8 bằng *dung dịch natri hydroxyd 40 % (TT)* và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*.
Pha động A: *Acetonitril (TT_1) - dung dịch đệm B* (50 : 950).
Pha động B: *Dung dịch đệm B - acetonitril (TT_1)* (340 : 660).
Dung môi hòa tan: *Acetonitril (TT_1) - dung dịch đệm A* (50 : 950).
Dung dịch thử: Hòa tan 30 mg chế phẩm trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng dung môi hòa tan.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 3 mg enalapril chuẩn dùng để đánh giá tính phù hợp của hệ thống (chứa tạp chất A) trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan hỗn hợp tạp chất chuẩn của enalapril (chứa tạp chất B, C, D, E và H) có trong một lọ chuẩn vào 1,0 ml dung môi hòa tan.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,1 mm) được nhồi pha tĩnh *styren-divinylbenzen copolymer* (5 µm).
Nhiệt độ cột: 70 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau (có thể điều chỉnh nếu cần):

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 20	95 → 40	5 → 60
20 - 25	40	60

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo hỗn hợp tạp chất chuẩn của enalapril và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của tạp chất B, C, D, E và H. Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất A.
Thời gian lưu tương đối so với enalapril (thời gian lưu khoảng 11 min): Tạp chất C khoảng 0,2; tạp chất B khoảng 0,8; tạp chất A khoảng 1,1; tạp chất H khoảng 1,3; tạp chất E khoảng 1,5; tạp chất D khoảng 2,1.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (2), tỷ số đỉnh - hõm (Hp/Hv) ít nhất là 10; trong đó Hp là chiều cao đỉnh pic tạp chất A so với đường nền và Hv là chiều cao tính từ đường nền lên đến đáy hõm giữa pic tạp chất A và pic enalapril.
Giới hạn:
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %).
Tạp chất B, C, D, E, H: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,1 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất trừ tạp chất A, không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %) và pic của acid maleic.
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid (2*S*)-1-[(2*S*)-2-[[(1*R*)-1-(ethoxycarbonyl)-3-phenylpropyl]amino]propanoyl]pyrrolidin-2-carboxylic.
Tạp chất B: Acid (2*S*)-2-[[(1*S*)-1-(ethoxycarbonyl)-3-phenylpropyl] amino]propanoic.
Tạp chất C: Acid (2*S*)-1-[(2*S*)-2-[[(1*S*)-1-carboxy-3-phenylpropyl]amino]propanoyl]pyrrolidin-2-carboxylic.
Tạp chất D: Ethyl (2*S*)-2-[(3*S*,8a*S*)-3-methyl-1,4-dioxooctahydropyrolo[1,2-*a*]pyrazin-2-yl]-4-phenylbutanoat.
Tạp chất E: Acid (2*S*)-1-[(2*S*)-2-[[(1*S*)-3-phenyl-1-[(2phenylethoxy)carbonyl]propyl]amino]propanoyl] pyrrolidin-2-carboxylic.
Tạp chất F: Acid (2*S*)-1-[(2*S*)-2-[[(1*S*)-1-(butoxycarbonyl)-3-phenylpropyl]amino]propanoyl]pyrrolidin-2-carboxylic.
Tạp chất G: Acid (2*S*)-2-[[(1*S*)-3-cyclohexyl-1-(ethoxycarbonyl) propyl]amino]propanoic.
Tạp chất H: Acid (2*S*)-1-[(2*S*)-2-[[(1*S*)-3-cyclohexyl-1-(ethoxycarbonyl)propyl]amino]propanoyl]pyrrolidin-2-carboxylic.
Tạp chất I: 1*H*-imidazol.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 2,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C; 3 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 30 ml với cùng dung môi. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Lấy điểm kết thúc của phép chuẩn độ tại bước nhảy thứ hai trên đường cong chuẩn độ.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 16,42 mg $C_{20}H_{28}N_2O_5.C_4H_4O_4$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Tác nhân ức chế men chuyển angiotensin.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN ENALAPRIL
Tabellae Enalaprili

Là viên nén chứa enalapril maleat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng enalapril maleat, $C_{20}H_{28}N_2O_5.C_4H_4O_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Butan-1-ol - nước - acid acetic băng (60 : 25 : 15).
Dung dịch hiện màu: Hòa tan 0,85 g *bismuth nitrat base (TT)* trong hỗn hợp 10 ml *acid acetic băng (TT)* và 40 ml *nước*. Trộn đồng thể tích của dung dịch thu được và *dung dịch kali iodid 40 %*. Pha loãng 10 thể tích hỗn hợp này với 20 thể tích *acid acetic băng (TT)* và 70 thể tích *nước* ngay trước khi dùng.
Dung dịch thử: Cân một lượng bột viên tương ứng với 20 mg enalapril maleat, thêm 10 ml *ethanol 90 % (TT)*, lắc trong 10 min, ly tâm. Sử dụng dịch trong ở trên.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch enalapril maleat chuẩn 0,2 % trong *ethanol 90 % (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí. Phun dung dịch hiện màu, rồi phun tiếp *dung dịch hydrogen peroxyd loãng (TT)*. Vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.
B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic enalapril trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch A, pha động, dung dịch thử, dung dịch phân giải và các điều kiện sắc ký: Thực hiện như mô tả trong mục Định lượng.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với dung dịch A.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống như mục Định lượng. Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu, trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của pic tương ứng với enalaprilat không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu; diện tích của pic tương ứng với enalapril diketopiperazin không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc. Pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ enalapril maleat khoảng 0,00028 %. Pha dung dịch enalapril maleat chuẩn trong môi trường hòa tan có nồng độ chính xác khoảng 0,00028 %. Tiến hành sắc ký như mô tả trong mục Định lượng. Tính hàm lượng enalapril maleat, $C_{20}H_{28}N_2O_5.C_4H_4O_4$, đã hòa tan trong mỗi viên.
Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % (Q) lượng enalapril maleat, $C_{20}H_{28}N_2O_5.C_4H_4O_4$, so với hàm lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)
Dung dịch A: Hòa tan 1,56 g *natri dihydrophosphat (TT)* trong 800 ml *nước*, điều chỉnh pH tới 2,2 với *acid phosphoric (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Pha động: *Acetonitril - dung dịch A* (25 : 75).
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 10 mg enalapril maleat, thêm 50 ml dung dịch A, lắc siêu âm trong 15 min, lắc cơ học thêm 30 min nữa và thêm dung dịch A vừa đủ 100 ml. Tiếp tục lắc siêu âm dung dịch thu được thêm 15 min nữa, sau đó lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Dung dịch chuẩn gốc enalaprilat: Dung dịch enalaprilat chuẩn nồng độ 0,1 mg/ml trong *nước*.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác 10 mg enalapril chuẩn, chuyển vào bình định mức 100 ml, thêm 50 ml trong dung dịch A, lắc siêu âm 15 min. Để nguội, thêm 1,0 dung dịch chuẩn gốc enalaprilat và thêm dung dịch A vừa đủ đến định mức. Dung dịch thu được có nồng độ enalapril maleat 0,1 mg/ml và enalaprilat 0,001 mg/ml.
Dung dịch enalapril diketopiperazin: Cho khoảng 20 mg enalapril maleat chuẩn vào cốc dung tích 100 ml sao cho tạo thành khối ở đáy cốc. Đặt cốc lên bếp đun nóng đến khi mẫu có màu vàng, lấy cốc ra để nguội (chú ý không để mẫu có màu nâu). Thêm 50 ml *acetonitril (TT)*, lắc siêu âm để hòa tan.
Dung dịch phân giải: Pha loãng 1 ml dung dịch enalapril diketopiperazin thành 50 ml với dung dịch chuẩn.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Nhiệt độ cột: 50 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, trên sắc ký đồ thu được, thời gian lưu tương đối của các pic lần lượt như sau: acid maleic 0,3; enalaprilat 0,5; enalapril 1,0 và enalapril diketopiperazin là 1,5. Hệ số phân giải giữa pic enalapril và pic enalapril diketopiperazin không dưới 2,0.
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng tính trên pic enalapril không lớn hơn 2,0. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic enalapril từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng enalapril maleat, $C_{20}H_{28}N_2O_5.C_4H_4O_4$, trong viên dựa vào diện tích (hay chiều cao) pic enalapril thu được từ sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{20}H_{28}N_2O_5.C_4H_4O_4$ của enalapril maleat chuẩn.

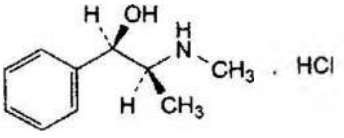
Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống tăng huyết áp.

Hàm lượng thường dùng
5 mg; 10 mg; 20 mg.

EPHEDRIN HYDROCLORID

Ephedrini hydrochloridum



$C_{10}H_{15}NO.HCl$ P.t.l: 201,7

Ephedrin hydroclorid là (*1R,2S*)-2-(methylamino)-1-phenylpropan-1-ol hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{10}H_{15}NO.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Tinh thể không màu hay bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan trong nước, tan trong ethanol 96 %. Chảy ở khoảng 219 °C (Phụ lục 6.7).

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, E.
Nhóm II: B, C, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của ephedrin hydroclorid chuẩn.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Hệ dung môi: *Methylen clorid - amoniac - 2-propanol* (5 : 15 : 80).
Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg ephedrin hydroclorid chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 2/3 bản mỏng. Để khô bản mỏng ngoài không khí, sau đó phun *dung dịch ninhydrin (TT)* lên và sấy ở 110 °C trong 5 min. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

C. Chế phẩm phải đạt yêu cầu của phép thử Góc quay cực riêng.

D. Lấy 0,1 ml dung dịch S (xem Độ trong và màu sắc của dung dịch), thêm 1 ml *nước*, 0,2 ml *dung dịch đồng sulfat 12,5 % (TT)* và 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 42 % (TT)* dung dịch sẽ có màu tím. Lắc dung dịch thu được với 2 ml *methylen clorid (TT)*. Lớp dưới (lớp dung môi) có màu xám đậm và lớp trên (lớp nước) có màu xanh.

E. Lấy 5 ml dung dịch S (xem Độ trong và màu sắc của dung dịch), thêm 5 ml *nước*, dung dịch phải cho phản ứng A của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 5,00 g chế phẩm trong *nước cất* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 0,1 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)* và 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)*. Dung dịch thu được có màu vàng. Thêm 0,4 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*, dung dịch thu được phải có màu đỏ.

Góc quay cực riêng

Từ -33,5° đến -35,5°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Pha loãng 12,5 ml dung dịch S thành 25,0 ml bằng *nước* để đo.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Methanol - dung dịch amoni acetat 1,16 % được điều chỉnh đến pH 4,0 bằng acid acetic băng* (6 : 94).

Dung dịch thử: Hòa tan 75 mg chế phẩm vào pha động và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 2,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg chế phẩm và 5 mg pseudoephedrin hydroclorid chuẩn vào pha động và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *phenylsilyl silica gel hình cầu dùng cho sắc ký* (3 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 257 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2,5 lần thời gian lưu của ephedrin.

Thời gian lưu tương đối so với ephedrin (thời gian lưu khoảng 8 min): Tạp chất B (pseudoephedrin) khoảng 1,1; tạp chất A khoảng 1,4.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của ephedrin với pic của tạp chất B ít nhất là 2,0.

Giới hạn:

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất A với 0,4.

Tạp chất A: Diện tích pic đã hiệu chỉnh của tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).

Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất trừ tạp chất A không được lớn hơn 2,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,25 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: (-)-(1*R*)-1-hydroxy-1-phenylpropan-2-on.

Tạp chất B: (1*S*,2*S*)-2-(methylamino)-1-phenylpropan-1-ol (pseudoephedrin).

Sulfat

Không được quá 100 phần triệu (Phụ lục 9.4.14).

Lấy 15 ml dung dịch S để thử.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong 50 ml *ethanol 96 % (TT)* và thêm 5,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Đọc thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* thêm vào giữa 2 điểm uốn.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 20,17 mg $C_{10}H_{15}NO.HCl$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chủ vận beta-adrenergic.

Chế phẩm

Cồn thuốc, thuốc nhỏ mũi, viên nén, thuốc tiêm.

THUỐC TIÊM EPHEDRIN HYDROCLORID
Injectio Ephedrini hydrocloridi

Là dung dịch vô khuẩn của ephedrin hydroclorid trong nước để pha thuốc tiêm.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng của ephedrin hydroclorid, $C_{10}H_{15}NO.HCl$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu.

Định tính
A. Lấy 1 thể tích chế phẩm có chứa khoảng 0,1 g ephedrin hydroclorid thêm 2 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M*, chiết 2 lần mỗi lần với 20 ml *cloroform (TT)* và bỏ lớp cloroform. Kiềm hóa lớp nước với *dung dịch amoniac 5 M (TT)* và chiết 2 lần mỗi lần với 30 ml hỗn hợp 3 thể tích *cloroform (TT)* và 1 thể tích *ethanol (TT)*. Làm khan dịch chiết với *natri sulfat khan (TT)*. Lọc và làm bay hơi dịch lọc tới khô ở áp suất 2 kPa. Đun nóng nhẹ để đuổi hết dung môi. Phổ hấp thụ hồng ngoại của cắn (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của ephedrin.
B. Trong mục Tạp chất liên quan, trên sắc ký đồ thu được, vết chính của dung dịch thử (2) phải phù hợp với vết chính của dung dịch đối chiếu (2) về vị trí, màu sắc và kích thước.

pH
4,0 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Propan-2-ol - amoniac đậm đặc - cloroform (80 : 15 : 5)
Dung dịch thử (1): Pha loãng 1 thể tích chế phẩm với *nước* để thu được dung dịch có chứa ephedrin hydroclorid 0,5 %.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 thể tích dung dịch (1) thành 5 thể tích với *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 thể tích dung dịch (1) thành 200 thể tích với *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch ephedrin hydroclorid chuẩn 0,1 % trong *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm 20 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí rồi phun *dung dịch ninhydrin 0,2 % (TT)*, sau đó làm nóng ở 100 °C trong 5 min. Trên sắc ký đồ thu được, bất kỳ vết phụ nào của dung dịch thử (1) cũng không được đậm hơn vết chính của dung dịch đối chiếu (1), không kể các vết có màu sáng hơn màu nền của lớp mỏng.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch *dioctyl natri sulfosuccinat 0,005 M* trong hỗn hợp 65 thể tích *methanol (TT)*, 35 thể tích *nước* và 1 thể tích *acid acetic băng (TT)*.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch ephedrin hydroclorid chuẩn 0,1 % trong *methanol 65 %*.
Dung dịch thử: Pha loãng 1 thể tích chế phẩm với *methanol 80 %* để thu được dung dịch có chứa ephedrin hydroclorid 0,1 %.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (20 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm) (Nucleosil C18 là phù hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 263 nm.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng ephedrin hydroclorid, $C_{10}H_{15}NO.HCl$, có trong chế phẩm dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{10}H_{15}NO.HCl$ trong ephedrin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc giống thần kinh giao cảm.

Nồng độ thường dùng
1 %.

VIÊN NÉN EPHEDRIN HYDROCLORID
Tabellae Ephedrini hydrochloridi

Là viên nén chứa ephedrin hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng ephedrin hydroclorid, $C_{10}H_{15}NO.HCl$, từ 92,5% đến 107,5% so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lắc 1 lượng bột viên có chứa 0,1 g ephedrin hydroclorid với 20 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, lọc, rửa dịch lọc 2 lần, mỗi lần 20 ml *cloroform (TT)* và bỏ lớp cloroform. Kiềm hóa lớp nước với *dung dịch amoniac 5 M (TT)* và chiết 2 lần, mỗi lần 30 ml hỗn hợp 3 thể tích *cloroform (TT)* và 1 thể tích *ethanol (TT)*. Làm khan hỗn hợp dịch chiết với *natri sulfat khan (TT)*. Lọc và làm bay hơi dịch lọc tới khi còn một thể tích nhỏ ở áp suất 2 kPa. Sử dụng 0,3 g *kali bromid (TT)* để chuẩn bị đĩa, thấm dịch cloroform thu được lên bề mặt của đĩa và làm nóng ở 50 °C trong 2 min. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của ephedrin.

B. Trong mục thử Tạp chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải phù hợp với vết chính của dung dịch đối chiếu (2) về vị trí, màu sắc và kích thước.
C. Nghiền một lượng bột viên có chứa 0,4 g ephedrin hydroclorid với 2 lần, mỗi lần 10 ml *cloroform (TT)* và bỏ lớp cloroform. Ngâm cắn còn lại với 30 ml *ethanol 96 % (TT)* nóng trong 20 min, lọc, làm bay hơi dịch lọc tới khô trên nồi cách thủy và sấy khô cắn ở 80 °C. Hòa tan khoảng 10 mg cắn trong 1 ml *nước* và thêm 0,1 ml *dung dịch đồng sulfat 10 % (TT)*, sau đó thêm 1 ml *natri hydroxyd 5 M (TT)*, màu tím được tạo thành. Thêm 1 ml *ether (TT)* và lắc, lớp ether có màu tím đỏ và lớp nước có màu xanh.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Propan-2-ol - amoniac đậm đặc - cloroform (80 : 15 : 5).
Dung dịch thử (1): Chiết một lượng bột viên có chứa 0,1 g ephedrin hydroclorid với 5 ml *methanol (TT)* và lọc.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 thể tích dung dịch (1) tới 10 thể tích với *methanol (TT).*
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 thể tích dung dịch (1) tới 200 thể tích với *methanol (TT).*
Dung dịch đối chiếu (2): Ephedrin hydroclorid chuẩn 0,2 % trong *methanol (TT).*
Cách tiến hành: Chấm 10 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Sau khi triển khai sắc ký, để khô bản mỏng trong không khí rồi phun *dung dịch ninhydrin 0,2 % (TT)*, sau đó làm nóng ở 110 °C trong 5 min. Bất kỳ vết phụ nào của dung dịch thử (1) cũng không được đậm hơn vết chính của dung dịch đối chiếu (1), không kể các vết có màu sáng hơn màu nền của bản mỏng.

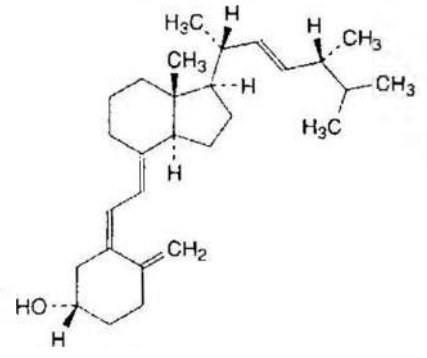
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch *dioctyl natri sulfosuccinat* 0,005 M trong hỗn hợp gồm 65 thể tích *methanol (TT)*, 35 thể tích *nước* và 1 thể tích *acid acetic băng (TT).*
Dung dịch chuẩn: Dung dịch ephedrin hydroclorid chuẩn 0,1 % trong *methanol 60 %.*
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg ephedrin hydroclorid, lắc với 30 ml *methanol (TT)* trong 10 phút. Lọc qua giấy lọc sợi thủy tinh (Whatman GF/C là phù hợp) vào một bình định mức 50 ml, rửa giấy lọc bằng *nước*, chuyển nước rửa vào trong bình định mức và thêm *nước* tới định mức, trộn đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (20 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm) (Nucleosil C18 là phù hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 263 nm.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng ephedrin hydroclorid, $C_{10}H_{15}NO.HCl$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{10}H_{15}NO.HCl$ trong ephedrin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản
Đựng trong lọ nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc giống thần kinh giao cảm.

Hàm lượng thường dùng
10 mg.

ERGOCALCIFEROL
Ergocalciferolum
Calciferol, vitamin D_2



$C_{28}H_{44}O$ P.t.l: 396,7

Ergocalciferol là (5*Z*,7*E*,22*E*)-9,10 secoergosta-5,7,10(19), 22-tetraen-3β-ol, phải chứa từ 97,0 % đến 103,0 % $C_{28}H_{44}O$.

Tính chất
Tinh thể trắng hoặc hầu như trắng, hoặc bột kết tinh trắng hoặc hơi vàng, nhạy cảm với không khí, nhiệt độ và ánh sáng. Trong dung dịch phụ thuộc vào nhiệt độ và thời gian có thể xảy ra hiện tượng đồng phân hóa trở lại, tạo thành pre-ergocalciferol.
Dễ tan trong ethanol 96 %, tan trong dầu béo, thực tế không tan trong nước.
Dung dịch trong dung môi bay hơi không bền nên cần dùng ngay.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: B, C.
Nhóm II: A, C.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của ergocalciferol chuẩn.
B. Trong phần Ergosterol, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương tự vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí, màu sắc và kích thước.
C. Điểm chảy 112 °C đến 117 °C (Phụ lục 6.7), khi xác định không cần tán thành bột và sấy khô.

Góc quay cực riêng
Từ +103° đến +107° (Phụ lục 6.4).
Hòa tan nhanh không làm nóng 0,200 g chế phẩm trong *ethanol không có aldehyd (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi, đo trong vòng 30 min, dùng ống 2 dm.

Ergosterol
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cyclohexan - ether không có peroxyd (1 : 1), hỗn hợp này có chứa 0,01 % *butylhydroxy toluen (TT).*
Dung môi hòa tan: Ethylen clorid (TT) có chứa 1,0 % *squalan (TT)* và 0,01 % *butyl-hydroxytoluen (TT).*
Dung dịch thử: Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,10 g ergocalciferol chuẩn trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 2 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg ergosterol chuẩn trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Hỗn hợp đồng thể tích của dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (2).
Tất cả các dung dịch trên chỉ pha trước khi dùng.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên, riêng dung dịch đối chiếu (3) chấm 20 µl. Triển khai sắc ký ngay, trong điều kiện tránh ánh sáng đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Phun 3 lần dung dịch *thuốc thử antimony triclorid (TT).* Quan sát sắc ký đồ trong 3 min đến 4 min sau khi phun. Vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch thử ban đầu có màu vàng da cam, sau đó trở thành nâu. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, bất kỳ vết có màu tím nào dưới vết chính (tương ứng với ergosterol và xuất hiện chậm hơn) thì không được đậm màu hơn vết trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %). Trong sắc ký đồ của dung dịch thử, ngoài các vết tương ứng với các vết trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và (2) không được phép có các vết khác. Phép thử chỉ có giá trị khi trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) cho hai vết tách nhau rõ ràng.

Tạp chất khử
Không được quá 20 phần triệu.
Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *ethanol không có aldehyd (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Thêm 0,5 ml *dung dịch tetrazolium xanh 0,5 % trong ethanol không có aldehyd* và 0,5 ml *dung dịch tetramethylamoni hydroxyd loãng (TT).* Để yên đúng 5 min và thêm 1,0 ml *acid acetic băng (TT).* Song song chuẩn bị dung dịch đối chiếu như trên với 10,0 ml dung dịch có chứa 0,2 µg hydroquinon trong 1 ml *ethanol không có aldehyd (TT).* Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của hai dung dịch thu được ở trên ở bước sóng 525 nm. Mẫu trắng là 10,0 ml *ethanol không có aldehyd (TT)* và được xử lý tương tự như mẫu thử. Độ hấp thụ của dung dịch thử không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch đối chiếu.

Định lượng
Tiến hành định lượng càng nhanh càng tốt, tránh ánh sáng quang hóa và không khí.
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hexan - pentanol (997 : 3).
Dung dịch thử: Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong 10,0 ml *toluen (TT)* không làm nóng rồi pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch chuẩn: Cũng được chuẩn bị theo cách trên nhưng dùng 10,0 mg ergocalciferol chuẩn thay cho chế phẩm.
Dung dịch phân giải: Hòa tan 0,5 g colecalciferol chuẩn dùng cho phép thử hiệu năng trong 2 ml *toluen (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml bằng pha động, đun hồi lưu trong cách thủy ở 90 °C trong 45 min rồi làm lạnh.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi silica gel thích hợp (5 đến 10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Cách tiến hành:
Tiêm một thể tích thích hợp dung dịch phân giải và ghi sắc ký đồ, điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao của pic colecalciferol lớn hơn 50 % độ cao của thang đo. Tiêm tất cả 6 lần. Khi các sắc ký đồ ghi được trong những điều kiện đã mô tả, các thời gian lưu tương đối là khoảng 0,4 đối với pre-colecalciferol, 0,5 đối với trans-colecalciferol và 1,0 đối với colecalciferol. Độ lệch chuẩn tương đối của colecalciferol không được lớn hơn 1 % và hệ số phân giải đối với pre-colecalciferol và trans-colecalciferol không được nhỏ hơn 1,0. Nếu cần thiết thì điều chỉnh tỷ lệ các thành phần và tốc độ dòng của pha động để đạt được độ phân giải trên.
Tiêm một thể tích thích hợp dung dịch chuẩn và ghi sắc ký đồ, điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao pic ergocalciferol lớn hơn 50 % độ cao của thang đo.
Tiêm cùng thể tích dung dịch thử và ghi sắc ký đồ.
Tính hàm lượng phần trăm của $C_{28}H_{44}O$ từ biểu thức:

$$\frac{100 \times W_2 \times S_1}{W_1 \times S_2}$$

trong đó:
W_1 là khối lượng tính bằng mg của chế phẩm có trong dung dịch thử;
W_2 là khối lượng tính bằng mg của ergocalciferol chuẩn trong dung dịch chuẩn;
S_1 là diện tích pic (hoặc chiều cao) của ergocalciferol trên sắc ký đồ của dung dịch thử;
S_2 là diện tích pic (hoặc chiều cao) của ergocalciferol trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Bảo quản
Ergocalciferol cần được bảo quản trong đồ đựng kín chứa khí nitơ, tránh ánh sáng và để ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C, lượng thuốc trong lọ kín khi mở ra cần được sử dụng ngay.

Loại thuốc
Vitamin D.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN ERGOCALCIFEROL
Tabellae Ergocalciferoli

Là viên nén chứa ergocalciferol.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng ergocalciferol, $C_{28}H_{44}O$, từ 90,0 % đến 125,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Nghiền một lượng bột viên chứa khoảng 0,5 mg ergocalciferol với 10 ml *cloroform (TT)* và lọc. Thêm vào dịch lọc 0,3 ml *anhydrid acetic (TT)* và 0,1 ml *acid sulfuric (TT)*, lắc mạnh. Xuất hiện màu đỏ tươi, chuyển nhanh sang tím, lam, rồi lục.
B. Trong phép thử Độ đồng đều hàm lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic ergocalciferol trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)
Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) trong điều kiện tránh ánh sáng.
Pha động: Hexan - pentan-1-ol (992 : 8).
Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị dung dịch ergocalciferol chuẩn trong *hexan (TT)* có nồng độ tương đương nồng độ của dung dịch thử.
Dung dịch thử. Đối với viên hàm lượng lớn hơn 0,25 mg, lấy 1 viên, thêm 4 ml *nước*, lắc siêu âm cho đến khi viên rã hoàn toàn. Thêm 12 ml *dimethyl sulfoxid (TT)* lắc đều, chiết với 100 ml *hexan (TT)* bằng cách lắc cơ học 30 min. Ly tâm lớp hexan và sử dụng dịch trong ở trên. Đối với viên có hàm lượng nhỏ hơn hoặc bằng 0,25 mg cũng tiến hành như trên nhưng dùng 2 ml *nước*, 6 ml *dimethyl sulfoxid (TT)* và chiết với 25 ml *hexan (TT)*.
Dung dịch phân giải: Hòa tan (không đun nóng) 50,0 mg colecalciferol chuẩn trong 10 ml *toluen (TT)*, pha loãng thành 100,0 ml với pha động, lắc đều. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml với pha động, lắc đều. Lấy 5,0 ml dung dịch thu được, đun nóng 60 min dưới sinh hàn ngược với luồng khí nitrogen trong cách thủy. Để nguội, pha loãng thành 50,0 ml với pha động, lắc đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (20 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh A (5 µm) (Partisil là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min
Cách tiến hành:
Tiêm một thể tích thích hợp dung dịch phân giải và ghi lại sắc ký đồ. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic colecalciferol lớn hơn 50 % thang đo. Trên sắc ký đồ thu được với các điều kiện sắc ký đã mô tả, thời gian lưu tương đối so với colecalciferol là 0,4 cho precolecalciferol, 0,5 cho *trans*-colecalciferol. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic precolecalciferol và *trans*-colecalciferol ít nhất là 1,0. Nếu cần, điều chỉnh thành phần pha động và tốc độ dòng để thu được độ phân giải đạt yêu cầu.
Tiêm một thể tích thích hợp dung dịch chuẩn. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic ergocalciferol lớn hơn 50 % thang đo. Tiêm cùng một thể tích dung dịch thử. Tính hàm lượng ergocalciferol, $C_{28}H_{44}O$, trong mỗi viên, dựa vào chiều cao của pic ergocalciferol trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{28}H_{44}O$ trong ergocalciferol chuẩn.
1 µg ergocalciferol tương ứng với 40 IU vitamin D.

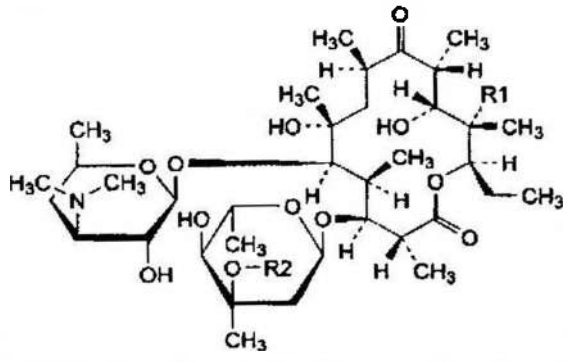
Định lượng
Hàm lượng ergocalciferol trong viên là hàm lượng trung bình của 10 viên thu được trong phép thử Độ đồng đều hàm lượng.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Vitamin D.

Hàm lượng thường dùng
1,25 mg.

ERYTHROMYCIN
Erythromycinum



Erythromycin	Công thức phân tử	R1	R2	P.t.l
A	$C_{37}H_{67}NO_{13}$	OH	CH_3	734
B	$C_{37}H_{67}NO_{12}$	H	CH_3	718
C	$C_{36}H_{65}NO_{13}$	OH	H	720

Erythromycin là một hỗn hợp các kháng sinh họ macrolid được sản xuất bằng cách nuôi cấy chủng *Streptomyces erythreus*, thành phần chính là (3*R*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,11*R*,12*R*,13*S*,14*R*)-4-[(2,6-dideoxy-3-*C*-methyl-3-*O*-methyl--L-*ribo*-hexopyranosyl)oxy]-14-ethyl-7,12,13-trihydroxy-3,5,7,9,11,13-hexamethyl-6-[(3,4,6-trideoxy-3-dimethylamino-β-D-*xylo*-hexo-pyra-nosyl)-oxy] oxacyclotetradecan-2,10-dion (erythromycin A).

Hàm lượng: Tổng hàm lượng của erythromycin A, erythromycin B và erythromycin C từ 93,0 % đến 102,0 %, tính theo chế phẩm khan.
Erythromycin B: Không quá 5,0 %
Erythromycin C: Không quá 5,0 %.

Tính chất
Bột màu trắng hay hơi vàng hoặc tinh thể không màu hay màu hơi vàng, hơi hút ẩm.
Ít tan trong nước (độ tan giảm đi khi nhiệt độ tăng), dễ tan trong ethanol 96 %, tan trong methanol.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của erythromycin chuẩn. Bỏ qua vùng từ 1980 cm^{-1} đến 2050 cm^{-1}. Nếu phổ hồng ngoại của mẫu thử và mẫu chuẩn khác nhau thì hòa tan riêng biệt 50 mg chế phẩm và 50 mg erythromycin chuẩn trong 1,0 ml *methylen clorid (TT)*, sấy ở 60 °C ở áp suất không quá 670 Pa trong 3 h, ghi phổ mới các cắn thu được.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Trộn hỗn hợp *2-propanol - dung dịch amoni acetat 15 % đã được điều chỉnh đến pH 9,6 bằng amoniac - ethyl acetat* (4 : 8 : 9). Để ổn định và lấy lớp trên.
Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg erythromycin A chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 20 mg spiramycin chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành:
Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 2/3 bản mỏng. Để bản mỏng khô ngoài không khí, sau đó phun lên bản mỏng *dung dịch anisaldehyd trong ethanol (TT)*, sấy ở 110 °C trong 5 min.
Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc, kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và vị trí, màu sắc phải khác với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).
C. Lấy khoảng 5 mg chế phẩm, thêm 5 ml *dung dịch xanthydrol 0,02 %* trong một hỗn hợp gồm *acid hydrocloric-acid acetic* (1 : 99), đun nóng trên cách thủy, màu đỏ sẽ xuất hiện.
D. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 7 M (TT)* và để yên 10 min đến 20 min, màu vàng sẽ xuất hiện.

Góc quay cực riêng
Từ -71° đến -78°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 1,00 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Tiến hành đo góc quay cực riêng của dung dịch ít nhất 30 min sau khi chuẩn bị.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Lấy 50 ml *dung dịch dikali hydrophosphat 3,5 %* được điều chỉnh tới pH 9,0 ± 0,05 bằng *acid phosphoric loãng (TT)*, thêm 400 ml *nước*, 165 ml *2-methyl-2-propanol (TT)*, 30 ml *acetonitril (TT)* và pha loãng với *nước* thành 1000 ml.
Dung môi hòa tan: Hỗn hợp *methanol - dung dịch đệm phosphat pH 7,0* (1 : 3).
Dung dịch thử: Hòa tan 40,0 mg chế phẩm trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 40,0 mg erythromycin A chuẩn trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg erythromycin B chuẩn và 10,0 mg erythromycin C chuẩn trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5 mg N-demethyl-erythromycin A chuẩn trong dung dịch đối chiếu (2). Thêm 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 25,0 ml với dung dịch đối chiếu (2).
Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 3,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml với dung môi hòa tan.
Dung dịch đối chiếu (5): Chuyển 40 mg erythromycin A chuẩn vào một chén thủy tinh và dàn đều thành một lớp bột dày không quá 1 mm. Sấy ở 130 °C trong 4 h. Để nguội và pha trong dung môi hòa tan thành 10 ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) pha tĩnh là *styren-divinylbenzen copolymer (TT)* dùng cho sắc ký (8 µm) với kích thước lỗ xốp 100 nm, nhiệt độ cột 70 °C (đặt cột và ít nhất một phần ba dây dẫn trước cột trong nồi cách thủy).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 100 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (3), (4) và (5).
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 5 lần thời gian lưu của pic erythromycin A.
Thời gian lưu tương đối so với erythromycin A (thời gian lưu khoảng 15 min) của tạp chất A khoảng 0,3; tạp chất B khoảng 0,45; erythromycin C khoảng 0,5; tạp chất C khoảng 0,9; tạp chất D khoảng 1,4; tạp chất F khoảng 1,5; erythromycin B khoảng 1,8 và tạp chất E khoảng 4,3.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa các pic tương ứng với tạp chất B và erythromycin C ít nhất là 0,8; độ phân giải giữa các pic tương ứng với tạp chất B và erythromycin A ít nhất là 5,5. Nếu cần, điều chỉnh nồng độ của 2-methyl-2-propanol trong pha động hay giảm tốc độ dòng xuống còn 1,5 ml hay 1,0 ml/min.

Giới hạn:

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng (dùng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5) để xác định các tạp đó): Tạp chất E là 0,09 và tạp chất F là 0,15.

Diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu cần, của từng tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (3,0 %).

Tổng các tạp chất không được lớn hơn 2,3 lần diện tích pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (7,0 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,02 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (4) (0,06 %), các pic tương ứng với erythromycin B và erythromycin C.

Ghi chú:

Tạp chất A: Erythromycin F.

Tạp chất B: *N*-demethylerythromycin A.

Tạp chất C: Erythromycin E.

Tạp chất D: Anhydroerythromycin A.

Tạp chất E: Erythromycin A enol ether.

Tạp chất F: Pseudoerythromycin A enol ether.

Thiocyanat

Không được quá 0,3 %.

Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng và tránh ánh sáng chiếu trực tiếp.

Dung dịch mẫu trắng: Pha loãng 1,0 ml *dung dịch sắt (III) clorid 9 %* thành 50,0 ml với *methanol (TT)*.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g (m g) chế phẩm trong 20 ml *methanol (TT)*, thêm 1,0 ml *dung dịch sắt (III) clorid 9 %* và pha loãng thành 50,0 ml với *methanol (TT)*.

Chuẩn bị hai dung dịch đối chiếu riêng rẽ:

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,100 g *kali thiocyanat (TT)* đã sấy ở 105 °C trong 1 h trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch gốc này thành 50,0 ml với *methanol (TT)*. Lấy 5,0 ml dung dịch trên, thêm 1,0 ml *dung dịch sắt (III) clorid 9 %* và pha loãng thành 50,0 ml với *methanol (TT)*. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của từng dung dịch đối chiếu (D_1, D_2) và dung dịch thử (D) ở bước sóng cực đại khoảng 492 nm.

Giá trị phù hợp:

$$S = \left(\frac{D_1}{m_1}\right) \times \left(\frac{m_2}{D_2}\right)$$

Trong đó: m_1, m_2 là khối lượng tính theo gam của kali thiocyanat được dùng để chuẩn bị các dung dịch đối chiếu tương ứng.

Phép thử chỉ có giá trị khi S từ 0,985 đến 1,015.

Tính hàm lượng % của thiocyanat theo công thức sau:

$$\left(\frac{58,08}{97,18}\right) \times \left(\frac{D}{m}\right) \times (0,5) \times \left[\left(\frac{m_1}{D_1}\right) + \left(\frac{m_2}{D_2}\right)\right]$$

58,08 là khối lượng phân tử của phần thiocyanat.

97,18 là khối lượng phân tử của kali thiocyanat.

Nước

Không quá 6,5 % (Phụ lục 10.3). Dùng 0,200 g chế phẩm. Sử dụng *dung dịch imidazol 10 % trong methanol khan* làm dung môi hòa tan.

Tro sulfat

Không quá 0,2 % (Phụ lục 9.9).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiêm 6 lần dung dịch đối chiếu (1), độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic erythromycin A không lớn hơn 1,2 %.

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

Tính hàm lượng % của erythromycin A trong dung dịch thử dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1). Tính hàm lượng % của erythromycin B và erythromycin C trong dung dịch thử dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2).

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm macrolid.

Chế phẩm

Viên nén, nang, viên bao, thuốc tiêm, thuốc mỡ tra mắt, dung dịch bôi ngoài, kem bôi ngoài.

VIÊN NÉN ERYTHROMYCIN
Tabellae Erythromycini

Là viên nén bao tan trong ruột chứa erythromycin.

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

Hàm lượng erythromycin, $C_{37}H_{67}NO_{13}$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

A. Lắc một lượng bột viên có chứa khoảng 0,1 g erythromycin với 5 ml *cloroform (TT)* (nếu bột viên có màu, lắc thêm cùng than hoạt), lọc lấy dịch lọc và bốc hơi đến khô. Phổ hồng ngoại của cắn phải phù hợp với phổ hồng ngoại của erythromycin chuẩn (Phụ lục 4.2).

B. Lấy một lượng bột viên có chứa khoảng 3 mg erythromycin, thêm 2 ml *aceton (TT)*, lắc kỹ và thêm 2 ml *acid hydrocloric*

đậm đặc (TT). Xuất hiện màu vàng cam, rồi chuyển sang màu đỏ tím đậm. Thêm 2 ml *cloroform (TT)* và lắc kỹ, để yên cho tách lớp, lớp cloroform có màu tím.

Độ rã
Chế phẩm phải đáp ứng phép thử độ rã của viên bao tan trong ruột (Phụ lục 11.7), nhưng thời gian thử trong môi trường acid là 60 min.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).
Cân chính xác khoảng 0,1 g bột thuốc, sấy trong chân không ở 60 °C trong 3 h.

Định lượng
Cân 20 viên (loại bỏ vỏ bao), tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 25 mg erythromycin vào bình định mức dung tích 100 ml. Thêm 50 ml *methanol (TT)*, lắc kỹ và thêm *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch.
Tiến hành định lượng theo chuyên luận "Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật" (Phụ lục 13.9).
Tính hàm lượng của erythromycin, $C_{37}H_{67}NO_{13}$, trong viên. 1000 IU tương ứng với 1 mg $C_{37}H_{67}NO_{13}$.

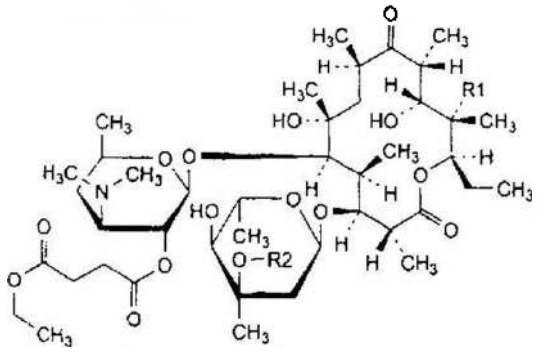
Bảo quản
Trong đồ đựng kín. Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
250 mg; 500 mg.

ERYTHROMYCIN ETHYL SUCCINAT

Erythromycini ethyl succinas



Thành phần ethyl succinat	Công thức phân tử	R1	R2	P.t.l
Erythromycin A	$C_{43}H_{75}NO_{16}$	OH	CH_3	862
Erythromycin B	$C_{43}H_{75}NO_{15}$	H	CH_3	846
Erythromycin C	$C_{42}H_{73}NO_{16}$	OH	H	848

$C_{43}H_{75}NO_{16}$ P.t.l: 862,0

Erythromycin ethyl succinat chứa thành phần chính là (3*R*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,11*R*,12*R*,13*S*,14*R*)-4-[(2,6-dideoxy-3-*C*-methyl-3-*O*-methyl-α-L-*ribo*-hexopyranosyl)oxy]-14-ethyl-7,12,13-trihydroxy-3,5,7,9,11, 13-hexamethyl-6-[[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)-2-*O*-(4-ethoxy-4-oxobutanoyl)-β-D-*xylo*-hexopyranosyl]oxy] oxacyclotetradecan-2,10-dion (erythromycin A ethyl-succinat).

Hàm lượng
Tổng hàm lượng erythromycin A, erythromycin B và erythromycin C không được ít hơn 78,0 % tính theo chế phẩm khan.
Erythromycin B: Không được quá 5,0 % tính theo chế phẩm khan.
Erythromycin C: Không được quá 5,0 % tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh trắng, dễ hút ẩm. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong aceton, trong ethanol và methanol.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của erythromycin ethyl succinat chuẩn.

Góc quay cực riêng
Từ -70° đến -82°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *aceton (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi, đo góc quay cực sau ít nhất 30 min kể từ khi chuẩn bị dung dịch thử.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Lấy 50 ml *dung dịch dikali hydrophosphat 3,5 %* đã được điều chỉnh pH đến 8,0 bằng *dung dịch acid phosphoric 10 % (TT)*, thêm 400 ml *nước*, 165 ml *2-methyl-2-propanol (TT)* và 30 ml *acetonitril (TT)*, pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*. Lọc và đuổi khí.
Dung dịch thủy phân: Dung dịch dikali hydrophosphat 2,0 % được điều chỉnh pH đến 8,0 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,115 g chế phẩm trong 25 ml *methanol (TT)*, thêm 20 ml dung dịch thủy phân, trộn đều và để yên ở nhiệt độ phòng trong ít nhất 12 h. Pha loãng thành 50,0 ml bằng dung dịch thủy phân.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 40,0 mg erythromycin A chuẩn trong 10 ml *methanol (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml với dung dịch thủy phân.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg erythromycin B chuẩn và 10,0 mg erythromycin C chuẩn trong 50 ml *methanol (TT)*. Thêm 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 100,0 ml bằng dung dịch thủy phân.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 2 mg N-demethyl-erythromycin A chuẩn (tạp chất B) trong 20 ml dung dịch đối chiếu (2).

Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 3,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml với hỗn hợp đồng thể tích của *methanol (TT)* và dung dịch thủy phân.
Dung dịch đối chiếu (5): Hòa tan 40 mg erythromycin A chuẩn đã được sấy ở 130 °C trong 3 h trong 10 ml *methanol (TT)*, pha loãng thành 20 ml với dung dịch thủy phân.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *styren-divinylbenzen copolymer* (8 µm, kích thước lỗ xốp 100 nm), duy trì nhiệt độ cột ở 70 °C (đặt cột và ít nhất một phần ba dây dẫn trước cột trong nồi cách thủy).
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 215 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 200 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1), (3), (4) và (5).
Tiến hành sắc ký với thời gian rửa giải gấp 5 lần thời gian lưu của erythromycin A, lấy tích phân sau khi xuất hiện pic của dung dịch thủy phân.
Thời gian lưu tương đối so với erythromycin A (thời gian lưu khoảng 15 min) của pic dung dịch thủy phân phải nhỏ hơn 0,3, của tạp chất B khoảng 0,45; của erythromycin C khoảng 0,5; tạp chất C (erythromycin E) khoảng 0,9; tạp chất G (erythromycin *N*-ethyl succinat) khoảng 1,3; tạp chất D (anhydroerythomycin A) khoảng 1,4; tạp chất F (pseudoerythromycin A enol ether) khoảng 1,5; của erythromycin B khoảng 1,8 và của tạp chất E (erythromycin A enol ether) khoảng 4,3.
Tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic của tạp chất B và pic của erythromycin C ít nhất là 0,8; giữa pic của tạp chất B và pic của erythromycin A ít nhất là 5,5.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng: Tạp chất E là 0,09; tạp chất F là 0,15; tạp chất G là 0,14. Dùng dung dịch đối chiếu (5) để xác định pic của tạp chất E và F.
Từng tạp chất có diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (4) (3,0 %).
Tổng diện tích các pic tạp không được lớn hơn 1,67 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (4) (5,0 %).
Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,02 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (4) (0,06 %).

Erythromycin tự do
Không được quá 6,0 %.
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)
Pha động: Trộn 35 thể tích *acetonitril (TT)* với 65 thể tích dung dịch có chứa 0,34 % *kali dihydrophosphat (TT)* và 0,20 % *triethylamin (TT)* đã được điều chỉnh pH đến 3,0 bằng *dung dịch acid phosphoric 2 M (TT)*. Lọc và đuổi khí.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *acetonitril (TT)*, pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 75,0 mg erythromycin A chuẩn trong *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 195 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành: Tiêm dung dịch thử, tiến hành sắc ký với thời gian rửa giải gấp 2 lần thời gian lưu của erythromycin ethyl succinat (thời gian lưu khoảng 24 min). Tiêm dung dịch đối chiếu, tiến hành sắc ký với thời gian rửa giải gấp 2 lần thời gian lưu của erythromycin A (thời gian lưu khoảng 8 min).
Giới hạn: Diện tích pic của erythromycin tự do không được lớn hơn diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu.

Nước
Không được quá 3,0 % (Phụ lục 10.3)
Dùng 0,30 g chế phẩm và dung dịch có chứa 10,0 % *imidazol (TT)* trong *methanol khan (TT)* làm dung môi.

Tro sulfat
Không được quá 0,3 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Pha động, dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và (2), điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tính phù hợp của hệ thống: Độ lệch chuẩn tương đối của 6 lần tiêm lặp lại dung dịch đối chiếu (1) không được lớn hơn 1,2 %.
Tính toán hàm lượng của erythromycin A dùng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Tính toán hàm lượng của erythromycin B và erythromycin C dùng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

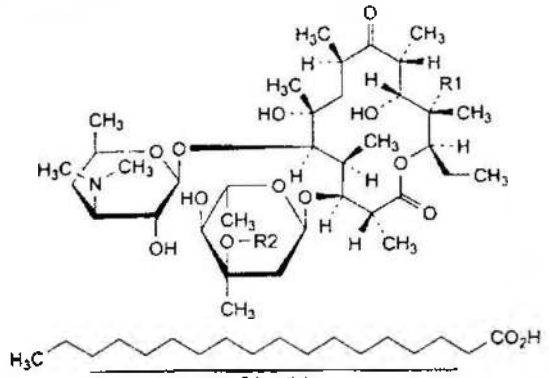
Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm macrolid.

Chế phẩm
Hỗn dịch uống, viên nén.

ERYTHROMYCIN STEARAT

Erythromycini stearas



Erythromycin	Công thức	R1	R2
A	$C_{55}H_{103}NO_{15}$	OH	CH_3
B	$C_{55}H_{103}NO_{14}$	H	CH_3
C	$C_{54}H_{101}NO_{15}$	OH	H

Erythromycin stearat là hỗn hợp các muối stearat của erythromycin và acid stearic. Thành phần chính là octadecanoat của (3*R*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,11*R*,12*R*,13*S*,14*R*)-4-[(2,6-dideoxy-3-C-methyl-3-*O*-methyl-α-L-*ribo*-hexopyranosyl)oxy]-14-ethyl-7,12,13-trihydroxy-3,5,7,9,11,13-hexamethyl-6-[[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)-β-D-*xylo*-hexopyranosyl]oxy]oxacyclotetradecan-2,10-dion (erythromycin A stearat). Chế phẩm được sản xuất bằng phương pháp lên men.

Hàm lượng

Tổng hàm lượng erythromycin A, erythromycin B và erythromycin C ít nhất phải bằng 60,5 % (tính theo chế phẩm khan).

Erythromycin B: Không được quá 5,0 %.

Erythromycin C: Không được quá 5,0 %.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, tan trong aceton và trong methanol. Dung dịch có thể vẩn đục.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của erythromycin stearat chuẩn.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Trộn đều hỗn hợp *2-propanol - dung dịch amoni acetat 15 % đã điều chỉnh đến pH 9,6 bằng amoniac - ethyl acetat* (4 : 8 : 9). Để yên và dùng lớp trên.

Dung dịch thử: Hòa tan 28 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg erythromycin A chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg *acid stearic (TT)* trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 2/3 chiều dài bản mỏng. Làm khô bản mỏng trong không khí.

Phát hiện A: Phun bản mỏng bằng dung dịch có chứa 0,02 % *dicloroftuorescein (TT)* và 0,01 % *rhodamin B (TT)* trong *ethanol 96 % (TT).* Để bản mỏng tiếp xúc với hơi trên nồi cách thủy trong vài giây. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng đèn tử ngoại đặt ở bước sóng 365 nm. Trên sắc ký đồ, dung dịch thử cho hai vết, một vết có vị trí tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (1), vết còn lại tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Phát hiện B: Phun bản mỏng bằng *dung dịch anisaldehyd trong ethanol (TT),* sấy bản mỏng ở 110 °C trong 5 min, quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có một vết tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí, màu sắc và kích thước.

Acid stearic tự do

Không được quá 14,0 % $C_{18}H_{36}O_2$, tính theo chế phẩm khan. Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong 50 ml *methanol (TT).* Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ),* xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Tính thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* cần dùng cho 1 g chế phẩm (n_1 ml).

Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong 30 ml *methylen clorid (TT).* Nếu dung dịch bị đục, lọc lấy dịch lọc. Lắc phần cắn 3 lần, mỗi lần với 25 ml *methylen clorid (TT),* lọc, tráng phễu lọc với *methylen clorid (TT).* Gộp các dịch lọc và dịch rửa, bốc hơi trên cách thủy còn 30 ml. Thêm 50 ml *acid acetic băng (TT),* chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ),* xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Tính thể tích *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* cần dùng cho 1 g chế phẩm (n_2 ml).

Tính hàm lượng (%) của $C_{18}H_{36}O_2$ theo công thức sau:

$$2{,}845(n_1 - n_2) \times \frac{100}{100 - h}$$

Trong đó: h là hàm lượng nước của chế phẩm (%).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Lấy 50 ml *dung dịch dikali hydrophosphat 3,5 %* đã điều chỉnh đến pH 9,0 ± 0,05 bằng *dung dịch acid phosphoric 2 M (TT)* vào bình định mức dung tích 1000 ml. Thêm 400 ml *nước,* 165 ml *tert-butanol (TT)* và 30 ml *acetonitril (TT),* thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch thử: Hòa tan 55,0 mg chế phẩm trong 5,0 ml *methanol (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với *dung dịch đệm pH 8,0 (TT_1).* Ly tâm và dùng phần dung dịch trong.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 40,0 mg erythromycin A chuẩn trong 5 ml *methanol (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml bằng *dung dịch đệm pH 8,0 (TT_1).*

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg erythromycin B chuẩn và 10,0 mg erythromycin C chuẩn trong 25,0 ml *methanol (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng *dung dịch đệm pH 8,0 (TT_1)*.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5 mg *N*-demethyl-erythromycin A chuẩn trong dung dịch đối chiếu (2), thêm 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 25,0 ml bằng dung dịch đối chiếu (2).

Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 3,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml với hỗn hợp đồng thể tích của *methanol (TT)* và *dung dịch đệm pH 8,0 (TT_1)*.

Dung dịch đối chiếu (5): Lấy 40 mg erythromycin A chuẩn cho vào một lọ thủy tinh để tạo thành một lớp có chiều dày không quá 1 mm. Đun nóng ở 130 °C trong 4 h. Để nguội, hòa tan trong hỗn hợp *methanol - dung dịch đệm pH 8,0 (TT_1)* (1 : 3) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *styren-divinylbenzen copolymer* (8 µm) với kích thước lỗ xốp khoảng 100 nm.

Nhiệt độ cột: 70 °C, đặt cột trong bể cách thủy và nhúng ngập ít nhất 1/3 ống dẫn vào cột.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.

Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 100 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (3), (4), (5) với thời gian gấp 5 lần thời gian lưu của erythromycin A.

Thời gian lưu tương đối so với erythromycin A (khoảng 15 min) là: Tạp chất A khoảng 0,3; tạp chất B khoảng 0,45; erythromycin C khoảng 0,5; tạp chất C khoảng 0,9; tạp chất D khoảng 1,4; tạp chất F khoảng 1,5; erythromycin B khoảng 1,8 và tạp chất E khoảng 4,3.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic của tạp chất B với pic của erythromycin C ít nhất là 0,8; độ phân giải giữa pic của tạp chất B với pic của erythromycin A ít nhất là 5,5, nếu cần thì điều chỉnh nồng độ của tert-butanol trong pha động hoặc giảm tốc độ dòng xuống 1,5 ml/min hoặc 1,0 ml/min.

Giới hạn:

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất E với 0,09; tạp chất F với 0,15.

Bất kỳ tạp chất nào: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu cần, không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (3 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (6 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,02 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,06 %), bỏ qua pic của erythromycin B và erythromycin C.

Ghi chú:

Tạp chất A: (3*R*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,11*R*,12*R*,13*S*,14*R*)-4-[(2,6-dideoxy-3-*C*-methyl-3-*O*-methyl-α-L-*ribo*-hexopyranosyl)oxy]-14-ethyl-7,12,13-trihydroxy-3-(hydroxymethyl)-5,7,9,11,13-pentamethyl-6-[[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)-β-D-*xylo*-hexopyranosyl]oxy]oxacyclotetradecan-2,10-dion (erythromycin F).

Tạp chất B: (3*R*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,11*R*,12*R*,13*S*,14*R*)-4-[(2,6-dideoxy-3-*C*-methyl-3-*O*-methyl-α-L-*ribo*-hexopyranosyl)oxy]-14-ethyl-7,12,13-trihydroxy-3,5,7,9,11,13-hexamethyl-6-[[3,4,6-trideoxy-3-(methylamino)- β-D-*xylo*-hexopyranosyl]oxy]oxacyclotetradecan-2,10-dion (3''-*N*-desmethylerythromycin A).

Tạp chất C: (2*S*,4a*R*,4'*R*,5'*S*,6'*S*,7*R*,8*S*,9*R*,10*R*,12*R*,14*R*,15*R*,16*S*)-7-ethyl-5',8,9,14-tetrahydroxy-4'-methoxy-4',6',8,10,12,14,16-heptamethyl-15-[[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)-β-D-*xylo*-hexopyranosyl]oxy]hexadecahydrospiro[5*H*,11*H*-1,3-dioxino[5,4-c]oxacyclotetradecin-2,2'-pyran]-5,11-dion (erythromycin E).

Tạp chất D: (1*S*,2*R*,3*R*,4*S*,5*R*,8*R*,9*S*,10*S*,11*R*,12*R*,14*R*)-9-[(2,6-dideoxy-3-*C*-methyl-3-*O*-methyl-α-L-*ribo*-hexopyranosyl)oxy]-5-ethyl-3-hydroxy-2,4,8,10,12,14-hexamethyl-11-[[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)-β-D-*xylo*-hexopyranosyl]oxy]-6,15,16-trioxatricyclo[10.2.1.1^{1,4}]hexadecan-7-on (anhydroerythromycin A).

Tạp chất E: (2*R*,3*R*,4*S*,5*R*,8*R*,9*S*,10*S*,11*R*,12*R*)-9-[(2,6-dideoxy-3-*C*-methyl-3-*O*-methyl-α-L-*ribo*-hexopyranosyl)oxy]-5-ethyl-3,4-dihydroxy-2,4,8,10,12,14-hexamethyl-11-[[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)-β-D-*xylo*-hexopyranosyl]oxy]-6,15-dioxabicyclo[10.2.1]pentadec-1(14)-en-7-on (erythromycin A enol ether).

Tạp chất F: (2*R*,3*R*,6*R*,7*S*,8*S*,9*R*,10*R*)-7-[(2,6-dideoxy-3-*C*-methyl-3-*O*-methyl-α-L-*ribo*-hexopyranosyl)oxy]-3-[(1*R*,2*R*)-1,2-dihydroxy-1-methylbutyl]-2,6,8,10,12-pentamethyl-9-[[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)-β-D-*xylo*-hexopyranosyl]oxy]-4,13-dioxabicyclo[8.2.1]tridec-1(12)-en-5-on (pseudoerythromycin A enol ether).

Nước

Không được quá 4,0 % (Phụ lục 10.3).

Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong dung dịch có chứa 10 % *imidazol (TT)* trong *methanol khan (TT)*.

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.

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

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiêm dung dịch đối chiếu (1), hệ số đối xứng của pic erythromycin A không được lớn hơn 5, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic erythromycin A thu được từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch đối chiếu (1) không được lớn hơn 1,2.

Tính hàm lượng erythromycin A dựa vào sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), hàm lượng erythromycin B và erythromycin C dựa vào sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm macrolid.

Chế phẩm
Viên nén.

NANG ERYTHROMYCIN STEARAT
Capsulae Erythromycini stearatis

Là nang cứng có chứa erythromycin stearat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng erythromycin, $C_{37}H_{67}NO_{13}$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Lấy lượng bột thuốc trong 10 nang và nghiền thành bột mịn.
A. Cân một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 0,1 g erythromycin stearat, thêm 10 ml *nước*, lắc mạnh, gạn bỏ lớp nước, lấy cắn thêm 10 ml *methanol (TT)*, lắc và lọc, bay hơi dịch lọc đến khô. Sấy cắn thu được ở áp suất không quá 0,7 kPa. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của erythromycin stearat hay với phổ của erythromycin stearat chuẩn.
B. Lấy một lượng bột thuốc có chứa khoảng 3 mg erythromycin, thêm 2 ml *aceton (TT)*, lắc kỹ và thêm 2 ml *acid hydrocloric (TT)*. Xuất hiện màu vàng cam, sau chuyển sang đỏ, rồi sang màu đỏ tím đậm. Thêm 2 ml *cloroform (TT)* và lắc kỹ, để yên cho tách lớp, lớp cloroform có màu tím.
C. Lấy một lượng bột thuốc có chứa khoảng 50 mg erythromycin, thêm 10 ml *cloroform (TT)*, lắc kỹ và lọc. Bay hơi dịch lọc đến khô. Đun nóng nhẹ 0,1 g cắn thu được với 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và 10 ml *nước* cho đến sôi. Có những hạt nhỏ dạng dầu nổi lên bề mặt. Để nguội, hớt lớp váng dầu cho vào ống nghiệm, thêm 3 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*, đun nóng, rồi làm nguội, dung dịch chuyển sang dạng gel. Thêm 10 ml *nước* nóng và lắc, dung dịch có bọt. Lấy 1 ml dung dịch thu được, thêm *dung dịch calci clorid 10 % (TT)*, xuất hiện tủa dạng hạt không tan trong *acid hydrocloric (TT)*.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).
Cân chính xác khoảng 0,1 g bột thuốc, sấy trong chân không ở 60 °C trong 3 h.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch natri acetat 2,722 %* được điều chỉnh tới pH 5,0 bằng *acid acetic băng (TT)*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc (bỏ 20 ml dịch lọc đầu). Hút chính xác 5,0 ml dịch lọc vào bình định mức dung tích 100 ml, thêm 40 ml *acid acetic băng (TT)*, 10 ml *dung dịch 4-dimethylamino benzaldehyd 0,5 % (kl/kl) trong acid acetic băng* và thêm hỗn hợp *acid acetic băng - acid hydrocloric đậm đặc* (35 : 70) vừa đủ đến vạch, lắc đều. Để yên 15 min.
Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị dung dịch của erythromycin stearat chuẩn trong môi trường hòa tan có nồng độ tương đương với dung dịch mẫu thử. Lấy chính xác 5,0 ml dung dịch chuẩn thu được và tiến hành như với dung dịch thử.
Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của các dung dịch thử và dung dịch chuẩn thu được ở bước sóng 485 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là 5 ml môi trường hòa tan được tiến hành tương tự như dung dịch thử.
Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng erythromycin, $C_{37}H_{67}NO_{13}$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng
Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình bột thuốc trong nang và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với 25 mg erythromycin vào bình định mức dung tích 100 ml. Thêm 50 ml *methanol (TT)*, lắc kỹ và thêm *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch. Tiến hành định lượng theo chuyên luận "Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật" (Phụ lục 13.9).
Tính hàm lượng của erythromycin, $C_{37}H_{67}NO_{13}$, trong nang. 1000 IU tương ứng với 1 mg $C_{37}H_{67}NO_{13}$.

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

Loại thuốc
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
250 mg; 500 mg.

VIÊN NÉN ERYTHROMYCIN STEARAT
Tabellae Erythromycini stearatis

Là viên nén hoặc viên bao chứa erythromycin stearat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng erythromycin, $C_{37}H_{67}NO_{13}$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

Lấy 10 viên (loại bỏ vỏ bao, nếu có) và nghiền thành bột mịn.

A. Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,1 g erythromycin stearat, thêm 10 ml *nước*, lắc mạnh, gạn bỏ lớp nước, lấy cắn thêm 10 ml *methanol (TT)*, lắc và lọc, bay hơi dịch lọc đến khô. Sấy cắn thu được ở áp suất không quá 0,7 kPa. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của erythromycin stearat hay với phổ của erythromycin stearat chuẩn.

B. Lấy một lượng bột viên có chứa khoảng 3 mg erythromycin, thêm 2 ml *aceton (TT)*, lắc kỹ và thêm 2 ml *acid hydrocloric (TT)*. Xuất hiện màu vàng cam, sau chuyển sang đỏ, rồi sang màu đỏ tím đậm. Thêm 2 ml *cloroform (TT)* và lắc kỹ, để yên cho tách lớp, lớp cloroform có màu tím.

C. Lấy một lượng bột viên có chứa khoảng 50 mg erythromycin, thêm 10 ml *cloroform (TT)*, lắc kỹ và lọc. Bay hơi dịch lọc đến khô. Đun nóng nhẹ 0,1 g cắn thu được với 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và 10 ml *nước* cho đến sôi. Có những hạt nhỏ dạng dầu nổi lên bề mặt. Để nguội, hớt lớp váng dầu cho vào ống nghiệm, thêm 3 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*, đun nóng, rồi làm nguội, dung dịch chuyển sang dạng gel. Thêm 10 ml *nước* nóng và lắc, dung dịch có bọt. Lấy 1 ml dung dịch thu được, thêm *dung dịch calci clorid 10 % (TT)*, xuất hiện tủa dạng hạt không tan trong *acid hydrocloric (TT)*.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch natri acetat 2,722 %* được điều chỉnh tới pH 5,0 bằng *acid acetic băng (TT)*.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành:

Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc (bỏ 20 ml dịch lọc đầu). Hút chính xác 5,0 ml dịch lọc vào bình định mức dung tích 100 ml, thêm 40 ml *acid acetic băng (TT)*, 10 ml *dung dịch 4-dimethylamino benzaldehyd 0,5 % (kl/kl) trong acid acetic băng* và thêm hỗn hợp *acid acetic băng - acid hydrocloric đậm đặc* (35 : 70) vừa đủ đến vạch, lắc đều. Để yên 15 min.

Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị dung dịch của erythromycin stearat chuẩn trong môi trường hòa tan có nồng độ tương đương với dung dịch mẫu thử. Lấy chính xác 5,0 ml dung dịch chuẩn thu được và tiến hành như với dung dịch thử.

Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của các dung dịch thử và dung dịch chuẩn thu được ở bước sóng 485 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là 5 ml môi trường hòa tan được tiến hành tương tự như dung dịch thử.

Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng erythromycin, $C_{37}H_{67}NO_{13}$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).

Cân chính xác khoảng 0,1 g bột thuốc, sấy trong chân không ở 60 °C trong 3 h.

Định lượng

Cân 20 viên (loại bỏ vỏ bao, nếu có), tính khối lượng trung bình của viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 25 mg erythromycin vào bình định mức dung tích 100 ml. Thêm 50 ml *methanol (TT)*, lắc kỹ và thêm *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch. Tiến hành định lượng theo chuyên luận "Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật" (Phụ lục 13.9).

Tính hàm lượng của erythromycin, $C_{37}H_{67}NO_{13}$, trong viên. 1000 IU tương ứng với 1 mg $C_{37}H_{67}NO_{13}$.

Bảo quản

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

Loại thuốc

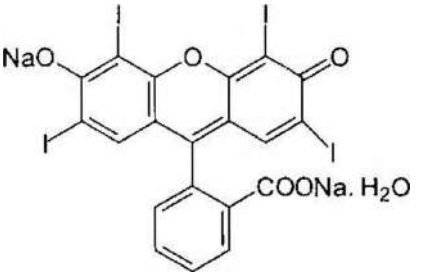
Thuốc kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

250 mg; 500 mg.

ERYTHROSIN

Erythrosinum



$C_{20}H_6I_4Na_2O_5$ P.t.l: 880

hoặc $C_{20}H_6I_4K_2O_5$ P.t.l: 912

Erythrosin là (tetraiodo-2, 4, 5, 7 oxo-3 oxydo-6 3*H*-xanthenyl-9)-2 benzoat dinatri hoặc dikali, phải chứa không dưới 85,0 % $C_{20}H_6I_4Na_2O_5$ hoặc $C_{20}H_6I_4K_2O_5$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột màu đỏ sẫm. Dễ tan trong nước, tan được trong ethanol, ít tan trong aceton, thực tế không tan trong methylen clorid. Dung dịch 0,1 % có màu đỏ cam và các vết bám trên thành ống nghiệm có màu tím. Ở pH 2,5 xuất hiện tủa có màu.

Định tính

Dung dịch S: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50 ml bằng *nước*.

A. Lấy 1 ml dung dịch S pha loãng thành 100 ml bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*. Phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch tạo thành trong khoảng từ 230 nm đến 550 nm cho 3 cực đại hấp thụ ở bước sóng (262 ± 5) nm; (309 ± 5) nm và (525 ± 3) nm.
B. Trong phần Tạp chất màu liên quan, vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) có vị trí, màu sắc và kích thước tương tự vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
C. Khi đun nóng chế phẩm cho hơi có màu tím.

Độ trong của dung dịch
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2)

Tạp chất màu liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Amoniac - nước - ethanol - butanol (10 : 25 : 25 : 50).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 40 mg chế phẩm trong hỗn hợp *nước - methanol* (50 : 50) và pha loãng thành 10 ml với cùng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 2 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng hỗn hợp *nước - methanol* (50 : 50).
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 40 mg erythrosin chuẩn trong hỗn hợp *nước - methanol* (50 : 50) và pha loãng thành 50 ml với cùng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100 ml bằng hỗn hợp *nước - methanol* (50 : 50).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên trên bản mỏng 5 µl các dung dịch chuẩn và thử trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng sắc ký ra và để khô ngoài không khí. Quan sát sắc ký đồ dưới ánh sáng ban ngày. Nếu trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) có vết phụ thì không vết phụ nào đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Chất tan trong ether
Không được quá 0,5 %.
Cân 2,0 g chế phẩm đã được sấy khô trước trong chân không ở 60 °C cho vào bình định mức dung tích 200 ml, thêm *ether khan (TT)* tới đủ thể tích. Lắc bằng máy lắc cơ học trong vòng 30 min, lọc. Lấy 100 ml dịch lọc, bốc hơi trong chân không ở nhiệt độ không quá 20 °C. Làm khô cắn trong bình hút ẩm tới khối lượng không đổi. Khối lượng của cắn không được quá 5 mg.

Chất không tan trong nước
Không được quá 0,2 %.
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong 200 ml *nước* bằng cách đun nóng khoảng 90 °C. Làm nguội rồi lọc qua một phễu lọc thủy tinh xốp số 16 đã được sấy đến khối lượng không đổi và cân bì. Rửa cắn với *nước* tới khi dịch rửa không màu, sấy cắn ở 100 °C đến 105 °C tới khối lượng không đổi. Khối lượng cắn thu được không quá 4 mg.

Amin thơm bậc nhất
Không được quá 40 phần triệu.
Hòa tan cắn thu được trong phần Chất tan trong ether trong 10 ml *toluen (TT)*. Lấy 2,5 ml dung dịch này thêm 6 ml *nước* và 4 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Lắc mạnh, để cho phân lớp và gạn bỏ lớp dung môi hữu cơ, thêm vào lớp nước 0,4 ml *dung dịch natri nitrit 0,25 %*. Trộn đều và để yên trong 1 min. Thêm 0,8 ml *dung dịch amoni sulfamat 0,5 %*, để yên trong 1 min. Thêm 2 ml *dung dịch naphthylethylendiamin dihydroclorid 0,5 % (TT)*. Để yên trong 1 h. Nếu dung dịch đem kiểm tra có màu, thì màu của nó không được đậm hơn màu của dung dịch chuẩn được chuẩn bị tương tự nhưng thay pha nước bằng 1 ml *dung dịch naphthylamin 0,001 %*, 5 ml *nước* và 4 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.

Crom hòa tan
Không được quá 50 phần triệu.
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong 25 ml *nước* bằng cách đun nóng khoảng 90 °C, để nguội, thêm *nước* cho đủ 25 ml và lọc qua phễu thủy tinh xốp số 16.
Dung dịch chuẩn: Pha các dung dịch chuẩn 0,5 phần triệu, 1 phần triệu và 2 phần triệu từ dung dịch crom chuẩn 100 phần triệu.
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 357,9 nm, sử dụng đèn cathod rỗng crom làm nguồn phát xạ và ngọn lửa không khí - acetylen.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị dung dịch mẫu đối chiếu.

Iodid
Không được quá 0,1 %.
Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong 5 ml *nước*, thêm 0,5 ml *acid nitric (TT)*, lọc, rửa giấy lọc bằng *nước* để thu được 10 ml dịch lọc. Thêm 1 ml *dung dịch kali cromat 0,5 %* và 5 ml *cyclohexan (TT)*, lắc và để yên. Chuẩn bị song song trong cùng điều kiện dung dịch chuẩn có 1 ml *dung dịch kali iodid 0,0131 %*. Màu sắc của lớp dung môi hữu cơ ở dung dịch thử không được đậm hơn màu của lớp dung môi hữu cơ ở dung dịch chuẩn.

Định lượng
Hòa tan 75,0 mg chế phẩm đã được làm khô trong chân không ở 60 °C đến khối lượng không đổi trong *dung dịch amoni acetat 0,1542 %* mới pha và pha loãng với dung môi này thành 100,0 ml. Lấy 2,0 ml dung dịch tạo thành pha loãng thành 200,0 ml với *dung dịch amoni acetat 0,1542 %*. Song song tiến hành một dung dịch chuẩn với 75,0 mg erythrosin chuẩn đã được sấy khô trong chân không ở 60 °C đến khối lượng không đổi.

Đo phổ hấp thụ khả kiến (Phụ lục 4.1) của dung dịch chuẩn và thử, dùng *dung dịch amoni acetat 0,1542 %* làm mẫu trắng, dung dịch thử cho một cực đại hấp thụ ở bước sóng khoảng 525 nm và bước sóng cực đại này sai lệch không quá 5 nm so với bước sóng cực đại hấp thụ của dung dịch chuẩn trong cùng điều kiện.

Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của hai dung dịch chuẩn và thử ở bước sóng cực đại hấp thụ, dùng *dung dịch amoni acetat 0,1542 %* làm mẫu trắng.

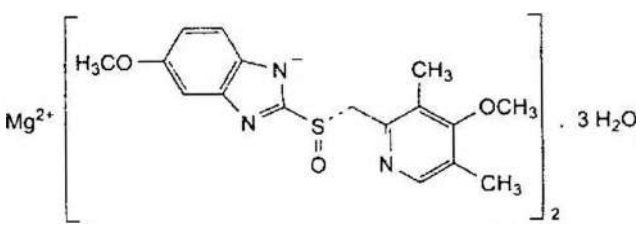
Từ độ hấp thụ đo được và nồng độ của các dung dịch chuẩn tính ra hàm lượng $C_{20}H_6I_4Na_2O_5$ hoặc $C_{20}H_6I_4K_2O_5$.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín.

ESOMEPRAZOL MAGNESI TRIHYDRAT

Esomeprazolum magnesicum trihydricum



$C_{34}H_{36}MgN_6O_6S_2.3H_2O$ P.t.l: 767,2

Esomeprazol magnesi trihydrat là magnesi bis[5-methoxy-2-[(*S*)-[(4-methoxy-3,5-dimethylpyridin-2-yl)methyl] sulfinyl]-1*H*-benzimidazol-1-id] trihydrat, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{34}H_{36}MgN_6O_6S_2$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột màu trắng hoặc gần như trắng, hơi hút ẩm.

Khó tan trong nước, tan trong methanol, thực tế không tan trong heptan.

Định tính

Có thể chọn một trong bốn nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B, C.

Nhóm II: A, C, E.

Nhóm III: A, B, D.

Nhóm IV: A, D, E.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của esomeprazol magnesi trihydrat chuẩn.

B. Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, Phương pháp 1) như mô tả trong phép thử Magnesi. Dung dịch thử phải cho vạch hấp thụ cực đại ở 285,2 nm.

C. Góc quay cực riêng: Từ -137° đến -155°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

D. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Tạp chất đồng phân đối quang.

E. Nung khoảng 0,5 g chế phẩm như ở phép thử Tro sulfat (Phụ lục 9.9, phương pháp 2). Hòa tan cặn trong 10 ml *nước*. 2 ml dung dịch thu được phải cho phản ứng đặc trưng của ion magnesi (Phụ lục 8.1).

Độ hấp thụ ánh sáng

Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. Lọc dung dịch này qua màng lọc 0,45 µm. Độ hấp thụ của dung dịch thu được tại bước sóng 440 nm (Phụ lục 4.1) không được lớn hơn 0,20.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Áp dụng phương pháp chuẩn hóa. Sử dụng các dung dịch mới pha.

Pha động: Acetonitril - dung dịch dinatri hydrophosphat (TT) 0,14 % được chỉnh đến pH 7,6 bằng acid phosphoric (27 : 73).

Dung dịch thử: Hòa tan 3,5 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 1 mg omeprazol chuẩn và 1 mg tạp chất D chuẩn của omeprazol trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 3 mg omeprazol chuẩn dùng để định tính pic (chứa tạp chất E) trong pha động và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (12,5 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).

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

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 40 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 5 lần thời gian lưu của esomeprazol.

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo esomeprazol chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất E. Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) để xác định pic của các tạp chất D.

Thời gian lưu tương đối so với pic esomeprazol (thời gian lưu khoảng 9 min): Tạp chất E khoảng 0,6; tạp chất D khoảng 0,8.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất D và pic của omeprazol ít nhất là 3,0. Nếu cần thiết, điều chỉnh pH của pha nước của pha động hoặc điều chỉnh tỷ lệ acetonitril trong pha động; tăng pH sẽ làm tăng độ phân giải.

Giới hạn:

Tạp chất D: Không được quá 0,2 %.

Tạp chất E: Không được quá 0,1 %.

Các tạp chất khác: Không được quá 0,10 %.

Tổng tạp: Không được quá 0,5 %.

Bỏ qua tất cả các pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được từ sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: 5-methoxy-1*H*-benzimidazol-2-thiol.

Tạp chất B: 2-[(*RS*)-[(3,5-dimethylpyridin-2-yl)methyl]sulfinyl] -5-methoxy-1*H*-benzimidazol.

Tạp chất C: 5-methoxy-2-[[(4-methoxy-3,5-dimethylpyridin-2-yl)methyl]sulfanyl]-1*H*-benzimidazol (ufiprazol).

Tạp chất D: 5-methoxy-2-[[(4-methoxy-3,5-dimethylpyridin-2-yl)methyl]sulfonyl]-1*H*-benzimidazol (omeprazol sulfon).

Tạp chất E: 4-methoxy-2-[[(*RS*)-(5-methoxy-1*H*-benzimidazol-2-yl)sulfinyl]methyl]-3,5- dimethylpyridin 1-oxyd.

Tạp chất đồng phân đối quang

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - dung dịch đệm pH 6,0 (65 : 435).

Dung dịch đệm pH 6,0: Trộn 70 ml dung dịch *natri dihydrophosphat (TT)* 15,6 % với 20 ml dung dịch *dinatri hydrophosphat (TT)* 17,91 %, pha loãng hỗn hợp này thành 1000 ml bằng *nước*. Pha loãng 250 ml dung dịch thu được thành 1000,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đệm pH 11,0: Trộn 11 ml dung dịch *natri phosphat tribasic (TT)* 9,5 % với 22 ml dung dịch *dinatri hydrophosphat (TT)* 17,91%, pha loãng hỗn hợp này thành 1000,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch thử: Hòa tan 40 mg chế phẩm trong 5 ml *methanol (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml bằng dung dịch đệm pH 11,0. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng dung dịch đệm pH 11,0.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2 mg omeprazol chuẩn trong dung dịch đệm pH 11,0 và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng dung dịch đệm pH 11,0.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 50,0 ml bằng dung dịch đệm pH 11,0.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (10 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh *silica gel AGP (α_1-acid glucoprotein) dùng cho sắc ký phân tách đồng phân quang học* (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 302 nm.

Tốc độ dòng: 0,6 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Với các điều kiện sắc ký như trên, thứ tự rửa giải các chất lần lượt là tạp chất F, esomeprazol; thời gian lưu của esomeprazol khoảng 4 min.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất F và pic của esomeprazol ít nhất là 3,0. Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), tỉ số tín hiệu trên nhiễu ít nhất là 10 đối với pic tạp chất F.

Tính hàm lượng phần trăm của tạp chất F theo công thức sau:

$$100 \times \left(\frac{r_i}{r_s}\right)$$

Trong đó:

r_i: Là diện tích pic tạp chất F trong sắc ký đồ thu được của dung dịch thử.

r_s: Là tổng diện tích các pic esomeprazol và pic tạp chất F trong sắc ký đồ thu được của dung dịch thử.

Giới hạn:

Tạp chất F: Không được quá 0,2 %.

Ghi chú:

Tạp chất F: 5-methoxy-2-[(*R*)-[(4-methoxy-3,5-dimethylpyridin-2-yl)methyl]sulfinyl]-1*H*-benzimidazol ((*R*)-omeprazol).

Magnesi

Từ 3,30 % đến 3,55 %, tính theo chế phẩm khan.

Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 20 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* bằng cách thêm từ từ dung dịch acid vào chế phẩm và pha loãng thành 100,0 ml với *nước*. Pha loãng 10,0 ml dung dịch này thành 200,0 ml với *nước*. Thêm 4 ml *dung dịch lanthan clorid (TT)* vào 10,0 ml dung dịch thu được ở trên và pha loãng thành 100,0 ml với *nước*.

Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị các dung dịch chuẩn, dùng *dung dịch magnesi chuẩn 1000 phần triệu Mg (TT)*, pha loãng nếu cần với một hỗn hợp gồm 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* pha trong 1000,0 ml *nước*.

Đo độ hấp thụ ở bước sóng 285,2 nm, dùng đèn cathod rỗng của magnesi làm nguồn phát xạ và ngọn lửa không khí - acetylen.

Nước

6,0 % đến 8,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,200 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - dung dịch dinatri hydrophosphat (TT) 0,14 % được chỉnh đến pH 7,6 bằng *acid phosphoric (TT)* (35 : 65).

Dung dịch đệm pH 11,0: Trộn 11 ml dung dịch *natri phosphat tribasic (TT)* 9,5 % với 22 ml dung dịch *dinatri hydrophosphat (TT)* 17,91 % và pha loãng thành 100,0 ml với *nước*.

Dung dịch thử: Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong khoảng 10 ml *methanol (TT)*, thêm 10 ml dung dịch đệm pH 11,0 và pha loãng thành 200,0 ml với *nước*.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan 10,0 mg omeprazol chuẩn trong khoảng 10 ml *methanol (TT)*, thêm 10 ml dung dịch đệm pH 11,0 và pha loãng thành 200,0 ml với *nước*.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (12,5 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại tại bước sóng 280 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 1,5 lần thời gian lưu của esomeprazol.
Thời gian lưu của esomeprazol khoảng 4 min.
Tính hàm lượng phần trăm của $C_{34}H_{36}MgN_6O_6S_2$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của $C_{34}H_{36}MgN_6O_6S_2$ trong omeprazol chuẩn.
1 g omeprazol tương đương với 1,032 g esomeprazol magnesi.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc ức chế bơm proton.

Chế phẩm
Viên nén, nang.

NANG TAN TRONG RUỘT ESOMEPRAZOL
Capsulae Esomeprazoli

Là nang cứng chứa các vi hạt được bao tan trong ruột có chứa esomeprazol magnesi.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng esomeprazol, $C_{17}H_{19}N_3O_3S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm phosphat pH 6,0: Dung dịch chứa *dinatri hydrophosphat dihydrat* 2,66 % và *natri dihydrophosphat monohydrat* 5,52 %.
Pha động: Trộn 150 ml *acetonitril (TT)* với 85 ml dung dịch đệm phosphat pH 6,0 và pha loãng bằng *nước* thành 1000 ml.
Dung môi pha mẫu: Hòa tan 5,24 g *natri phosphat tribasic (TT)* trong *nước*, thêm 110 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 0,5 M* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 20 mg omeprazol chuẩn vào bình định mức 100 ml, thêm 20 ml *ethanol 96 % (TT)* và lắc kỹ để hòa tan, thêm dung môi pha mẫu đến vạch, lắc đều. Hút 10 ml dung dịch thu được vào bình định mức 100 ml, thêm *nước* đến vạch, lắc đều.
Dung dịch thử: Cân một lượng thuốc trong nang tương ứng với 20 mg esomeprazol vào bình định mức 200 ml, thêm 120 ml dung môi pha mẫu và lắc khoảng 20 min để hòa tan vi hạt, lắc siêu âm thêm vài phút nếu cần để hòa tan hoàn toàn. Thêm 40 ml *ethanol 96 % (TT)* và lắc siêu âm vài phút. Để nguội và thêm dung môi pha mẫu đến vạch, lắc đều, lọc. Pha loãng 10 ml dịch lọc thành 100 ml bằng *nước*, lắc đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4 mm) được nhồi các hạt silica hình cầu có gắn α_1-acid glycoprotein (5 µm) (Loại cột tương tự L41 của dược điển Mỹ) .
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 302 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Thứ tự rửa giải: pic đồng phân *R* ra trước, pic esomeprazol (đồng phân *S*) ra sau. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa các pic của hai đồng phân không nhỏ hơn 1,0.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử. Tính tỉ số giữa thời gian lưu của pic esomeprazol thu được từ dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Tỉ số này phải nằm trong khoảng từ 0,98 đến 1,02.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Giai đoạn trong môi trường acid
Môi trường hòa tan: 300 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 2 h.
Giai đoạn trong môi trường đệm
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: Dung dịch đệm phosphat pH 6,8.
Sau 2 h thử trong môi trường acid, tiếp tục thử trong môi trường đệm phosphat pH 6,8 như sau: Thêm 700 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 0,086 M* vào mỗi bình thử. Điều chỉnh đến pH 6,8 ± 0,05 bằng *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT).*
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành:
Xác định lượng esomeprazol hòa tan bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm phosphat pH 6,8: Thêm 300 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* vào 700 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 0,086 M*, điều chỉnh đến pH 6,8 ± 0,05 bằng *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT).*
Pha động và điều kiện sắc ký: Thực hiện như mô tả trong phần Định lượng.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan chính xác một lượng omeprazol chuẩn trong *ethanol 96 % (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 2 mg/ml. Tiếp tục pha loãng bằng dung dịch đệm phosphat pH 6,8 để được dung dịch có nồng độ L/1000 mg/ml (L là hàm lượng ghi trên nhãn mg/viên). Thêm ngay 2,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,25 M* vào 10,0 ml dung dịch này, lắc đều. Lưu ý, không để dung dịch lâu trước khi thêm dung dịch natri hydroxyd.

Dung dịch thử: Sau 30 min trong môi trường đệm pH 6,8, hút dịch hòa tan, lọc. Hút 5,0 ml dịch lọc thu được vào trong một ống nghiệm có chứa sẵn 1,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,25 M*. Lắc đều. Tránh ánh sáng.

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

Tính lượng esomeprazol hòa tan từ mỗi nang dựa vào diện tích pic esomeprazol trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích pic omeprazol trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn và từ hàm lượng của $C_{17}H_{19}N_3O_3S$ trong omeprazol chuẩn.

Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng esomeprazol, $C_{17}H_{19}N_3O_3S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong cả hai giai đoạn (Phụ lục 11.4, mục 4.3).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung môi pha mẫu: Như mô tả trong phần Định lượng.

Dung dịch đệm phosphat pH 7,6: Trộn 5,2 ml *dung dịch natri dihydrophosphat 1 M* với 63 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 0,5 M* và pha loãng với *nước* thành 1000 ml.

Pha động A: Trộn 100 ml *acetonitril (TT)* với 100 ml *dung dịch đệm phosphat pH 7,6* và pha loãng với *nước* thành 1000 ml.

Pha động B: Trộn 800 ml *acetonitril (TT)* với 10 ml *dung dịch đệm phosphat pH 7,6* và pha loãng với *nước* thành 1000 ml.

Dung dịch kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Hòa tan một lượng omeprazol chuẩn và omeprazol sulfon chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ mỗi chất khoảng 1 mg/ml. Hút 1,0 ml dung dịch thu được vào bình định mức 100 ml, thêm hỗn hợp *dung môi pha mẫu - nước* (1 : 4) đến vạch, lắc đều. Tiếp tục pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 10,0 ml bằng cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch thử: Lấy các vi hạt trong 20 nang và nghiền thành bột. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 20 mg esomeprazol vào bình định mức 200 ml, thêm 20 ml *methanol (TT)* và lắc 30 s. Thêm 40 ml dung môi pha mẫu, lắc tay 30 s và lắc siêu âm vài phút. Để nguội và thêm *nước* đến định mức, lắc đều, lọc. Lưu ý, dung dịch ổn định trong vòng 3 h nếu bảo quản tránh ánh sáng.

Điều kiện sắc ký:

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

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 302 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 10	100 → 80	0 → 20
10 - 30	80 → 0	20 → 100
30 - 31	0 → 100	100 → 0
31 - 45	100	0

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử tính phù hợp của hệ thống, thời gian lưu tương đối của omeprazol sulfon so với omeprazol là 0,93. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic omeprazol sulfon và pic omeprazol không nhỏ hơn 2,5.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử. Tính hàm lượng từng tạp chất dựa vào diện tích pic tạp chất (nếu có) trên sắc ký đồ của dung dịch thử so với tổng diện tích các pic đáp ứng trên sắc đồ của dung dịch thử.

Giới hạn: Omeprazol sulfon không được quá 0,5 %; các tạp chất khác mỗi loại không được quá 0,2 %; tổng các tạp chất không được quá 2,0 %.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm phosphat pH 7,3: Trộn 10,5 ml *dung dịch natri dihydrophosphat 1 M* với 60 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 0,5 M* và pha loãng với *nước* thành 1000 ml.

Pha động: Trộn 350 ml *acetonitril (TT)* với 500 ml dung dịch đệm phosphat pH 7,3 và pha loãng bằng *nước* thành 1000 ml.

Dung môi pha mẫu: Hòa tan 5,24 g *natri phosphat tribasic (TT)* trong *nước*, thêm 110 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 0,5 M* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 10 mg omeprazol chuẩn vào bình định mức 250 ml, hòa tan bằng 10 ml *ethanol 96 % (TT)*, thêm 40 ml dung môi pha mẫu và pha loãng bằng *nước* đến định mức, lắc đều. Dung dịch này có nồng độ omeprazol khoảng 0,04 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của thuốc trong nang và trộn đều. Cân một lượng thuốc tương ứng 20 mg esomeprazol vào bình định mức 100 ml, thêm 60 ml dung môi pha mẫu, lắc khoảng 20 min để hòa tan các vi hạt, lắc siêu âm thêm vài phút nếu cần để hòa tan hoàn toàn. Thêm 20 ml *ethanol 96 % (TT)* lắc siêu âm vài phút. Để nguội và thêm dung môi pha mẫu đến vạch, lắc đều, lọc. Hút 10,0 ml dịch lọc vào bình định mức 50 ml và thêm *nước* tới vạch, lắc đều. Bảo quản dung dịch tránh ánh sáng.

Điều kiện sắc ký:

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

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 302 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic omeprazol trên sắc ký đồ thu được trong 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.

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

Tính hàm lượng esomeprazol, $C_{17}H_{19}N_3O_3S$, dựa vào diện tích pic esomeprazol thu được trên sắc ký đồ của dung

dịch thử, diện tích pic omeprazol thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{17}H_{19}N_3O_3S$ trong omeprazol chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống loét dạ dày, tá tràng, ức chế bơm proton.

Hàm lượng thường dùng
20 mg, 40 mg.

VIÊN NÉN BAO TAN TRONG RUỘT ESOMEPRAZOL
Tabellae Esomeprazoli

Là viên nén bao tan trong ruột có chứa esomeprazol magnesi. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng esomeprazol, $C_{17}H_{19}N_3O_3S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm phosphat pH 6,0: Dung dịch chứa *dinatri hydrophosphat dihydrat* 2,66 % và *natri dihydrophosphat monohydrat* 5,52 %.
Pha động: Trộn 150 ml *acetonitril (TT)* với 85 ml dung dịch đệm phosphat pH 6,0 và pha loãng bằng *nước* thành 1000 ml.
Dung môi pha mẫu: Hòa tan 5,24 g *natri phosphat tribasic (TT)* trong *nước*, thêm 110 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 0,5 M* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 20 mg omeprazol chuẩn vào bình định mức 100 ml, thêm 20 ml *ethanol 96 % (TT)* và lắc kỹ để hòa tan, thêm dung môi pha mẫu đến vạch, lắc đều. Hút 10 ml dung dịch thu được vào bình định mức 100 ml, thêm *nước* đến vạch, lắc đều.
Dung dịch thử: Cân một lượng bột viên tương ứng với 20 mg esomeprazol vào bình định mức 200 ml, thêm 120 ml dung môi pha mẫu và lắc khoảng 20 min để hòa tan, lắc siêu âm thêm vài phút nếu cần để hòa tan hoàn toàn. Thêm 40 ml *ethanol 96 % (TT)* và lắc siêu âm vài phút. Để nguội và thêm dung môi pha mẫu đến vạch, lắc đều, lọc. Pha loãng 10 ml dịch lọc thành 100 ml bằng *nước*, lắc đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4 mm) được nhồi các hạt silica hình cầu có gắn α_1-acid glycoprotein (5 µm) (Loại cột tương tự L41 của dược điển Mỹ).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 302 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Thứ tự rửa giải: pic đồng phân *R* ra trước, pic esomeprazol (đồng phân *S*) ra sau. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa các pic của hai đồng phân không nhỏ hơn 1,0.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử. Tính tỉ số giữa thời gian lưu của pic esomeprazol thu được từ dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Tỉ số này phải nằm trong khoảng từ 0,98 đến 1,02.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Giai đoạn trong môi trường acid
Môi trường hòa tan: 300 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 2 h.
Giai đoạn trong môi trường đệm
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: Dung dịch đệm phosphat pH 6,8.
Sau 2 h thử trong môi trường acid, tiếp tục thử trong môi trường đệm phosphat pH 6,8 như sau: Thêm 700 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 0,086 M* vào mỗi bình thử. Điều chỉnh đến pH 6,8 ± 0,05 bằng *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT).*
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành:
Xác định lượng esomeprazol hòa tan bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm phosphat pH 6,8: Thêm 300 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* vào 700 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 0,086 M*, điều chỉnh đến pH 6,8 ± 0,05 bằng *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT).*
Pha động và *điều kiện sắc ký:* Thực hiện như mô tả trong phần Định lượng.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan chính xác một lượng omeprazol chuẩn trong *ethanol 96 % (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 2 mg/ml. Tiếp tục pha loãng bằng dung dịch đệm phosphat pH 6,8 để được dung dịch có nồng độ L/1000 mg/ml (L là hàm lượng ghi trên nhãn mg/viên). Thêm ngay 2,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,25 M* vào 10,0 ml dung dịch này, lắc đều. Lưu ý, không để dung dịch lâu trước khi thêm dung dịch natri hydroxyd.
Dung dịch thử: Sau 30 min trong môi trường đệm pH 6,8, hút dịch hòa tan, lọc. Hút 5,0 ml dịch lọc thu được vào trong một ống nghiệm có chứa sẵn 1,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,25 M.* Lắc đều. Tránh ánh sáng.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính lượng esomeprazol hòa tan từ mỗi viên dựa vào diện tích pic esomeprazol trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích pic omeprazol trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn và từ hàm lượng của $C_{17}H_{19}N_3O_3S$ trong omeprazol chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng esomeprazol, $C_{17}H_{19}N_3O_3S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan (Phụ lục 11.4, mục 4.3).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung môi pha mẫu: Như mô tả ở mục Định lượng.
Dung dịch đệm phosphat pH 7,6: Trộn 5,2 ml *dung dịch natri dihydrophosphat 1 M* với 63 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 0,5 M* và pha loãng với *nước* thành 1000 ml.
Pha động A: Trộn 100 ml *acetonitril (TT)* với 100 ml *dung dịch đệm phosphat pH 7,6* và pha loãng với *nước* thành 1000 ml.
Pha động B: Trộn 800 ml *acetonitril (TT)* với 10 ml *dung dịch đệm phosphat pH 7,6* và pha loãng với *nước* thành 1000 ml.
Dung dịch kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Hòa tan một lượng omeprazol chuẩn và omeprazol sulfon chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ mỗi chất khoảng 1 mg/ml. Hút 1,0 ml dung dịch thu được vào bình định mức 100 ml, thêm hỗn hợp *dung môi pha mẫu - nước* (1 : 4) đến vạch, lắc đều. Tiếp tục pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 10,0 ml bằng cùng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 20 mg esomeprazol vào bình định mức 200 ml, thêm 20 ml *methanol (TT)* và lắc 30 s. Thêm 40 ml dung môi pha mẫu, lắc tay 30 s và lắc siêu âm vài phút. Để nguội và thêm *nước* đến định mức, lắc đều, lọc. Lưu ý, dung dịch ổn định trong vòng 3 h nếu bảo quản tránh ánh sáng.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) nhồi pha tĩnh C (3 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 302 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 10	100 → 80	0 → 20
10 - 30	80 → 0	20 → 100
30 - 31	0 → 100	100 → 0
31 - 45	100	0

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử tính phù hợp của hệ thống, thời gian lưu tương đối của omeprazol sulfon so với omeprazol là 0,93. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic omeprazol sulfon và pic omeprazol không nhỏ hơn 2,5.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử. Tính hàm lượng từng tạp chất dựa vào diện tích pic tạp chất (nếu có) trên sắc ký đồ của dung dịch thử so với tổng diện tích các pic đáp ứng trên sắc đồ của dung dịch thử.
Giới hạn: Omeprazol sulfon không được quá 0,5 %; các tạp chất khác mỗi loại không được quá 0,2 %; tổng các tạp chất không được quá 2,0 %.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm phosphat pH 7,3: Trộn 10,5 ml *dung dịch natri dihydrophosphat 1 M* với 60 ml dung dịch *dinatri hydrophosphat 0,5 M* và pha loãng với *nước* thành 1000 ml.
Pha động: Trộn 350 ml *acetonitril (TT)* với 500 ml dung dịch đệm phosphat pH 7,3 và pha loãng bằng *nước* thành 1000 ml.
Dung môi pha mẫu: Hòa tan 5,24 g *natri phosphat tribasic (TT)* trong *nước*, thêm 110 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 0,5 M* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 10 mg omeprazol chuẩn vào bình định mức 250 ml, hòa tan bằng 10 ml *ethanol 96 % (TT)*, thêm 40 ml dung môi pha mẫu và pha loãng bằng *nước* đến định mức, lắc đều. Dung dịch này có nồng độ omeprazol khoảng 0,04 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân một lượng bột viên tương ứng 20 mg esomeprazol vào bình định mức 100 ml, thêm 60 ml dung môi pha mẫu, lắc siêu âm để hòa tan. Thêm 20 ml *ethanol 96 % (TT)* lắc siêu âm vài phút, Để nguội và thêm dung môi pha mẫu đến vạch, lắc đều, lọc. Hút 10,0 ml dịch lọc vào bình định mức 50 ml và thêm *nước* tới vạch, lắc đều. Bảo quản dung dịch tránh ánh sáng.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 302 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic omeprazol trên sắc ký đồ thu được trong 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng esomeprazol, $C_{17}H_{19}N_3O_3S$, có trong viên dựa vào diện tích pic esomeprazol thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích pic omeprazol thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{17}H_{19}N_3O_3S$ trong omeprazol chuẩn.

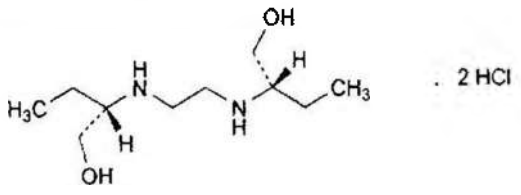
Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống loét dạ dày, tá tràng, ức chế bơm proton.

Hàm lượng thường dùng
20 mg, 40 mg.

ETHAMBUTOL HYDROCLORID

Ethambutoli hydrochloridum



$C_{10}H_{26}Cl_2N_2O_2$ P.t.l: 277,2

Ethambutol hydroclorid là (2*S*,2'*S*)-2,2'-(ethylendiimino) dibutan-1-ol dihydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{10}H_{26}Cl_2N_2O_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng, hút ẩm. Dễ tan trong nước, tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D, E.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của ethambutol hydroclorid chuẩn.

B. Ở phần Tạp chất A, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải giống với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) về vị trí, màu sắc và kích thước.

C. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 10 ml *nước*, thêm 0,2 ml *dung dịch đồng (II) sulfat 12,5 % (TT)*. Thêm 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, dung dịch có màu xanh da trời.

D. Chế phẩm cho phản ứng định tính (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

E. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử Tạp chất liên quan.

pH

Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong 10 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, pH của dung dịch thu được phải từ 3,7 đến 4,0 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất A

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

Bản mỏng: *Silica gel G.*

Dung môi khai triển: *Amoniac - nước - methanol* (10 : 15 : 75).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng *methanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50,0 mg *2-aminobutanol (TT)* (tạp chất A) trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng *methanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 50 mg ethambutol hydroclorid chuẩn và 5 mg *2-aminobutanol (TT)* trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được 2/3 bản mỏng. Làm khô bản mỏng trong không khí, sấy bản mỏng ở 110 °C trong 10 min. Để nguội, phun lên bản mỏng *dung dịch ninhydrin (TT)*, sấy bản mỏng ở 110 °C trong 5 min. Trên sắc ký đồ dung dịch thử (1), vết tương ứng với 2-aminobutanol không được đậm màu hơn vết thu được từ dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (2) cho hai vết tách rõ ràng.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.

Pha động A: *Methanol - nước* (50 : 50).

Pha động B: *Methanol.*

Dung dịch thử: Phân tán 4,0 mg chế phẩm trong 4,0 ml *acetonitril (TT)*, thêm 100 µl *triethylamin (TT)*. Siêu âm hỗn hợp trong 5 min. Thêm 15 µl *(R)-(+)-α-methylbenzyl isocyanat (TT)* và đun nóng ở 70 °C trong 20 min.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 0,50 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng vào *acetonitril (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (2): Tiến hành như mô tả ở phần Dung dịch thử nhưng thay chế phẩm bằng 4,0 mg ethambutol chuẩn để đánh giá tính phù hợp của hệ thống (chứa tạp chất B).

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (3 µm).

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 30	71	29
30 - 35	71 → 0	29 → 100
35 - 37	0	100
37 - 38	0 → 71	100 → 29

Thời gian lưu tương đối so với ethambutol (thời gian lưu khoảng 14 min) của tạp chất B khoảng 1,3.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của ethambutol với pic của tạp chất B ít nhất là 4,0.

Giới hạn:

Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %).

Các tạp chất khác có thời gian lưu tương đối so với ethambutol từ 0,75 đến 1,5: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,2 lần diện tích pic ethambutol trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất (tạp chất B và các tạp chất có thời gian lưu tương đối so với ethambotol từ 0,75 đến 1,5) không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 2-Aminobutan-1-ol.
Tạp chất B: (2*R*,2'*S*)-2,2'-(ethylendiimino)dibutan-1-ol (meso-ethambutol).
Tạp chất C: (2*R*,2'*R*)-2,2'-(ethylendiimino)dibutan-1-ol ((*R*,*R*)-ethambutol).
Tạp chất D: 1,2-Dicloroethan (ethylen clorid).

Tạp chất D (1,2-dicloroethan)
Không được quá 5 phần triệu (Phụ lục 10.14).

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 20 ml bằng cùng dung môi. Lấy 12 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng 10 ml *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(0,500 g; 105 °C; 3 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 50 ml *nước*, thêm 1,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* và chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Đọc thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* thêm vào giữa 2 điểm uốn.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 27,72 mg $C_{10}H_{26}Cl_2N_2O_2$.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Thuốc chống lao.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN ETHAMBUTOL
Tabellae Ethambutoli

Là viên nén chứa ethambutol hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu dưới đây:

Hàm lượng ethambutol hydroclorid, $C_{10}H_{24}N_2O_2.2HCl$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Chiết một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg ethambutol hydroclorid với 5 ml *methanol (TT)*, lọc và bốc hơi dịch lọc đến khô. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được phải phù hợp với phổ đối chiếu của ethambutol hydroclorid.
B. Chiết một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,1 g ethambutol hydroclorid với 10 ml *nước*, lọc và thêm vào dịch lọc 2 ml *dung dịch đồng sulfat 1 %*, sau đó thêm tiếp 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, xuất hiện màu xanh dương.

2-Aminobutanol
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Amoniac 13,5 M - nước - methanol (10 : 15 : 75).
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên chứa 0,50 g ethambutol hydroclorid trong 5 min với 10 ml *methanol (TT)*. Lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch 2-aminobutanol chuẩn có nồng độ 0,050 % trong *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, để khô bản mỏng ngoài không khí, sấy ở 110 °C trong 5 min, để nguội, phun lên bản mỏng *dung dịch ninhydrin (TT)*, sau đó sấy ở 110 °C trong 5 min. Bất kỳ vết nào tương ứng với 2-aminobutanol trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1 %).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Pha động, dung dịch chuẩn, điều kiện sắc ký và cách tiến hành như phần Định lượng.
Dung dịch thử: Lọc một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, pha loãng dịch lọc nếu cần với *nước* để được dung dịch có nồng độ khoảng 0,3 mg/ml.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng ethambutol hydroclorid, $C_{10}H_{24}N_2O_2.2HCl$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm: Pha loãng 1 ml *triethylamin (TT)* với *nước* thành 1000 ml, điều chỉnh đến pH 7,0 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Pha động: *Acetonitril - dung dịch đệm* (50 : 50). Điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.
Chuẩn bị các dung dịch sau ngay trước khi dùng.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng ethambutol hydroclorid chuẩn trong nước để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,3 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 30 mg ethambutol hydroclorid vào bình định mức 100 ml, thêm 50 ml *nước* và lắc siêu âm khoảng 15 min. Pha loãng bằng *nước* vừa đủ đến vạch và trộn đều. Lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *nitrilsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Nhiệt độ cột: 30 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 200 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic đáp ứng từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng ethambutol hydroclorid, $C_{10}H_{24}N_2O_2.2HCl$, có trong viên dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{10}H_{24}N_2O_2.2HCl$ trong ethambutol hydroclorid chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Thuốc chống lao.

Hàm lượng thường dùng
200 mg, 400 mg.

VIÊN NÉN ETHAMBUTOL VÀ ISONIAZID
Tabellae Ethambutoli et Isoniazidi

Là viên nén bao phim chứa ethambutol hydroclorid và isoniazid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" mục "Viên bao" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng ethambutol hydroclorid, $C_{10}H_{24}N_2O_2.2HCl$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng isoniazid, $C_6H_7N_3O$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Định lượng isoniazid, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic isoniazid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
B. Trong phần Định lượng ethambutol hydroclorid, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic ethambutol hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

2-Aminobutanol
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Amoniac - nước - methanol* (10 : 15 : 75).
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên chứa 0,50 g ethambutol hydroclorid trong 5 min với 10 ml *methanol (TT)*. Lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch 2-aminobutanol chuẩn có nồng độ 0,050 % trong *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, để khô bản mỏng ngoài không khí, sấy ở 110 °C trong 5 min, để nguội, phun lên bản mỏng *dung dịch ninhydrin (TT)*, sau đó sấy ở 110 °C trong 5 min. Bất kỳ vết nào tương ứng với 2-aminobutanol trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1 %).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Định lượng ethambutol hydroclorid hòa tan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, điều kiện sắc ký và cách tiến hành như phần Định lượng ethambutol hydroclorid.
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch chuẩn ethambutol hydroclorid có nồng độ 0,44 mg/ml trong *nước*.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng ethambutol hydroclorid, $C_{10}H_{24}N_2O_2.2HCl$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.
Định lượng isoniazid hòa tan
Phương pháp quang phổ tử ngoại (Phụ lục 4.1).
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Pha loãng dịch lọc bằng *nước* để thu được dung dịch có nồng độ tương đương với dung dịch chuẩn.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch isoniazid chuẩn có nồng độ 0,015 mg/ml trong *nước*.
Đo độ hấp thụ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử ở bước sóng cực đại khoảng 263 nm, cốc đo dày 1 cm, dùng *nước* làm mẫu trắng.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng isoniazid, $C_6H_7N_3O$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng

Định lượng ethambutol hydroclorid

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm: Pha loãng 1 ml *triethylamin (TT)* với *nước* thành 1000 ml, điều chỉnh đến pH 7,0 bằng *acid phosphoric (TT)*.

Pha động: *Acetonitril - dung dịch đệm* (50 : 50). Điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.

Dung môi pha mẫu: Hòa tan 1,4 g *dinatri hydrophosphat khan (TT)* trong 1000 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 6,8 bằng *dung dịch acid phosphoric 10 % (TT)*.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng ethambutol hydroclorid chuẩn trong dung môi pha mẫu để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,6 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, loại bỏ vỏ bao nếu cần, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột chế phẩm, tương ứng với khoảng 60 mg ethambutol hydroclorid vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml dung môi pha mẫu và lắc siêu âm khoảng 10 min. Pha loãng bằng dung môi pha mẫu vừa đủ đến vạch và trộn đều. Lọc.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *nitrilsilyl silica gel* (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 200 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 50 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi: Số đĩa lý thuyết không nhỏ hơn 1500, hệ số đối xứng pic ethambutol hydroclorid không được lớn hơn 3,0 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic ethambutol hydroclorid trong các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.

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

Tính hàm lượng ethambutol hydroclorid, $C_{10}H_{24}N_2O_2.2HCl$, có trong viên dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{10}H_{24}N_2O_2.2HCl$ trong ethambutol hydroclorid chuẩn.

Định lượng isoniazid

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm: Hòa tan 1,4 g *dinatri hydrophosphat khan (TT)* trong 1000 ml *nước* và điều chỉnh tới pH 6,8 bằng *dung dịch acid phosphoric 10 % (TT)*.

Pha động: *Acetonitril - dung dịch đệm* (4 : 96).

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng cân chính xác khoảng 40 mg isoniazid chuẩn trong 50,0 ml *methanol (TT)* và pha loãng với dung dịch đệm để thu được 500,0 ml.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, loại bỏ vỏ bao nếu cần, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 40 mg isoniazid vào bình định mức 500 ml, thêm 50,0 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm 10 min để hòa tan và thêm dung dịch đệm vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc.

Điều kiện sắc ký:

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

Nhiệt độ cột 30 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi: Số đĩa lý thuyết không nhỏ hơn 1500, hệ số đối xứng của pic isoniazid không lớn hơn 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic isoniazid trong các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.

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

Tính hàm lượng isoniazid, $C_6H_7N_3O$, có trong viên dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_6H_7N_3O$ trong isoniazid chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín. Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc chống lao.

Hàm lượng thường dùng

Ethambutol 400 mg và isoniazid 150 mg.

ETHANOL

Ethanolum

Alcol tuyệt đối, alcol khan

$CH_3 - CH_2 - OH$

C_2H_6O P.t.l: 46,07

Ethanol phải chứa ít nhất 99,5 % (tt/tt) hoặc 99,2 % (kl/kl) C_2H_5OH ở 20 °C, tính từ tỷ trọng tương đối bằng cách tra bảng độ cồn (Phụ lục 19).

Tính chất

Chất lỏng không màu, trong, dễ bay hơi, sôi ở 78 °C, có mùi thơm đặc trưng của rượu, dễ cháy, cháy với ngọn lửa màu xanh da trời, không có khói, hút ẩm. Hòa trộn với nước, cloroform và với ether.

Định tính, Độ trong và màu sắc của dung dịch, Giới hạn acid - kiềm, Độ hấp thụ ánh sáng, Tạp chất bay hơi, Cắn còn lại sau khi bay hơi

Phải đáp ứng các yêu cầu và phương pháp thử như đã qui định trong chuyên luận Ethanol 96%.

Tỷ trọng tương đối

Từ 0,790 đến 0,793 (Phụ lục 6.5).

Bảo quản

Tránh ẩm, ở nhiệt độ từ 8 °C đến 15 °C, dễ cháy.

CÁC ETHANOL LOÃNG
Dilutum ethanolum

Các ethanol loãng dược dụng có chứa 90 %, 80 %, 70 %, 60 %, 50 %, 45 %, 25 % và 20 % (tt/tt) C_2H_5OH. Các ethanol loãng này được điều chế theo mô tả dưới đây, điều chỉnh thể tích cuối cùng được thực hiện ở nhiệt độ như nhau (20 °C) cũng giống như ở nhiệt độ được đo đối với ethanol 96 %.
Chú ý: Khi trộn ethanol với nước, có kèm theo sự giảm thể tích và tăng nhiệt độ.

Độ trong và màu sắc của dung dịch, Giới hạn acid – kiềm, Tạp chất bay hơi, Cắn còn lại sau khi bay hơi
Phải đáp ứng yêu cầu và phương pháp thử như đã quy định trong chuyên luận Ethanol 96%.

Ethanol 90 %
Alcol 90 %.
Pha loãng 934 ml ethanol 96 % thành 1000 ml bằng *nước*.
Hàm lượng ethanol từ 89,6 % đến 90,5 % (tt/tt).
Tỷ trọng biểu kiến (Phụ lục 6.5): Từ 826,4 kg·m^{-3} đến 829,4 kg·m^{-3}.

Ethanol 80 %
Alcol 80 %.
Pha loãng 831 ml ethanol 96 % thành 1000 ml bằng *nước*.
Hàm lượng ethanol từ 79,5 % đến 80,3 % (tt/tt).
Tỷ trọng biểu kiến (Phụ lục 6.5): Từ 857,4 kg·m^{-3} đến 859,6 kg·m^{-3}.

Ethanol 70 %
Alcol 70 %.
Pha loãng 727 ml ethanol 96 % thành 1000 ml bằng *nước*.
Hàm lượng ethanol từ 69,5 % đến 70,4 % (tt/tt).
Tỷ trọng biểu kiến (Phụ lục 6.5): Từ 883,5 kg·m^{-3} đến 885,8 kg·m^{-3}.

Ethanol 60 %
Alcol 60 %.
Pha loãng 623 ml ethanol 96 % thành 1000 ml bằng *nước*.
Hàm lượng ethanol từ 59,7 % đến 60,2 % (tt/tt).
Tỷ trọng biểu kiến (Phụ lục 6.5): Từ 907,6 kg·m^{-3} đến 908,7 kg·m^{-3}.

Ethanol 50 %
Alcol 50 %.
Pha loãng 519 ml ethanol 96 % thành 1000 ml bằng *nước*.
Hàm lượng ethanol từ 49,6 % đến 50,2 % (tt/tt).
Tỷ trọng biểu kiến (Phụ lục 6.5): Từ 928,6 kg·m^{-3} đến 929,8 kg·m^{-3}.

Ethanol 45 %
Alcol 45 %.
Pha loãng 468 ml ethanol 96 % thành 1000 ml bằng *nước*.
Hàm lượng ethanol từ 44,7 % đến 45,3 % (tt/tt).
Tỷ trọng biểu kiến (Phụ lục 6.5): Từ 938,0 kg·m^{-3} đến 939,0 kg·m^{-3}.

Ethanol 25 %
Alcol 25 %.
Pha loãng 259 ml ethanol 96 % thành 1000 ml bằng *nước*.
Hàm lượng ethanol từ 24,6 % đến 25,4 % (tt/tt).
Tỷ trọng biểu kiến (Phụ lục 6.5): Từ 966,6 kg·m^{-3} đến 967,5 kg·m^{-3}.

Ethanol 20 %
Alcol 20 %.
Pha loãng 207 ml ethanol 96 % thành 1000 ml bằng *nước*.
Hàm lượng ethanol từ 19,5 % đến 20,5 % (tt/tt).
Tỷ trọng biểu kiến (Phụ lục 6.5): Từ 972,0 kg·m^{-3} đến 973,1 kg·m^{-3}.

ETHANOL 96 %
Ethanolum 96 %

$$CH_3 - CH_2 - OH$$

C_2H_6O P.t.l: 46,07

Ethanol 96 % là hỗn hợp ethanol và nước, chứa từ 92,6 % (kl/kl) đến 95,2 % (kl/kl) hoặc từ 95,1 % (tt/tt) đến 96,9 % (tt/tt) C_2H_5OH ở 20 °C, tính từ tỷ trọng tương đối bằng cách tra bảng đo độ cồn (Phụ lục 19).

Tính chất
Chất lỏng không màu, trong suốt, dễ bay hơi, có mùi đặc trưng, dễ cháy, khi cháy không có khói và ngọn lửa có màu xanh. Hòa lẫn với nước, cloroform, ether và glycerin.

Định tính
A. Đun nóng 1 ml chế phẩm với 1 ml *acid acetic băng (TT)* và thêm vài giọt *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)*, sẽ có mùi ethyl acetat.
B. Thêm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* vào 5 ml dung dịch chế phẩm 10 % (tt/tt) trong *nước*, sau đó thêm từ từ 2 ml dung dịch trong *nước* có chứa 2 % *iod (TT)* và 4 % *kali iodid (TT)*. Sẽ có mùi iodoform bay lên và có tủa màu vàng xuất hiện.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Chế phẩm phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2) khi so sánh với *nước*.
Pha loãng 1,0 ml chế phẩm thành 20 ml bằng *nước*, để yên 5 min dung dịch thu được vẫn phải trong khi so sánh với *nước* (Phụ lục 9.2).

Giới hạn acid - kiềm
Thêm 20 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* và 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* vào 20 ml chế phẩm. Dung dịch phải không màu. Thêm 1,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)* dung dịch phải có màu hồng.

Tỷ trọng tương đối
Từ 0,805 đến 0,812 (Phụ lục 6.5).

Độ hấp thụ ánh sáng

Lấy *nước* làm mẫu trắng, ghi phổ hấp thụ tử ngoại của chế phẩm từ 235 nm đến 340 nm, sử dụng cốc đo dày 5 cm. Chế phẩm phải có độ hấp thụ tại 240 nm lớn nhất là 0,40; độ hấp thụ trong khoảng 250 nm đến 260 nm lớn nhất là 0,30; độ hấp thụ trong khoảng 270 nm đến 340 nm lớn nhất là 0,10 và đường cong hấp thụ phải trơn (không bị nhiễu) (Phụ lục 4.1).

Tạp chất bay hơi

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch thử (1): Chế phẩm cần thử.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 150 µl *4-methylpentan-2-ol (TT)* vào 500,0 ml chế phẩm.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 100 µl *methanol khan (TT)* thành 50,0 ml bằng chế phẩm. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng chế phẩm.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 50 µl *methanol khan (TT)* và 50 µl *acetaldehyd (TT)* thành 50 ml bằng chế phẩm. Pha loãng 100 µl dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng chế phẩm.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 150 µl *acetal (1,1-diethoxyethan)* thành 50,0 ml bằng chế phẩm. Pha loãng 100 µl dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng chế phẩm.

Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 100 µl *benzen (TT)* thành 100,0 ml bằng chế phẩm. Pha loãng 100 µl dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng chế phẩm.

Điều kiện sắc ký:

Cột silica nung chảy, kích thước (30 m × 0,32 mm) được phủ *poly[(cyanopropyl)(phenyl)] [dimethyl]siloxan* (độ dày lớp bao 1,8 µm).

Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký khí (TT)* với tốc độ 35 cm/s.

Tỷ lệ chia dòng: 1 : 20.

Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 12	40
	12 - 32	40 → 240
	32 - 42	240
Buồng tiêm		200
Detector		280

Detector ion hóa ngọn lửa.

Thể tích tiêm: 1 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic thứ nhất (acetaldehyd) và pic thứ hai (methanol) ít nhất là 1,5.

Giới hạn:

Diện tích của pic methanol trong sắc ký đồ của dung dịch thử (1): Không được quá 0,5 lần diện tích pic tương ứng trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (200 phần triệu, tt/tt).

Acetaldehyd + acetal: Không được quá 10 phần triệu (tt/tt), tính theo acetaldehyd.

Tính tổng hàm lượng phần triệu (tt/tt) của acetaldehyd và acetal theo công thức sau:

$$\frac{10 \times A_E}{A_T - A_E} + \frac{30 \times C_E}{C_T - C_E}$$

Trong đó:

A_E là diện tích pic acetaldehyd trong sắc ký đồ của dung dịch thử (1);

A_T là diện tích pic acetaldehyd trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2);

C_E là diện tích pic acetal trong sắc ký đồ của dung dịch thử (1);

C_T là diện tích pic acetal trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3).

Benzen: Không được quá 2 phần triệu (tt/tt).

Tính hàm lượng phần triệu (tt/tt) benzen theo công thức sau:

$$\frac{2B_E}{B_T - B_E}$$

Trong đó:

B_E là diện tích pic benzen trong sắc ký đồ của dung dịch thử (1);

B_T là diện tích pic benzen trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4).

Nếu cần, có thể xác định benzen bằng một hệ thống sắc ký thích hợp khác (pha tĩnh với độ phân cực khác).

Tổng diện tích pic của các tạp chất khác trong sắc ký đồ của dung dịch thử (2): không được lớn hơn diện tích pic của 4-methylpentan-2-ol trong sắc ký đồ của dung dịch thử (2) (300 phần triệu). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,03 lần diện tích pic của 4-methylpentan-2-ol trong sắc ký đồ của dung dịch thử (2) (9 phần triệu).

Cắn còn lại sau khi bay hơi

Không được quá 25 phần triệu (kl/tt).

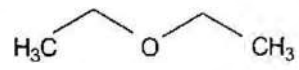
Lấy 100 ml chế phẩm làm bay hơi trên cách thủy đến khô, sấy cắn ở 100 °C đến 105 °C trong 1 h. Cắn còn lại không được quá 2,5 mg.

Bảo quản

Tránh ẩm, ở nhiệt độ từ 8 °C đến 15 °C, dễ cháy.

ETHER MÊ

Aether anaesthesicus



$C_4H_{10}O$ P.t.l: 74,1

Ether mê là diethyl ether có chứa một lượng thích hợp chất chống oxy hóa không bay hơi phù hợp.

Tính chất
Chất lỏng trong suốt, không màu, rất linh động, có mùi đặc biệt. Dễ cháy, dễ bay hơi. Hơi ether hòa lẫn ở một tỷ lệ nhất định với không khí, oxy hoặc nitrogen oxyd cho hỗn hợp nổ. Tan trong 15 phần nước, tan theo bất kỳ tỷ lệ nào trong ethanol, benzen, cloroform, ether dầu hỏa, các dầu béo và các tinh dầu.

Định tính
A. Chế phẩm phải đạt yêu cầu phép thử Tỷ trọng.
B. Chế phẩm phải đạt yêu cầu phép thử Khoảng chưng cất.

Tỷ trọng
0,714 đến 0,716 (Phụ lục 6.5).

Khoảng chưng cất
Không thực hiện nếu chế phẩm không đáp ứng phép thử peroxyd. Chế phẩm phải được cất hoàn toàn trong khoảng 34 °C đến 35 °C (Phụ lục 6.8). Sử dụng thiết bị làm nóng thích hợp, tránh làm nóng trực tiếp phần bình cất phía trên mực chất lỏng.
Ether mê phải tuân theo các yêu cầu và phương pháp thử tinh khiết như "Ether thường", ngoài ra còn phải đáp ứng các yêu cầu sau:

Peroxyd
Cho 8,0 ml *dung dịch kali iodid - hồ tinh bột (TT)* vào ống nghiệm có nút mài có dung tích khoảng 12 ml, đường kính 1,5 cm. Làm đầy bằng chế phẩm và lắc mạnh, để yên ở chỗ tối 30 min, không được xuất hiện màu.

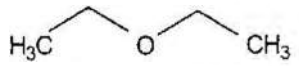
Aceton và aldehyd
Lắc 10,0 ml chế phẩm với 1 ml *dung dịch kali tetraiodomercurat kiềm (TT)* trong ống nghiệm có nút mài trong 10 s và để yên 5 min trong bóng tối. Chỉ được xuất hiện đục nhẹ ở lớp chất lỏng phía dưới.
Nếu không đạt được yêu cầu trên, lấy 40,0 ml chế phẩm đem cất đến còn lại khoảng 5 ml, dịch cất được hứng vào bình làm lạnh trong nước đá. Thử lại với 10,0 ml dịch cất (quá trình cất lại chỉ áp dụng khi chế phẩm đạt yêu cầu về peroxyd).

Bảo quản
Trong lọ kín, tránh ánh sáng và để ở chỗ mát (nhiệt độ từ 8 °C đến 15 °C), rất dễ cháy.
Ghi chú: Không được dùng gây mê nếu lọ đã mở quá 24 h. Sau thời hạn 6 tháng bảo quản phải kiểm tra chất lượng của chế phẩm.

Nhãn
Cần phải ghi loại, nồng độ bất kỳ chất chống oxy hóa không bay hơi được thêm vào; đường thích hợp cho việc sử dụng để gây mê.

Loại thuốc
Gây mê.

ETHER THƯỜNG
Aether medicinalis



$C_4H_{10}O$ P.t.l: 74,1

Ether thường là diethyl ether chứa từ 96,0 % đến 98,0 % $C_4H_{10}O$, có chứa một ít ethanol và nước.

Tính chất
Chất lỏng trong suốt, không màu, rất linh động, có mùi đặc biệt. Dễ cháy, dễ bay hơi. Hơi ether hòa lẫn ở một tỷ lệ nhất định với không khí, oxy hoặc nitrogen oxyd cho hỗn hợp nổ. Tan trong 15 phần nước, tan theo bất kỳ tỷ lệ nào trong ethanol, benzen, cloroform, ether dầu hỏa, các dầu béo và các tinh dầu.

Định tính
A. Chế phẩm phải đạt yêu cầu phép thử Tỷ trọng.
B. Chế phẩm phải đạt yêu cầu phép thử Khoảng chưng cất.

Tỷ trọng
0,714 đến 0,718 (Phụ lục 6.5).

Khoảng chưng cất
Không thực hiện nếu chế phẩm không đáp ứng phép thử peroxyd. Chế phẩm phải được cất hoàn toàn trong khoảng 34 °C đến 36 °C (Phụ lục 6.8). Sử dụng thiết bị làm nóng thích hợp, tránh làm nóng trực tiếp phần bình cất phía trên mực chất lỏng.

Giới hạn acid
Lấy 20,0 ml *ethanol 96 % (TT)*, thêm 0,25 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)* và nhỏ *dung dịch natri hydroxyd 0,02 M (CĐ)* cho tới khi xuất hiện màu xanh bền vững trong 30 s. Thêm 25,0 ml chế phẩm, trộn đều và nhỏ thêm *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)* cho tới khi màu xanh xuất hiện trở lại bền vững trong 30 s. Thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)* đã dùng không được lớn hơn 0,4 ml.

Peroxyd
Cho 8,0 ml *dung dịch kali iodid 10 % (TT)* vào ống nghiệm có nút mài, dung tích khoảng 12 ml, đường kính 1,5 cm. Làm đầy bằng chế phẩm và lắc mạnh, để yên ở chỗ tối 30 min. Bất kỳ màu vàng nào xuất hiện không được đậm hơn màu của dung dịch gồm 0,5 ml *dung dịch iod 0,0005 M (CĐ)* được pha loãng với 8,0 ml *dung dịch kali iodid 10 % (TT)*.

Aldehyd
Lắc 10,0 ml chế phẩm với 1 ml *dung dịch kali tetraiodomercurat kiềm (TT)* trong ống nghiệm có nút mài trong 10 s và để yên 5 min trong bóng tối. Lớp chất lỏng phía dưới đục và có màu vàng hoặc nâu đỏ, không được có màu xám hoặc đen.

Mùi lạ
Nhỏ dần dần 10,0 ml chế phẩm lên mảnh giấy lọc sạch, không mùi, có diện tích khoảng 25 cm^2, để bay hơi ngoài không khí. Sau khi ether đã bay hơi, giấy lọc không có mùi lạ.

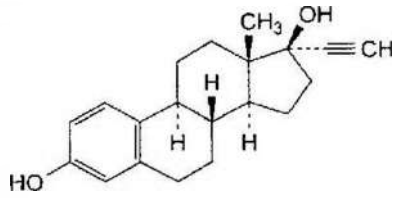
Nước
Không được quá 0,2 % (kl/tt) (Phụ lục 10.3).
Dùng 20 ml chế phẩm.

Cắn sau khi bay hơi
Không tiến hành phép thử này nếu như chế phẩm không đạt yêu cầu về peroxyd. Lấy chính xác 50 ml chế phẩm cho vào cốc thủy tinh đã cân bì. Làm bay hơi trên cách thủy. Cắn còn lại sau khi đã sấy ở 100 °C đến 105 °C đến khối lượng không đổi, không được quá 1,0 mg.

Bảo quản
Trong lọ kín, tránh ánh sáng, để ở nhiệt độ không quá 15 °C và rất dễ cháy.

Loại thuốc
Làm dung môi.

ETHINYLESTRADIOL
Ethinylestradiolum



$C_{20}H_{24}O_2$ P.t.l: 296,4

Ethinylestradiol là 19-nor-17α-pregna-1,3,5(10)-trien-20-yn-3,17-diol phải chứa từ 97,5 % đến 102,0 % $C_{20}H_{24}O_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc màu trắng hơi vàng. Đa hình. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %, tan trong dung dịch kiềm loãng.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của ethinylestradiol chuẩn. Nếu phổ hồng ngoại của chế phẩm và chuẩn khác nhau thì hòa tan chế phẩm và chuẩn trong *methanol (TT)*, bốc hơi đến khô và xác định lại phổ hồng ngoại của các cắn thu được.
B. Sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Ethanol 96 % - toluen (1 : 9).
Hỗn hợp dung môi: Methanol - methylen clorid (1 : 9).
Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 25 ml bằng cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 25 mg ethinylestradiol chuẩn trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 25 ml bằng cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được 2/3 bản mỏng. Để bản mỏng trong không khí đến khi bay hơi hết dung môi, sau đó sấy ở 110 °C trong 10 min. Phun lên bản mỏng đang nóng *dung dịch acid sulfuric 20 % trong ethanol 96 %*, tiếp tục sấy ở 110 °C trong 10 min. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày và dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 365 nm.
Trên sắc ký đồ thu được, dung dịch thử phải cho 1 vết chính có vị trí, màu sắc, huỳnh quang và kích thước giống như vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Acetonitril (TT_1) - nước (30 : 70).
Pha động B: Nước - acetonitril (TT_1) (25 : 75).
Hỗn hợp dung môi: Nước - acetonitril (TT_1) (40 : 60).
Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong 30 ml *acetonitril (TT_1)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 2 mg estron chuẩn (tạp chất C) trong 10,0 ml hỗn hợp dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Dùng 1,0 ml dung dịch thu được để hòa tan ethinylestradiol chuẩn dùng để đánh giá tính phù hợp của hệ thống (chứa các tạp chất B, F, H, I và K) có trong một lọ chuẩn.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 50,0 mg ethinylestradiol chuẩn trong 30 ml *acetonitril (TT_1)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng *nước*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped butylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Nhiệt độ cột: 30 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 30 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 35	100	0
35 - 65	100 → 0	0 → 100

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và (2).
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo ethinylestradiol chuẩn dùng để đánh giá tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất B, C, F, H, I và K.

Thời gian lưu tương đối so với ethinylestradiol (thời gian lưu khoảng 35 min): Tạp chất F khoảng 0,2; tạp chất H khoảng 0,5; tạp chất I khoảng 0,8; tạp chất B khoảng 0,88; tạp chất C khoảng 0,92; tạp chất G khoảng 1,3.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất I với pic của tạp chất B ít nhất là 1,2.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất B với 0,7; tạp chất I với 0,4.
Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B đã hiệu chỉnh không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Tạp chất H, I, K: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu cần, không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Tạp chất C, F: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,15 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 8 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,8 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 19-Norpregna-1,3,5(10)-trien-20-yn-3,17-diol (17β-ethinylestradiol).
Tạp chất B: 19-Nor-17α-pregna-1,3,5(10),9(11)-tetraen-20-yn-3,17-diol.
Tạp chất C: 3-Hydroxyestra-1,3,5(10)-trien-17-on (estron).
Tạp chất D: Estra-1,3,5(10)-trien-3,17β-diol (estradiol).
Tạp chất E: 19-Nor-17α-pregna-1,3,5(10)-trien-20-yn-3,6α,17-triol (6α-hydroxy-ethinylestradiol).
Tạp chất F: 19-Nor-17α-pregna-1,3,5(10)-trien-20-yn-3,6β,17-triol (6β-hydroxy-ethinylestradiol).
Tạp chất G: 3,17-Dihydroxy-19-nor-17α-pregna-1,3,5(10)-trien-20-yn-6-on (6-oxo-ethinylestradiol).
Tạp chất H: 3,17-Dihydroxy-19-nor-17α-pregna-1,3,5(10)-trien-20-yn-16-on (16-oxo-ethinylestradiol).
Tạp chất I: 19-Nor-17α-pregna-1,3,5(10),6-tetraen-20-yn-3,17-diol.
Tạp chất J: 1-Methyl-19-nor-17α-pregna-1,3,5(10)-trien-20-yn-3,17-diol (1-methyl-ethinylestradiol).
Tạp chất K: 4-Methyl-19-nor-17α-pregna-1,3,5(10)-trien-20-yn-3,17-diol (4-methyl-ethinylestradiol).
Tạp chất L: Estra-1,3,5(10)-trien-3,17α-diol (17α-estradiol).
Tạp chất M: 2-Methyl-19-nor-17α-pregna-1,3,5(10)-trien-20-yn-3,17-diol (2-methyl-ethinylestradiol).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(0,500 g; 105 °C; 3 h).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (3). Tính hàm lượng của $C_{20}H_{24}O_2$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (3) và hàm lượng của $C_{20}H_{24}O_2$ trong ethinylestradiol chuẩn.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Estrogen.

Chế phẩm
Viên nén. Viên hỗn hợp ethinylestradiol và levonorgestrel.

VIÊN NÉN ETHINYLESTRADIOL
Tabellae Ethinylestradioli

Là viên nén hoặc viên bao chứa ethinylestradiol.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu chung trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng ethinylestradiol, $C_{20}H_{24}O_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Toluen - ethanol 96 % (90 : 10).
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên (đã loại bỏ lớp bao nếu cần) tương ứng với 0,25 mg ethinylestradiol 4 lần, mỗi lần với 20 ml *aceton (TT)*. Lọc từng dịch chiết, tập trung dịch lọc và bốc hơi trên cách thủy đến khô dưới luồng khí nitrogen. Hòa tan cắn trong 0,25 ml *aceton (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch ethinylestradiol chuẩn 0,1 % trong *aceton (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai trong bình bão hòa dung môi đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Để bản mỏng khô trong không khí. Phun *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT)* và sấy ở 110 °C trong 10 min. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm và dưới ánh sáng ban ngày. Với cả hai cách quan sát, vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương đương về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Nghiền một lượng bột viên tương đương với 0,1 mg ethinylestradiol với 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và 5 ml *nước*. Để yên 5 min, lọc, acid hóa dịch lọc với 0,15 ml *acid sulfuric (TT)*, thêm 3 ml *ether (TT)*, lắc và để yên cho tách lớp. Bốc hơi lớp ether đến khô và tiếp tục đun nóng cắn trên cách thủy trong 5 min với 0,2 ml *acid acetic băng (TT)* và 2 ml *acid phosphoric (TT)*. Dung dịch có màu hồng với huỳnh quang màu cam đậm.

C. Trong mục Độ đồng đều hàm lượng, pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử có thời gian lưu tương tự với thời gian lưu của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Nước - acetonitril (40 : 60).
Dung dịch thử:
Đối với viên nén có hàm lượng lớn hơn 50 µg: Chuyển 1 viên nén vào bình nón thích hợp có nút mài. Thêm 10,0 ml pha động, để yên cho rã hoàn toàn, siêu âm 10 min. Ly tâm và dùng lớp dịch trong ở trên.
Đối với viên nén có hàm lượng bằng hoặc nhỏ hơn 50 µg: Chuyển 1 viên nén vào bình nón thích hợp có nút mài. Thêm 5,0 ml pha động, để yên cho rã hoàn toàn, siêu âm 10 min. Ly tâm và dùng lớp dịch trong ở trên.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan ethinylestradiol chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ tương đương với dung dịch thử.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (20 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 100 µl hoặc 200 µl.
Cách tiến hành: Tiêm lần lượt các dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Ghi lại sắc ký đồ.
Từ diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{20}H_{24}O_2$ trong ethinylestradiol chuẩn, tính hàm lượng ethinylestradiol, $C_{20}H_{24}O_2$, trong mỗi viên.

Định lượng
Hàm lượng ethinylestradiol được tính bằng cách lấy trung bình 10 kết quả thu được ở mục Độ đồng đều hàm lượng.

Bảo quản
Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Estrogen.

Hàm lượng thường dùng
10 µg; 50 µg; 1 mg.

ETHYLCELULOSE
Ethylcellulosum

Ethylcelulose là celulose được *O*-ethyl hóa một phần, phải chứa từ 44,0 % đến 51,0 % nhóm ethoxy ($-OC_2H_5$), tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột cốm hay bột màu trắng hoặc trắng ngà, không mùi hoặc gần như không mùi. Tan trong methylen clorid và trong hỗn hợp gồm 20 g ethanol 96 % và 80 g toluen, khó tan trong ethyl acetat và methanol, thực tế không tan trong nước, glycerin 85 % và propylen glycol. Các dung dịch có thể đục nhẹ.

Định tính
A. Chế phẩm phải cho phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của ethylcelulose.
B. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu giới hạn hàm lượng.

Giới hạn acid - kiềm
Thêm 25 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* vào 0,5 g chế phẩm và lắc 15 min. Lọc qua phễu lọc thủy tinh xốp cỡ 40. Lấy 10 ml dịch lọc, thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* và 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)*, dung dịch phải có màu hồng. Lấy 10 ml dịch lọc, thêm 0,1 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)* và 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*, dung dịch phải có màu đỏ.

Độ nhớt
80,0 % đến 120,0 % giá trị ghi trên nhãn đối với chế phẩm có độ nhớt ghi trên nhãn lớn hơn 6 mPa·s và 75,0 % đến 140,0 % giá trị ghi trên nhãn đối với chế phẩm có độ nhớt ghi trên nhãn không lớn hơn 6 mPa·s.
Lắc một lượng tương đương với 5,00 g chế phẩm đã làm khô với 95 g hỗn hợp gồm 20 g *ethanol 96 % (TT)* và 80 g *toluen (TT)* đến khi chế phẩm tan hoàn toàn. Xác định độ nhớt ở 25 °C bằng nhớt kế mao quản (Phụ lục 6.3).

Acetaldehyd
Không được quá 100 phần triệu.
Cân 3,0 g chế phẩm vào bình nón nút mài dung tích 250 ml, thêm 10 ml *nước* và lắc cơ học 1 h. Để yên 24 h, lọc và pha loãng dịch lọc thành 100,0 ml bằng *nước* (dung dịch A). Lấy 5,0 ml dung dịch A vào bình định mức 25 ml, thêm 5 ml *dung dịch methylbenzothiazolon hydrazon hydroclorid 0,05 %* và đun nóng trong cách thủy ở 60 °C trong 5 min. Thêm 2 ml *thuốc thử sắt (III) clorid - acid sulfamic (TT)* và tiếp tục đun nóng trong cách thủy ở 60 °C trong 5 min. Để nguội và thêm *nước* đến vạch. Dung dịch không được có màu đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu được chuẩn bị cùng thời gian và tương tự như dung dịch thử bằng cách thay 5,0 ml dung dịch A bằng 5,0 ml dung dịch thu được khi pha loãng 3,0 ml *dung dịch acetaldehyd mẫu 100 phần triệu C_2H_4O trong nước (TT)* thành 100,0 ml bằng *nước*.

Clorid
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.4.5).
Phân tán 0,250 g chế phẩm trong 50 ml *nước*, đun đến sôi và để nguội, thỉnh thoảng lắc. Lọc và bỏ 10 ml dịch lọc đầu. Pha loãng 10 ml dịch lọc thành 15 ml bằng *nước* để thử.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm thử theo phương pháp 3.

Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 3,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, 105 °C, 2 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).
Lưu ý: Acid hydriodic và các sản phẩm tạo thành do phản ứng của nó với chế phẩm rất độc hại. Thực hiện tất cả các bước chuẩn bị dung dịch thử và chuẩn trong tủ hút.
Dung dịch chuẩn nội: Pha loãng 120 µl *toluen (TT)* thành 10 ml bằng *o-xylen (TT)*.
Dung dịch thử: Chuyển 50,0 mg chế phẩm, 50,0 mg *acid adipic (TT)* và 2,0 ml dung dịch chuẩn nội vào lọ phản ứng thành dày, dung tích 5 ml có nắp đậy kiểu septum chịu áp suất. Thêm cẩn thận 2,0 ml *acid hydriodic (TT)*, đậy chặt ngay lọ và cân chính xác khối lượng lọ. Lắc lọ phản ứng 30 s, đun nóng ở 125 °C trong 10 min, để nguội 2 min, lắc lại lọ phản ứng 30 s và đun nóng ở 125 °C trong 10 min. Sau khi để nguội 2 min lại lắc lọ và đun nóng lần thứ 3. Để nguội 45 min và cân lại khối lượng lọ. Nếu khối lượng lọ giảm quá 10 mg thì bỏ hỗn hợp và làm lại. Sử dụng lớp trên.
Dung dịch chuẩn: Chuyển 100,0 mg *acid adipic (TT)*, 4,0 ml dung dịch chuẩn nội và 4,0 ml *acid hydriodic (TT)* vào lọ phản ứng thành dày, dung tích 10 ml có nắp đậy kiểu septum chịu áp suất. Đậy chặt ngay lọ và cân chính xác khối lượng lọ. Sau đó tiêm 50 µl *iodoethan (TT)* vào lọ qua septum, cân lại lọ và tính khối lượng của iodoethan đã tiêm vào. Lắc kỹ và để cho tách lớp. Sử dụng lớp trên.
Điều kiện sắc ký:
Cột có chiều dài 5,0 m, đường kính trong 2 mm, được nhồi *diatomit dùng cho sắc ký khí (TT)* (150 µm - 180 µm) tẩm 3 % (kl/kl) *poly(dimethyl) siloxan (TT)*.
Khí mang: *Nitrogen dùng cho sắc ký khí (TT)*.
Tốc độ dòng: 15 ml/min.
Detector: Ion hóa ngọn lửa.
Nhiệt độ: Nhiệt độ cột 80 °C. Nhiệt độ buồng tiêm và nhiệt độ detector 200 °C.
Thể tích tiêm: 1 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch chuẩn. So với toluen, thời gian lưu tương đối của iodoethan khoảng 0,6, của o-xylen khoảng 2,3. Phép thử chỉ có giá trị nếu độ phân giải giữa pic của iodoethan và toluen ít nhất là 2,0.
Tiêm riêng biệt dung dịch thử và dung dịch chuẩn.
Hàm lượng phần trăm của nhóm ethoxy được tính bằng công thức sau:

$$\frac{Q_1 \times m_2 \times 45{,}1 \times 100 \times 100}{2 \times Q_2 \times m_1 \times 156{,}0 \times (100 - d)}$$

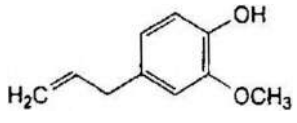
Trong đó:
Q_1 là tỷ số giữa diện tích pic iodoethan và diện tích pic toluen trên sắc ký đồ của dung dịch thử,
Q_2 là tỷ số giữa diện tích pic iodoethan và diện tích pic toluen trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn,
m_1 là lượng cân của mẫu thử (mg),
m_2 là lượng cân của iodoethan chuẩn (mg),
d là phần trăm mất khối lượng do làm khô (%).

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Tá dược.

Nhãn
Trên nhãn quy định độ nhớt tính theo milipascal giây cho dung dịch 5 % (kl/kl).

EUGENOL
Eugenolum



$C_{10}H_{12}O_2$ P.t.l: 164,2

Eugenol là 2-methoxy-4-(prop-2-enyl)phenol.

Tính chất
Chất lỏng trong, không màu hay vàng nhạt, sẫm màu lại khi tiếp xúc với không khí, có mùi thơm của đinh hương. Thực tế không tan trong nước và trong glycerin, dễ tan trong ethanol 70 % (tt/tt), trộn lẫn được với ethanol 96 %, acid acetic băng, ether, methylen clorid và dầu béo.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của eugenol chuẩn.
B. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử Chỉ số khúc xạ.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Ethyl acetat - toluen (1 : 9).
Dung dịch thử: Hòa tan 50 µl chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50 µl eugenol chuẩn trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Làm khô bản mỏng bằng luồng khí lạnh và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Dung dịch

thử phải cho vết chính có vị trí và kích thước giống với vết chính của dung dịch đối chiếu.
Phun bản mỏng bằng *dung dịch anisaldehyd (TT)*, sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 10 min. Dung dịch thử phải cho vết chính có vị trí, màu sắc và kích thước giống với vết chính của dung dịch đối chiếu.
D. Hòa tan 0,05 ml chế phẩm trong 2 ml *ethanol 96 % (TT)* và thêm 0,1 ml *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)*, màu xanh lục đậm xuất hiện và chuyển sang xanh vàng trong vòng 10 min.

Tỷ trọng tương đối
1,066 đến 1,070 (Phụ lục 6.5).

Chỉ số khúc xạ
1,540 đến 1,542 (Phụ lục 6.1).

Hợp chất dimeric và oligomeric
Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong *ethanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Độ hấp thụ của dung dịch thu được ở bước sóng 330 nm không được lớn hơn 0,25.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).
Dung dịch thử: Hòa tan 1,00 g chế phẩm trong *ethanol (TT)* và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *ethanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 50 mg *vanilin (TT)* (tạp chất H) trong 1 ml dung dịch thử và pha loãng thành 5 ml bằng *ethanol (TT)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột mao quản bằng silica nung chảy (chiều dài 30 m, đường kính trong 0,25 mm) được tráng một lớp phim *polymethylphenylsiloxan (TT)* dày 0,25 µm.
Khí mang: *khí heli dùng cho sắc ký khí*, lưu lượng 1 ml/min.
Detector ion hóa ngọn lửa.
Tỷ lệ chia dòng: 1 : 40.
Thể tích tiêm: 1 µl.
Chương trình nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 2	80
	2 - 27	80 → 280
	27 - 47	280
Buồng tiêm		250
Detector		280

Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), thời gian lưu tương đối so với eugenol của tạp chất H ít nhất là 1,1.
Giới hạn:
Tạp chất bất kỳ: Với mỗi tạp chất không được quá 0,5 %.
Tổng tất cả các tạp chất mà có thời gian lưu tương đối so với eugenol lớn hơn 2,0: Không được quá 1,0 %.
Tổng tất cả các tạp chất không quá 3,0 %.
Bỏ qua những tạp chất có diện tích pic nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: (1*R*,4*E*,9*S*)-4,11,11-trimethyl-8-methylenbicyclo [7.2.0]undec-4-en (β-caryophylen).
Tạp chất B: (1*E*,4*E*,8*E*)-2,6,6,9-tetramethylcycloundeca-1,4,8-trien (α-humulen, α-caryophylen).
Tạp chất C: (1*R*,4*R*,6*R*,10*S*)-4,12,12-trimethyl-9-methylen-5-oxatricyclo[8.2.0.04,6]dodecan (β-caryophylen oxyd).
Tạp chất D: 4-(Prop-2-enyl)phenol.
Tạp chất E: 1,2-Dimethoxy-4-(prop-2-enyl)benzen (eugenol methyl ether).
Tạp chất F: (*cis*) 2-Methoxy-4-[(*Z*)-prop-1-enyl]phenol (*cis*-isoeugenol).
Tạp chất G: (*trans*) 2-Methoxy-4-[(*E*)-prop-1-enyl]phenol (*trans*-isoeugenol).
Tạp chất H: 4-Hydroxy-3-methoxybenzaldehyd (vanilin).
Tạp chất I: 2-Methoxy-4-(prop-2-enyl)phenyl acetat (acetyleugenol).
Tạp chất J: 1-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)prop-2-enon.
Tạp chất K: (*E*)-3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)prop-2-enal (*trans*-coniferyl aldehyd).
Tạp chất L: 2-Methoxy-4-[3-methyl-5-(prop-2-enyl)-2,3-dihydro benzofuran-2-yl]phenol (dehydrodi-isoeugenol).
Tạp chất M: 3,3'-Dimethoxy-5,5'-bis(prop-2-enyl)biphenyl-2,2'-diol (dehydrodieugenol).
Tạp chất N, O: 2 hợp chất dimer chưa xác định.
Tạp chất P: Toluen.

Hydrocarbon
Hòa tan 1 ml chế phẩm trong 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)* và thêm 30 ml *nước* trong một ống nghiệm có nút. Quan sát ngay, dung dịch phải có màu vàng (Phụ lục 9.3) và trong (Phụ lục 9.2).

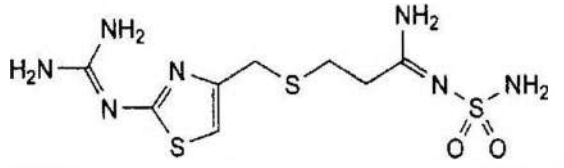
Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Bảo quản
Trong bao bì kín và đóng đầy, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Dùng làm chất gây tê tại chỗ trong nha khoa.

FAMOTIDIN

Famotidinum



$C_8H_{15}N_7O_2S_3$ P.t.l: 337,4

Famotidin là 3-[[[2-[(diaminomethylen)amino]thiazol-4-yl]methyl]sulphanyl]-*N'*-sulphamoylpropanimid amid, phải chứa từ 98,5 % đến 101,5 % $C_8H_{15}N_7O_2S_3$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh hay tinh thể trắng hoặc trắng ngà. Đa hình. Rất khó tan trong nước và ethanol tuyệt đối, dễ tan trong acid acetic băng, thực tế không tan trong ethyl acetat, tan trong các dung dịch acid vô cơ loãng.

Định tính

Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của famotidin chuẩn. Nếu phổ của chế phẩm và chất chuẩn khác nhau thì lắc riêng rẽ 0,10 g chế phẩm và 0,10 g chất chuẩn trong 5 ml *nước*. Đun tới sôi rồi để nguội, cọ thành ống nghiệm bằng đũa thủy tinh để tạo sự kết tinh. Lọc, rửa các tinh thể thu được bằng 2 ml *nước* đá và sấy ở 80 °C dưới áp suất không quá 0,67 kPa trong 1 h. Ghi lại phổ hồng ngoại của các cắn thu được.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,5 M (TT)*, đun nóng đến 40 °C (nếu cần) và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu VN_7 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Trộn 6 thể tích *methanol (TT)*, 94 thể tích *acetonitril (TT)* và 900 thể tích *dung dịch natri hexansulfonat 0,1882 %* đã được điều chỉnh đến pH 3,5 bằng *acid acetic (TT)*.

Pha động B: *Acetonitril (TT)*.

Dung dịch thử: Hòa tan 12,5 mg chế phẩm vào pha động A và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động A. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động A.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 2,5 mg tạp chất D chuẩn của famotidin trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Lấy 1,0 ml dung dịch thu được, thêm 0,50 ml dung dịch thử và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động A.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5,0 mg famotidin chuẩn dùng để đánh giá tính phù hợp của hệ thống (chứa các tạp chất A, B, C, D, F và G) trong pha động A và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).

Nhiệt độ cột: 50 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 265 nm.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Tốc độ dòng (ml/min)
0 - 23	100 → 96	0 → 4	1
23 - 27	96	4	1 → 2
27 - 47	96 → 78	4 → 22	2

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo famotidin chuẩn dùng để đánh giá tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (3) để định tính các pic tạp chất A, B, C, F và G; sử dụng sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) để định tính pic tạp chất D.

Thời gian lưu tương đối so với famotidin (thời gian lưu khoảng 21 min): Tạp chất D khoảng 1,1; tạp chất C khoảng 1,2; tạp chất G khoảng 1,4; tạp chất F khoảng 1,5; tạp chất A khoảng 1,6; tạp chất B khoảng 2,0.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Thời gian lưu của famotidin khoảng từ 19 min đến 23 min trên tất cả các sắc ký đồ. Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của famotidin với pic của tạp chất D ít nhất là 3,5.

Giới hạn:

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng: Tạp chất A là 1,9; tạp chất B là 2,5; tạp chất C là 1,9; tạp chất F là 1,7; tạp chất G là 1,4.

Tạp chất C, D: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu có, không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).

Tạp chất A, B, F, G: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,15 %).

Các tạp chất khác: Mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 8 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,8 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Ghi chú:
Tạp chất A: 3-[[[2-[(diaminomethylen)amino]thiazol-4-yl] methyl]sulfanyl]propanimidamid.
Tạp chất B: 3,5-bis[2-[[[2-[(diaminomethylen)amino]thiazol-4-yl]methyl]sulfanyl]ethyl]-4*H*-1,2,4,6-thiatriazin 1,1-dioxid.
Tạp chất C: 3-[[[2-[(diaminomethylen)amino]thiazol-4-yl] methyl]sulfanyl]-*N*-sulfamoylpropanamid.
Tạp chất D: 3-[[[2-[(diaminomethylen)amino]thiazol-4-yl] methyl]sulfanyl]propanamid.
Tạp chất E: 2,2'-[disulfanediylbis(methylenthiazol-4,2-diyl)] diguanidin.
Tạp chất F: Acid 3-[[[2-[(diaminomethylen)amino]thiazol-4-yl] methyl]sulfanyl]propanoic.
Tạp chất G: *N*-cyano-3-[[[2-[(diaminomethylen)amino]thiazol-4-yl]methyl]sulfanyl]propanimidamid.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 0,5 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 8.
Hỗn hợp dung môi: Dimethylformamid - nước (30 : 70).
Dùng 0,5 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 80 °C; áp suất không quá 0,67 kPa; 5 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,120 g chế phẩm trong 60 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 16,87 mg $C_8H_{15}N_7O_2S_3$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng histamin H_2.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN FAMOTIDIN
Tabellae Famotidini

Là viên nén chứa famotidin. Viên có thể được bao đường hoặc bao phim.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng famotidin, $C_8H_{15}N_7O_2S_3$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Ethyl acetat - methanol - toluen - amoniac (40 : 25 : 20 : 2)
Dung dịch thử: Lắc siêu âm một lượng bột viên tương ứng với khoảng 40 mg famotidin với 4 ml *acid acetic băng (TT)*, pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi, ly tâm hỗn hợp thu được. Dùng dung dịch trong phía trên.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch famotidin chuẩn 0,4 % trong *acid acetic băng (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 10 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Để khô vết chấm ngoài không khí, triển khai sắc ký (trong bình đã được bão hòa dung môi khoảng 1 h trước khi triển khai) đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về hình dạng và giá trị R_f.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng thời gian lưu với pic famotidin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, dung môi pha mẫu, dung dịch thử, dung dịch phân giải và các điều kiện sắc ký: Thực hiện như mô tả trong phần Định lượng.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100 ml với dung môi pha mẫu.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống như mục Định lượng.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu, trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của pic tương ứng với famotidin sulfoxid không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %); diện tích của từng pic tương ứng với tạp chất F và tạp chất C không được lớn hơn 0,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %); diện tích của pic tương ứng với tạp chất D chia cho 1,3 (hệ số đáp ứng của tạp chất D) không được lớn hơn 0,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %). Tổng hàm lượng các tạp chất không được vượt quá 1,5 %.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch đệm phosphat 0,1 M pH 4,5 [chuẩn bị bằng cách hòa tan 13,6 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong *nước*, điều chỉnh pH của dung dịch bằng *acid phosphoric (TT)* hoặc *dung dịch kali hydroxyd 1 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml].
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min (60 min với viên bao đường).

Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, pha loãng (nếu cần) dịch lọc tới nồng độ thích hợp với môi trường hòa tan. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 265 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. Tiến hành đo song song với dung dịch famotidin chuẩn pha trong môi trường hòa tan có nồng độ tương đương. Tính lượng famotidin đã hòa tan dựa vào độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của $C_8H_{15}N_7O_2S_3$ trong famotidin chuẩn.

Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng famotidin, $C_8H_{15}N_7O_2S_3$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min (hoặc 60 min đối với viên bao đường).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm: Hòa tan 13,6 g *natri acetat (TT)* trong 750 ml *nước*. Thêm 1 ml *triethylamin (TT)*, điều chỉnh pH đến 6,0 bằng *acid acetic băng (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Pha động: Acetonitril - dung dịch đệm (7 : 93).

Dung môi pha mẫu: Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 750 ml *nước*, điều chỉnh pH đến 6,0 bằng *dung dịch kali hydroxyd 1 M (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch phân giải: Chuyển 10 mg famotidin chuẩn vào bình định mức 50 ml. Thêm 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (TT)* và đun nóng ở 80 °C trong 30 min, để nguội đến nhiệt độ phòng. Thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (TT)* và đun nóng ở 80 °C trong 30 min, để nguội đến nhiệt độ phòng và trung hòa bằng 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (TT)*. Thêm dung môi pha mẫu đến định mức, lắc đều. Chuyển 10 ml dung dịch thu được vào một bình định mức dung tích 50 ml có sẵn 5 mg famotidin chuẩn hòa tan trong 8 ml *methanol (TT)*, thêm dung môi pha mẫu đến định mức, lắc đều. Pha loãng 25 ml dung dịch thu được thành 50 ml bằng dung môi pha mẫu (dung dịch bền trong khoảng 1 tháng). Trộn 1 ml đến 1,5 ml dung dịch thu được với 1 giọt *dung dịch hydrogen peroxyd 10 tt (TT)* trong một dụng cụ thích hợp (dung dịch pha trong ngày).

Dung dịch thử: Cân 20 viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 80 mg famotidin vào bình định mức 200 ml, thêm 40 ml dung môi pha mẫu, lắc đều, thêm 40 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm 5 min và tiếp tục lắc bằng máy lắc trong 1 h. Thêm dung môi pha mẫu đến định mức và lọc. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 20,0 ml bằng dung môi pha mẫu.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác 10 mg famotidin chuẩn và chuyển vào bình định mức 100 ml, thêm 20 ml *methanol (TT)* và lắc để hòa tan, thêm dung môi pha mẫu vừa đủ đến định mức, lắc đều.

Điều kiện sắc ký:

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

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Tốc độ dòng: 1,4 ml/min.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 275 nm.

Thể tích tiêm: 50 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, các pic lần lượt rửa giải theo thứ tự sau: famotidin sulfoxid, tạp chất F, tạp chất C, famotidin, tạp chất D tương ứng với thời gian lưu tương đối là 0,4; 0,7; 0,8; 1,0; 1,2. Độ phân giải giữa pic tạp chất C và famotidin không nhỏ hơn 1,3 và độ phân giải giữa pic famotidin và tạp chất D không nhỏ hơn 1,3. Hệ số phân bố khối lượng tính trên pic famotidin không nhỏ hơn 2,0. Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic của 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn phải nhỏ hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Tính hàm lượng famotidin, $C_8H_{15}N_7O_2S_3$, trong viên dựa vào diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử, của dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_8H_{15}N_7O_2S_3$ trong famotidin chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

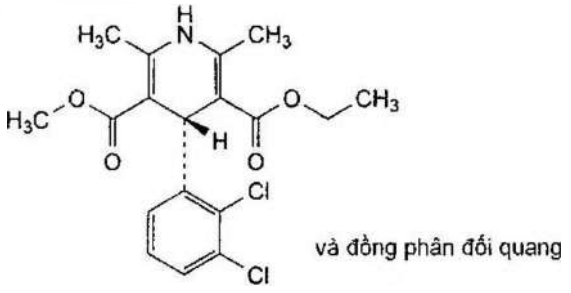
Thuốc kháng histamin H_2.

Hàm lượng thường dùng

40 mg.

FELODIPIN

Felodipinum



và đồng phân đối quang

$C_{18}H_{19}Cl_2NO_4$ P.t.l: 384,3

Felodipin là ethyl methyl (4*RS*)-4-(2,3-diclorophenyl)-2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{18}H_{19}Cl_2NO_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc hơi vàng.

Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong aceton, trong ethanol khan, trong methanol và trong methylen clorid.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của felodipin chuẩn. Chuẩn bị mẫu đo dưới dạng đĩa nén.

B. Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Pha loãng 3 ml dung dịch thu được thành 100 ml bằng *methanol (TT)*. Phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 220 nm đến 400 nm, phải cho 2 cực đại hấp thụ ở bước sóng 238 nm và 361 nm. Tỷ số độ hấp thụ cực đại ở bước sóng 361 nm so với độ hấp thụ cực đại ở bước sóng 238 nm từ 0,34 đến 0,36.

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

Bản mỏng: Silica gel F_{254}.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - cyclohexan (40 : 60).

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg felodipin chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg nifedipin chuẩn trong dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 5 ml với dung dịch đối chiếu (1).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để khô ngoài không khí. Quan sát dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc đồ của dung dịch thử phải tương tự về vị trí, huỳnh quang và kích thước so với vết chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho hai vết tách ra rõ ràng.

D. Hòa tan 150 mg chế phẩm trong hỗn hợp 25 ml *2-methyl-2-propanol (TT)* và 25 ml *dung dịch acid percloric 1 M (TT)*. Thêm 10 ml *dung dịch ceri sulfat 0,1 M (TT)*, để yên trong 15 min. Thêm 3,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 42 % (TT)* và trung hòa bằng *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*. Lắc với 25 ml *methylen clorid (TT)*. Lấy lớp dưới, bay hơi đến khô trên cách thủy, dưới luồng khí nitrogen (cặn này cũng được sử dụng cho phép thử Tạp chất liên quan).

Hòa tan khoảng 20 mg cặn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2 ml dung dịch thu được thành 50 ml với *methanol (TT)*.

Phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở trên, trong khoảng bước sóng từ 220 nm đến 400 nm, phải cho cực đại hấp thụ ở 273 nm.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,00 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2).

Độ hấp thụ ánh sáng

Không được quá 0,10 ở bước sóng 440 nm (Phụ lục 4.1).

Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Methanol - acetonitril - dung dịch đệm phosphat pH 3,0 chứa *acid phosphoric (TT)* 0,08 % và *natri dihydrophosphat (TT)* 0,8 % (20 : 40 : 40).

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu thành 100,0 ml bằng pha động.

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

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 50,0 mg cặn thu được trong phép thử định tính D (tạp chất A) và 25,0 mg felodipin chuẩn trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (12,5 cm đến 15 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại tại bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Thứ tự rửa giải: Tạp chất B, tạp chất A, felodipin, tạp chất C.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của felodipin.

Thời gian lưu của felodipin khoảng 12 min.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic tạp chất A và pic felodipin ít nhất là 2,5.

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

Tổng tạp chất B và C: Tổng diện tích pic của tạp chất B và C không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %).

Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).

Tổng tạp: Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất khác trừ tạp chất B và C không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,02 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: Ethyl methyl 4-(2,3-diclorophenyl)-2,6-dimethyl pyridin-3,5-dicarboxylat.

Tạp chất B: Dimethyl 4-(2,3-diclorophenyl)-2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat.

Tạp chất C: Diethyl 4-(2,3-diclorophenyl)-2,6-dimethyl-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 105 °C; 3 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

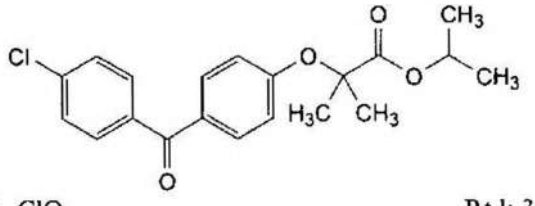
Định lượng
Hòa tan 0,160 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 25 ml *2-methyl-2-propanol (TT)* và 25 ml *dung dịch acid percloric 1 N (TT)*. Thêm 0,05 ml *dung dịch feroin sulfat (TT)* và chuẩn độ từ từ bằng *dung dịch ceri sulfat 0,1 M (CĐ)* cho đến khi mất màu hồng.
1 ml *dung dịch ceri sulfat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 19,21 mg $C_{18}H_{19}Cl_2NO_4$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chẹn kênh calci.

Chế phẩm
Viên nén.

FENOFIBRAT
Fenofibratum



$C_{20}H_{21}ClO_4$ P.t.l: 360,8

Fenofibrat là 1-methylethyl 2-[4-(4-clorobenzoyl) phenoxy]-2-methylpropanoat, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{20}H_{21}ClO_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng.
Thực tế không tan trong nước, rất dễ tan trong methylen clorid, khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của fenofibrat chuẩn.
B. Điểm chảy (Phụ lục 6.7): 79 °C đến 82 °C.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong *aceton (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn màu của màu mẫu VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 50 ml *ethanol 96 % (TT)* đã được trung hòa trước với chỉ thị là 0,2 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)*. Dung dịch sẽ chuyển sang màu hồng khi thêm không quá 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ)*.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Định lượng.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký đối với dung dịch thử trong thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của fenofibrat.
Tiến hành sắc ký dung dịch đối chiếu (2), điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của các pic trên sắc ký đồ đạt ít nhất 20 % của thang đo.
Thời gian lưu tương đối của tạp chất A khoảng 0,34; tạp chất B khoảng 0,36; tạp chất C khoảng 0,50, tạp chất D khoảng 0,65, tạp chất E khoảng 0,80, tạp chất F khoảng 0,85, và tạp chất G khoảng 1,35.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), hệ số phân giải giữa pic của tạp chất A và tạp chất B ít nhất là 1,5.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử:
Diện tích của bất kỳ pic nào tương ứng với tạp chất A, tạp chất B hoặc tạp chất G không được lớn hơn diện tích pic tương ứng của các tạp chất A, B và G trong dung dịch đối chiếu (2) (0,1 % đối với các tạp chất A, và B; 0,2 % đối với tạp chất G).
Diện tích của bất kỳ pic nào trừ pic chính và các pic tương ứng với tạp chất A, tạp chất B hoặc tạp chất G không được lớn hơn diện tích pic tương ứng với fenofibrat trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).
Tổng diện tích của tất cả các pic, trừ pic chính, không được lớn hơn 5 lần diện tích pic tương ứng với fenofibrat trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần so với diện tích pic của fenofibrat trong sắc ký đồ thu được với dung dịch đối chiếu (2).
Ghi chú:
Tạp chất A: (4-clorophenyl)(4 hydroxyphenyl)methanon.
Tạp chất B: Acid 2-[4-(4-clorobenzoyl)phenoxy]-2-methylpropanoic (acid fenofibric).
Tạp chất C: (3*RS*)-3-[4-(4-clorobenzoyl)phenoxy]-butan-2-on.
Tạp chất D: Methyl 2-[4-(4-clorobenzoyl)phenoxy]-2-methyl-propanoat.
Tạp chất E: Ethyl 2-[4-(4-clorobenzoyl)phenoxy]-2-methylpropanoat.
Tạp chất F: (4-clorophenyl)[4-(1-methylethoxy)-phenyl]methanon.
Tạp chất G: 1-methylethyl 2-[[2-[4-(4-clorobenzoyl)-phenoxy]-2-methylpropanoyl]oxy]-2-methylpropanoat.

Các halogen biểu thị bằng clorid
Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.4.5).
Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 25 ml *nước cất* và làm nóng ở 50 °C trong 10 min. Để nguội và pha loãng thành 50,0 ml với *nước cất*. Lọc.
Thêm 10 ml *nước cất* vào 5 ml dung dịch S và tiến hành thử.

Sulfat
Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.4.14).
Dùng 15 ml dung dịch S để thử.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; chân không; 60 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Nước được acid hóa đến pH 2,5 bằng acid phosphoric - acetonitril* (30 : 70).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với pha động.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25,0 mg fenofibrat chuẩn trong pha động và pha loãng thành 25,0 ml với pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5,0 mg fenofibrat chuẩn, 5,0 mg tạp chất A chuẩn của fenofibrat, 5,0 mg tạp chất B chuẩn của fenofibrat và 10,0 mg tạp chất G chuẩn của fenofibrat trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Detector: quang phổ tử ngoại ở bước sóng 286 nm.
Thể tích tiêm: 5 µl.
Cách tiến hành: Tiêm dung dịch đối chiếu (2). Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sắc ký sao cho chiều cao của các pic trên sắc ký đồ đạt ít nhất 50 % thang đo. Tiêm dung dịch đối chiếu (1) 6 lần. Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic của fenofibrat lớn nhất là 1,0 %. Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống tăng lipid máu.

NANG FENOFIBRAT
Capsulae Fenofibratis

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

Hàm lượng fenofibrat, $C_{20}H_{21}ClO_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Trong mục Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic fenofibrat trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động và *Điều kiện sắc ký* chuẩn bị như mô tả ở mục Định lượng.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với 40 mg fenofibrat vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml pha động, lắc siêu âm 15 min, để nguội. Thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với pha động.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký dung dịch thử và dung dịch đối chiếu với thời gian chạy sắc ký bằng 2 lần thời gian lưu của pic chính.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic nào, ngoại trừ pic chính, không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %); tổng diện tích của tất cả các pic, ngoại trừ pic chính, không được lớn hơn diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %). Bỏ qua các pic có diện tích pic nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 1000 ml dung dịch *natri lauryl sulfat (TT)* 1 % trong *nước*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 60 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Pha loãng dịch lọc thu được nếu cần với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ fenofibrat khoảng 0,1 mg/ml.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng fenofibrat chuẩn, hòa tan trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ fenofibrat tương đương với nồng độ fenofibrat của dung dịch thử.
Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với pha động và các điều kiện sắc ký như ở mục Định lượng.
Tính hàm lượng fenofibrat, $C_{20}H_{21}ClO_4$, hòa tan từ mỗi nang dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{20}H_{21}ClO_4$ của fenofibrat chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng fenofibrat, $C_{20}H_{21}ClO_4$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Acetonitril - nước được chỉnh đến pH 2,5 bằng acid phosphoric* (70 : 30).

Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 0,1 g fenofibrat vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml pha động, lắc siêu âm 15 min, để nguội và thêm pha động vừa đủ đến định mức. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với pha động.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng fenofibrat chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ fenofibrat khoảng 0,1 mg/ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 286 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký 6 lần riêng biệt đối với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic fenofibrat không được lớn hơn 2,0 %. Số đĩa lý thuyết tính trên pic fenofibrat không được nhỏ hơn 3000.

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

Tính hàm lượng fenofibrat, $C_{20}H_{21}ClO_4$, có trong chế phẩm dựa vào diện tích pic fenofibrat trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{20}H_{21}ClO_4$ của fenofibrat chuẩn.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

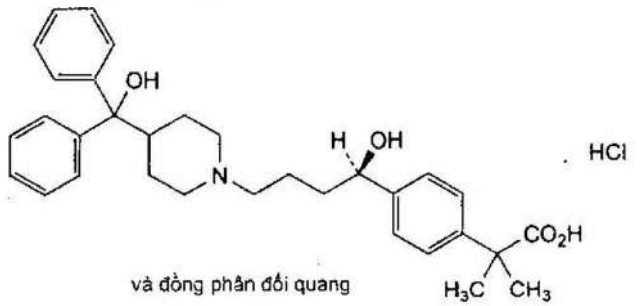
Thuốc chống tăng lipid máu.

Hàm lượng thường dùng

100 mg, 200 mg.

FEXOFENADIN HYDROCLORID

Fexofenadini hydrochloridum



$C_{32}H_{39}NO_4.HCl$ P.t.l: 538,1

Fexofenadin hydroclorid là acid 2-[4-[(1*RS*)-1-hydroxyl-4[4-(hydroxydiphenylmethyl)piperidin-1-yl]butyl] phenyl]-2-metylpropanoic hydroclorid, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{32}H_{39}NO_4.HCl$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột màu trắng hay gần như trắng, đa hình. Khó tan trong nước, dễ tan trong methanol, rất khó tan trong aceton.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của fexofenadin chuẩn (Phụ lục 4.2). Nếu so sánh phổ có sự khác nhau thì hòa tan mẫu thử và mẫu đối chiếu riêng biệt trong *methanol (TT)*, bốc hơi đến cắn và đo phổ phần cắn.

B. Hòa tan 30 mg mẫu thử trong hỗn hợp đồng thể tích *methanol - nước*, siêu âm nếu cần và pha loãng thành 2 ml với cùng hỗn hợp dung môi. Dung dịch phải cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Tạp chất B

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - dung dịch đệm (20 : 80).

Dung dịch đệm: Pha loãng 1,15 ml *acid acetic băng (TT)* bằng 900 ml *nước*, điều chỉnh pH đến 4,0 ± 0,1 bằng *dung dịch amoniac loãng (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 10 lần dịch này với pha động.

Dung dịch phân giải: Hòa tan toàn bộ lượng tạp chất B chuẩn của fexofenadin có trong một lọ chuẩn bằng dung dịch thử, pha loãng thành 2,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi *silica gel BC dùng cho sắc ký tách đồng phân đối quang*.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.

Tốc độ dòng: 0,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Thời gian chạy sắc ký gấp 1,2 lần thời gian lưu của fexofenadin.

Tiêm dung dịch phân giải, thời gian lưu tương đối của tạp chất B so với fexofenadin (thời gian lưu khoảng 20 min) là 0,7. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic fexofenadin và tạp chất B ít nhất bằng 3,0.

Tiêm lần lượt dung dịch thử và dung dịch đối chiếu.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của pic tương ứng với tạp chất B nhân với 1,3 không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,1 %).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - dung dịch đệm - triethylamin (350 : 650 : 3)

Dung dịch đệm: Hòa tan 6,64 g *natri dihydrophosphat monohydrat (TT)* và 0,84 g *natri perclorat (TT)* vào *nước*, điều chỉnh pH đến 2,0 ± 0,1 bằng *acid phosphoric (TT)* và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*.

Hỗn hợp dung môi: Hỗn hợp đồng thể tích *acetonitril (TT)* và dung dịch đệm.
Dung dịch thử (1): Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong 25,0 ml hỗn hợp dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 3,0 ml dung dịch thử (1) thành 50,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25,0 mg chất đối chiếu fexofenadin hydroclorid bằng hỗn hợp dung môi và pha loãng tới 25,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 3,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 1,0 mg tạp chất A của fexofenadin và 1,0 mg tạp chất C của fexofenadin trong 20,0 ml dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 200,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *phenylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Thời gian chạy sắc ký: Với dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (3), thời gian chạy sắc ký bằng 6 lần thời gian lưu của fexofenadin; với dung dịch đối chiếu (2) thời gian chạy sắc ký bằng 2 lần thời gian lưu của fexofenadin.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành chạy sắc ký với dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic fexofenadin và tạp chất A ít nhất bằng 10.
Thời gian lưu tương đối so với fexofenadin (thời gian lưu khoảng 9 min): Tạp chất A khoảng 1,7; tạp chất D khoảng 2,3 và tạp chất C khoảng 3,2.
Hệ số hiệu chỉnh: Khi tính toán, nhân diện tích pic tạp chất A với 1,4.
Giới hạn:
Tạp chất A, C, D: Diện tích của từng pic, đã hiệu chỉnh nếu cần, tương ứng với tạp chất A, C, D không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).
Tạp chất chưa định danh: Đối với mỗi tạp chất, không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).
Tổng diện tích của các pic tạp chất không không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %).
Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid 2-[4-[4-[4-(hydroxydiphenylmethyl)piperidin-1-yl]butanoyl]phenyl]-2-methylpropanoic.
Tạp chất B: Acid 2-[3-[(1*RS*)-1-hydroxy-4-[4-(hydroxydiphenylmethyl)piperidin-1-yl]butyl]phenyl]-2-methylpropanoic.
Tạp chất C: (1*RS*)-4-[4-(hydroxydiphenylmethyl)piperidin-1-yl]-1-[4-(1-methylethyl) phenyl]butan-1-ol.
Tạp chất D: methyl 2-[4-[(1*RS*)-1-hydroxy-4-[4-(hydroxydiphenylmethyl)piperidin-1-yl]butyl]phenyl]-2-methyl-propanoat.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong hỗn hợp của *nước* và *methanol* (15 : 85) và pha loãng thành 20,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi. Lấy 12,0 ml dung dịch thử theo phương pháp 2. Dùng 5,0 ml *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.3).
Hòa tan 1,000 g chế phẩm trong *methanol khan (TT)* và pha loãng thành 5,0 ml. Dùng 1,0 ml của dung dịch này để thử.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, dung dịch đệm, hỗn hợp dung môi, điều kiện sắc ký và chuẩn bị các dung dịch như mô tả trong mục Tạp chất liên quan.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (1) với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của fexofenadin.
Tính hàm lượng fexofenadin hydroclorid, $C_{32}H_{39}NO_4.HCl$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng $C_{32}H_{39}NO_4.HCl$ trong fexofenadin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng, nhiệt độ không quá 30 °C.

Loại thuốc
Kháng histamin.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN FEXOFENADIN
Tabellae Fexofenadini

Là viên nén chứa fexofenadin hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng fexofenadin hydroclorid, $C_{32}H_{39}NO_4.HCl$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lấy một lượng bột viên tương ứng với khoảng 30 mg fexofenadin, thêm 80 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,001 M*

(TT), lắc để hòa tan và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Phổ hấp thụ tử ngoại của dung dịch thu được trong khoảng từ 230 nm đến 350 nm có cực đại hấp thụ ở 259 nm ± 1 nm và phải phù hợp với phổ của dung dịch fexofenadin hydroclorid chuẩn có cùng nồng độ pha trong *dung dịch acid hydrocloric 0,001 M (TT)*.

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

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,001 M (TT)*.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 30 min.

Cách tiến hành:

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch acid, Dung dịch đệm, Dung môi pha mẫu, Pha động, Dung dịch chuẩn gốc và *Điều kiện sắc ký:* Như mô tả ở phần Định lượng.

Dung dịch chuẩn: Pha loãng dung dịch chuẩn gốc với pha động để được dung dịch có nồng độ tương đương với nồng độ fexofenadin hydroclorid trong dung dịch thử.

Dung dịch thử: Lấy một thể tích thích hợp môi trường sau khi hòa tan và lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Nếu cần, pha loãng dịch lọc với pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,06 mg fexofenadin hydroclorid trong 1 ml.

Cách tiến hành:

Tiêm riêng biệt dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng fexofenadin hydroclorid, $C_{32}H_{39}NO_4$.HCl, đã hòa tan trong mỗi viên, dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ $C_{32}H_{39}NO_4$.HCl của dung dịch chuẩn.

Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng fexofenadin hydroclorid, $C_{32}H_{39}NO_4$.HCl, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch acid, Dung dịch đệm, Dung môi pha mẫu, Pha động, Dung dịch chuẩn gốc và *Điều kiện sắc ký:* Như mô tả ở phần Định lượng.

Dung dịch thử: Sử dụng dung dịch thử gốc ở phần Định lượng.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với pha động, lắc đều. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với pha động, lắc đều.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, thời gian lưu tương đối so với fexofenadin của tạp chất A khoảng 1,6; của tạp chất phân hủy decarboxylat hóa khoảng 6,7.

Giới hạn:

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:

Tạp chất A không được có diện tích pic lớn hơn 4 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (0,4 %).

Tạp chất phân hủy decarboxylat hóa: Diện tích của pic tương ứng với tạp chất phân hủy decarboxylat hóa chia cho 1,1 không được lớn hơn 1,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (0,15 %).

Từng tạp chất khác không được có diện tích lớn hơn 2 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (0,2 %).

Tổng diện tích của tất cả các pic tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (0,5 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (0,05 %).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch acid: Pha loãng 17 ml *acid acetic băng (TT)* thành 1000 ml với *nước*, lắc đều. Pha loãng 100 ml dung dịch thu được thành 1000 ml với *nước*, lắc đều.

Dung dịch đệm: Pha loãng 15 ml hỗn hợp *acetonitril - triethylamin* (1 : 1) thành 1000 ml với dung dịch acid, điều chỉnh đến pH 5,25 với *acid phosphoric (TT)*.

Dung môi pha mẫu: Acetonitril - dung dịch acid (75 : 25).

Pha động: Dung dịch đệm - acetonitril (64 : 36), điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.

Dung dịch chuẩn gốc: Cân chính xác khoảng 30 mg fexofenadin hydroclorid chuẩn vào bình định mức 100 ml, hòa tan trong dung môi, thêm dung môi vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Dung dịch chuẩn: Pha loãng 5,0 ml dung dịch chuẩn gốc thành 100,0 ml với pha động, lắc đều.

Dung dịch thử gốc: Lấy 10 viên bất kỳ cho vào bình định mức 200 ml, thêm 40 ml dung dịch acid, lắc cơ học 30 min để viên rã hoàn toàn. Thêm 120 ml *acetonitril (TT)*, tiếp tục lắc siêu âm 60 min, để nguội thêm dung môi pha mẫu vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc. Pha loãng nếu cần với dung môi pha mẫu để được dung dịch có nồng độ fexofenadin hydroclorid khoảng 1,2 mg/ml.

Dung dịch thử: Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử gốc thành 20,0 ml với dung môi pha mẫu. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *phenylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).

Nhiệt độ cột: 35 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch chuẩn và ghi lại sắc ký đồ. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số đối xứng không lớn hơn 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic chính của 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.

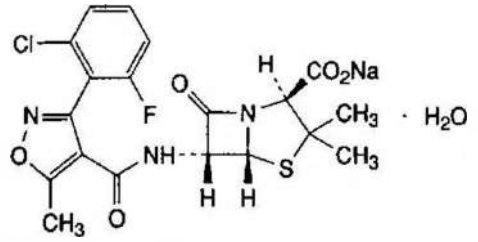
Tiêm riêng biệt dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng fexofenadin hydroclorid, $C_{32}H_{39}NO_4.HCl$, trong viên, dựa vào diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ $C_{32}H_{39}NO_4.HCl$ của dung dịch chuẩn.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng histamin.

Hàm lượng thường dùng
60 mg; 120 mg; 180 mg.

FLUCLOXACILIN NATRI
Flucloxacillinum natricum



$C_{19}H_{16}ClFN_3NaO_5S.H_2O$ P.t.l: 493,9

Flucloxacilin natri là natri (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[[3-(2-cloro-6-fluorophenyl)-5-methylisoxazol-4-yl]carbonyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylat monohydrat, phải chứa từ 95,0 % đến 102,0 % $C_{19}H_{16}ClFN_3NaO_5S$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, hút ẩm, dễ tan trong nước và methanol, tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của flucloxacilin natri chuẩn.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel H đã được silan hóa.
Dung môi khai triển: Aceton - dung dịch amoni acetat 15,4 % được chỉnh pH đến 5,0 bằng acid acetic băng (30 : 70).
Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong 5 ml *nước*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg flucloxacilin natri chuẩn trong 5 ml *nước*.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 25 mg cloxacilin natri chuẩn, 25 mg dicloxacilin natri chuẩn và 25 mg flucloxacilin natri chuẩn trong 5 ml *nước*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và đặt bản mỏng vào bình bão hòa hơi iod cho đến khi xuất hiện các vết. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 3 vết tách rõ ràng.
C. Lấy khoảng 2 mg chế phẩm vào một ống nghiệm dài khoảng 15 cm và đường kính trong khoảng 1,5 cm, làm ẩm bằng 0,05 ml *nước* và thêm 2 ml *dung dịch formaldehyd trong acid sulfuric (TT)*. Trộn các thành phần trong ống bằng cách lắc mạnh; dung dịch xuất hiện màu vàng lục. Để ống nghiệm trong nồi cách thủy khoảng 1 min, dung dịch chuyển sang màu vàng.
D. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2). Độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch S đo ở bước sóng 430 nm không được lớn hơn 0,04.

pH
Dung dịch S có pH từ 5,0 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng
Từ +158° đến +168°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Định lượng.
Tiến hành sắc ký dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu.
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 6 lần thời gian lưu của pic chính.
Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (1), diện tích của bất kỳ pic phụ nào, ngoài pic chính, không được lớn hơn diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1 %); tổng diện tích tất cả các pic phụ, ngoài pic chính, không được lớn hơn 5 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (5 %). Bỏ qua các pic phụ có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu.

N,N-Dimethylanilin
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16, phương pháp 2).

Acid 2-ethylhexanoic
Không được quá 0,8 % (kl/kl) (Phụ lục 10.17).

Nước
3,0 % đến 4,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,300 g chế phẩm.

Chất gây sốt
Nếu chế phẩm dự định dùng trong sản xuất thuốc tiêm mà không có phương pháp loại bỏ chất gây sốt thì chế phẩm phải Thử chất gây sốt (Phụ lục 13.4).
Tiêm 1 ml dung dịch chứa 20 mg chế phẩm trong 1 ml nước cất pha tiêm cho 1 kg trọng lượng thỏ.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hỗn hợp *acetonitril (TT)* và *dung dịch kali dihydrophosphat 0,27 %* (25 : 75), điều chỉnh đến pH 5,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*.
Dung dịch thử (1): Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử (1) thành 50,0 ml bằng pha động.
Dung dịch chuẩn (1): Hòa tan 50,0 mg flucloxacilin natri chuẩn trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng pha động.
Dung dịch chuẩn (2): Hòa tan 5 mg flucloxacilin natri chuẩn và 5 mg cloxacilin natri chuẩn trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 5,0 ml dung dịch chuẩn (1) thành 50,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 225 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch chuẩn (2), điều chỉnh độ nhạy của hệ thống để chiều cao của pic chính trên các sắc ký đồ thu được ít nhất bằng 50 % thang đo. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic cloxacilin (pic thứ 1) và pic flucloxacilin (pic thứ 2) không được nhỏ hơn 2,5.
Tiêm 6 lần dung dịch chuẩn (1), độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic flucloxacilin không được lớn hơn 1,0 %.
Tiêm luân phiên dung dịch thử (2) và dung dịch chuẩn (1). Tính hàm lượng $C_{19}H_{16}ClFN_3NaO_5S$ trong dung dịch thử dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử và dung dịch chuẩn.

Bảo quản
Trong chai lọ nút kín, ở nhiệt độ dưới 25 °C. Nếu là chế phẩm vô khuẩn thì chai lọ đựng phải được tiệt trùng, gắn kín, chống nhiễm khuẩn.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm penicilin.

Chế phẩm
Thuốc nang, dịch treo uống.

NANG FLUCLOXACILIN
Capsulae Flucloxacillini

Là nang cứng chứa flucloxacilin natri.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng flucloxacilin, $C_{19}H_{17}ClFN_3O_5S$, từ 92,5 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của flucloxacilin natri.
B. Thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử trong mục Định lượng phải tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - dung dịch kali dihydrophosphat 0,27 % đã được điều chỉnh đến pH 5,0 bằng dung dịch natri hydroxyd 2 M (25 : 75). Thay đổi tỷ lệ acetonitril nếu cần để đạt điều kiện sắc ký yêu cầu.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với khoảng 0,1 g flucloxacilin vào bình định mức 100 ml, thêm 80 ml pha động, lắc khoảng 15 min để hòa tan, thêm pha động đến vạch, lắc đều và lọc.
Dung dịch đối chiếu: Hút 1 ml dung dịch thử pha loãng thành 100 ml bằng pha động.
Dung dịch phân giải: Dung dịch flucloxacilin natri chuẩn 0,01 % và cloxacilin natri chuẩn 0,01 % trong pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) nhồi pha tĩnh C (5 µm), cột Hypersil 5 ODS là phù hợp.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 225 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa pic cloxacilin và pic flucloxacilin không nhỏ hơn 2,5.
Tiến hành sắc ký dung dịch thử với thời gian gấp 6 lần thời gian lưu của pic chính (flucloxacilin).
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào ngoài pic chính không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1 %) và tổng diện tích của tất cả các pic phụ không được lớn hơn 5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5 %). Bỏ qua bất cứ pic nào có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,05 %).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - dung dịch kali dihydrophosphat

0,27 % đã được điều chỉnh đến pH 5,0 bằng dung dịch natri hydroxyd 2 M (25 : 75). Thay đổi tỷ lệ acetonitril nếu cần để đạt điều kiện sắc ký yêu cầu.

Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng khoảng 50 mg flucloxacilin cho vào bình định mức 50 ml, thêm 40 ml pha động, lắc khoảng 15 min để hòa tan, thêm pha động đến vạch, lắc đều và lọc. Hút 5,0 ml dịch lọc pha loãng thành 50,0 ml bằng pha động.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch flucloxacilin natri chuẩn 0,011 % trong pha động.

Dung dịch phân giải: Dung dịch flucloxacilin natri chuẩn 0,01 % và cloxacilin natri chuẩn 0,01 % trong pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) nhồi pha tĩnh C (5 µm), cột Hypersil 5 ODS là phù hợp.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 225 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa pic cloxacilin và pic flucloxacilin không nhỏ hơn 2,5.

Tính hàm lượng flucloxacilin, $C_{19}H_{17}ClFN_3O_5S$, trong nang từ diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{19}H_{17}ClFN_3O_5S$ trong flucloxacilin natri chuẩn.

1 mg flucloxacilin natri tương đương với 0,9538 mg flucloxacilin $C_{19}H_{17}ClFN_3O_5S$.

Bảo quản

Trong bao bì kín, nơi khô mát.

Loại thuốc

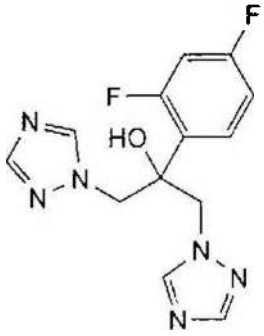
Kháng sinh nhóm penicilin.

Hàm lượng thường dùng

250 mg, 500 mg.

FLUCONAZOL

Fluconazolum



$C_{13}H_{12}F_2N_6O$ P.t.l: 306,3

Fluconazol là 2-(2,4-difluorophenyl-1,3-bis(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{13}H_{12}F_2N_6O$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, hút ẩm. Đa hình. Dễ tan trong methanol, tan trong aceton, khó tan trong nước.

Định tính

Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của fluconazol chuẩn. Nếu phổ của chất chuẩn và chế phẩm đo ở trạng thái rắn khác nhau thì hòa tan riêng rẽ chế phẩm và chất chuẩn vào một thể tích nhỏ nhất *methylen clorid (TT)* rồi bốc hơi đến khô trên cách thủy. Ghi lại phổ hồng ngoại của các cắn thu được.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3; phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Acetonitril - dung dịch amoni format 0,063 %* (14 : 86).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong pha động, siêu âm nếu cần và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg fluconazol chuẩn dùng để định tính pic (chứa tạp chất A) trong pha động, siêu âm nếu cần và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 3,0 mg tạp chất B chuẩn của fluconazol trong pha động, siêu âm nếu cần và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 2,0 mg tạp chất C chuẩn của fluconazol bằng pha động và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được và 1,0 ml dung dịch thử thành 10,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

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

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 260 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 3,5 lần thời gian lưu của fluconazol.

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo fluconazol chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất A.

Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của tạp chất B và sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của tạp chất C.
Thời gian lưu tương đối so với fluconazol (thời gian lưu khoảng 11 min): Tạp chất B khoảng 0,4; tạp chất A khoảng 0,5; tạp chất C khoảng 0,8.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4), độ phân giải giữa pic của tạp chất C và pic của fluconazol ít nhất là 3,0.
Giới hạn:
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 0,8 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,4 %).
Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,3 %).
Tạp chất C: Diện tích pic tạp chất C không được lớn hơn diện tích pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,1 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 1,2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,6 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: (2*RS*)-2-(2,4-difluorophenyl)-1-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)-3-(4*H*-1,2,4-triazol-4-yl)propan-2-ol.
Tạp chất B: 2-[2-fluoro-4-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)phenyl]-1,3-bis(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol.
Tạp chất C: 1,1'-(1,3-phenylen)di-1*H*-1,2,4-triazol.
Tạp chất D: 2-(4-fluorophenyl)-1,3-bis(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl) propan-2-ol.
Tạp chất E: 1-[(6*RS*)-4,6-difluoro-6-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl) cyclohexa- 1,4-dienyl]ethanon.
Tạp chất F: (2*RS*)-2-(2,4-difluorophenyl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-1,2-diol.
Tạp chất H: (2*RS*)-1-bromo-2-(2,4-difluorophenyl)-3-(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propan-2-ol.
Tạp chất G: Acid [3-[[(2*RS*)-2-(2,4-difluorophenyl)oxiran-2-yl] methyl]1*H*-1,2,4-triazol-1-yl]methansulfonic.
Tạp chất I: 4-amino-1-[(2*RS*)-2-(2,4-difluorophenyl)-2-hydroxy-3(1*H*-1,2,4-triazol-1-yl)propyl]-4H-1,2,4-triazolium.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.13)
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong hỗn hợp *nước - methanol* (15 : 85) và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi. Lấy 12 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo phương pháp 2. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,125 g chế phẩm trong 60 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 15,32 mg $C_{13}H_{12}F_2N_6O$.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Chống nấm.

Chế phẩm
Nang, viên nén.

NANG FLUCONAZOL
Capsulae Fluconazoli

Là viên nang cứng có chứa fluconazol.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu dưới đây:

Hàm lượng fluconazol, $C_{13}H_{12}F_2N_6O$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Dicloromethan - methanol - amoniac (80 : 20 : 1).
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với 0,1 g fluconazol với 10 ml *methanol (TT)*, lọc lấy dịch lọc.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,1 g fluconazol chuẩn trong 10 ml *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí và màu sắc.
B. Ghi phổ hấp thụ tử ngoại của dung dịch thử trong phần Định lượng (Phụ lục 4.1). Phổ hấp thụ này có hai cực đại hấp thụ ở 261 và 267 nm và một cực tiểu hấp thụ ở 264 nm.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 500 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.

Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc (loại bỏ dịch lọc đầu).
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng fluconazol chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ tương ứng với nồng độ của dung dịch thử.
Dung dịch vỏ nang: Cho một vỏ nang rỗng vào một cốc của máy thử độ hòa tan và tiến hành như mẫu thử.
Đo độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch vỏ nang và dung dịch đối chiếu ở cực đại 261 nm (Phụ lục 4.1). Dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng. Tính lượng fluconazol, $C_{13}H_{12}F_2N_6O$, được hòa tan từ nang. Biết rằng mật độ quang của mẫu thử là hiệu số mật độ quang thu được từ dung dịch thử và dung dịch vỏ nang.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng fluconazol so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

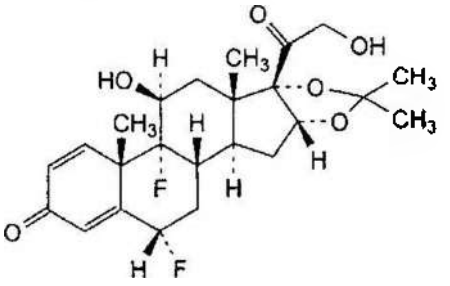
Định lượng
Dung dịch thử: Cân 20 nang thuốc, xác định khối lượng trung bình bột thuốc trong nang. Cân chính xác một lượng bột thuốc trong nang đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 50 mg fluconazol cho vào bình định mức 100 ml, thêm một lượng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, lắc kỹ để hòa tan fluconazol, thêm cùng dung môi đến định mức, lắc kỹ và lọc. Loại bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Lấy chính xác 10,0 ml dịch lọc pha loãng với cùng dung môi thành 25,0 ml.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng fluconazol chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ tương ứng khoảng 200 µg/ml.
Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử và dung dịch chuẩn ở bước sóng cực đại 261 nm, mẫu trắng là *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*
Tính hàm lượng fluconazol, $C_{13}H_{12}F_2N_6O$, trong nang dựa vào mật độ quang của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và nồng độ fluconazol trong dung dịch chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô.

Loại thuốc
Chống nấm.

Hàm lượng thường dùng
50 mg, 100 mg, 150 mg.

FLUOCINOLON ACETONID
Fluocinolonum acetonidum



$C_{24}H_{30}F_2O_6$ P.t.l: 452,5

Fluocinolon acetonid là 6α,9-difluoro-11β,21-dihydroxy-16α,17-(1-methylethylidenedioxy)pregna-1,4-dien-3,20-dion, phải chứa từ 97,0 % đến 103,0 % $C_{24}H_{30}F_2O_6$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng, đa hình. Tan trong aceton và ethanol, thực tế không tan trong nước.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của fluocinolon acetonid chuẩn.
Nếu phổ hồng ngoại ở trạng thái rắn của mẫu thử và mẫu chuẩn khác nhau thì hòa tan riêng rẽ chế phẩm và chuẩn trong *ethanol (TT)*, bốc hơi tới cắn rồi tiến hành ghi lại phổ của cắn mới.
B. Trong phần Tạp chất liên quan, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) phải có thời gian lưu tương tự thời gian lưu của pic fluocinolon acetonid trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Góc quay cực riêng
Từ +100° đến +104°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *ethanol (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Pha động: Trộn đều 450 ml *acetonitril* (TT) và 500 ml *nước*, để cân bằng rồi thêm *nước* vừa đủ 1000 ml, trộn đều lại.
Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2,5 mg fluocinolon acetonid chuẩn và 2,5 mg triamcinolon acetonid chuẩn trong 45 ml *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *acetonitril (TT).*
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *base-deactivated end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 238 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 4 lần thời gian lưu của fluocinolon acetonid.
Thời gian lưu của triamcinolon acetonid khoảng 8,5 min, fluocinolon acetonid khoảng 10 min.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic triamcinolon acetonid và pic fluocinolon acetonid không được nhỏ hơn 3,0.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ dung dịch thử:
Diện tích của bất kỳ pic phụ nào không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1 %). Không được có quá 1 pic phụ có diện tích lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các pic phụ không được lớn hơn 2,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (2,5 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid 6α,9-difluoro-11β-hydroxy-16α,17-(1-methylethylidenedioxy)-3,20-dioxopregna-1,4-dien-21-oic.
Tạp chất B: Acid 6α,9-difluoro-11β-hydroxy-16α,17-(1-methylethylidenedioxy)-3-oxoandrosta-1,4-dien-17β-carboxylic.
Tạp chất D: 6α,9-Difluoro-11β-hydroxy-16α,17-(1-methylethylidenedioxy)-3,20-dioxopregna-1,4-dien-21-al.
Tạp chất C: 6α,9-Difluoro-11β,16α,17,21-tetrahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion (fluocinolon).
Tạp chất E: 9,11β-Epoxy-6α-fluoro-21-hydroxy-16,17-(1-methylethylidenedioxy)-9β-pregna-1,4-dien-3,20-dion.
Tạp chất F: 6α-Fluoro-21-hydroxy-16α,17-(1-methylethylidenedioxy)pregn-4-en-3,20-dion.
Tạp chất G: 6α-Fluoro-11β-hydroxy-16α,17-(1-methylethylidenedioxy)-3,20-dioxopregn-4-en-21-yl acetat.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C; 3 h).

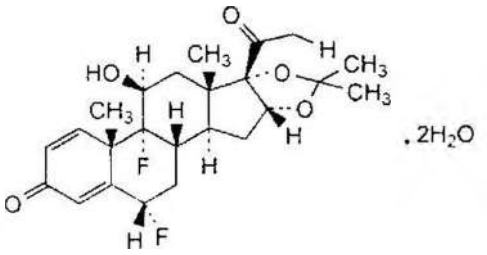
Định lượng
Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Hoà tan 50,0 mg chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *ethanol 96 % (TT)*. Đo độ hấp thụ của dung dịch ở bước sóng 238 nm.
Tính hàm lượng của $C_{24}H_{30}F_2O_6$ trong chế phẩm theo độ hấp thụ riêng ở bước sóng 238 nm là 355.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống viêm steroid.

Chế phẩm
Kem, thuốc mỡ.

FLUOCINOLON ACETONID DIHYDRAT
Fluocinolonum acetonidum dihydricum



$C_{24}H_{30}F_2O_6.2H_2O$ P.t.l: 488,5

Fluocinolon acetonid dihydrat là 6α,9α-difluoro-11β,21-dihydroxy-16α,17α-isopropylidendioxypregna-1,4-dien-3,20-dion dihydrat, phải chứa từ 96,0 % đến 104,0 % $C_{24}H_{30}F_2O_6$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan trong aceton, tan trong ethanol tuyệt đối, hơi tan trong dicloromethan và trong methanol; thực tế không tan trong nước và hexan.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của fluocinolon acetonid dihydrat chuẩn.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G. Thấm ướt bản mỏng bằng hỗn hợp dung môi: *Formamid - aceton* (1 : 9), đặt bản mỏng trong bình kín, để dung môi chạy lên hết bản mỏng, lấy bản mỏng ra, để bay hết dung môi. Sử dụng bản mỏng trong vòng 2 h và triển khai sắc ký theo chiều thấm dung môi.
Dung môi khai triển: Toluen - cloroform - cyclohexan (29 : 56 : 115).
Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong hỗn hợp *cloroform - methanol* (9 : 1) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg fluocinolon acetonid chuẩn trong hỗn hợp *cloroform - methanol* (9 : 1) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Trộn 1,0 ml dung dịch thử và 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 15 cm. Để dung môi bay hơi, sấy bản mỏng ở 120 °C trong 15 min và *phun dung dịch acid sulfuric 20 % trong ethanol (TT)* tiếp tục sấy ở 120 °C trong 10 min, để nguội và quan sát dưới ánh sáng ban ngày hoặc ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương tự với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí, màu sắc và kích thước. Dung dịch đối chiếu (2) chỉ cho 1 vết chính.
C. Tiến hành theo các điều kiện của phép thử B.

Dung dịch thử: Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong 1,5 ml *acid acetic băng (TT)* trong bình gạn, thêm 0,5 ml *dung dịch crom (VI) oxyd 2 %* và để yên 30 min. Thêm 5 ml *nước* và 2 ml *dicloromethan (TT)* và lắc mạnh trong 2 min. Để yên cho phân lớp và dùng lớp dưới.
Chuẩn bị dung dịch đối chiếu như Dung dịch thử nhưng sử dụng 10 mg fluocinolon acetonid chuẩn.

Góc quay cực riêng
Từ +92° đến +96°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).
Chuẩn bị dung dịch 1 % chế phẩm trong *1,4-dioxan (TT)* để đo.

Độ hấp thụ ánh sáng
Hòa tan 15,0 mg chế phẩm trong *ethanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *ethanol (TT)*. Dung dịch thu được có độ hấp thụ riêng A (1 %, 1 cm) ở bước sóng cực đại 239 nm từ 345 đến 375, tính theo chế phẩm khan.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tiến hành tránh ánh sáng.
Pha động: Acetonitril - nước (45 : 55).
Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2,5 mg fluocinolon acetonid chuẩn và 2,5 mg triamcinolon acetonid chuẩn trong dung dịch *acetonitril* 45 % (kl/tt) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *acetonitril (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 20 ml bằng *acetonitril (TT)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *base-deactivated end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 238 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 4 lần thời gian lưu của pic chính.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của triamcinolon acetonid với pic của fluocinolon acetonid ít nhất là 3,0; trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), tỉ số tín hiệu trên nhiễu ít nhất là 10 đối với pic chính.
Giới hạn:
Trên sắc ký đồ dung dịch thử:
Diện tích của bất kỳ pic phụ nào không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1 %).
Không được có quá 1 pic phụ có diện tích lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các pic phụ không được lớn hơn 2,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (2,5 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,05 %).

Nước
Từ 7,0 % đến 8,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,5 g chế phẩm.

Định lượng
Tiến hành theo Phụ lục 10.8: Định lượng các steroid bằng tetrazolin.
Tính hàm lượng $C_{24}H_{30}F_2O_6$ từ độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{24}H_{30}F_2O_6$ trong fluocinolon acetonid chuẩn đã dùng.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống viêm steroid.

Chế phẩm
Kem, thuốc mỡ.

KEM FLUOCINOLON
Cremoris Fluocinoloni

Là kem bôi trên da có chứa fluocinolon acetonid hoặc fluocinolon acetion dihydrat.

Hàm lượng fluocinolon, $C_{24}H_{30}F_2O_6$, từ 90,0 % đến 110 % so với lượng ghi trên nhãn.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc mềm dùng trên da và niêm mạc" (Phụ lục 1.12) và các yêu cầu sau đây:

Tính chất
Thuốc kem có màu trắng hoặc trắng hơi ngà, đồng nhất.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic fluocinolon acetonid trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: n-Hexan - cloroform - methanol - triethylamin (60 : 40 : 10 : 1).
Dung dịch thử: Lắc một lượng chế phẩm có chứa khoảng 0,25 mg fluocinolon acetonid với 2 ml *cloroform (TT)*, thêm 10 ml *methanol (TT)*, lắc mạnh. Làm lạnh trong nước

đá 15 min, ly tâm 3000 r/min trong 15 min. Gạn lấy dịch trong phía trên. Làm bay hơi dung dịch thu được tới khô trên cách thủy. Hòa tan cắn trong 1 ml *cloroform (TT)*.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch fluocinolon acetonid chuẩn 0,025 % trong *cloroform (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí, sấy ở 105 °C trong 5 min. Phun *dung dịch xanh tetrazolium (TT)* lên bản mỏng còn nóng. Quan sát dưới ánh sáng thường. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về màu sắc và vị trí với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: n-Hexan - cloroform - methanol - acid acetic (58 : 40 : 2 : 0,1).
Dung dịch A: Trộn đều 80 thể tích *methanol (TT)* vào 20 thể tích *dung dịch lithi clorid 25 %*.
Chuẩn bị các dung dịch sắc ký:
Thuốc kem có hàm lượng fluocinolon acetonid từ 0,20 % đến 0,025 %.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch có chứa 0,025 % fluocinolon acetonid chuẩn và 0,005 % phenacetin (chuẩn nội) trong *cloroform (TT)*.
Dung dịch thử (1a): Lấy một lượng chế phẩm có chứa khoảng 2,5 mg fluocinolon acetonid. Thêm 60 ml dung dịch A và phân tán bằng cách lắc mạnh. Thêm 100 ml *cyclohexan (TT)*, lắc nhẹ nhàng trong 2 min, để tách lớp. Tách lấy lớp nước - methanol một cách cẩn thận, tránh không để các tiểu phân rắn ở bề mặt giữa hai lớp lẫn vào. Tiến hành chiết một lần nữa như trên với 25 ml dung dịch A. Gộp các dịch chiết nước - methanol, thêm một dung dịch chứa 11 g *phèn chua (TT)* trong 214 ml *nước*, sau đó thêm 50 ml *cloroform (TT)*. Lắc mạnh 3 min, để tách lớp và lọc lớp cloroform qua giấy lọc đã thấm ướt trước bằng *cloroform (TT)* (giấy lọc Whatman số 1 là phù hợp), chú ý tránh không để các tiểu phân rắn ở bề mặt giữa hai lớp lẫn vào. Tiếp tục chiết như trên với lần lượt 50 ml và 10 ml *cloroform (TT)*. Lọc các dịch chiết cloroform qua cùng một giấy lọc trên. Bốc hơi dịch lọc tới khô trên cách thủy. Hòa tan cắn thu được trong 5 ml *cloroform (TT)* và chuyển vào bình định mức 10 ml với sự trợ giúp của *cloroform (TT)*, pha loãng bằng *cloroform (TT)* vừa đủ 10 ml.
Dung dịch thử (2): Tiến hành chuẩn bị giống như dung dịch thử (1a), nhưng thêm 1,0 ml dung dịch phenacetin 0,050 % vào dung dịch cloroform trước khi pha loãng vừa đủ 10 ml.
Thuốc kem có hàm lượng fluocinolon acetonid 0,01 %
Dung dịch chuẩn: Dung dịch có chứa 0,01 % fluocinolon acetonid chuẩn và 0,002 % phenacetin (chuẩn nội) trong cloroform.
Dung dịch thử (1): Tiến hành chuẩn bị giống như dung dịch thử (1a) ở trên, nhưng sử dụng một lượng chế phẩm có chứa khoảng 1 mg fluocinolon acetonid.
Dung dịch thử (2): Tiến hành chuẩn bị giống như dung dịch thử (1), nhưng thêm 1,0 ml dung dịch phenacetin 0,02 % vào dung dịch cloroform trước khi pha loãng vừa đủ 10 ml.
Thuốc kem có hàm lượng fluocinolon acetonid 0,00625 %
Dung dịch chuẩn: Dung dịch có chứa 0,00625 % fluocinolon acetonid chuẩn và 0,00125 % phenacetin (chuẩn nội) trong cloroform.
Dung dịch thử (1): Tiến hành chuẩn bị giống như dung dịch thử (1a) ở trên, nhưng sử dụng một lượng chế phẩm có chứa khoảng 0,62 mg fluocinolon acetonid.
Dung dịch thử (2): Tiến hành chuẩn bị giống như dung dịch thử (1), nhưng thêm 1,0 ml dung dịch phenacetin 0,0125 % vào dung dịch cloroform trước khi pha loãng vừa đủ 10 ml.
Thuốc kem có hàm lượng fluocinolon acetonid 0,0025 %
Dung dịch chuẩn: Dung dịch có chứa 0,0025 % fluocinolon acetonid chuẩn và 0,0005 % phenacetin (chuẩn nội) trong cloroform.
Dung dịch thử (1): Tiến hành chuẩn bị giống như dung dịch thử (1a) ở trên, nhưng sử dụng một lượng chế phẩm có chứa 0,25 mg fluocinolon acetonid.
Dung dịch thử (2): Tiến hành chuẩn bị giống như dung dịch thử (1), nhưng thêm 1,0 ml dung dịch phenacetin 0,005 % vào dung dịch cloroform trước khi pha loãng vừa đủ 10 ml.
Điều kiện sắc ký :
Cột kích thước (20 cm × 5 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (Spherisorb ODS 1 là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 243 nm.
Tốc độ dòng: 1,8 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với các dung dịch chuẩn và các dung dịch thử. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải (Rs) giữa các pic fluocinolon acetonid và phenacetin phải lớn hơn 2, và các hệ số dung lượng (k') của fluocinolon acetonid và phenacetin là khoảng 3 và 2. Nếu các điều kiện trên không đạt được thì điều chỉnh nồng độ methanol trong pha động, tăng nồng độ methanol để giảm hệ số k' và giảm nồng độ methanol để tăng hệ số k'. Nếu điều chỉnh như vậy mà vẫn không thu được các điều kiện qui định thì cột sắc ký không phù hợp. Nếu giá trị k' thu được nằm trong điều kiện qui định nhưng giá trị Rs dưới 2 thì giảm 5 % nồng độ cloroform trong pha động để tăng thời gian lưu của cả fluocinolon acetonid và phenacetin và điều chỉnh lại giá trị k' tới các trị số qui định bằng cách tăng nồng độ methanol. Lập lại quá trình điều chỉnh cloroform và methanol cho tới khi thu được các giá trị Rs và k'phù hợp.
Tính hàm lượng (%) fluocinolon acetonid, $C_{24}H_{30}F_2O_6$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{24}H_{30}F_2O_6$ trong fluocinolon acetonid chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống viêm steroid dùng tại chỗ.

Hàm lượng thường dùng
0,01 %, 0,025 %, 0,05 %.

DUNG DỊCH FORMALDEHYD
Formaldehydi solutio
Formalin

CH_2O P.t.l: 30,03

Dung dịch formaldehyd (35 %) phải chứa từ 34,5 % đến 38,0 % (kl/kl) formaldehyd (CH_2O), có chứa methanol làm chất bảo quản.

Tính chất
Chất lỏng trong, không màu.
Trộn lẫn được với nước và ethanol 96 %. Có thể bị đục trong quá trình bảo quản.

Định tính
A. Pha loãng 1 ml dung dịch S thành 10 ml bằng *nước*. Lấy 0,05 ml dung dịch thu được, thêm 1 ml *dung dịch muối natri của acid chromotropic 1,5 %*, 2 ml *nước* và 8 ml *acid sulfuric đậm đặc (TT)*. Màu xanh tím hoặc đỏ tím xuất hiện trong vòng 5 min.
B. Lấy 0,1 ml dung dịch S, thêm 10 ml *nước*, 2 ml dung dịch phenylhydrazin hydroclorid 1 % mới pha, 1 ml *dung dịch kali fericyanid 5 % (TT)* và 5 ml *acid hydrocloric đậm đặc (TT)*. Màu đỏ đậm tạo thành.
C. Trộn 0,5 ml chế phẩm với 2 ml *nước* và 2 ml *dung dịch bạc nitrat 2 % (TT)* trong ống nghiệm. Thêm *dung dịch amoniac 2 M (TT)* đến kiềm nhẹ. Đun nóng trên cách thủy. Tủa xám hay gương bạc tạo thành.
D. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu giới hạn hàm lượng.

Màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Pha loãng 10 ml chế phẩm thành 50 ml bằng *nước không chứa carbon dioxyd (TT)*. Lọc nếu cần. Dung dịch S phải không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid
Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)*. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* để làm chuyển màu chỉ thị sang đỏ không được quá 0,4 ml.

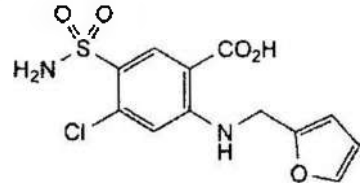
Methanol
Từ 9,0 % đến 15,0 % (tt/tt).
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).
Dung dịch nội chuẩn: Pha loãng 10 ml ethanol thành 100 ml bằng *nước* [dùng ethanol có hàm lượng methanol nhỏ hơn 0,005 % (tt/tt) làm nội chuẩn].
Dung dịch chuẩn: Lấy 1 ml *methanol (TT)*, thêm 10 ml dung dịch nội chuẩn và pha loãng thành 100 ml bằng *nước*.
Dung dịch thử: Lấy 10 ml chế phẩm, thêm 10 ml dung dịch nội chuẩn và pha loãng thành 100 ml bằng *nước*.
Điều kiện sắc ký:
Cột thủy tinh dài 1,5 m đến 2,0 m và đường kính trong từ 2 mm đến 4 mm, chất mang là *ethylvinylbenzen-divinylbenzen copolymer* (150 µm đến 180 µm).
Khí mang: *Nitrogen dùng cho sắc ký khí*, lưu lượng 30 ml/min đến 40 ml/min.
Detector: Ion hóa ngọn lửa.
Nhiệt độ: Duy trì nhiệt độ cột ở 120 °C, nhiệt độ buồng tiêm và detector ở 150 °C.
Thể tích tiêm: 1 µl.
Cách tiến hành: Tiêm dung dịch chuẩn. Điều chỉnh độ nhạy của detector sao cho chiều cao của các pic không nhỏ hơn 50 % thang đo. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa các pic tương ứng với methanol và ethanol ít nhất là 2,0.
Tiêm riêng rẽ dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Tính hàm lượng % của methanol.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Trong bình định mức dung tích 100 ml có chứa 2,5 ml *nước* và 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, cân 1,000 g chế phẩm vào bình, lắc và thêm *nước* tới vạch. Lấy 10,0 ml dung dịch, thêm 30,0 ml *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)*. Trộn đều và thêm 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*. Sau 15 min, thêm 25 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* và 2 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)*.
1 ml *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)* tương đương với 1,501 mg CH_2O.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng, ở nhiệt độ từ 15 °C đến 25 °C.

FUROSEMID
Furosemidum



$C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$ P.t.l: 330,7

Furosemid là acid 4-cloro-2-[(fural-2-ylmethyl)amino]-5-sulfamoylbenzoic, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, đa hình.
Tan trong aceton, hơi tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong nước và methylen clorid. Tan trong các dung dịch hydroxyd kiềm loãng.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của furosemid chuẩn. Nếu phổ của chế phẩm và chất chuẩn ở trạng thái rắn khác nhau thì hòa tan riêng rẽ chế phẩm và furosemid chuẩn trong *aceton (TT)*, bay hơi tới cắn rồi tiến hành ghi lại phổ của cắn mới.

B. Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 100 ml bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*.

Phổ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được đo trong khoảng bước sóng từ 220 nm đến 350 nm có 3 cực đại hấp thụ ở bước sóng 228 nm, 270 nm và 333 nm. Tỷ số độ hấp thụ ở bước sóng 270 nm và bước sóng 228 nm phải từ 0,52 đến 0,57.

C. Hòa tan khoảng 25 mg chế phẩm trong 10 ml *ethanol 96 % (TT)*. Trộn 5 ml dung dịch thu được với 10 ml *nước*. Lấy 0,2 ml dung dịch thu được, thêm 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và đun hồi lưu 15 min. Để nguội và thêm 18 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* và 1 ml *dung dịch natri nitrit 0,5 % (TT)*. Để yên 3 min, thêm 2 ml *dung dịch acid sulfamic 2,5 % (TT)* và trộn đều. Thêm 1 ml *dung dịch naphthylethylendiamin dihydroclorid 0,5 % (TT)*. Màu đỏ tím sẽ xuất hiện.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong *dung dịch natri hydroxyd 0,5 M (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn dung dịch màu mẫu VN_5 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng và tránh ánh sáng.

Pha động: Hòa tan 2,0 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 2,5 g *cetrimid (TT)* trong 700 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 7,0 bằng *amoniac (TT)* và thêm 300 ml *propanol (TT)*.

Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2 mg tạp chất A chuẩn của furosemid trong pha động, thêm 2,0 ml dung dịch thử và pha loãng thành 20,0 ml bằng pha động. Pha loãng 0,5 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 2 mg furosemid chuẩn dùng để định tính pic (chứa tạp chất C và tạp chất D) trong 2,0 ml pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 238 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của furosemid.

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) để xác định pic của tạp chất A. Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo furosemid chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của các tạp chất C và D.

Thời gian lưu tương đối so với furosemid (thời gian lưu khoảng 9 min): Tạp chất C khoảng 0,5; tạp chất A khoảng 0,8; tạp chất D khoảng 1,5.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất A và pic của furosemid ít nhất là 4,0.

Giới hạn:

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng: Tạp chất C là 1,4; tạp chất D là 2,0.

Tạp chất C: Diện tích pic tạp chất C đã hiệu chỉnh không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).

Tạp chất D: Diện tích pic tạp chất D đã hiệu chỉnh không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,15 %).

Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic tạp chất A trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: Acid 2-cloro-4-[(furan-2-ylmethyl)amino]-5-sulfamoylbenzoic.

Tạp chất B: Acid 2,4-dicloro-5-sulfamoylbenzoic.

Tạp chất C: Acid 2-amino-4-cloro-5-sulfamoylbenzoic.

Tạp chất D: Acid 2,4-bis[(furan-2-ylmethyl)amino]-5-sulfamoylbenzoic.

Tạp chất E: Acid 2,4-diclorobenzoic.

Tạp chất F: Acid 4-cloro-5-sulfamoyl-2-[[((2*RS*)-tetrahydrofuran-2-yl)methyl]amino]benzoic.

Clorid

Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.5).

Lắc 0,5 g chế phẩm với một hỗn hợp gồm 30 ml *nước* và 0,2 ml *acid nitric (TT)* trong 5 min, để yên 15 min, lọc. Lấy 15 ml dịch lọc để thử.

Sulfat

Không được quá 0,03 % (Phụ lục 9.4.14).

Lắc 1,0 g chế phẩm với một hỗn hợp gồm 0,2 ml *acid acetic (TT)* và 30 ml *nước cất* trong 5 min, để yên 15 min, lọc. Lấy 15 ml dịch lọc để thử.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm thử theo phương pháp 8. Dùng 0,5 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 40 ml *dimethylformamid (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 33,07 mg $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc lợi tiểu quai.

Chế phẩm
Thuốc tiêm, viên nén.

VIÊN NÉN FUROSEMID
Tabellae Furosemidi

Là viên nén chứa furosemid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng furosemid, $C_{12}H_{11}Cl\ N_2O_5S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử trong khoảng bước sóng từ 220 nm đến 360 nm phải có 3 cực đại ở 228 nm và 271 nm và 333 nm.
B. Lắc một lượng bột viên tương ứng với 25 mg furosemid với 10 ml *ethanol (TT)*, lọc và bốc hơi dịch lọc trên cách thủy tới khô. Hòa tan cắn trong 2,5 ml *ethanol (TT)* và thêm 2 ml *dung dịch dimethylaminobenzaldehyd (TT)*, màu xanh lá tạo thành, sau đó chuyển sang màu đỏ sẫm.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Propanol - dung dịch đệm (30 : 70).
Dung dịch đệm: Hòa tan 2 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 2,5 g *cetrimid (TT)* trong 700 ml *nước*, điều chỉnh pH đến 7,0 bằng *amoniac (TT)*.
Chuẩn bị các dung dịch sau ngay trước khi dùng.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 20 mg furosemid và hòa tan trong vừa đủ 50 ml pha động, lắc đều, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 238 nm.
Thể tích tiêm: 100 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu, thời gian chạy sắc ký bằng 3 lần thời gian lưu của pic chính. Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, không được có pic phụ nào có diện tích lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %); tổng diện tích tất cả các pic phụ không được lớn hơn 1,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,5 %).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch đệm phosphat pH 5,8 (TT)*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu, pha loãng (nếu cần) dịch lọc bằng môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ furosemid khoảng 0,001 %. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 277 nm, cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch đệm phosphat pH 5,8 (TT)* làm mẫu trắng. Tiến hành đo song song với dung dịch furosemid chuẩn có nồng độ 0,001 % pha trong *dung dịch đệm phosphat pH 5,8 (TT)*.
Tính lượng furosemid, $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$, hòa tan trong viên.
Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng furosemid, $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

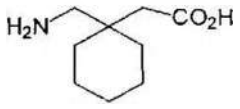
Định lượng
Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, rồi nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 20 mg furosemid cho vào bình định mức 100 ml và lắc với 60 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* trong 10 min. Thêm *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* đến định mức, lắc đều. Lọc và bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Lấy chính xác 5 ml dung dịch lọc này vào bình định mức 100 ml, pha loãng đến định mức bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*, lắc đều. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 271 nm, trong cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng furosemid, $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$, theo A (1 %, 1 cm). Lấy 580 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 271 nm.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, để nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc lợi tiểu.

Hàm lượng thường dùng
20 mg; 40 mg.

GABAPENTIN
Gabapentinum



$C_9H_{17}NO_2$ P.t.l: 171,2

Gabapentin là acid [1-(aminomethyl)cyclohexyl]acetic, phải chứa từ 97,5 % đến 102,0 % $C_9H_{17}NO_2$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hay gần như trắng. Đa hình. Hơi tan trong nước, khó tan trong ethanol 96%, thực tế không tan trong methylen clorid. Tan trong các dung dịch acid loãng và các dung dịch hydroxyd kiềm loãng.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của gabapentin chuẩn. Nếu phổ của chế phẩm và gabapentin chuẩn khác nhau, thì hòa tan riêng rẽ chế phẩm và chuẩn trong *methanol (TT)*, bốc hơi dung môi tới khô và ghi lại phổ mới của các cắn thu được.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 1,50 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 0,5 ml *acid acetic (TT)*, 19,5 ml *methanol (TT)* và 30 ml *nước*.
Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Từ 6,5 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

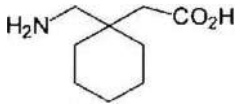
Tạp chất liên quan
A. Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.
Dung dịch A: Hòa tan 2,32 g *amoni dihydrophosphat (TT)* trong 950 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 2,0 bằng *acid phosphoric (TT)* và pha loãng thành 1000 ml với *nước*.
Dung dịch đệm: Hòa tan 0,58 g *amoni dihydrophosphat (TT)* và 1,83 g *natri perclorat (TT)* trong 950 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 1,8 bằng *acid percloric (TT)* và pha loãng thành 1000 ml với *nước*.
Pha động: Acetonitril (TT_1) - dung dịch đệm (24 : 76).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,140 g chế phẩm trong dung dịch A và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với dung dịch A. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 7,0 mg tạp chất A chuẩn của gabapentin và 10 mg tạp chất B chuẩn của gabapentin trong *methanol (TT_1)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml với dung dịch A.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 0,140 g gabapentin chuẩn trong dung dịch A và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 7,0 mg tạp chất D chuẩn của gabapentin trong 25 ml *methanol (TT_1)* và pha loãng thành 100,0 ml với dung dịch A. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml với dung dịch A.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh là *end-capped octadecylsilyl amorphous organosilica polymer dùng cho sắc ký* (5 µm).
Nhiệt độ cột: 40 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với mẫu trắng, dung dịch đối chiếu (1) và (2), dung dịch thử.
Thời gian chạy sắc ký gấp 4 lần thời gian lưu của gabapentin.
Định tính các tạp chất: Dùng sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) để định tính các pic tạp chất A và tạp chất B.
Thời gian lưu tương đối so với gabapentin (thời gian lưu khoảng 4 min) của tạp chất A khoảng 2,4; tạp chất B khoảng 2,8.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic tạp chất A và tạp chất B ít nhất phải bằng 2,3.
Để tránh hiện tượng pic lưu giữa hai sắc ký đồ, rửa cột sắc ký bằng *acetonitril (TT_1)* giữa hai lần tiêm.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử.
Tạp chất A: Diện tích của pic tạp chất A không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic tương ứng trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,15 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Bỏ qua các pic có diện tích pic nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
B. Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Tiến hành như mô tả trong phép thử A với một số thay đổi như sau:
Pha động: Methanol (TT_1) - acetonitril (TT_1) - dung dịch đệm (30 : 35 : 35).

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, để nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc lợi tiểu.

Hàm lượng thường dùng
20 mg; 40 mg.

GABAPENTIN
Gabapentinum



$C_9H_{17}NO_2$ P.t.l: 171,2

Gabapentin là acid [1-(aminomethyl)cyclohexyl]acetic, phải chứa từ 97,5 % đến 102,0 % $C_9H_{17}NO_2$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hay gần như trắng. Đa hình. Hơi tan trong nước, khó tan trong ethanol 96%, thực tế không tan trong methylen clorid. Tan trong các dung dịch acid loãng và các dung dịch hydroxyd kiềm loãng.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của gabapentin chuẩn. Nếu phổ của chế phẩm và gabapentin chuẩn khác nhau, thì hòa tan riêng rẽ chế phẩm và chuẩn trong *methanol (TT)*, bốc hơi dung môi tới khô và ghi lại phổ mới của các cặn thu được.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 1,50 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 0,5 ml *acid acetic (TT)*, 19,5 ml *methanol (TT)* và 30 ml *nước*.
Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Từ 6,5 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
A. Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.
Dung dịch A: Hòa tan 2,32 g *amoni dihydrophosphat (TT)* trong 950 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 2,0 bằng *acid phosphoric (TT)* và pha loãng thành 1000 ml với *nước*.
Dung dịch đệm: Hòa tan 0,58 g *amoni dihydrophosphat (TT)* và 1,83 g *natri perclorat (TT)* trong 950 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 1,8 bằng *acid percloric (TT)* và pha loãng thành 1000 ml với *nước*.
Pha động: Acetonitril (TT_1) - dung dịch đệm (24 : 76).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,140 g chế phẩm trong dung dịch A và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với dung dịch A. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 7,0 mg tạp chất A chuẩn của gabapentin và 10 mg tạp chất B chuẩn của gabapentin trong *methanol (TT_1)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml với dung dịch A.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 0,140 g gabapentin chuẩn trong dung dịch A và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 7,0 mg tạp chất D chuẩn của gabapentin trong 25 ml *methanol (TT_1)* và pha loãng thành 100,0 ml với dung dịch A. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml với dung dịch A.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh là *end-capped octadecylsilyl amorphous organosilica polymer dùng cho sắc ký* (5 µm).
Nhiệt độ cột: 40 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với mẫu trắng, dung dịch đối chiếu (1) và (2), dung dịch thử.
Thời gian chạy sắc ký gấp 4 lần thời gian lưu của gabapentin.
Định tính các tạp chất: Dùng sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) để định tính các pic tạp chất A và tạp chất B.
Thời gian lưu tương đối so với gabapentin (thời gian lưu khoảng 4 min) của tạp chất A khoảng 2,4; tạp chất B khoảng 2,8.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic tạp chất A và tạp chất B ít nhất phải bằng 2,3.
Để tránh hiện tượng pic lưu giữa hai sắc ký đồ, rửa cột sắc ký bằng *acetonitril (TT_1)* giữa hai lần tiêm.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử.
Tạp chất A: Diện tích của pic tạp chất A không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic tương ứng trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,15 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Bỏ qua các pic có diện tích pic nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
B. Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Tiến hành như mô tả trong phép thử A với một số thay đổi như sau:
Pha động: Methanol (TT_1) - acetonitril (TT_1) - dung dịch đệm (30 : 35 : 35).

Tiến hành sắc ký dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (4). Thời gian chạy sắc ký gấp 1,2 lần thời gian lưu của tạp chất D. Thời gian lưu của tạp chất D khoảng 10 min.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử.
Từng tạp chất: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (4) (0,05 %).
Bỏ qua các pic có diện tích pic nhỏ hơn 0,6 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (4) (0,03 %). Bỏ qua tất cả các pic có thời gian lưu tương đối so với tạp chất D nhỏ hơn hoặc bằng 0,4.
Yêu cầu tổng các tạp chất trong phép thử A và B không được quá 0,5 %.
Ghi chú:
Tạp chất A: 2-azaspiro[4.5]decan-3-on.
Tạp chất B: Acid (1-cyanocyclohexyl)acetic.
Tạp chất D: Acid [1-[(3-oxo-2-azaspiro[4.5]dec-2-yl)methyl] cyclohexyl]acetic.
Tạp chất E: Acid 1-(carboxymethyl)cyclohexancarboxylic.
Tạp chất G: Acid [1-(2-aminoethyl)cyclohexyl]acetic.

Clorid
Không được quá 100 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).
Hòa tan 1,5 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 0,5 ml *acid acetic (TT)*, 19,5 ml *methanol (TT)* và 30 ml *nước*. Chuẩn độ bằng *dung dịch bạc nitrat 0,001 N (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,001 N (CĐ)* tương đương với 0,03545 mg clorid.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 6. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Không được quá 0,3 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 1,000 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với điều kiện như mô tả trong phép thử A của mục Tạp chất liên quan với một số thay đổi như sau:
Tiến hành sắc ký dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (3).
Tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), hệ số đối xứng của pic gabapentin không được lớn hơn 5,0.
Tính hàm lượng phần trăm gabapentin, $C_9H_{17}NO_2$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic gabapentin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (3) và hàm lượng $C_9H_{17}NO_2$ trong gabapentin chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống động kinh.

Chế phẩm
Viên nén, nang.

NANG GABAPENTIN
Capsulae Gabapentini

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

Hàm lượng gabapentin, $C_9H_{17}NO_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lấy bột thuốc trong nang của ít nhất 10 nang, nghiền thành bột mịn, sử dụng một lượng bột thuốc tương ứng với 2 mg gabapentin và 200 mg *kali bromid tinh khiết IR (TT)* để dập thành đĩa nén và đo phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2). Phổ thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại của gabapentin chuẩn.
B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn gabapentin.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hoà tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,06 M (TT).*
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 20 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng gabapentin chuẩn và hòa tan trong môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ tương ứng với nồng độ gabapentin trong dung dịch thử.
Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với pha động và các điều kiện sắc ký như ở mục Định lượng. Thể tích tiêm là 100 µl.
Tính hàm lượng gabapentin, $C_9H_{17}NO_2$, hòa tan từ mỗi nang dựa vào diện tích pic gabapentin trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_9H_{17}NO_2$ trong gabapentin chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng gabapentin, $C_9H_{17}NO_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 20 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)
Dung môi pha mẫu: Như trong phần Định lượng.
Pha động A: Hòa tan 1,2 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 940 ml *nước*, điều chỉnh pH đến 6,9 bằng *dung dịch kali hydroxyd 5 M*. Thêm 60 ml *acetonitril (TT)* và trộn đều.
Pha động B: Hòa tan 1,2 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 700 ml *nước*, điều chỉnh pH đến 6,9 bằng *dung dịch kali hydroxyd 5 M*. Thêm 200 ml *acetonitril (TT)* và trộn đều.
Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với 500 mg gabapentin vào bình định mức 25 ml, thêm 15 ml dung môi pha mẫu và siêu âm trong khoảng 30 s (nếu cần) để hòa tan gabapentin, thêm dung môi pha mẫu đến định mức, lắc đều, lọc.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng gabapentin chuẩn và tạp chất A chuẩn của gabapentin hòa trong dung môi pha mẫu để được dung dịch có nồng độ gabapentin 0,04 mg/ml và tạp chất A của gabapentin là 0,04 mg/ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (250 mm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0,0 - 4,0	100	0
4,0 - 45,0	100 → 0	0 → 100
45,0 - 45,1	0 → 100	100 → 0
45,1 - 50,0	100	0

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng của pic gabapentin không lớn hơn 2,0; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic gabapentin và diện tích pic tạp chất A chuẩn của gabapentin từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 5,0 %.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử. Tính hàm lượng tạp chất A dựa trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử và dung dịch chuẩn, nồng độ tạp chất A trong dung dịch chuẩn. Tính hàm lượng các tạp chất khác dựa trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và nồng độ gabapentin trong dung dịch chuẩn.
Yêu cầu:
Tạp chất A của gabapentin không được quá 0,4 %.
Mỗi tạp chất khác không được quá 0,1 %.
Tổng các tạp chất không được quá 1,0 %.
Ghi chú:
Tạp chất A: 2-azaspiro[4.5]decan-3-on.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung môi pha mẫu: Hòa tan 1,2 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*, điều chỉnh pH đến 6,9 bằng *dung dịch kali hydroxyd 5 M*.
Pha động: Hòa tan 1,2 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 940 ml *nước*, điều chỉnh pH đến 6,9 bằng *dung dịch kali hydroxyd 5 M*. Thêm 60 ml *acetonitril (TT)* và trộn đều.
Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị dung dịch gabapentin chuẩn có nồng độ 4,0 mg/ml trong dung môi pha mẫu.
Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với 200 mg gabapentin vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml dung môi pha mẫu và siêu âm trong khoảng 60 s (nếu cần) để hòa tan gabapentin, thêm dung môi pha mẫu đến định mức, lắc đều, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (250 mm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, số đĩa lý thuyết tính trên pic gabapentin không nhỏ hơn 7000; hệ số đối xứng không lớn hơn 2,0; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic gabapentin từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng gabapentin, $C_9H_{17}NO_2$ có trong nang dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_9H_{17}NO_2$ của gabapentin chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín. Để nơi khô mát, nhiệt độ không quá 30 °C.

Loại thuốc
Chống động kinh, điều trị đau thần kinh.

Hàm lượng thường dùng
100 mg, 300 mg và 400 mg.

VIÊN NÉN GABAPENTIN
Tabellae Gabapentini

Là viên nén có chứa gabapentin
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng gabapentin, $C_9H_{17}NO_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lấy 10 viên, nghiền thành bột mịn, sử dụng một lượng bột viên tương ứng với 2 mg gabapentin và 200 mg *kali*

bromid tinh khiết IR (TT) để dập thành đĩa nén và đo phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2). Phổ thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại của gabapentin chuẩn.
B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn gabapentin.

Độ hoà tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hoà tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,06 M (TT).*
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng gabapentin chuẩn và hòa tan trong môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ tương đương với nồng độ gabapentin trong dung dịch thử.
Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với pha động và các điều kiện sắc ký như trong phần Định lượng. Thể tích tiêm là 100 µl đối với viên có hàm lượng không lớn hơn 400 mg.
Tính hàm lượng gabapentin, $C_9H_{17}NO_2$, hòa tan từ mỗi viên dựa vào diện tích pic gabapentin trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_9H_{17}NO_2$ trong gabapentin chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng gabapentin $C_9H_{17}NO_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung môi pha mẫu: Như trong phần Định lượng.
Pha động A: Hòa tan 1,2 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 940 ml *nước*, điều chỉnh pH đến 6,9 bằng *dung dịch kali hydroxyd 5 M*. Thêm 60 ml *acetonitril (TT)* và trộn đều.
Pha động B: Hòa tan 1,2 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 700 ml *nước*, điều chỉnh pH đến 6,9 bằng *dung dịch kali hydroxyd 5 M*. Thêm 200 ml *acetonitril (TT)* và trộn đều.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 500 mg gabapentin vào bình định mức 25 ml, thêm 15 ml dung môi pha mẫu và siêu âm trong khoảng 30 s (nếu cần) để hòa tan gabapentin, thêm dung môi pha mẫu đến định mức, lắc đều, lọc.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng gabapentin chuẩn và tạp chất A chuẩn của gabapentin hòa tan trong dung môi pha mẫu để được dung dịch có nồng độ gabapentin 0,04 mg/ml và tạp chất A của gabapentin là 0,04 mg/ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (250 mm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0,0 - 4,0	100	0
4,0 - 45,0	100 → 0	0 → 100
45,0 - 45,1	0 → 100	100 → 0
45,1 - 50,0	100	0

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng của pic gabapentin không lớn hơn 2,0; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic gabapentin và diện tích pic tạp chất A chuẩn của gabapentin từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 5,0 %.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử. Tính hàm lượng tạp chất A dựa trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử và dung dịch chuẩn, nồng độ tạp chất A trong dung dịch chuẩn. Tính hàm lượng các tạp chất khác dựa trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử và dung dịch chuẩn và nồng độ gabapentin trong dung dịch chuẩn.
Yêu cầu: Tạp chất A của gabapentin không được quá 0,4 %. Mỗi tạp chất khác không được quá 0,1 %. Tổng các tạp chất không được quá 1,0 %.
Ghi chú:
Tạp chất A: 2-azaspiro[4.5]decan-3-on.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung môi pha mẫu: Hòa tan 1,2 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*, điều chỉnh pH đến 6,9 bằng *dung dịch kali hydroxyd 5 M*.
Pha động: Hòa tan 1,2 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 940 ml *nước*, điều chỉnh pH đến 6,9 bằng *dung dịch kali hydroxyd 5 M*. Thêm 60 ml *acetonitril (TT)* và trộn đều.
Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị dung dịch gabapentin chuẩn có nồng độ 4,0 mg/ml trong dung môi pha mẫu.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 200 mg gabapentin vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml dung môi pha mẫu và siêu âm trong khoảng 60 s nếu cần để hòa tan gabapentin, thêm dung môi pha mẫu đến định mức, lắc đều, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (250 mm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, số đĩa lý thuyết tính trên pic gabapentin không nhỏ hơn 7000; hệ số đối xứng không lớn hơn 2,0; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic gabapentin từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng gabapentin, $C_9H_{17}NO_2$, có trong viên dựa vào diện tích pic gabapentin trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_9H_{17}NO_2$ của gabapentin chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín. Để nơi khô mát, nhiệt độ không quá 30 °C.

Loại thuốc
Chống động kinh, điều trị đau thần kinh.

Hàm lượng thường dùng
100 mg, 300 mg, 400 mg, 600 mg và 800 mg.

GELATIN
Gelatinum

Gelatin là protein tinh chế thu được bằng cách thủy phân từng phần bằng acid (dạng A), bằng kiềm (dạng B) hoặc bằng enzym colagen của động vật (kể cả cá và gia cầm). Gelatin cũng có thể là hỗn hợp của nhiều loại khác nhau. Quá trình thủy phân tạo ra các sản phẩm dạng gel hoặc không phải dạng gel. Chuyên luận này được áp dụng cho cả hai loại sản phẩm trên.
Gelatin được mô tả trong chuyên luận này không thích hợp cho các chế phẩm dùng để tiêm hoặc cho các mục đích đặc biệt khác.

Tính chất
Chất rắn, màu vàng nhạt đến màu vàng nâu sáng, thường ở dạng phiến trong, mảnh vụn, hạt hoặc bột.

Độ tan
Gelatin thực tế không tan trong các dung môi hữu cơ thông thường. Gelatin dạng gel trương nở trong nước lạnh và khi đun nóng cho dung dịch keo, dung dịch keo này khi làm lạnh tạo thành gel cứng hoặc mềm. Điểm đẳng điện là một đặc tính quan trọng trong nhiều ứng dụng của gelatin: Điểm đẳng điện của gelatin dạng A trong khoảng pH từ 6,0 và 9,5; gelatin dạng B là pH từ 4,7 đến 5,6. Khoảng giới hạn này áp dụng cho nhiều loại gelatin, với trường hợp ứng dụng cụ thể thường sử dụng giới hạn hẹp hơn.
Các loại gelatin khác nhau cho dung dịch có độ trong và màu sắc khác nhau. Tùy theo ứng dụng cụ thể mà các tiêu chí độ trong và màu sắc thích hợp được đưa ra áp dụng.

Định tính
A. *Dung dịch S*: Hòa tan 1,00 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* ở khoảng 55 °C, pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi và giữ dung dịch ở nhiệt độ này để tiến hành các phép thử.
Thêm 0,05 ml *dung dịch đồng sulfat 12,5 % (TT)* vào 2 ml dung dịch S. Trộn đều và thêm 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*. Màu tím xuất hiện.
B. Thêm 0,5 g chế phẩm vào trong một ống nghiệm chứa 10 ml *nước*. Để yên 10 min, đun nóng ở 60 °C trong 15 min và giữ ống thẳng đứng ở 0 °C trong 6 h. Xoay ngược ống, chế phẩm chứa trong ống chảy ra ngoài ngay lập tức nếu là dạng không tạo gel và không được chảy ra ngoài ngay lập tức nếu là dạng tạo gel.

pH
Từ 3,8 đến 7,6 (Phụ lục 6.2).
Dùng dung dịch S để đo.

Độ dẫn điện
Tối đa 1 $mS \cdot cm^{-1}$, xác định trên dung dịch 1,0 % ở 30 °C ± 1,0 °C.

Lưu huỳnh dioxyd
Không được quá 50 phần triệu (Phụ lục 7.9, phương pháp 2).

Peroxyd
Không được quá 10 phần triệu, sử dụng giấy thử peroxyd có trên thị trường với thang đo từ 0 phần triệu đến 25 phần triệu. Peroxydase xúc tác phản ứng oxy hóa giữa peroxyd với một chỉ thị hữu cơ làm chỉ thị chuyển màu xanh lam. Cường độ của màu thu được tỷ lệ thuận với nồng độ peroxyd và có thể so sánh với một thang màu đã được cung cấp để xác định nồng độ peroxyd.
Kiểm tra sự phù hợp của phép thử: Nhúng giấy thử trong *dung dịch hydrogen peroxyd mẫu 10 phần triệu H_2O_2 (TT)* trong 1 s sao cho vùng phản ứng bị ướt. Vẩy bỏ phần chất lỏng thừa và so sánh màu của vùng phản ứng sau 15 s với thang màu được cung cấp kèm theo giấy thử. Phép thử chỉ có giá trị khi màu tương ứng với nồng độ 10 phần triệu.
Tiến hành thử: Cân 20,0 g ± 0,1 g chế phẩm vào một cốc thủy tinh và thêm 80,0 ml ± 0,2 ml *nước*. Khuấy để làm ẩm gelatin và để yên ở nhiệt độ phòng trong 1 h đến 3 h, đậy bằng mặt kính đồng hồ. Đun cốc trong cách thủy trong vòng 20 min ± 5 min ở 65 °C ± 2 °C để hòa tan mẫu. Khuấy bằng đũa thuỷ tinh để thu được dung dịch đồng nhất. Nhúng giấy thử vào dung dịch thử trong 1 s để làm ướt vùng phản ứng. Vẩy bỏ phần chất lỏng thừa và so sánh màu của vùng phản ứng sau 15 s với thang màu mẫu. Nhận nồng độ đọc từ thang màu với 5 để tính nồng độ phần triệu của peroxyd trong chất thử.

Độ bền gel
Phải đạt từ 80 % đến 120 % giá trị ghi trên nhãn của chế phẩm. Độ bền gel được biểu hiện bằng khối lượng tính ra gam cần thiết để tạo ra một lực tác dụng lên piston có đường kính 12,7 mm, làm lún 4 mm trong gel có nồng độ 6,67 % (kl/kl) và đã được làm đông ở 10 °C.

Thiết bị: Máy đo độ bền gel bao gồm:
Một piston hình trụ có đường kính 12,7 mm ± 0,1 mm với bề mặt chịu lực có cạnh đáy tròn.
Một chai có đường kính trong Φ 59 mm ± 1 mm và cao 85 mm.
Điều chỉnh thiết bị theo hướng dẫn của nhà sản xuất: Cài đặt khoảng cách 4 mm, tốc độ thử 0,5 mm/s.
Tiến hành:
Cho 7,5 g chế phẩm vào mỗi chai. Thêm 105 ml *nước*, đậy chai bằng mặt kính đồng hồ và để yên trong 1 h đến 4 h. Đun nóng trong cách thủy ở 65 °C ± 2 °C trong 15 min. Trong khi đun khuấy nhẹ nhàng bằng đũa thủy tinh. Khi dung dịch đã đồng nhất và không còn nước ngưng tụ trên thành trong của chai, để ở nhiệt độ phòng 15 min, chuyển chai vào bể điều nhiệt ở 10 °C ± 0,1 °C và được lắp một thiết bị thích hợp để đảm bảo mặt phẳng đặt chai ngang hoàn toàn. Đậy chai bằng nút cao su và để yên trong 17 h ± 1 h.
Lấy các chai mẫu từ bể điều nhiệt và nhanh chóng lau nước từ bên ngoài của chai. Đặt chai vào giữa máy đo độ bền gel và điều chỉnh sao cho piston tiếp xúc với bề mặt gel càng gần điểm trung tâm càng tốt và đo.

Sắt
Không được quá 30 phần triệu.
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4).
Dung dịch thử: Cân 5,0 g chế phẩm vào bình nón nút mài, thêm 10 ml *acid hydrocloric (TT)*. Đậy nút, đun cách thủy ở 75 °C đến 80 °C trong 2 h. Để nguội, pha loãng dung dịch trong bình với *nước* thành 100,0 g.
Dung dịch đối chiếu: Chuẩn bị *dung dịch sắt mẫu 8 phần triệu Fe (TT)*, pha loãng bằng *nước* nếu cần.
Bước sóng: 248,3 nm.

Crom
Không được quá 10 phần triệu.
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4).
Dung dịch thử: Dùng dung dịch thử trong phép thử "Sắt".
Dung dịch đối chiếu: Chuẩn bị *dung dịch crom mẫu 100 phần triệu Cr (TT)*, pha loãng bằng *nước* nếu cần.
Bước sóng: 357,9 nm.

Kẽm
Không được quá 30 phần triệu.
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4).
Dung dịch thử: Dùng dung dịch thử trong phép thử "Sắt".
Dung dịch đối chiếu: Chuẩn bị *dung dịch kẽm mẫu 10 phần triệu Zn (TT)* pha loãng với *nước* nếu cần.
Bước sóng: 213,9 nm.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 15,0 %, (Phụ lục 9.6).
(5,000 g; 105 °C, 16 h).

Giới hạn nhiễm khuẩn
Tổng số vi sinh vật hiếu khí: Không được quá 10^3 CFU/g.
Tổng số nấm: Không được quá 10^2 CFU/g.
Xác định bằng phương pháp đĩa thạch (Phụ lục 13.6).
Chế phẩm phải không có *Escherichia coli* và *Salmonella* (Phụ lục 13.6).

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh nóng và ẩm.

Ghi nhãn
Nhãn phải ghi rõ độ bền gel hoặc không phải dạng tạo gel.

VỎ NANG CỨNG GELATIN

Vỏ nang cứng gelatin (vỏ nang) là vỏ đựng thuốc có tác dụng phân liều, bảo vệ dược chất, được coi như một thành phần của dạng thuốc.
Vỏ nang thường chứa các dạng thuốc rắn (như bột, cốm, vi nang, pellet, viên nén mini...). Sau khi uống, vỏ nang tan rã trong dịch tiêu hóa giải phóng dược chất. Vỏ nang cứng có thể được xử lý để giải phóng dược chất ở ruột.
Thành phần chính của vỏ nang cứng là gelatin, nước; ngoài ra là các chất phụ gia khác (như chất hóa dẻo, chất làm đục, chất tạo màu, chất sát khuẩn...). Các thành phần của vỏ nang phải đạt tiêu chuẩn được dụng và tiêu chuẩn của nhà sản xuất, phải tránh tương tác với dược chất đóng nang trong quá trình bảo quản.

Mô tả
Vỏ nang gồm hai phần hình trụ lồng khít vào nhau (nắp và thân), mỗi phần có một đầu đáy tròn kín và một đầu hở. Hai phần có màu hoặc không màu; nếu có màu thì màu có thể đồng nhất hoặc màu khác nhau; trong suốt hoặc đục một phần hay toàn bộ nang; có in hoặc không in chữ hoặc dấu hiệu trên bề mặt vỏ nang. Phần nắp và thân phải lồng khít vào nhau và duy trì độ đóng kín.

Tính chất
Vỏ nang nhẵn; đồng nhất về màu sắc, hình dạng và kích thước.

Mùi
Lấy 100 vỏ nang cho vào một lọ kín để 24 h ở nhiệt độ từ 30 °C đến 40 °C, không được xuất hiện mùi lạ.

Kích thước của vỏ nang
Kích thước vỏ nang có khuynh hướng thay đổi theo hàm lượng ẩm, điều kiện bảo quản và tiếp xúc với môi trường. Thành phần hóa học của vỏ nang cũng ảnh hưởng ở một mức độ nhất định tới kích thước khi tiếp xúc với nhiệt và ẩm.
Kích thước (đường kính ngoài, chiều dài, bề dày thành kép) của vỏ nang (đối với vỏ nang quy định kích cỡ từ số 0 đến số 4 tại Bảng 4) được quy định tại Bảng 1, 2 và 3 dưới đây. Các phép đo kiểm tra được thực hiện ở nhiệt độ từ 20 °C đến 25 °C và độ ẩm tương đối trong khoảng 45 % đến 50 %.

Bảng 1 - Đường kính ngoài

Kích cỡ	Nắp (mm)	Thân (mm)
0	7,57 - 7,69	7,26 - 7,38
1	6,85 - 6,97	6,56 - 6,68
2	6,28 - 6,40	6,01 - 6,13
3	5,75 - 5,87	5,50 - 5,62
4	5,25 - 5,37	5,00 - 5,12

Ghi chú: Đo ở vị trí cách 3 mm từ đầu cắt của vỏ nang.

Bảng 2 - Chiều dài

Kích cỡ	Nắp (mm)	Thân (mm)
0	10,68 - 11,68	18,22 - 19,22
1	9,51 - 10,51	16,22 - 17,22
2	8,67 - 9,67	14,84 - 15,84
3	7,73 - 8,73	12,98 - 13,98
4	6,97 - 7,97	11,84 - 12,84

Bảng 3 - Bề dày thành kép

Kích cỡ	Nắp (mm)	Thân (mm)
0	0,187 - 0,223	0,177 - 0,213
1	0,182 - 0,218	0,175 - 0,211
2	0,180 - 0,216	0,173 - 0,209
3	0,178 - 0,214	0,170 - 0,206
4	0,176 - 0,212	0,164 - 0,200

Ghi chú: Đo ở vị trí cách 3 mm từ đầu cắt của vỏ nang.

Khối lượng trung bình

Vỏ nang có nhiều loại với kích cỡ khác nhau. Kích cỡ vỏ nang được quy định theo số trong Bảng 4, có ký hiệu từ số 0 đến số 4, đó là các kích cỡ vỏ nang thông dụng. Những quy định đối với vỏ nang có kích cỡ khác có thể theo sự thỏa thuận của nhà sản xuất vỏ nang và người sử dụng vỏ nang, được sự đồng ý của cơ quan có thẩm quyền.

Tiến hành: Cân 100 vỏ nang và xác định khối lượng trung bình của một vỏ nang. Kết quả được đánh giá dựa vào Bảng 4.

Bảng 4 - Khối lượng trung bình của vỏ nang

Vỏ nang số (Kích cỡ)	Khối lượng danh định của vỏ nang (mg)	Giới hạn cho phép (%)
0	96	± 10
1	76	± 10
2	63	± 10
3	50	± 10
4	40	± 10

Chú ý: Để đảm bảo chất lượng của vỏ nang không bị ảnh hưởng bởi nhiệt độ và độ ẩm, đặt vỏ nang trong điều kiện nhiệt độ 25 ± 2 °C và độ ẩm 50 ± 5 % ít nhất 12 h trước khi tiến hành phép thử Khối lượng trung bình.

Định tính

Đun sôi một vỏ nang trong 20 ml *nước*, để nguội và ly tâm. Lấy dịch lỏng phía trên (dung dịch A) để thử các phản ứng sau:

A. Thêm 1 ml *dung dịch acid picric bão hòa (TT)* vào 5 ml dung dịch A, xuất hiện tủa màu vàng chanh.

B. Thêm 1 ml *dung dịch tanin 5 % (TT)* vào 5 ml dung dịch A, xuất hiện tủa.

pH

Dung dịch S: Hòa tan khoảng 1,0 g vỏ nang trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* ở khoảng 55 °C, pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi và giữ dung dịch ở nhiệt độ này để tiến hành phép thử.

Dung dịch S có pH từ 3,8 đến 7,6 (Phụ lục 6.2).

Độ rã

Không được quá 15 min (Phụ lục 11.6). Dùng đĩa.

Lưu huỳnh dioxyd

Không được quá 200 phần triệu.

Dung dịch thử: Hòa tan 5,0 g vỏ nang trong 150 ml *nước* nóng trong bình cầu đáy tròn, cổ dài. Thêm 5 ml *acid phosphoric (TT)* và 1 g *natri bicarbonat (TT)*, ngay lập tức nối bình với ống ngưng (chú ý: Có thể giảm bọt bằng cách thêm một vài giọt chất chống tạo bọt thích hợp, ví dụ như dầu silicon). Tiến hành cất lấy 50 ml. Hứng dịch cất vào phía dưới bề mặt của 15 ml *dung dịch iod 0,1 N (TT)*. Pha loãng dung dịch thu được với *nước* vừa đủ 100,0 ml. Bốc hơi trên cách thủy 50,0 ml dung dịch, thỉnh thoảng thêm *nước* và tiếp tục bốc hơi cho đến khi dung dịch gần như không màu. Pha loãng dung dịch này với *nước* thành 40 ml, trung hòa bằng *acid hydrocloric (TT)*, lọc nếu cần. Chuyển dung dịch thu được vào ống Nessler, thêm 2 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 10 ml *dung dịch sulfat mẫu 1000 phần triệu SO_4 (TT)* với *nước* thành 100,0 ml. Hút 7,5 ml dung dịch thu được chuyển vào ống Nessler, pha loãng với *nước* thành 40 ml, thêm 2 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*, trộn đều.

Tiến hành: Thêm vào mỗi ống chứa dung dịch thử và ống chứa dung dịch đối chiếu 5 ml *dung dịch bari clorid 25 %*, pha loãng với *nước* thành 50 ml, để yên 10 min và quan sát độ đục bằng cách nhìn từ trên xuống trên nền đen.

Ống chứa dung dịch thử không được đục hơn ống chứa dung dịch đối chiếu.

Arsen

Không được quá 2 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).

Cân chính xác 5,0 g vỏ nang, thêm 10 ml *nước*, để yên trong 1 h. Làm ấm để hòa tan, thêm 10 ml *acid hydrocloric (TT)* và một lượng *dung dịch brom (TT)* hơi dư. Thêm 2 ml *dung dịch acid hydrocloric thiếc hóa (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy sôi trong 1 h, để nguội. Dùng *nước* để

chuyển dung dịch thu được sang bình định mức 100 ml, thêm *nước* tới vạch, lắc đều. Lấy 10 ml dung dịch tiến hành thử theo phương pháp A.

Cắn sau khi nung
Không được quá 7,0 %.
Cân chính xác 5,0 g vỏ nang, thêm 1,5 g đến 2 g dầu parafin (để tránh mất mẫu do trương nở) và đốt đến khi không còn khói, nung ở nhiệt độ 550 °C đến khối lượng không đổi.

Kim loại nặng
Không được quá 50 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy cắn thu được trong phép thử "Cắn sau khi nung". Thêm 2 ml *acid hydrocloric (TT)* và 0,5 ml *acid nitric (TT)*, bốc hơi trên cách thủy tới khô. Thêm 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 N (TT)* và 15 ml *nước* vào cắn thu được, làm ẩm trong vài min. Lọc và rửa bằng *nước* để thu được 100,0 ml dịch lọc. Pha loãng 20,0 ml dịch lọc thành 25,0 ml với *nước*.
Lấy 12 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

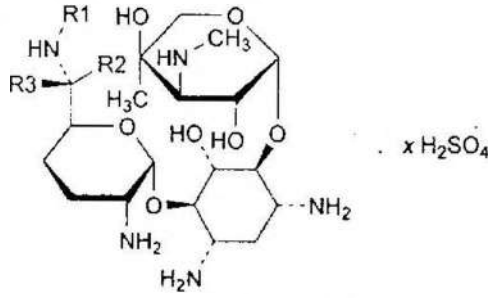
Mất khối lượng do làm khô
Từ 12,5 % đến 16,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, 105 °C).

Giới hạn nhiễm khuẩn
Đạt yêu cầu về giới hạn nhiễm khuẩn (Phụ lục 13.6, phương pháp đĩa thạch).

Bảo quản
Vỏ nang bảo quản tránh ẩm, ở nhiệt độ không quá 30 °C.

GENTAMICIN SULFAT

Gentamicini sulfas



Gentamicin	R_1	R_2	R_3
C_1	CH_3	CH_3	H
C_2	CH_3	H	H
C_{1a}	H	H	H
C_{2a}	H	H	CH_3

Gentamicin sulfat là muối sulfat hoặc hỗn hợp muối sulfat của kháng sinh được sản xuất bởi *Micromonospora purpurea*. Hàm lượng không được ít hơn 590 µg gentamicin trong 1 mg, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột màu trắng hoặc gần như trắng, hút ẩm. Dễ tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của gentamicin sulfat chuẩn.
B. Chế phẩm phải cho phản ứng của sulfat (Phụ lục 8.1).

pH
Từ 3,5 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Góc quay cực riêng
Từ +107° đến +121°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Dùng dung dịch chế phẩm nồng độ 10 mg/ml trong *nước* để đo.

Thành phần gentamicin
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 5,5 g *natri heptansulfonat (TT)* trong hỗn hợp gồm 50 ml *acid acetic băng (TT)*, 250 ml *nước* và 700 ml *methanol (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Hút 10,0 ml dung dịch thu được, thêm 5 ml *methanol (TT)* và 4 ml *thuốc thử phthalaldehyd (TT)*; trộn đều và pha loãng thành 25,0 ml với *methanol (TT)*. Đun nóng hỗn hợp thu được trong cách thủy ở 60 °C trong 15 min, làm nguội đến nhiệt độ phòng. Nếu dung dịch thử không dùng ngay, làm lạnh ở nhiệt độ 0 °C và sử dụng trong vòng 4 h kể từ khi chuẩn bị dung dịch.
Dung dịch đối chiếu: Cân 0,10 g gentamicin sulfat chuẩn, tiến hành tương tự như phần chuẩn bị dung dịch thử.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm đến 12,5 cm × 4,6 mm đến 5 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 330 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Thứ tự rửa giải: Gentamicin C_1, gentamicin C_{1a}, gentamicin C_{2a}, gentamicin C_2.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu, độ phân giải giữa hai pic bất kỳ ít nhất là 1,25. Hệ số phân bố khối lượng của pic gentamicin C_1 từ 2 đến 7. Số đĩa lý thuyết tính trên pic gentamicin C_2 không được nhỏ hơn 1200 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.
Tính hàm lượng phần trăm của gentamicin C_1, gentamicin C_{1a}, gentamicin C_{2a}, gentamicin C_2 trong chế phẩm theo công thức sau:

$$100\, r_f / r_s$$

Trong đó: r_i là diện tích pic của từng loại gentamicin trên sắc ký đồ của dung dịch thử.
r_s là tổng diện tích pic của 4 loại gentamicin.

Giới hạn:
Gentamicin C_1: Từ 25 % đến 50 %.
Gentamicin C_{1a}: Từ 10 % đến 35 %.
Tổng hàm lượng gentamicin C_{2a} và gentamicin C_2: Từ 25 % đến 55 %.

Methanol
Không được quá 1,0 %.
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).
Dung dịch chuẩn nội: Pha loãng 2,5 ml *n-propanol (TT)* thành 500 ml bằng *nước* và trộn đều. Dung dịch chuẩn nội chứa 0,50 % (tt/tt) n-propanol.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng hỗn hợp 1,25 ml *methanol (TT)* và 1,25 ml *n-propanol (TT)* thành 500 ml bằng *nước* và trộn đều. Dung dịch chứa 0,25 % (tt/tt) methanol và 0,25 % (tt/tt) n-propanol.
Dung dịch kiểm tra: Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong 2,0 ml *nước*.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong 1,0 ml dung dịch chuẩn nội và thêm 1,0 ml *nước*, trộn đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (1,5 m × 4 mm) được nhồi các hạt *copolymer ethylvinylbenzen-divinylbenzen*, có diện tích bề mặt từ 500 m^2/g đến 600 m^2/g và đường kính lỗ xốp trung bình 0,0075 µm.
Khí mang: *Nitrogen dùng cho sắc ký*.
Tốc độ dòng: Từ 30 đến 40 ml/min.
Nhiệt độ cột: Duy trì ở nhiệt độ không đổi từ 120 °C đến 140 °C.
Nhiệt độ buồng tiêm và detector: Duy trì ở nhiệt độ không đổi và cao hơn nhiệt độ cột ít nhất 50 °C.
Detector: Ion hóa ngọn lửa.
Thể tích tiêm: 2 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu, độ phân giải giữa hai pic n-propanol và pic methanol ít nhất là 1,0.
Tiến hành sắc ký với dung dịch kiểm tra, nếu xuất hiện pic tương ứng với n-propanol, đo diện tích pic đáp ứng để hiệu chỉnh diện tích pic n-propanol trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu, ghi lại diện tích pic của n-propanol và methanol. Tính hàm lượng phần trăm methanol trong chế phẩm theo công thức sau:

$$(R_u/R_s)\times(C_s/C_u)\times D\times F$$

Trong đó:
R_u là tỷ lệ diện tích pic methanol và diện tích pic n-propanol (đã hiệu chỉnh, nếu cần, bằng cách trừ đi diện tích của pic tương ứng với n-propannol quan sát được trên sắc ký đồ của dung dịch kiểm tra) thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử.
R_s là tỷ lệ diện tích pic methanol và diện tích pic n-propanol thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
C_s là nồng độ phần trăm methanol trong dung dịch đối chiếu.
C_u là nồng độ chế phẩm trong dung dịch thử (mg/ml).
D là khối lượng riêng của methanol (g/ml).
F là hệ số chuyển đổi, 1000 mg/g.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 18,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,0 g; 110 °C, trong chân không áp suất không quá 5 mmHg, 3 h).

Tro sulfat
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 0,50 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 0,71 EU/mg (Phụ lục 13.2).
Nếu chế phẩm dùng để sản xuất thuốc tiêm mà trong quy trình không có giai đoạn tiến hành loại bỏ nội độc tố vi khuẩn thì phải đáp ứng yêu cầu của phép thử này.

Thử vô khuẩn
Tiến hành thử theo phương pháp màng lọc (Phụ lục 13.7).
Nếu trên nhãn ghi vô khuẩn thì phải đáp ứng yêu cầu của phép thử này.

Định lượng
Tiến hành xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp vi sinh vật (Phụ lục 13.9).

Bảo quản
Trong bao bì kín. Nếu chế phẩm vô khuẩn, đựng trong đồ bao gói kín và đảm bảo vô khuẩn.

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

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm aminoglycosid.

Chế phẩm
Kem thuốc, thuốc nhỏ mắt, thuốc tiêm, thuốc mỡ.

THUỐC NHỎ MẮT GENTAMICIN
Collyrium Gentamicini

Thuốc nhỏ mắt gentamicin là dung dịch vô khuẩn của gentamicin sulfat trong nước, có thể có thêm tá dược thích hợp. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nhỏ mắt" (Phụ lục 1.14) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng gentamicin từ 90,0 % đến 120,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu.

pH
6,5 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).

Định tính
A. Sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Sau khi lắc đều và để tách lớp, lấy lớp dưới của hỗn hợp đồng thể tích *cloroform - amoniac - methanol.*
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan gentamicin sulfat trong *nước* để thu được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml.
Dung dịch thử: Pha loãng một thể tích chế phẩm với *nước* để thu được dung dịch có nồng độ gentamicin sulfat khoảng 1 mg/ml.
Cách tiến hành:
Chấm riêng biệt 20 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Để khô vết chấm. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 chiều cao của bản mỏng. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí. Phát hiện vết trên hơi iod hoặc phun *dung dịch ninhydrin 0,3 % trong ethanol (TT)* và sấy bản mỏng ở nhiệt độ 105 °C trong 5 min. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có 3 vết chính tương ứng về vị trí, màu sắc và kích thước với 3 vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Trong phần Thành phần của gentamicin sulfat, trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, thời gian lưu của 4 pic chính phải tương đương với thời gian lưu của 4 pic chính trên sắc ký thu được từ dung dịch chuẩn.

Thành phần của gentamicin sulfat
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Pha dung dịch *natri heptansulfonat monohydrat* 0,025 M trong hỗn hợp dung môi: *Methanol - nước - acid acetic băng* (70 : 25 : 5).
Dung dịch chuẩn: Pha dung dịch gentamicin sulfat chuẩn 0,065 % trong *nước*. Lấy 10 ml dung dịch thu được cho vào bình định mức dung tích 25 ml, thêm 5 ml *methanol (TT)*, lắc kỹ. Thêm vào hỗn hợp 4 ml *thuốc thử phthalaldehyd (TT)*, trộn đều. Bổ sung *methanol (TT)* tới định mức. Đun nóng 60 °C trong cách thủy 15 min, để nguội. Nếu dung dịch không dùng ngay, cần bảo quản lạnh ở 0 °C và sử dụng trong vòng 4 h.
Dung dịch thử: Chuẩn bị như dung dịch chuẩn, nhưng thay 10 ml dung dịch gentamicin sulfat chuẩn bằng 10 ml chế phẩm thử đã được pha loãng với *nước* để thu được dung dịch có nồng độ tương đương 0,045 % gentamicin.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm đến 12,5 cm × 4,6 mm đến 5,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 330 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành: Trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, thời gian lưu của gentamicin C_2 từ 10 min đến 20 min và các pic được tách hoàn toàn với các thời gian lưu tương đối so với gentamicin C_2 (gentamicin C_2: 1,00) như sau: Thuốc thử: 0,13; gentamicin C_1: 0,27; gentamicin C_{1a}: 0,65; gentamicin C_{2a}: 0,85.
Điều chỉnh độ nhạy để chiều cao pic của gentamicin C_1 chiếm khoảng 75 % thang đo. Kẻ một đường ngang trên sắc ký đồ nối chân các pic, đo chiều cao của mỗi pic. Cũng tiến hành như vậy với dung dịch thử. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa các pic của gentamicin C_{2a} và C_2 không nhỏ hơn 1,3.
Từ chiều cao của các pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và các tỷ lệ thành phần tương ứng đã biết trong dung dịch chuẩn, tính được tỷ lệ các thành phần C_1, C_{1a}, C_{2a} và C_2 trong chế phẩm thử theo cách tính trong phần Thành phần gentamicin trong chuyên luận Gentamicin sulfat.
Các tỷ lệ phải nằm trong giới hạn sau:
Gentamicin C_1: 25,0 % đến 50,0 %.
Gentamicin C_{1a}: 10,0 % đến 35,0 %.
Gentamicin C_2 + C_{2a}: 25,0 % đến 55,0 %.

Định lượng
Theo phương pháp "Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật" (Phụ lục 13.9).
Tính hàm lượng gentamicin trong thuốc nhỏ mắt, 1 mg gentamicin base tương ứng với 1000 UI.

Bảo quản
Nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
0,3 %.

THUỐC TIÊM GENTAMICIN
Injectio Gentamicini

Thuốc tiêm gentamicin là dung dịch vô khuẩn chứa gentamicin sulfat trong nước để pha thuốc tiêm.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng gentamicin, từ 95,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu.

pH
3,0 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi: Sau khi lắc đều và để tách lớp, lấy lớp dưới của hỗn hợp đồng thể tích *amoniac - cloroform - methanol.*
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg gentamicin sulfat chuẩn trong 10 ml *nước*.

Dung dịch thử: Pha loãng chế phẩm với *nước* để được dung dịch chứa khoảng 1 mg gentamicin sulfat trong 1 ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 20 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Sau khi triển khai dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy ra để khô ngoài không khí. Phát hiện vết trong hơi iod hoặc phun *dung dịch ninhydrin trong ethanol (TT)* và sấy bản mỏng ở 105 °C trong 5 min. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có ba vết chính có cùng giá trị R_f và màu sắc với ba vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Trong phần Thành phần của gentamicin sulfat, thời gian lưu của 4 pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải tương đương với thời gian lưu của 4 pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu.

Thành phần của gentamicin sulfat
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Pha dung dịch *natri heptansulfonat monohydrat* 0,025 M trong hỗn hợp: *Methanol - nước - acid acetic băng* (70 : 25: 5).
Dung dịch chuẩn: Thêm 5 ml *methanol (TT)* vào 10 ml dung dịch gentamicin sulfat chuẩn có nồng độ 0,065 %, lắc đều và thêm 4 ml *thuốc thử phthalaldehyd (TT)*, lắc đều và thêm *methanol (TT)* vừa đủ 25 ml. Đun trong cách thủy ở 60 °C, trong 15 min, để nguội. Nếu dung dịch không dùng ngay, để lạnh ở 0 °C và sử dụng trong vòng 4 h.
Dung dịch thử: Cũng chuẩn bị như trên nhưng thay 10 ml dung dịch gentamicin sulfat chuẩn bằng 10 ml dung dịch thử có nồng độ khoảng 0,045 % gentamicin.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm đến 12,5 cm × 4.6 mm đến 5 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (cột ODS Hypersil là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 330 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành: Trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, thời gian lưu của gentamicin C_2 từ 10 đến 20 min và các pic được tách hoàn toàn với các thời gian lưu tương đối (so với gentamicin C_2: 1,00) như sau: Thuốc thử: 0,13; gentamicin C_1: 0,27; gentamicin C_{1a}: 0,65; gentamicin C_{2a}: 0,85.
Điều chỉnh độ nhạy để chiều cao pic của gentamicin C_1 chiếm khoảng 75 % của thang đo. Kẻ một đường ngang trên sắc ký đồ nối chân các pic, đo chiều cao của mỗi pic. Cũng tiến hành như vậy với dung dịch thử. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa các pic của gentamicin C_{2a} và C_2 không nhỏ hơn 1,3.
Từ chiều cao của các pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và các tỷ lệ thành phần tương ứng đã biết trong dung dịch chuẩn, tính được tỷ lệ các thành phần C_1, C_{1a}, C_{2a}, C_2 trong chế phẩm thử theo cách tính ở mục Thành phần gentamicin trong chuyên luận Gentamicin sulfat.
Các tỷ lệ phải nằm trong giới hạn sau:
Gentamicin C_1: 25,0 % đến 50,0 %.
Gentamicin C_{1a}: 10,0 % đến 35,0 %.
Gentamicin C_2 + C_{2a}: 25,0 % đến 55,0 %.

Nội độc tố vi khuẩn
Tiến hành theo chuyên luận "Phép thử nội độc tố vi khuẩn" (Phụ lục 13.2).
Pha loãng dung dịch tiêm nếu cần thiết với nước BET để có nồng độ tương đương khoảng 10 mg gentamicin/ml (Dung dịch A). Giới hạn nồng độ nội độc tố vi khuẩn của dung dịch A là 16,7 EU trong 1 ml. Tiến hành phép thử sử dụng giá trị pha loãng cực đại của dung dịch A được tính từ độ nhạy của thuốc thử lysat dùng trong phép thử.

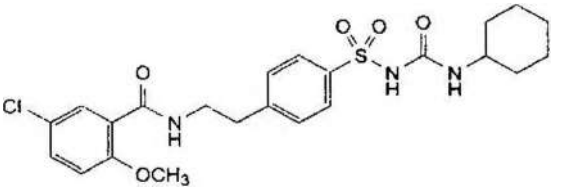
Định lượng
Tiến hành theo chuyên luận "Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật" (Phụ lục 13.9).
Hoạt lực lý thuyết của gentamicin là 1000 đơn vị (IU) trong 1 mg.

Bảo quản
Để ở nơi mát, không quá 25 °C.

Loại thuốc
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
80 mg/2 ml; 40 mg/1 ml và 40 mg/2 ml.

GLIBENCLAMID
Glibenclamidum



$C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$ P.t.l: 494,0

Glibenclamid là 1-[[4-[2-[(5-cloro-2-methoxy-benzoyl)-amino]ethyl]phenyl]sulphonyl]-3-cyclohexylure, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hay gần như trắng.
Thực tế không tan trong nước, ít tan trong methylen clorid, hơi tan trong ethanol 96 % và methanol.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B.
Nhóm II: B, C, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của glibenclamid chuẩn. Nếu phổ thu được của mẫu chuẩn và mẫu thử khác nhau thì làm ẩm riêng biệt chế phẩm và chất chuẩn với *methanol (TT)*, nghiền nhỏ, sấy khô ở 100 °C đến 105 °C và đo lại phổ hồng ngoại.

B. Điểm chảy: Từ 169 °C đến 174 °C (Phụ lục 6.7).
C. Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *methanol (TT)*, nếu cần lắc siêu âm, và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Lấy 10,0 ml dung dịch này thêm 1,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 10,3 %* và pha loãng thành 100,0 ml với *methanol (TT)*. Đo phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng từ 230 nm đến 350 nm. Phổ thu được có các hấp thụ cực đại ở bước sóng 300 nm và 275 nm. Giá trị A (1 %, 1 cm) tương ứng là 61 đến 65 và 27 đến 32.
D. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi khai triển: *Ethanol 96 % - acid acetic băng - cyclohexan - methylen clorid* (5 : 5 : 45 : 45).
Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong hỗn hợp đồng thể tích *methanol (TT)* và *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg glibenclamid chuẩn trong hỗn hợp đồng thể tích *methanol (TT)* và *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng hỗn hợp dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí và kích thước với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
E. Hòa tan 20 mg chế phẩm trong 2 ml *acid sulfuric (TT)*. Dung dịch không màu và có huỳnh quang xanh lam dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Thêm 0,1 g *cloral hydrat (TT)* vào dung dịch, lắc cho tan. Trong vòng 5 min, dung dịch có màu vàng đậm và sau khoảng 20 min màu nâu nhẹ xuất hiện.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Trộn 20 ml *dung dịch triethylamin* (vừa mới được cất lại) *10,18 %* được điều chỉnh về pH 3,0 bằng *acid phosphoric (TT)* và 50 ml *acetonitril (TT)*, pha loãng thành 1000 ml với *nước*.
Pha động B: *Pha động A - nước - acetonitril* (20 : 65 : 915).
Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Chuẩn bị ngay trước khi dùng.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5,0 mg tạp chất chuẩn A của glibenclamid và 5,0 mg tạp chất chuẩn B của glibenclamid trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml với *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với *methanol (TT)*. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5 mg gliclazid chuẩn trong *methanol (TT)*, thêm 2 ml dung dịch thử và pha loãng thành 100 ml với *methanol (TT)*. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 10 ml với *methanol (TT)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 µm).
Nhiệt độ cột: 35 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.
Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 15	45	55
15 - 30	45 → 5	55 → 95
30 - 40	5	95
40 - 41	5 → 45	95 → 55
41 - 55	45	55

Thời gian lưu tương đối so với glibenclamid (thời gian lưu khoảng 5 min) của tạp chất A khoảng 0,5; tạp chất B khoảng 0,6.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa hai pic glibenclamid và gliclazid không được nhỏ hơn 5,0.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử:
Diện tích của pic tương ứng với tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic tương ứng trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Diện tích của pic tương ứng với tạp chất B không được lớn hơn diện tích pic tương ứng trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Diện tích của bất kỳ pic tạp chất nào khác không được lớn hơn diện tích pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %); không quá hai pic tạp chất này có diện tích lớn hơn một nửa diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).
Tổng diện tích các pic tạp chất khác, trừ tạp chất A và B, không được lớn hơn 2,5 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).
Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,25 lần diện tích pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 5-cloro-2-methoxy-*N*-[2-(4-sulphamoylphenyl)ethyl] benzamid
Tạp chất B: Methyl [[4-[2-[(5-cloro-2-methoxybenzoyl)amino] ethyl]phenyl]sulphonyl]carbamat.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm, tiến hành thử theo phương pháp 4. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong 100 ml *ethanol 96 % (TT)* bằng cách làm nóng. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*; dùng 1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* làm chỉ thị cho đến khi màu hồng xuất hiện.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương ứng với 49,40 mg $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$.

Bảo quản
Trong lọ nút kín.

Loại thuốc
Thuốc chống đái tháo đường.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN GLIBENCLAMID
Tabellae Glibenclamidi

Là viên nén chứa glibenclamid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng glibenclamid, $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn.
B. Trong phép thử Tạp chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải có vị trí, kích thước tương đương với vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Cloroform - cyclohexan - ethanol (96 %) - acid acetic băng (45 : 45 : 5 : 5).
Dung dịch thử: Cân một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với 20 mg glibenclamid, chiết 4 lần, mỗi lần với 5 ml hỗn hợp *diclorometan - aceton* (2 : 1). Tập trung dịch chiết, bốc hơi đến khô ở nhiệt độ không quá 40 °C, áp suất 2 kPa. Hòa tan cắn trong 4 ml hỗn hợp đồng thể tích *cloroform (TT)* và *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch glibenclamid chuẩn nồng độ 0,01 % trong hỗn hợp đồng thể tích *cloroform (TT)* và *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch glibenclamid chuẩn nồng độ 0,5 % trong hỗn hợp đồng thể tích *cloroform (TT)* và *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử không được có vết phụ nào đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch chứa 0,8134 % *dinatri hydrophosphat khan (TT)* và 0,1350 % *kali dihydrophosphat (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch kali dihydrophosphat 0,1 M (TT) đã được chỉnh pH 3,0 bằng acid phosphoric đậm đặc - acetonitril (40 : 60).
Dung dịch thử: Lấy một phần môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan glibenclamid chuẩn trong một lượng tối thiểu *methanol (TT)* và pha loãng với môi trường hòa tan để được dung dịch có nồng độ tương đương dung dịch thử.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (Spherisorb ODS là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 225 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Tiêm lần lượt dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Tính hàm lượng $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$ hòa tan dựa vào diện tích pic glibenclamid thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$ của glibenclamid chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng glibenclamid, $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Độ đồng đều hàm lượng
Viên nén chứa 5 mg glibenclamid hoặc ít hơn phải đáp ứng yêu cầu phép thử độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2).
Dung dịch thử: Nghiền một viên, thêm hỗn hợp 2,0 ml *nước* và 20,0 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm cho đến khi phân tán đều. Lọc qua màng lọc 0,2 µm (Anatop LC là thích hợp).
Dung dịch chuẩn: Thêm 2,0 ml *nước* vào 20,0 ml dung dịch glibenclamid chuẩn 0,025 % trong *methanol (TT)*, trộn và siêu âm cho đến khi phân tán đều, lọc qua màng lọc 0,2 µm (Anatop LC là thích hợp).
Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký và cách tiến hành như mô tả ở phần Định lượng.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - dung dịch kali dihydrophosphat 1,36 % được điều chỉnh đến pH 3,0 bằng acid phosphoric (47 : 53).
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng 5 mg glibenclamid, thêm hỗn hợp 2,0 ml *nước* và 20,0 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm cho đến khi có sự phân tán đều. Lọc qua màng lọc 0,2 µm (Anatop LC là thích hợp).
Dung dịch chuẩn: Hòa tan 50 mg glibenclamid chuẩn trong 10 ml *methanol (TT)* bằng cách lắc siêu âm 20 min, thêm *methanol (TT)* vừa đủ 50,0 ml, pha loãng 4 lần dung dịch thu được với *methanol (TT)*. Lấy 20,0 ml dung dịch này thêm 2,0 ml *nước (TT)*, trộn đều, lọc qua màng lọc 0,2 µm (Anatop LC là thích hợp).
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (Spherisorb ODS 1 là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 300 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Tính hàm lượng glibenclamid, $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$, dựa vào diện tích pic glibenclamid thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$ của glibenclamid chuẩn.

Bảo quản
Ở nhiệt độ phòng, nơi khô ráo, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống đái tháo đường.

Hàm lượng thường dùng
2,5 mg; 5 mg.

VIÊN NÉN GLIBENCLAMID VÀ METFORMIN
Tabellae Glibenclamidi et Metformini
Viên nén glyburid và metformin

Là viên nén hoặc viên nén bao phim chứa glibenclamid và metformin hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng glibenclamid, $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng metformin hydroclorid, $C_4H_{11}N_5.HCl$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong mục Định lượng glibenclamid, pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn glibenclamid.
B. Trong mục Định lượng metformin hydroclorid, pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn metformin hydroclorid.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Glibenclamid
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 500 ml *dung dịch acid boric và kali clorid 0,05 M* được chuẩn bị bằng cách hòa tan 3,09 g *acid boric (TT)* và 3,73 g *kali clorid (TT)* trong khoảng 250 ml *nước*. Chỉnh pH đến 9,5 bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 30 min.
Xác định lượng glibenclamid hòa tan bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch đệm amoni phosphat - acetonitril (50 : 50), điều chỉnh đến pH 5,3 bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*. Điều chỉnh tỉ lệ nếu cần.
Dung dịch đệm amoni phosphat: Hòa tan 28,8 g *amoni dihydrophosphat (TT)* trong *nước* và pha loãng với *nước* vừa đủ 1000 ml.
Dung dịch thử: Lấy một phần môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Lọc lại qua màng lọc 0,45 µm hoặc 1 µm.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 25 mg glibenclamid chuẩn vào bình định mức 100 ml. Thêm 20 ml *acetonitril (TT)*, lắc siêu âm để hòa tan. Thêm môi trường hòa tan vừa đủ, lắc đều. Pha loãng dung dịch này với môi trường hòa tan để có nồng độ tương đương dung dịch thử.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Nhiệt độ cột: 30 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 200 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch chuẩn. Trên sắc ký đồ thu được, số đĩa lý thuyết xác định trên pic glibenclamid không ít hơn 5000. Hệ số đối xứng của pic từ 0,8 đến 2,0. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic của 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2 %.
Tiêm các dung dịch thử. Từ diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$ của glibenclamid chuẩn, tính hàm lượng glibenclamid đã hòa tan trong mỗi viên.
Yêu cầu: Không ít hơn 85 % (Q) glibenclamid, $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.
Metformin hydroclorid
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 1000 ml *dung dịch đệm phosphat 0,05 M pH 6,8*.

Dung dịch đệm phosphat 0,05 M pH 6,8: Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*, chỉnh pH đến 6,8 ± 0,1 bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,2 M*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Lấy một phần môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Lọc lại qua màng lọc 0,45 µm hoặc 1 µm. Pha loãng (nếu cần) bằng môi trường hòa tan.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch metformin hydroclorid chuẩn trong môi trường hòa tan có nồng độ tương đương nồng độ của dung dịch thử.
Đo độ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của các dung dịch trên ở bước sóng cực đại khoảng 232 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. Từ độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_4H_{11}N_5.HCl$ của metformin hydroclorid chuẩn, tính lượng metformin hydroclorid đã hòa tan trong mỗi viên.
Yêu cầu: Không ít hơn 85 % (Q) metformin hydroclorid, $C_4H_{11}N_5.HCl$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Độ đồng đều hàm lượng glibenclamid (Phụ lục 11.2)
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung môi pha mẫu, dung dịch đệm amoni phosphat, dung dịch chuẩn, pha động và *điều kiện sắc ký* như mô tả ở mục Định lượng glibenclamid.
Dung dịch thử: Cho 1 viên vào bình định mức 100 ml, thêm 2 ml *nước*, lắc cho viên rã hoàn toàn. Thêm 70 ml dung môi pha mẫu và lắc siêu âm khoảng 30 min. Để nguội và thêm dung môi pha mẫu vừa đủ, lắc đều. Ly tâm với tốc độ 3000 r/min trong 10 min, sử dụng lớp dịch trong phía trên. Pha loãng dung dịch thu được (nếu cần) với dung môi pha mẫu để có nồng độ glibenclamid khoảng 0,025 mg/ml. Tiến hành lặp lại với 9 viên nữa.
Cách tiến hành: Tiêm lần lượt các dung dịch chuẩn và dung dịch thử, ghi lại sắc ký đồ. Từ diện tích pic thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$ của glibenclamid chuẩn, tính hàm lượng glibenclamid, $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$, trong mỗi viên.

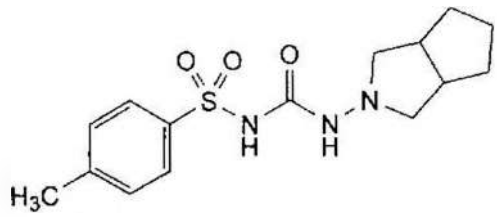
Định lượng
Glibenclamid
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung môi pha mẫu: Acetonitril - nước (1 : 1).
Dung dịch đệm amoni phosphat: Hòa tan 28,8 g *amoni dihydrophosphat (TT)* trong *nước* và pha loãng với *nước* vừa đủ 1000 ml.
Pha động: Dung dịch đệm amoni phosphat - acetonitril (60 : 40), điều chỉnh đến pH 5,3 bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*. Điều chỉnh tỉ lệ nếu cần.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 25 mg glibenclamid chuẩn vào bình định mức 100 ml. Thêm 50 ml *acetonitril (TT)*, lắc siêu âm để hòa tan. Thêm *nước* vừa đủ, lắc đều. Pha loãng dung dịch này với dung môi pha mẫu để có nồng độ chính xác khoảng 0,025 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân 20 viên (loại bỏ lớp bao nếu cần), xác định khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương đương với 2,5 mg glibenclamid vào bình định mức dung tích 100 ml, thêm khoảng 70 ml dung môi pha mẫu, lắc siêu âm khoảng 30 min để hòa tan. Thêm dung môi pha mẫu vừa đủ, lắc đều. Ly tâm với tốc độ 3000 r/min trong 10 min, sử dụng lớp dịch trong phía trên.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Nhiệt độ cột: 40 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.
Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.
Thể tích tiêm: 100 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch chuẩn. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic của 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 1,5 %. Số đĩa lý thuyết xác định trên pic glibenclamid không ít hơn 3000.
Tiêm dung dịch thử. Từ diện tích pic thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$ của glibenclamid chuẩn, tính hàm lượng glibenclamid, $C_{23}H_{28}ClN_3O_5S$, trong chế phẩm.
Metformin hydroclorid
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung môi pha mẫu: Dung dịch *acetonitril (TT)* 2,5 % (theo thể tích) trong *nước*.
Dung dịch đệm: Hòa tan 1,0 g *natri heptansulfonat (TT)* và 1,0 g *natri clorid (TT)* trong 1800 ml *nước*. Chỉnh pH đến 3,85 bằng *dung dịch acid phosphoric 0,06 M*. Thêm *nước* vừa đủ 2000 ml, trộn đều.
Pha động: Dung dịch đệm - acetonitril (90 : 10). Điều chỉnh tỉ lệ nếu cần.
Dung dịch chuẩn metformin hydroclorid: Pha dung dịch metformin hydroclorid chuẩn trong dung môi pha mẫu để có nồng độ chính xác khoảng 0,05 mg/ml.
Dung dịch thử: Pha loãng dung dịch thử ở mục định lượng glibenclamid với *nước* để thu được nồng độ metformin hydroclorid khoảng 0,05 mg/ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (30 cm × 3,9 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm).
Nhiệt độ cột: 30 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 218 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành: Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng của pic metformin hydroclorid từ 0,8 đến 2,0. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic của 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 1,5 %.
Tiêm dung dịch thử. Từ diện tích pic thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_4H_{11}N_5.HCl$ của metformin chuẩn, tính hàm lượng metformin hydroclorid, $C_4H_{11}N_5.HCl$, trong chế phẩm.

Bảo quản
Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống đái tháo đường.

Hàm lượng thường dùng
Metformin hydroclorid 500 mg và glibenclamid 5 mg;
Metformin hydroclorid 500 mg và glibenclamid 2,5 mg.

GLICLAZID
Gliclazidum



$C_{15}H_{21}N_3O_3S$ P.t.l:323,4

Gliclazid là 1-(hexahydrocyclopenta[*c*]pyrrol-2(1H)-yl)-3-[(4-methylphenyl) sulphonyl] ure, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{15}H_{21}N_3O_3S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột trắng hoặc gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong methylen clorid, hơi tan trong aceton, khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của gliclazid chuẩn.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Triethylamin - acid trifluoroacetic - acetonitril - nước (0,1 : 0,1 : 45 : 55).
Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.
Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong 23 ml *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng hỗn hợp *acetonitril - nước* (45 : 55). Pha loãng 10,0 ml dung dịch trên thành 100,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch phân giải: Hòa tan 5 mg chế phẩm và 15 mg tạp chất chuẩn F của gliclazid trong 23 ml *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20 ml bằng hỗn hợp *acetonitril - nước* (45 : 55).
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg tạp chất chuẩn F của gliclazid trong 45 ml *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 100 ml bằng *nước*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng hỗn hợp *acetonitril - nước* (45 : 55).
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 235 nm.
Tốc độ dòng: 0,9 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp đôi thời gian lưu của gliclazid.
Tiến hành sắc ký dung dịch phân giải. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của 2 pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải ít nhất bằng 50 % của thang đo. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa 2 pic chính trên sắc ký đồ ít nhất là 1,8.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử:
Diện tích của pic tương ứng với pic tạp chất F, không được lớn hơn diện tích của pic tương ứng trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).
Diện tích của bất kỳ pic phụ nào ngoài pic chính và pic tạp chất F không được lớn hơn diện tích pic của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).
Tổng diện tích của các pic phụ này không được lớn hơn 2 lần diện tích pic của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Bỏ qua các pic có diện tích pic nhỏ hơn 0,2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1).
Ghi chú:
Tạp chất E: 1-[(4-methylphenyl)sulphonyl]-3-(3,3a,4,6a-tetrahydrocyclopenta[c]pyrrol-2(1*H*)-yl)ure.
Tạp chất F: 1-(hexahydrocyclopenta[*c*]pyrrol-2(1*H*)-yl)-3-[(2-methylphenyl)sulphonyl]ure.

Tạp chất B của gliclazid
Không được quá 2 phần triệu.
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong 2,5 ml *dimethyl sulfoxid (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml bằng *nước*. Khuấy trong 10 min, để ở 4 °C trong 30 min và lọc.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20,0 mg tạp chất chuẩn B của gliclazid (2-nitroso-octahydrocyclopenta-[*c*]pyrrol) trong *dimethyl sulfoxid (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Lấy 1,0 ml dung dịch này, thêm 12 ml *dimethyl sulfoxid (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (2): Lấy 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1), thêm 12 ml *dimethyl sulfoxyd (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng *nước*.
Cách tiến hành: Tiêm 50 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2).
Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, diện tích của pic tương ứng với tạp chất B không được lớn hơn diện tích của pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,5 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 6. Dùng 1,5 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,25 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 2 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 50 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 32,34 mg $C_{15}H_{21}N_3O_3S$.

Loại thuốc
Chống đái tháo đường.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN GLICLAZID
Tabellae Gliclazidi

Là viên nén chứa gliclazid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng gliclazid, $C_{15}H_{21}N_3O_3S$, từ 93,0 % đến 107,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Lắc một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng khoảng 0,4 g gliclazid với 10 ml *dicloromethan (TT)*, lọc và bay hơi dịch lọc đến khô. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của gliclazid.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *đệm phosphat chuẩn pH 7,4 (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Nếu cần, pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ gliclazid khoảng 12,5 µg/ml.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan 62,0 mg gliclazid chuẩn trong 20 ml *methanol (TT)*, thêm môi trường hòa tan vừa đủ 100,0 ml và pha loãng 2 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với môi trường hòa tan.
Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của các dung dịch ở bước sóng 226 nm và 290 nm trong cốc đo dày 1 cm, dùng môi trường hòa tan làm mẫu trắng. Hiệu chỉnh độ hấp thụ đo được ở 226 nm bằng cách trừ độ hấp thụ đo được ở 290 nm. Tính hàm lượng gliclazid, $C_{15}H_{21}N_3O_3S$, đã hòa tan trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ đã hiệu chỉnh của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{15}H_{21}N_3O_3S$ của gliclazid chuẩn.
Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % (Q) lượng gliclazid, $C_{15}H_{21}N_3O_3S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Chuẩn bị các dung dịch trước khi dùng.
Pha động, điều kiện sắc ký, dung môi pha mẫu: Thực hiện như mô tả trong phần Định lượng.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 100 mg gliclazid chuyển vào bình định mức 100 ml, thêm 40 ml *acetonitril (TT)*, lắc để hòa tan. Pha loãng bằng *nước* đến định mức và lắc đều, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Hút chính xác 2,0 ml dung dịch thử vào bình định mức 100 ml và pha loãng bằng *dung môi pha mẫu* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này bằng *dung môi pha mẫu* vừa đủ 50,0 ml.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký dung dịch đối chiếu. Số đĩa lý thuyết của cột không được nhỏ hơn 3000.
Tiến hành sắc ký dung dịch thử với thời gian rửa giải gấp hai lần thời gian lưu của pic gliclazid.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của mỗi pic tạp chất không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,2 %). Tổng diện tích các pic tạp chất không được lớn hơn hai lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,4 %).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Chuẩn bị các dung dịch trước khi dùng.
Pha động: Triethylamin - acid trifluoroacetic - acetonitril - nước (0,1 : 0,1 : 40 : 60). Có thể điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.
Dung môi pha mẫu: Nước - acetonitril (60 : 40).
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 100 mg gliclazid chuyển vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml dung môi pha mẫu và lắc siêu âm 15 min. Pha loãng bằng dung môi pha mẫu đến định mức và lắc đều. Lọc qua giấy lọc. Hút chính xác 5,0 ml dịch lọc vào bình định mức 50 ml và pha loãng bằng dung môi pha mẫu vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan chính xác khoảng 10 mg gliclazid chuẩn trong 20 ml *acetonitril (TT)*, sau đó pha loãng với *nước* vừa đủ 50,0 ml.

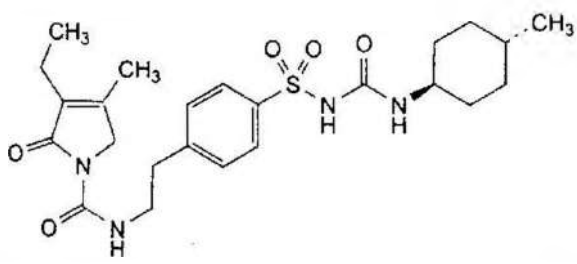
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 235 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn, độ phân giải giữa pic gliclazid và pic tạp chất liền kề (nếu có) không nhỏ hơn 1,5; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic gliclazid giữa các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %, số đĩa lý thuyết của cột không được nhỏ hơn 3000.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng gliclazid, $C_{15}H_{21}N_3O_3S$, trong viên dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{15}H_{21}N_3O_3S$ trong gliclazid chuẩn.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống đái tháo đường.

Hàm lượng thường dùng
80 mg.

GLIMEPIRID
Glimepiridum



$C_{24}H_{34}N_4O_5S$ P.t.l: 490,6

Glimepirid là 1-[[4-[2-(3-ethyl-4-methyl-2-oxo-3-pyrrolin-1-carboxamido)-ethyl]phenyl]sulfonyl]-3-*trans*-(4-methylcyclohexyl)ure, phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % $C_{24}H_{34}N_4O_5S$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột màu trắng hay gần như trắng, đa hình.
Thực tế không tan trong nước, tan trong dimethylformamid, khó tan trong methylen clorid, rất khó tan trong methanol.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của glimepirid chuẩn. Nếu phổ hấp thụ hồng ngoại ở trạng thái rắn của chế phẩm và của glimepirid chuẩn khác nhau thì hòa tan riêng rẽ chế phẩm và chất chuẩn trong *dimethylformamid (TT)*, bốc hơi tới khô rồi tiến hành ghi phổ mới của cắn.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Các dung dịch được bảo quản ở nhiệt độ không quá 12 °C và không quá 15 h.
Pha động: Hòa tan 0,5 g *natri dihydrophosphat (TT)* trong 500 ml *nước dùng cho sắc ký (TT)* và điều chỉnh đến pH 2,5 bằng *acid phosphoric (TT)*. Thêm 500 ml *acetonitril (TT)* vào dung dịch thu được, lắc đều.
Hỗn hợp dung môi: Nước dùng cho sắc ký - acetonitril dùng trong phương pháp sắc ký (1 : 4).
Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan glimepirid chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (có chứa các tạp chất B, C và D) có trong một lọ chuẩn trong 2,0 ml dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 20,0 mg glimepirid chuẩn trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (4 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 228 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2,5 lần thời gian lưu của glimepirid.
Thời gian lưu tương đối so với glimepirid (thời gian lưu khoảng 17 min): Tạp chất B khoảng 0,2; tạp chất C khoảng 0,3; tạp chất D khoảng 1,1.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất B với pic của tạp chất C ít nhất là 4,0.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ dung dịch thử:
Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B không được lớn hơn 4 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,4 %).
Tạp chất D: Diện tích pic tạp chất D không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).
Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất trừ tạp chất B không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:
Tạp chất B: 3-ethyl-4-methyl-2-oxo-*N*-[2-(4-sulfamoylphenyl) ethyl]-2,3-dihydro-1*H*-pyrrol-1-carboxamid.
Tạp chất C: methyl [[4-[2-[[(3-ethyl-4-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)carbonyl]amino]ethyl]phenyl]sulfonyl] carbamat.
Tạp chất D: 1-[[3-[2-[[(3-ethyl-4-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)carbonyl]amino]ethyl]phenyl]sulfonyl]-3-(*trans*-4-methylcyclohexyl)ure.
Tạp chất E: 3-ethyl-4-methyl-2-oxo-*N*-[2-(3-sulfamoylphenyl) ethyl]-2,3-dihydro-1*H*-pyrrol-1-carboxamid.
Tạp chất F: methyl [[2-[2-[[(3-ethyl-4-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)carbonyl]amino]ethyl]phenyl]sulfonyl] carbamat.
Tạp chất G: methyl [[4-[2-[[(3-ethyl-4-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)carbonyl]amino]ethyl]phenyl]sulfonyl] methylcarbamat.
Tạp chất H: 1-[[4-[2-[[(3-ethyl-4-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)carbonyl]amino]ethyl]phenyl]sulfonyl]-3-(4-methylphenyl)ure.
Tạp chất I: 1-[[2-[2-[[(3-ethyl-4-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)carbonyl]amino]ethyl]phenyl]sulfonyl]-3-(*trans*-4-methylcyclohexyl)ure.
Tạp chất J: 1-[[4-(2-aminoethyl)phenyl]sulfonyl]-3-(*trans*-4-methylcyclohexyl)ure.

Tạp chất A
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Các dung dịch được chuẩn bị ngay trước khi dùng.
Pha động: Acid acetic khan - 2-propanol - heptan (1 : 100 : 899).
Dung dịch thử: Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong 5 ml *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 0,8 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 2,0 mg glimepirid chuẩn (có chứa tạp chất A) trong 1 ml *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 4,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 3,0 mm) được nhồi pha tĩnh *diol silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 228 nm.
Tốc độ dòng: 0,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 1,5 lần thời gian lưu của glimepirid.
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo glimepirid chuẩn và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất A.
Thời gian lưu tương đối so với glimepirid (thời gian lưu khoảng 14 min) của tạp chất A khoảng 0,9.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), tỷ số đỉnh - hõm (H_p/H_v) ít nhất là 2,0; trong đó H_p là chiều cao đỉnh pic tạp chất A và H_v là chiều cao của đáy hõm phân tách pic tạp chất A và pic glimepirid.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,8 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 1-[[4-[2-[[(3-ethyl-4-methyl-2-oxo-2,3-dihydro-1*H*-pyrrol-1-yl)carbonyl]amino]ethyl]phenyl]sulfonyl]-3-(*cis*-4-methylcyclohexyl)ure.

Nước
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.3).
Hoà tan 0,250 g trong *dimethylformamid (TT)* và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi. Tiến hành thử trên 1,0 ml dung dịch thu được, song song tiến hành một mẫu trắng.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với các điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (3).
Tính hàm lượng glimepirid $C_{24}H_{34}N_4O_5S$, từ diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (3) và hàm lượng $C_{24}H_{34}N_4O_5S$ trong glimepirid chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc điều trị đái tháo đường.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN GLIMEPIRID
Tabellae Glimepiridi

Là viên nén chứa glimepirid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng glimepirid, $C_{24}H_{34}N_4O_5S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

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

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Điều kiện sắc ký, pha động, dung môi pha mẫu như mô tả trong phần Định lượng với một số thay đổi như sau:
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương đương với 10 mg glimepirid, làm ẩm bằng 0,5 ml *nước*, thêm 70 ml dung môi pha mẫu, lắc siêu âm khoảng 10 min ở nhiệt độ không quá 20 °C. Thêm dung môi pha mẫu vừa đủ 100,0 ml, lắc đều, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng dung môi pha mẫu.
Điều kiện sắc ký:
Tốc độ dòng: Điều chỉnh tốc độ dòng sao cho thời gian lưu của glimepirid khoảng 12 min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu, số đĩa lý thuyết không nhỏ hơn 6000 và hệ số đối xứng của pic glimepirid không lớn hơn 1,5. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic thu được từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch đối chiếu không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử với thời gian chạy bằng 3 lần thời gian lưu của glimepirid.
Nếu xuất hiện pic phụ có thời gian lưu tương đối so với glimepirid khoảng 0,3 thì diện tích của pic này không được lớn hơn 2,6 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Bất kỳ pic phụ nào khác ngoài pic chính và pic phụ nói trên không được có diện tích lớn hơn 0,3 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Tổng diện tích các pic phụ ngoài pic chính và pic phụ nói trên không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Tổng diện tích các pic phụ ngoài pic chính không được lớn hơn 3 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Bỏ qua các pic có diện tích bằng 0,1 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch đệm dinatri hydrophosphat - acid citric pH 7,5 được pha như sau: Thêm *dung dịch acid citric 0,525 %* vào 1000 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 0,05 M* đến khi thu được dung dịch đệm có pH 7,5.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành:
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Điều kiện sắc ký và pha động như mô tả trong phần Định lượng với thể tích tiêm 100 µl.
Dung dịch thử: Lấy một phần môi trường sau khi hòa tan, lọc.
Dung dịch chuẩn: Pha loãng dung dịch A trong phần Định lượng với môi trường hòa tan để được dung dịch chuẩn có nồng độ glimepirid tương đương với nồng độ trong dung dịch thử.
Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % (Q) lượng glimepirid, $C_{24}H_{34}N_4O_5S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Độ đồng đều hàm lượng
Viên nén chứa 5 mg glimepirid hoặc ít hơn phải đáp ứng yêu cầu phép thử độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2).
Dung dịch thử: Lấy 1 viên cho vào bình định mức 100 ml, thêm 5 ml *nước* và để đến khi viên rã. Thêm 70 ml dung môi pha mẫu, lắc siêu âm khoảng 10 min ở nhiệt độ không quá 20 °C, thêm dung môi pha mẫu vừa đủ đến định mức, lắc đều, lọc.
Dung dịch chuẩn: Pha loãng dung dịch A trong phần Định lượng với dung môi pha mẫu để được dung dịch chuẩn có nồng độ glimepirid tương đương với nồng độ trong dung dịch thử.
Tiến hành theo phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký, pha động, dung môi pha mẫu như mô tả trong phần Định lượng.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 0,5 g *natri dihydrophosphat khan (TT)* trong 500 ml *nước*, thêm 500 ml *acetonitril (TT)*, chỉnh pH đến 3,5 bằng *dung dịch acid phosphoric 10 % (TT)*.
Dung môi pha mẫu: Acetonitril - nước (4 : 1).
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng 4 mg glimepirid và chuyển vào bình định mức 100 ml, làm ẩm bằng 5 ml *nước*, thêm 60 ml dung môi pha mẫu, lắc siêu âm khoảng 10 min ở nhiệt độ không quá 20 °C. Thêm dung môi pha mẫu đến định mức, lắc đều, lọc.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 20 mg glimepirid chuẩn và chuyển vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml dung môi pha mẫu, lắc siêu âm đến khi tan hoàn toàn và thêm dung môi pha mẫu đến định mức, lắc đều (Dung dịch A). Pha loãng 5,0 ml dung dịch A thành 50,0 ml với dung môi pha mẫu.
Dung dịch phân giải: Cân chính xác khoảng 50 mg butyl parahydroxybenzoat và chuyển vào bình định mức 50 ml, hòa tan bằng dung môi pha mẫu và thêm dung môi pha mẫu vừa đủ đến định mức. Lấy 5,0 ml dung dịch thu được, 5,0 ml dung dịch A chuyển vào bình định mức 50 ml, thêm dung môi pha mẫu đến định mức, lắc đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (12,5 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột: 25 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 228 nm.
Tốc độ dòng: Điều chỉnh tốc độ dòng để thời gian lưu của glimepirid khoảng 10 min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, độ phân giải giữa pic butyl parahydroxybenzoat và glimepirid không nhỏ hơn 6.
Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic thu được từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Tính hàm lượng glimepirid, $C_{24}H_{34}N_4O_5S$, dựa vào diện tích pic glimepirid thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{24}H_{34}N_4O_5S$ của glimepirid chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc điều trị đái tháo đường.

Hàm lượng thường dùng
4 mg.

VIÊN NÉN GLIMEPIRID VÀ METFORMIN
Tabellae Glimepiridi et Metformini

Là viên nén chứa glimepirid và metformin hydroclorid. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng glimepirid, $C_{24}H_{34}N_4O_5S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng metformin hydroclorid, $C_4H_{11}N_5$ HCl, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Trong phần Định lượng, dung dịch thử phải cho hai pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic glimepirid và metformin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan của glimepirid
Môi trường hòa tan: 500 ml *dung dịch natri laurylsulfat 0,5 %.*
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, hút dịch hòa tan, lọc.
Dung dịch chuẩn gốc glimepirid: Cân chính xác khoảng 20 mg glimepirid và chuyển vào bình định mức dung tích 100 ml. Thêm khoảng 80 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm để hòa tan. Thêm *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml bằng môi trường hòa tan.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 25 mg hoặc 50 mg metformin hydroclorid (tương ứng với viên chứa 250 mg hoặc 500 mg metformin hydroclorid) vào bình định mức dung tích 50 ml, thêm 30 ml môi trường hòa tan, lắc siêu âm để hòa tan. Thêm 5,0 ml hoặc 10,0 ml dung dịch chuẩn gốc glimepirid (tương ứng với viên chứa 1 mg hoặc 2 mg glimepirid), thêm môi trường hòa tan vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Định lượng glimepirid hòa tan bằng phương pháp sắc ký lỏng với Điều kiện sắc ký như ở phần Định lượng.
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, tiến hành sắc ký và ghi lại sắc ký đồ. Trên sắc ký đồ thu được, số đĩa lý thuyết tính theo pic glimepirid không dưới 4000. Hệ số đối xứng của pic glimepirid không lớn hơn 2,0. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic glimepirid từ 6 lần tiêm lặp lại không quá 2,0%.
Tiêm lần lượt các dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Từ diện tích pic glimepirid thu được từ dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{24}H_{34}N_4O_5S$ trong glimepirid chuẩn, tính lượng glimepitid hòa tan trong mỗi viên.
Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng glimepirid, $C_{24}H_{34}N_4O_5S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Độ hòa tan của metformin
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,68 % được chỉnh đến pH 6,8 bằng dung dịch natri hydroxyd 1 M.*
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, hút dịch hòa tan, lọc. Pha loãng 10,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml bằng *nước*. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *nước*.
Đo độ hấp thụ của dung dịch thử ở bước sóng 233 nm (Phụ lục 4.1) trong cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *nước*. Tính hàm lượng metformin hydroclorid, $C_4H_{11}N_5$ HCl, theo A (1 %; 1cm). Lấy 806 là giá trị A (1 %; 1 cm) ở bước sóng 233 nm.
Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng metformin hydroclorid, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

1-Cyanoguanidin
Pha động: Dung dịch amoni dihydrophosphat 1,7 % được chỉnh pH đến 3,0 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Cân chính xác khoảng 10 mg 1-cyanoguanidin và chuyển vào bình định mức 50 ml. Thêm khoảng 30 ml *nước* và lắc siêu âm để hòa tan. Thêm *nước* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 200 ml bằng pha động.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 500 mg metformin hydroclorid và chuyển vào bình định mức dung tích 100 ml, thêm khoảng 80 ml pha động và lắc siêu âm trong 30 min. Để nguội, thêm pha động đến định mức, lắc đều, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (12,5 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *silica gel gắn với các nhóm acid benzen sufonic* (Partisphere 5 µ SCX là phù hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 218 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính ít nhất bằng 50 % thang đo. Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, trên sắc ký đồ thu được, pic tương ứng với 1-cyanoguanidin không được có diện tích pic lớn hơn diện tích pic 1-cyanoguanidin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,02 %).

Độ đồng đều hàm lượng glimepirid
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với pha động, dung dịch chuẩn gốc metformin, dung dịch chuẩn gốc glimepirid và dung dịch chuẩn hỗn hợp như mô tả trong phần Định lượng.
Dung dịch thử: Chuyển một viên nén vào bình định mức dung tích 100 ml. Thêm khoảng 80 ml pha động, lắc siêu âm khoảng 60 min để hòa tan. Để nguội, thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều. Ly tâm với tốc độ 3500 rpm trong 15 min. Pha loãng 5,0 ml dịch trong thành 25,0 ml với pha động, trộn đều. Tiến hành tương tự với 9 viên còn lại.
Cách tiến hành: Tiêm dung dịch chuẩn hỗn hợp, tiến hành sắc ký và ghi lại sắc ký đồ. Thay đổi tỉ lệ pha động nếu cần để đạt được độ thích hợp hệ thống như ở mục Định lượng. Tiêm lần lượt các dung dịch chuẩn hỗn hợp và các dung dịch thử. Từ diện tích pic glimepirid thu được từ dung dịch chuẩn hỗn hợp, dung dịch thử và hàm lượng $C_{24}H_{34}N_4O_5S$ trong glimepirid chuẩn, tính hàm lượng glimepirid có trong mỗi viên.

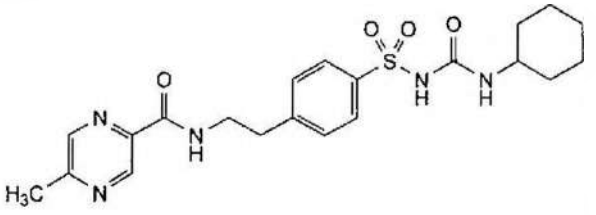
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - dung dịch amoni acetat 0,001 M - triethylamin (500 : 500 : 0,1). Điều chỉnh đến pH 6,1 ± 0,1 với *dung dịch acid acetic 10 %.*
Dung dịch chuẩn gốc metformin: Cân chính xác khoảng 25 mg metformin hydroclorid chuẩn và chuyển vào bình định mức dung tích 100 ml. Thêm khoảng 80 ml pha động và lắc siêu âm để hòa tan. Thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Dung dịch chuẩn gốc glimepirid: Cân chính xác khoảng 20 mg glimepirid chuẩn và chuyển vào bình định mức dung tích 100 ml. Thêm khoảng 80 ml pha động và lắc siêu âm để hòa tan. Thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng pha động.
Dung dịch chuẩn hỗn hợp: Hút 5,0 ml chuẩn gốc metformin hydroclorid và 5,0 ml hoặc 10,0 ml dung dịch chuẩn gốc glimepirid (tương ứng với viên chứa 1 mg hoặc 2 mg glimepirid) vào bình định mức dung tích 50 ml, thêm pha động vừa đủ đến vạch.
Dung dịch thử gốc: Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với một viên vào bình định mức dung tích 100 ml. Thêm khoảng 80 ml pha động và lắc siêu âm khoảng 30 min. Thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều. Ly tâm với tốc độ 3500 rpm trong 15 min.
Dung dịch thử glimepirid: Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử gốc thành 25,0 ml bằng pha động.
Dung dịch thử metformin: Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử gốc thành 100,0 ml bằng pha động. Tiếp tục pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 229 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành: Tiêm dung dịch chuẩn hỗn hợp, tiến hành sắc ký và ghi lại sắc ký đồ. Trên sắc ký đồ thu được, số đĩa lý thuyết tính theo pic metformin không dưới 2000 và tính theo glimepirid không dưới 4000. Hệ số đối xứng của pic metformin không lớn hơn 2,5 và của glimepirid không lớn hơn 2,0. Độ phân giải giữa pic metformin và glimepirid không dưới 8,0. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích các pic metformin và glimepirid từ 6 lần tiêm lặp lại không quá 2,0 %.
Tiêm lần lượt các dung dịch chuẩn hỗn hợp và các dung dịch thử. Từ diện tích pic thu được từ dung dịch chuẩn hỗn hợp, các dung dịch thử, hàm lượng $C_4H_{11}N_5.HCl$ trong metformin hydroclorid chuẩn và hàm lượng $C_{24}H_{34}N_4O_5S$ trong glimepirid chuẩn, tính hàm lượng metformin hydroclorid và glimepirid trong mỗi viên.

Bảo quản
Trong bao bì kín. Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Điều trị đái tháo đường.

Hàm lượng thường dùng
Glimepirid/metformin hydroclorid: 1 mg/250 mg; 1 mg/500 mg; 2 mg/250 mg; 2 mg/ 500 mg.

GLIPIZID
Glipizidum



$C_{21}H_{27}N_5O_4S$ P.t.l: 445,5

Glipizid là 1-cyclohexyl-3-[[4-[2-[[(5-methylpyrazin-2-yl) carbonyl]amino]ethyl]phenyl]sulfonyl]ure, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{21}H_{27}N_5O_4S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hay gần như trắng.
Thực tế không tan trong nước và ethanol 96 %, rất khó tan trong methylen clorid và aceton, tan trong các dung dịch kiềm loãng.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B và C.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của glipizid chuẩn.
B. Hòa tan khoảng 2 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 220 nm đến 350 nm. Phổ thu được có các hấp thụ cực đại ở bước sóng 226 nm và 274 nm. Tỷ lệ độ hấp thụ A_{226}/A_{274} từ 2,0 đến 2,4.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi khai triển: *Acid formic khan - ethyl acetat - methylen clorid* (25 : 25 : 50).
Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong hỗn hợp đồng thể tích *methanol (TT)* và *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg glipizid chuẩn trong hỗn hợp đồng thể tích *methanol (TT)* và *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng hỗn hợp dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 2/3 bản mỏng. Để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí và kích thước với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với điều kiện sắc ký như mô tả trong mục Định lượng.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 25 mg chế phẩm vào bình định mức 50 ml, thêm 25 ml *methanol (TT)*, lắc kỹ để hòa tan và pha loãng tới vạch bằng *dung dịch natri dihydrophosphat 0,1 M (TT)*, lắc đều.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan khoảng 12,5 mg tạp chất A chuẩn của glipizid trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 50 ml với *methanol (TT)*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với pha động.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu (1), điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính trên sắc ký đồ thu được ít nhất bằng 25 % thang đo.
Tiến hành sắc ký dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1) và (2) với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của pic chính.
Giới hạn:
Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của pic tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).
Diện tích của bất kỳ pic phụ nào, ngoại trừ pic chính và pic tạp chất A, không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Tổng diện tích của tất cả các pic phụ, ngoại trừ pic chính và pic tạp chất A, không được lớn hơn diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 5-methyl-*N*-[2-(4-sulfamoylphenyl)ethyl]pyrazin-2-carboxamid.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Dung dịch natri dihydrophosphat 0,1 M đã được điều chỉnh đến pH* 6,00 ± 0,05 *bằng dung dịch natri hydroxyd 2 M - methanol* (55 : 45).
Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong *methanol (TT)*, pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Hút 5,0 ml dung dịch thu được vào bình định mức 50 ml, thêm 20 ml *methanol (TT)* và pha loãng đến vạch bằng *dung dịch natri dihydrophosphat 0,1 M*.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan 25,0 mg glipizid chuẩn trong *methanol (TT)*, pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Hút 5,0 ml dung dịch thu được vào bình định mức 50 ml, thêm 20 ml *methanol (TT)* và pha loãng đến vạch bằng *dung dịch natri dihydrophosphat 0,1 M*.
Dung dịch phân giải: Hòa tan một lượng glipizid chuẩn và một lượng tạp chất A chuẩn trong *methanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ 0,5 mg/ml glipizid và 2,5 µg/ml tạp chất A.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 225 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, số đĩa lý thuyết tính trên pic glipizid không được nhỏ hơn 2000 và độ phân giải giữa pic glipizid và pic tạp chất A ít nhất phải bằng 1,5.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch chuẩn.
Tính hàm lượng phần trăm glipizid, $C_{21}H_{27}N_5O_4S$, trong

chế phẩm dựa vào diện tích pic glipizid trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{21}H_{27}N_5O_4S$ trong glipizid chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc điều trị đái tháo đường.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN GLIPIZID
Tabellae Glipizidi

Là viên nén hoặc viên nén bao phim chứa glipizid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng glipizid, $C_{21}H_{27}N_5O_4S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Toluen - ethyl acetat - acid formic 98 % (5 : 3 : 2).
Dung dịch thử: Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 10 mg glipizid và chuyển vào ống ly tâm có nút mài, thêm 10 ml *methanol (TT)* và lắc mạnh. Ly tâm, sử dụng lớp dịch trong.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch glipizid chuẩn trong *methanol (TT)* có nồng độ khoảng 1 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Để khô ngoài không khí và triển khai trong bình bão hòa dung môi đến khi dung môi di chuyển được 3/4 bản mỏng. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và sấy ở 80 °C trong 30 min. Để nguội, phun *dung dịch natri hypoclorit 0,5 % (TT)* và để khô ngoài không khí. Tiếp tục phun với *ethanol 96 % (TT)*, để khô, phun với hỗn hợp mới pha gồm *dung dịch hồ tinh bột - dung dịch kali iodid 1 %* (1 : 1). Sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho vết chính có cùng R_f và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Trong mục Định lượng, thời gian lưu của pic chính thu được trên sắc ký đồ dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic glipizid trên sắc ký đồ dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch được chuẩn bị như sau: Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 250 ml *nước*, thêm 77 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,2 M* và 500 ml *nước*. Điều chỉnh pH với *dung dịch natri hydroxyd 0,2 M* hoặc *dung dịch acid hydrocloric 0,2 M* đến pH 6,8 ± 0,1. Pha loãng với *nước* vừa đủ 1000 ml.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Sau thời gian thử qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, pha loãng bằng môi trường hòa tan nếu cần.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 10 mg glipizid chuẩn, thêm 5 ml *methanol (TT)* và lắc siêu âm để hòa tan, thêm môi trường hòa tan vừa đủ 100,0 ml, lắc đều. Pha loãng dung dịch thu được bằng môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ glipizid tương đương nồng độ trong dung dịch thử.
Đo độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn ở bước sóng cực đại khoảng 276 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. Tính hàm lượng glipizid, $C_{21}H_{27}N_5O_4S$, hòa tan từ mỗi viên dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{21}H_{27}N_5O_4S$ trong glipizid chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng glipizid, $C_{21}H_{27}N_5O_4S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với điều kiện sắc ký, dung dịch đệm, pha động, dung dịch chuẩn được chuẩn bị như mô tả ở mục Định lượng.
Dung dịch thử: Chuyển một viên vào bình định mức thích hợp, thêm dung dịch đệm khoảng một nửa thể tích bình định mức, lắc cơ học khoảng 10 min, để viên rã hết. Thêm tiếp *methanol (TT)* đến khoảng 4/5 thể tích bình định mức, tiếp tục lắc siêu âm khoảng 15 min. Pha loãng với *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều để thu được dung dịch có nồng độ glipizid khoảng 0,05 mg/ml. Lọc. Tiếp tục thực hiện như vậy với 9 viên nữa.
Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Từ diện tích pic glipizid thu được trên sắc ký đồ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{21}H_{27}N_5O_4S$ trong glipizid chuẩn, tính hàm lượng $C_{21}H_{27}N_5O_4S$ trong viên.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Điều kiện sắc ký, pha động, dung dịch đệm như mô tả trong phần Định lượng.
Dung dịch chuẩn gốc: Cân chính xác một lượng tạp chất A của glipizid hòa tan trong *methanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ 50 µg/ml.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác 20 mg glipizid chuẩn vào bình định mức 200 ml, hòa tan bằng *methanol (TT)*, thêm 2,0 ml dung dịch chuẩn gốc và thêm *methanol (TT)* đến vạch, lắc đều. Pha loãng 25,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng dung dịch đệm.
Dung dịch thử: Dùng dung dịch thử ở mục Định lượng.

Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, thời gian lưu tương đối của tạp chất A là 0,2 và glipizid là 1,0. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic tạp chất A từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không lớn hơn 5 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử, từ diện tích pic tạp chất A trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn, nồng độ tạp chất A trong dung dịch chuẩn, tính phần trăm hàm lượng tạp chất A, nếu có, trong viên so với hàm lượng glipizid tìm thấy trong viên ở mục Định lượng. Hàm lượng tạp chất A không được lớn hơn 2,0 %.
Ghi chú:
Tạp chất A: 5-methyl-*N*-[2-(4-sulfamoylphenyl)ethyl]pyrazin-2-carboxamid.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm: Hòa tan 13,8 g *natri dihydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*. Điều chỉnh pH đến 6,0 ± 0,05 bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M*.
Pha động: Dung dịch đệm - methanol (55 : 45). Điều chỉnh tỉ lệ nếu cần.
Dung dịch chuẩn: Pha dung dịch của glipizid chuẩn trong *methanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,1 mg/ml. Pha loãng 25,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml với *dung dịch đệm*.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 5 mg glipizid vào bình định mức 100 ml, thêm 50 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm khoảng 15 min. Pha loãng với *dung dịch đệm* vừa đủ đến vạch, lắc đều, tiếp tục lắc siêu âm khoảng 15 min, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 3,9 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 225 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic glipizid thu được từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 1,0 %.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử.
Tính hàm lượng glipizid, $C_{21}H_{27}N_5O_4S$, có trong viên dựa vào diện tích pic glipizid thu được trên sắc ký đồ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{21}H_{27}N_5O_4S$ trong glipizid chuẩn.

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

Loại thuốc
Thuốc điều trị đái tháo đường.

Hàm lượng thường dùng
5 mg; 10 mg.

VIÊN NÉN GLIPIZID VÀ METFORMIN
Tabellae Glipizidi et Metformini

Là viên nén hoặc viên bao phim chứa glipizid và metformin hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng glipizid, $C_{21}H_{27}N_5O_4S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng metformin hydroclorid, $C_4H_{11}N_5.HCl$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lấy 10 viên (bỏ lớp bao phim, nếu cần), nghiền thành bột mịn và chuyển vào bình nón dung tích 100 ml. Thêm 20 ml *nước* và lắc khoảng 1 h. Lọc, chuyển dịch lọc vào phễu chiết và chiết 2 lần, mỗi lần với 10 ml *cloroform (TT)* trong 5 min. Chuyển dịch chiết cloroform vào cốc có mỏ đã chứa sẵn khoảng 3 g đến 4 g *magnesi sulfat khan (TT)*, khuấy trong 1 min. Lọc, bay hơi dịch lọc dưới áp suất giảm và sấy cắn thu được trong chân không ở 105 °C trong 4 h. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được phải có các cực đại hấp thụ tương ứng với phổ hấp thụ hồng ngoại của glipizid chuẩn.
B. Trong mục Định lượng glipizid, thời gian lưu của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic glipizid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
C. Trong mục Định lượng metformin hydroclorid, thời gian lưu của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic metformin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 1000 ml *dung dịch đệm phosphat 0,05 M pH 6,8 ± 0,05* được chuẩn bị như sau: Hòa tan 12,96 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 1,66 g *natri hydroxyd (TT)* trong khoảng 400 ml *nước*, thêm *nước* đến vừa đủ 2000 ml. Điều chỉnh pH nếu cần với *dung dịch natri hydroxyd 0,2 M*.
Tốc độ quay: 50 r/m.
Thời gian: 45 min.
Định lượng glipizid hòa tan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch A: Hòa tan 3,4 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong khoảng 800 ml *nước*. Điều chỉnh đến pH 6,0 ± 0,1 với *dung dịch natri hydroxyd 10 M*. Pha loãng với *nước* vừa đủ 1000 ml.
Pha động: Methanol - dung dịch A (52 : 48).
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg glipizid chuẩn vào bình định mức 1000 ml. Thêm 100 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm 5 min để hòa tan. Thêm môi trường hòa tan vừa đủ đến vạch, lắc đều. Pha loãng dung dịch thu

được với môi trường hòa tan để được dung dịch có nồng độ glipizid tương đương với nồng độ glipizid trong dung dịch thử.
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic glipizid thu được từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử. Tính hàm lượng glipizid, $C_{21}H_{27}N_5O_4S$, hòa tan dựa vào diện tích pic glipizid trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{21}H_{27}N_5O_4S$ trong glipizid chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng glipizid, $C_{21}H_{27}N_5O_4S$, được hòa tan trong 45 min.

Định lượng metformin hydroclorid hòa tan

Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được (pha loãng nếu cần) ở bước sóng cực đại khoảng 233 nm, sử dụng cốc đo 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. Tính hàm lượng metformin hydroclorid, $C_4H_{11}N_5.HCl$, hòa tan từ mỗi viên dựa vào độ hấp thụ của dung dịch metformin hydroclorid chuẩn có cùng nồng độ pha trong môi trường hòa tan.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng metformin hydroclorid, $C_4H_{11}N_5.HCl$, được hòa tan trong 45 min.

Độ đồng đều hàm lượng glipizid (Phụ lục 11.2)

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Pha động, điều kiện sắc ký, dung môi pha mẫu, dung dịch phân giải, dung dịch chuẩn và cách tiến hành như mô tả ở mục Định lượng glipizid.
Dung dịch thử: Chuyển 1 viên vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 50 ml dung môi pha mẫu. Lắc siêu âm 30 min. Sau đó lắc cơ học thêm 30 min nữa để hòa tan. Thêm *nước* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc. Tiếp tục pha loãng với dung môi pha mẫu và *nước* để được dung dịch có tỷ lệ dung môi hữu cơ và nồng độ glipizid tương ứng với dung dịch chuẩn.

Tạp chất liên quan của glipizid

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Pha động, điều kiện sắc ký, dung môi pha mẫu, dung dịch phân giải, dung dịch chuẩn, dung dịch thử và cách tiến hành như mô tả ở mục Định lượng glipizid.
Hàm lượng các tạp chất (nếu có) trên sắc ký đồ của dung dịch thử được tính theo phương pháp chuẩn hóa (Phụ lục 5). Để tính hàm lượng tạp chất A của glipizid (thời gian lưu tương đối 0,92), chia diện tích pic tương ứng cho 1,4.
Giới hạn: Tạp chất A của glipizid không được quá 2,0 %. Các tạp chất khác (rửa giải khoảng sau 8 min) không được quá 0,5 %. Tổng các tạp chất ngoại trừ tạp chất A không được quá 1,0 %. Bỏ qua pic metformin rửa giải trước 8 min. Bỏ qua các pic của mẫu trắng và các pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 %.
Ghi chú:
Tạp chất A: 5-methyl-*N*-[2-(4-sulfamoylphenyl)ethyl]pyrazin-2-carboxamid.

Tạp chất liên quan của metformin

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Pha động, điều kiện sắc ký, dung môi pha mẫu, dung dịch phân giải, dung dịch chuẩn, dung dịch thử và cách tiến hành như mô tả ở mục Định lượng metformin.
Hàm lượng các tạp chất (nếu có) trên sắc ký đồ của dung dịch thử được tính theo phương pháp chuẩn hóa (Phụ lục 5).
Giới hạn: Mỗi tạp chất không được quá 0,1 %, tổng các tạp chất không được quá 0,5 %. Bỏ qua các pic của mẫu trắng, pic glipizid và các pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 %.
Ghi chú:
Tạp chất A: Cyanoguanidin.

Định lượng glipizid

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch A: Hòa tan 2,6 g *amoni phosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*. Điều chỉnh pH đến 8,0 bằng *amoniac (TT)*.
Dung dịch B: Acetonitril - nước - dung dịch A (5 : 70 : 25).
Dung dịch C: Acetonitril - nước - dung dịch A (50 : 25 : 25).
Dung môi pha mẫu: Acetonitril - nước (60 : 40).
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 10 mg glipizid chuẩn và chuyển vào bình định mức màu nâu dung tích 100 ml, thêm 60 ml *acetonitril (TT)*, lắc siêu âm 20 min, thêm *nước* vừa đủ đến vạch và lắc đều. Hút 25,0 ml dung dịch thu được chuyển vào bình định mức màu nâu dung tích 200 ml, thêm 75 ml dung môi pha mẫu và thêm *nước* đến định mức, lắc đều.
Dung dịch phân giải: Cân chính xác khoảng 5 mg tạp chất A chuẩn của glipizid và chuyển vào bình định mức 500 ml, thêm khoảng 250 ml *acetonitril (TT)* và lắc siêu âm 30 min, sau đó thêm *acetonitril (TT)* đến vạch, lắc đều. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 50 ml với dung dịch chuẩn.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 25 mg glipizid vào bình định mức 500 ml, thêm khoảng 300 ml dung môi pha mẫu, lắc siêu âm 30 min sau đó lắc cơ học khoảng 30 min nữa. Thêm dung môi pha mẫu đến vạch, lắc đều. Hút 25,0 ml dung dịch thu được chuyển vào bình định mức 100 ml, thêm 25 ml dung môi pha mẫu và thêm *nước* vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 223 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 50 µl.

Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Dung dịch B (% tt/tt)	Dung dịch C (% tt/tt)
0 - 3	100	0
3 - 18	100 → 0	0 → 100
20	0	100
20 - 22	0 → 100	100 → 0
30	100	0

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải và dung dịch chuẩn, thời gian lưu tương đối của tạp chất A là 0,92 và của glipizid là 1,0. Độ phân giải giữa pic tạp chất A và pic glipizid phải lớn hơn 1,2. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic glipizid từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn phải nhỏ hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử.
Tính hàm lượng glipizid, $C_{21}H_{27}N_5O_4S$, có trong viên dựa vào diện tích pic glipizid thu được trên sắc ký đồ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{21}H_{27}N_5O_4S$ trong glipizid chuẩn.

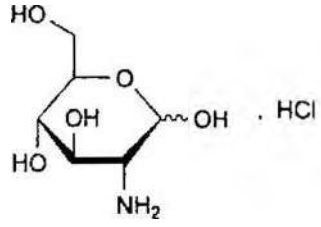
Định lượng metformin hydroclorid
Dung dịch A: Hòa tan 9,41 g *natri hexansulfonat (TT)* trong 1000 ml *nước*. Điều chỉnh pH đến 2,0 bằng *acid trifluoroacetic (TT)* (thu được dung dịch *acid hexansulfonic 50 mM*).
Dung dịch B: Acetonitril - nước (40 : 60).
Pha động: Dung dịch A - dung dịch B - nước (30 : 20 : 50).
Dung môi pha mẫu: Acetonitril - dung dịch A - nước (7 : 30 : 63).
Dung dịch chuẩn: Dung dịch metformin hydroclorid chuẩn trong dung môi pha mẫu nồng độ 0,1 mg/ml.
Dung dịch phân giải: Pha dung dịch tạp chất A chuẩn của metformin trong *nước* để thu được dung dịch có nồng độ 5 µg/ml. Pha loãng 0,5 ml dung dịch thu được thành 50 ml với dung dịch chuẩn.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 100 mg metformin hydroclorid vào bình định mức 100 ml. Thêm khoảng 70 ml dung môi pha mẫu, lắc kỹ để hòa tan. Thêm dung môi pha mẫu vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc. Pha loãng dịch lọc với dung môi pha mẫu để thu được dung dịch có nồng độ metformin hydroclorid 0,1 mg/ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) nhồi pha tĩnh *silica gel bề mặt được liên kết hóa học với nhóm phenyl*, kích thước 3,5 µm.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 218 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 25 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải và dung dịch chuẩn, thời gian lưu tương đối của tạp chất A là 0,26 và của metformin là 1,0. Độ phân giải giữa pic tạp chất A và metformin không nhỏ hơn 3,0. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic metformin từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn phải nhỏ hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử với thời gian gấp 4 lần thời gian lưu của metformin.
Tính hàm lượng metformin hydroclorid, $C_4H_{11}N_5.HCl$ có trong viên dựa vào diện tích pic metformin thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_4H_{11}N_5.HCl$ trong metformin hydroclorid chuẩn.

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

Loại thuốc
Chống đái tháo đường.

Hàm lượng thường dùng
Glipizid 2,5 mg; metformin hydroclorid 250 mg.
Glipizid 2,5 mg; metformin hydroclorid 500 mg.
Glipizid 5 mg; metformin hydroclorid 500 mg.

GLUCOSAMIN HYDROCLORID
Glucosamini hydrochloridum



$C_6H_{13}NO_5.HCl$ P.t.l: 215,6

Glucosamin hydroclorid là 2-amino-2-deoxy-β-D-glucopyranose hydroclorid, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_6H_{13}NO_5.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng, rất tan trong nước.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của glucosamin hydroclorid chuẩn.
B. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).
C. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic glucosamin trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn.

Góc quay cực riêng
Từ +70,0° đến +73,0° tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Chuẩn bị dung dịch chế phẩm trong *nước* có nồng độ 25 mg/ml, đo góc quay cực của dung dịch sau khi pha 3 h và ở nhiệt độ 25 °C.

pH
Từ 3,0 đến 5,0 (Phụ lục 6.2).
Dùng dung dịch chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* có nồng độ 20,0 mg/ml để đo.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(0,500 g; 105 °C; 2 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Sulfat
Không được quá 0,24 % (Phụ lục 9.4.14).
Hòa tan 0,420 g chế phẩm trong *nước* vừa đủ 100,0 ml.

Arsen
Không được quá 3 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).
Cân 0,330 g chế phẩm, thêm 5 ml *acid sulfuric đậm đặc (TT)* và đun sôi cho đến khi thành than. Cho theo thành bình từng giọt *dung dịch hydrogen peroxyd 30 % (TT)* cho đến khi dung dịch trong bình trở nên không màu. Để nguội, thêm 10 ml *nước* và đun sôi mạnh để đuổi hết khí hydrogen peroxyd. Để nguội, thêm *nước* đến 25 ml và tiến hành theo phương pháp A. Song song tiến hành mẫu đối chiếu trong cùng điều kiện, dùng 1 ml *dung dịch arsen mẫu 1 phần triệu As (TT)*.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm: Hòa tan 3,5 *dikali hydrophosphat (TT)* trong *nước*. Thêm 0,25 ml *amoniac (TT)*, pha loãng thành 1000,0 ml bằng *nước*, trộn đều. Điều chỉnh đến pH 7,5 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Pha động: Acetonitril - dung dịch đệm (75 : 25).
Hỗn hợp dung môi: Acetonitril - nước (50 : 50).
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 380 mg chế phẩm hòa tan trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch glucosamin hydroclorid chuẩn nồng độ 3,8 mg/ml trong hỗn hợp dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *aminopropylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Nhiệt độ cột: 35 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 195 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, thời gian lưu của glucosamin khoảng 10 min. Ngoài ra trên sắc ký đồ còn có một pic lớn gần với thể tích rỗng do sự có mặt của ion clorid.
Hệ số đối xứng của pic glucosamin không được lớn hơn 2,0; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic glucosamin từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %. Số đĩa lý thuyết của cột tính theo pic glucosamin không được nhỏ hơn 1500.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch chuẩn, ghi lại sắc ký đồ.
Tính hàm lượng của $C_6H_{13}NO_5.HCl$ dựa vào diện tích pic đáp ứng của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_6H_{13}NO_5.HCl$ trong glucosamin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống thoái hóa khớp.

Chế phẩm
Viên nén, nang.

GLUCOSAMIN SULFAT KALI CLORID
Glucosamini sulfas kalii chloridum

$(C_6H_{14}NO_5)_2SO_4.2KCl$ P.t.l: 605,5

Glucosamin sulfat kali clorid là phức chất bis(2-amino-2-deoxy-β-D-glucopyranose) sulfat kali clorid, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $(C_6H_{14}NO_5)_2SO_4.2KCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng. Rất tan trong nước.

Định tính
A. Cân khoảng 50 mg chế phẩm vào một ống ly tâm, thêm 2 ml *nước* và lắc kỹ để hòa tan. Thêm khoảng 0,5 ml *dung dịch bari clorid 12 %*, lắc đều và ly tâm. Bốc hơi lớp nước trong ở phía trên tới khô. Sấy cắn ở 105 °C trong 2 h. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của glucosamin hydroclorid chuẩn được chuẩn bị tương tự như chế phẩm nhưng không thêm *dung dịch bari clorid 12 %*.
B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic glucosamin trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn.
C. Chế phẩm phải cho phản ứng định tính của ion clorid, kali và sulfat (Phụ lục 8.1).

pH
Từ 3,0 đến 5,0 (Phụ lục 6.2).
Dùng dung dịch chế phẩm có nồng độ 20 mg/ml trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* để đo.

Góc quay cực riêng
Từ +47,0° đến +53,0°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Dung dịch thử: Dung dịch chế phẩm có nồng độ 35 mg/ml, đo góc quay cực của dung dịch sau khi pha 3 h và ở nhiệt độ 25 °C.

Sulfat
Từ 15,5 % đến 16,5 %.
Cân chính xác khoảng 1 g chế phẩm vào cốc có dung tích 250 ml, thêm 100 ml *nước* và khuấy cho tan hoàn toàn. Thêm 4 ml *dung dịch acid hydrocloric 6 N (TT)*. Đun đến sôi và vừa thêm vừa khuấy liên tục, một lượng thích hợp *dung dịch bari clorid 12 %* sôi để tạo tủa hoàn toàn với sulfat. Thêm tiếp 2 ml *dung dịch bari clorid 12 %* và để trên cách thủy 1 h. Lọc hỗn hợp qua giấy lọc không tro và rửa tủa bằng *nước* nóng đến khi 5 ml nước rửa không cho tủa với 1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (TT)*. Chuyển giấy lọc chứa tủa vào chén nung đã cân bì. Than hóa giấy lọc, không được tạo ngọn lửa, nung đến khối lượng không đổi. Tính lượng sulfat bằng cách nhân khối lượng tủa thu được với 0,4116.

Arsen
Không được quá 3 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).
Cân 0,330 g chế phẩm, thêm 5 ml *acid sulfuric đậm đặc (TT)* và đun sôi cho đến khi thành than. Cho theo thành bình từng giọt *dung dịch hydrogen peroxyd 30 % (TT)* cho đến khi dung dịch trong bình trở nên không màu. Để nguội, thêm 10 ml *nước* và đun sôi mạnh để đuổi hết khí hydrogen peroxyd. Để nguội, thêm *nước* đến 25 ml và tiến hành theo phương pháp A. Song song tiến hành mẫu đối chiếu trong cùng điều kiện, dùng 1 ml *dung dịch arsen mẫu 1 phần triệu As (TT)*.

Natri
Dùng dây platin lấy dung dịch chế phẩm 10 % trong *nước* và đưa vào ngọn lửa không màu. Ngọn lửa không được nhuộm thành màu vàng.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(0,500 g; 105 °C; 2 h).

Tro sulfat
Từ 26,5 % đến 31,0 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm: Hòa tan 3,5 g *dikali hydrophosphat (TT)* trong *nước*, thêm 0,25 ml *amoniac (TT)* và pha loãng với *nước* vừa đủ 1000 ml. Chỉnh đến pH 7,5 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Pha động: *Acetonitril - dung dịch đệm* (75 : 25).
Hỗn hợp dung môi: *Acetonitril - nước*.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch glucosamin hydroclorid chuẩn nồng độ 3,8 mg/ml trong hỗn hợp dung môi.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 263 mg chế phẩm vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml hỗn hợp dung môi, lắc cơ học cho tan hoàn toàn và thêm hỗn hợp dung môi đến vạch.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *aminopropylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Nhiệt độ cột: 35 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 195 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, thời gian lưu của glucosamin khoảng 10 min. Ngoài ra trên sắc ký đồ còn có những pic phụ xuất hiện gần thể tích rỗng tương ứng với các ion clorid và sulfat có trong dung dịch. Hệ số đối xứng tính trên pic glucosamin không được lớn hơn 2,0; số đĩa lý thuyết không được nhỏ hơn 1500; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic glucosamin từ các lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng glucosamin tương ứng với glucosamin hydroclorid trong chế phẩm dựa trên diện tích pic thu được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng của glucosamin hydroclorid chuẩn. Tính hàm lượng glucosamin sulfat kali clorid, $(C_6H_{14}NO_5)_2SO_4.2KCl$, bằng cách nhân hàm lượng glucosamin hydroclorid với 605,52/431,26, trong đó 605,52 là phân tử lượng của $(C_6H_{14}NO_5)_2SO_4.2KCl$ và 431,26 là 2 lần phân tử lượng của glucosamin hydroclorid.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống thoái hóa khớp.

Chế phẩm
Viên nén, nang.

GLUCOSAMIN SULFAT NATRI CLORID
Glucosamini sulfas natrii chloridum

$(C_6H_{14}NO_5)_2SO_4.2NaCl$ P.t.l: 573,3

Glucosamin sulfat natri clorid là phức chất bis(2-amino-2-deoxy-β-D-glucopyranose) sulfat natri clorid, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $(C_6H_{14}NO_5)_2SO_4.2NaCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng. Rất tan trong nước.

Định tính
A. Cân khoảng 50 mg chế phẩm vào một ống ly tâm, thêm 2 ml *nước* và lắc kỹ để hòa tan. Thêm khoảng 0,5 ml *dung*

dịch bari clorid 12 %, lắc đều và ly tâm. Bốc hơi lớp nước trong ở phía trên tới khô. Sấy cắn ở 105 °C trong 2 h. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của glucosamin hydroclorid chuẩn được chuẩn bị tương tự như chế phẩm nhưng không thêm *dung dịch bari clorid 12 %*.

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

C. Chế phẩm phải cho phản ứng định tính của ion clorid, natri và sulfat (Phụ lục 8.1).

pH

Dung dịch chế phẩm có nồng độ 20 mg/ml trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* phải có pH từ 3,0 đến 5,0 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng

Từ +50,0° đến +55,0°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Dung dịch thử: Dung dịch chế phẩm có nồng độ 35 mg/ml, đo góc quay cực của dung dịch sau khi pha 3 h và ở nhiệt độ 25 °C.

Sulfat

Từ 16,3 % đến 17,3 %.

Cân chính xác khoảng 1 g chế phẩm vào cốc có dung tích 250 ml, thêm 100 ml *nước* và khuấy cho tan hoàn toàn. Thêm 4 ml *dung dịch acid hydrocloric 6 N (TT)*. Đun đến sôi và vừa thêm vừa khuấy liên tục, một lượng thích hợp *dung dịch bari clorid 12 %* sôi để tạo tủa hoàn toàn với sulfat. Thêm tiếp 2 ml *dung dịch bari clorid 12 %* và để trên cách thủy 1 h. Lọc hỗn hợp qua giấy lọc không tro và rửa tủa bằng *nước* nóng đến khi 5 ml nước rửa không cho tủa với 1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (TT)*. Chuyển giấy lọc chứa tủa vào chén nung đã cân bì. Than hóa giấy lọc, không được tạo ngọn lửa, nung đến khối lượng không đổi. Tính lượng sulfat bằng cách nhân khối lượng tủa thu được với 0,4116.

Arsen

Không được quá 3 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).

Cân 0,330 g chế phẩm, thêm 5 ml *acid sulfuric đậm đặc (TT)* và đun sôi cho đến khi thành than. Cho theo thành bình từng giọt *dung dịch hydrogen peroxyd 30 % (TT)* cho đến khi dung dịch trong bình trở nên không màu. Để nguội, thêm 10 ml *nước* và đun sôi mạnh để đuổi hết khí hydrogen peroxyd. Để nguội, thêm *nước* đến 25 ml và tiến hành theo phương pháp A. Song song tiến hành mẫu đối chiếu trong cùng điều kiện, dùng 1 ml *dung dịch arsen mẫu 1 phần triệu As (TT)*.

Kali

Acid hóa 5 ml dung dịch chế phẩm 5 % trong *nước* bằng *dung dịch acid acetic 6 M (TT)* và thêm 5 giọt *dung dịch natri cobalt nitrit 20 % (TT)*, không được có tủa tạo thành.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(0,500 g; 105 °C; 2 h).

Tro sulfat

Từ 22,5 % đến 26,0 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm: Hòa tan 3,5 g *dikali hydrophosphat (TT)* trong *nước*, thêm 0,25 ml *amoniac (TT)* và pha loãng với *nước* vừa đủ 1000 ml. Chỉnh pH đến 7,5 bằng *acid phosphoric (TT)*.

Pha động: *Acetonitril - dung dịch đệm* (75 : 25).

Hỗn hợp dung môi: *Acetonitril - nước* (50 : 50).

Dung dịch chuẩn: Dung dịch glucosamin hydroclorid chuẩn nồng độ 3,8 mg/ml trong hỗn hợp dung môi.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 250 mg chế phẩm vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml hỗn hợp dung môi, lắc cơ học cho tan hoàn toàn và thêm hỗn hợp dung môi đến vạch.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *aminopropylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).

Nhiệt độ cột: 35 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 195 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, thời gian lưu của glucosamin khoảng 10 min. Ngoài ra trên sắc ký đồ còn có những pic phụ xuất hiện gần thể tích rỗng tương ứng với các ion clorid và sulfat có trong dung dịch. Hệ số đối xứng tính trên pic glucosamin không được lớn hơn 2,0; số đĩa lý thuyết không được nhỏ hơn 1500; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic glucosamin từ các lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng glucosamin tương ứng với glucosamin hydroclorid trong chế phẩm dựa trên diện tích pic thu được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng của glucosamin hydroclorid chuẩn. Tính hàm lượng glucosamin sulfat natri clorid, $(C_6H_{14}NO_5)_2SO_4.2NaCl$, bằng cách nhân hàm lượng glucosamin hydroclorid với 573,31/431,26, trong đó 573,31 là phân tử lượng của $(C_6H_{14}NO_5)_2SO_4.2NaCl$ và 431,26 là 2 lần phân tử lượng của glucosamin hydroclorid.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chống thoái hóa khớp.

Chế phẩm

Viên nén, nang.

VIÊN NÉN GLUCOSAMIN
Tabellae Glucosamini

Là viên nén chứa glucosamin hydroclorid hoặc glucosamin sulfat natri clorid hoặc glucosamin sulfat kali clorid hoặc hỗn hợp của các muối glucosamin trên.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng glucosamin, $C_6H_{13}NO_5$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng thời gian lưu với pic glucosamin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
B. Lắc một lượng bột viên tương ứng với khoảng 60 mg glucosamin với 10ml *nước*, lọc. 2 ml dịch lọc phải cho phản ứng định tính (A) của clorid (Phụ lục 8.1)
C. Lắc một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg glucosamin với 10 ml *nước*, lọc. 5 ml dịch lọc phải cho phản ứng định tính của sulfat (Phụ lục 8.1) (Phép thử chỉ thực hiện đối với viên có chứa glucosamin sulfat natri clorid hoặc glucosamin sulfat kali clorid).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 60 min.
Cách tiến hành: Xác định lượng glucosamin hòa tan bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm phosphat: Trộn 1,0 ml *acid phosphoric (TT)* với 2000 ml *nước*, điều chỉnh pH đến 3,0 bằng *dung dịch kali hydroxyd 30 % (TT)*.
Pha động: Dung dịch đệm phosphat - acetonitril (3 : 2).
Dung dịch chuẩn: Dung dịch glucosamin hydroclorid chuẩn trong *nước* có nồng độ tương đương với nồng độ của dung dịch thử.
Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan chế phẩm, lọc (bỏ dịch lọc đầu).
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 195 nm.
Tốc độ dòng: 0,6 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Hệ số đối xứng của pic glucosamin không được lớn hơn 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic glucosamin từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính lượng glucosamin ($C_6H_{13}NO_5$) hòa tan từ mỗi viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_6H_{13}NO_5$ trong glucosamin hydroclorid chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng glucosamin, $C_6H_{13}NO_5$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm: Hòa tan 3,5 g *dikali hydrophosphat (TT)* trong 900 ml *nước*, thêm 0,25 ml *amoniac (TT)*, pha loãng với *nước* vừa đủ 1000 ml, trộn đều. Điều chỉnh đến pH 7,5 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Pha động: Dung dịch đệm - acetonitril (25 : 75). Có thể điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.
Dung môi pha mẫu: Nước - acetonitril (50 : 50).
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 300 mg glucosamin chuyển vào bình định mức 100 ml, thêm 60 ml dung môi pha mẫu và lắc siêu âm 10 min. Sau đó lắc cơ học 15 min, thêm dung môi pha mẫu đến định mức. Trộn đều và lọc.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng glucosamin hydroclorid chuẩn trong dung môi pha mẫu để thu được dung dịch có nồng độ glucosamin hydroclorid khoảng 3,0 mg/ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *aminopropyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Nhiệt độ cột: 35 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 195 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Thời gian lưu của glucosamin khoảng 10 min, ngoài ra trên sắc ký đồ có thêm một pic phụ gần với thể tích rỗng do sự có mặt của ion clorid. Hệ số đối xứng của pic glucosamin không được lớn hơn 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic glucosamin từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %. Số đĩa lý thuyết của cột phải không nhỏ hơn 1500.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng của glucosamin, $C_6H_{13}NO_5$, trong viên dựa vào diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử; hàm lượng $C_6H_{13}NO_5$ trong glucosamin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản
Trong lọ nút kín, để nơi mát, tránh ánh sáng.

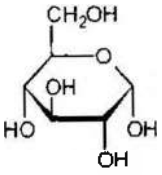
Loại thuốc
Dùng cho bệnh nhân thoái hóa khớp.

Hàm lượng thường dùng
250 mg, 500 mg.

GLUCOSE KHAN

Glucosum anhydricum

Dextrose



$C_6H_{12}O_6$ P.t.l: 180,2

Glucose khan là D-(+)-glucopyranose.

Tính chất

Bột kết tinh trắng, không mùi, vị ngọt. Dễ tan trong nước, hơi tan trong ethanol 96 %.

Định tính

A. Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong 5 ml *nước*, thêm 2 ml *thuốc thử Fehling (TT)*, đun đến sôi sẽ hình thành tủa đỏ nâu.

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

Bản mỏng: *Silica gel G.*

Dung môi khai triển: *Nước - methanol - acid acetic khan - ethylen clorid* (10 : 15 : 25 : 50). Các dung môi nên lấy chính xác vì một lượng nhỏ nước thừa sẽ làm đục.

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong hỗn hợp *nước - methanol* (2 : 3) và pha loãng thành 20 ml bằng cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg glucose chuẩn trong hỗn hợp *nước - methanol* (2 : 3) và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg fructose chuẩn, 10 mg glucose chuẩn, 10 mg sucrose chuẩn và 10 mg lactose chuẩn trong hỗn hợp *nước - methanol* (2 : 3) và pha loãng thành 20 ml bằng cùng hỗn hợp dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Làm khô bản mỏng dưới luồng không khí nóng. Sau khi bản mỏng khô, lập tức khai triển sắc ký với pha động đã được thay mới một lần nữa. Sau khi sấy khô dưới luồng không khí nóng, phun đều dung dịch chứa 0,5 g *thymol (TT)* trong 5 ml hỗn hợp *acid sulfuric - ethanol 96 %* (5 : 95). Sấy bản mỏng ở 130 °C trong 10 min.

Trên sắc ký đồ, vết chính của dung dịch thử phải tương tự về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) có 4 vết tách rõ ràng.

C. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Góc quay cực riêng.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch chứa 10,0 g chế phẩm trong 15 ml *nước* phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu VN_7 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực riêng

Từ +52,5° đến +53,3°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 10,0 g chế phẩm trong 80 ml *nước*, thêm 0,2 ml *dung dịch amoniac 10 % (TT)*, để yên 30 min và pha loãng thành 100 ml bằng *nước* để đo.

Giới hạn acid - kiềm

Hòa tan 6,0 g chế phẩm trong 25 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* và thêm 0,3 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)*. Dung dịch phải không màu. Màu của dung dịch phải chuyển sang hồng khi thêm không quá 0,15 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*.

Clorid

Không được quá 0,0125 % (Phụ lục 9.4.5).

Dung dịch S: Hòa tan 10,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 100 ml bằng *nước*.

Pha loãng 4 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Sulfat

Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.14).

Pha loãng 7,5 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Arsen

Không được quá 1 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).

Dùng 1,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp A.

Kim loại nặng

Không được quá 5 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Hòa tan 4,0 g chế phẩm trong 20 ml *nước*. Lấy 12 ml dung dịch thu được tiến hành theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Đường ít tan và dextrin

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 30 ml *ethanol 90 % (TT)* bằng cách đun sôi. Để nguội, dung dịch thu được không được đục hơn 30 ml *ethanol 90 % (TT)*.

Tinh bột tan

Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong 25 ml *nước*, đun sôi 1 min, để nguội rồi thêm 0,1 ml *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)*, màu xanh không được xuất hiện.

Sulfit

Không được quá 15 phần triệu, tính theo SO_2.

Dung dịch thử: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 40 ml *nước*, thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan 76 mg *natri metabisulfit (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *nước*. Thêm vào 3,0 ml dung dịch này 4,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*.

Thêm vào 10,0 ml mỗi dung dịch trên 1 ml *dung dịch* chứa 310 g/l *acid hydrocloric (TT)*, 2 ml *dung dịch Fuchsin đã khử màu (TT)*, 2,0 ml *dung dịch formaldehyd 0,5 %* (tt/tt).

Để yên 30 min và đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) ở bước sóng cực đại 583 nm. Mẫu trắng được chuẩn bị tương tự nhưng thay bằng 10,0 ml *nước*.
Độ hấp thụ của dung dịch thử không được lớn hơn của dung dịch chuẩn.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 5 ml *nước* và thêm 2 ml *acid sulfuric (TT)*, bốc hơi đến khô trên cách thủy và nung đến khối lượng không đổi. Nếu cần thiết, đun nóng lại với *acid sulfuric (TT)*.

Nước
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,500 g chế phẩm để thử.

Bari
Thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* vào 10 ml dung dịch S. Kiểm tra ngay và sau 1 h, dung dịch không được đục hơn dung dịch đối chiếu gồm 10 ml dung dịch S và 1 ml *nước*.

Calci
Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.3).
Pha loãng 5,0 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Chất gây sốt
Nếu chế phẩm dự định để sản xuất thuốc tiêm dưới dạng đóng gói thể tích lớn thì phải đáp ứng yêu cầu về chất gây sốt (Phụ lục 13.4). Tiêm 10 ml dung dịch có chứa 50 mg chế phẩm trong 1 ml nước để pha thuốc tiêm cho 1 kg thỏ.

Bảo quản
Trong lọ kín.

Chế phẩm
Glucose tiêm truyền tĩnh mạch. Kali clorid, natri clorid và glucose tiêm truyền tĩnh mạch; natri clorid và glucose tiêm truyền tĩnh mạch. Kali clorid và glucose tiêm truyền tĩnh mạch.
Dung dịch uống phối hợp với các muối để bù mất nước.

GLUCOSE NGẬM MỘT PHÂN TỬ NƯỚC

Glucosum monohydricum

Dextrose ngậm một phân tử nước

$C_6H_{12}O_6.H_2O$ P.t.l: 198,2

Glucose ngậm một phân tử nước là D-(+)-glucopyranose ngậm một phân tử nước.

Tính chất
Bột kết tinh trắng, không mùi, vị ngọt. Dễ tan trong nước, hơi tan trong ethanol 96 %.

Định tính
A. Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong 5 ml *nước*, thêm 2 ml *thuốc thử Fehling (TT)*, đun đến sôi sẽ hình thành tủa đỏ nâu.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Nước - methanol - acid acetic khan - ethylen clorid (10 : 15 : 25 : 50). Các dung môi nên lấy chính xác vì một lượng nhỏ nước thừa sẽ làm đục.
Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong hỗn hợp *nước - methanol* (2 : 3) và pha loãng thành 20 ml bằng cùng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg glucose chuẩn trong hỗn hợp *nước - methanol* (2 : 3) và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg fructose chuẩn, 10 mg glucose chuẩn, 10 mg sucrose chuẩn và 10 mg lactose chuẩn trong hỗn hợp *nước - methanol* (2 : 3) và pha loãng thành 20 ml bằng cùng hỗn hợp dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Làm khô bản mỏng dưới luồng không khí nóng. Sau khi bản mỏng khô, lập tức khai triển sắc ký với pha động đã được thay mới một lần nữa. Sau khi sấy khô dưới luồng không khí nóng, phun đều dung dịch chứa 0,5 g *thymol (TT)* trong 5 ml hỗn hợp *acid sulfuric - ethanol 96 %* (5 : 95). Sấy bản mỏng ở 130 °C trong 10 min.
Trên sắc ký đồ, vết chính của dung dịch thử phải tương tự về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) có 4 vết tách rõ ràng.
C. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Góc quay cực riêng.

Góc quay cực riêng
Từ +52,5° đến +53,3°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 10,0 g chế phẩm trong 80 ml *nước*, thêm 0,2 ml *dung dịch amoniac 10 % (TT)*, để yên 30 min và pha loãng thành 100 ml bằng *nước* để đo.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch chứa 10,0 g chế phẩm trong 15 ml *nước* phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu VN_7 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Hòa tan 6,0 g chế phẩm trong 25 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* và thêm 0,3 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)*. Dung dịch phải không màu. Màu của dung dịch phải chuyển sang hồng khi thêm không quá 0,15 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*.

Clorid
Không được quá 0,0125 % (Phụ lục 9.4.5).
Dung dịch S: Hòa tan 10,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 100 ml bằng *nước*.
Pha loãng 4 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Sulfat
Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.14).
Pha loãng 7,5 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Arsen
Không được quá 1 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).
Dùng 1,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp A.

Kim loại nặng
Không được quá 5 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 4,0 g chế phẩm trong 20 ml *nước*. Lấy 12 ml dung dịch thu được tiến hành theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Đường ít tan và dextrin
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 30 ml *ethanol 90 % (TT)* bằng cách đun sôi. Để nguội, dung dịch thu được không được đục hơn 30 ml *ethanol 90 % (TT)*.

Tinh bột tan
Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong 25 ml *nước*, đun sôi 1 min, để nguội rồi thêm 0,1 ml *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)*, màu xanh không được xuất hiện.

Sulfit
Không được quá 15 phần triệu SO_2.
Dung dịch thử: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 40 ml *nước*, thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan 76 mg *natri metabisulfit (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *nước*. Thêm vào 3,0 ml dung dịch này 4,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*.
Thêm vào 10,0 ml mỗi dung dịch trên 1 ml *dung dịch* chứa 310 g/l *acid hydrocloric (TT)*, 2 ml *dung dịch Fuchsin đã khử màu (TT)*, 2,0 ml *dung dịch formaldehyd 0,5 % (tt/tt)*. Để yên 30 min và đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) ở bước sóng cực đại 583 nm. Mẫu trắng được chuẩn bị tương tự nhưng thay bằng 10,0 ml *nước*.
Độ hấp thụ của dung dịch thử không được lớn hơn của dung dịch chuẩn.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 5 ml *nước* và thêm 2 ml *acid sulfuric (TT)*, bốc hơi đến khô trên cách thủy và nung đến khối lượng không đổi. Nếu cần thiết, đun nóng lại với *acid sulfuric (TT)*.

Bari
Thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* vào 10 ml dung dịch S. Kiểm tra ngay và sau 1 h, dung dịch không được đục hơn dung dịch đối chiếu gồm 10 ml dung dịch S và 1 ml *nước*.

Calci
Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.3).
Pha loãng 5,0 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Nước
Từ 7,0 % đến 9,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,500 g chế phẩm.

Chất gây sốt
Nếu chế phẩm dự định để sản xuất thuốc tiêm dưới dạng đóng gói thể tích lớn thì phải đáp ứng yêu cầu về chất gây sốt (Phụ lục 13.4). Tiêm 10 ml dung dịch có chứa 55 mg chế phẩm trong 1 ml *nước để pha thuốc tiêm (TT)* cho 1 kg thỏ.

Bảo quản
Trong lọ kín.

Chế phẩm
Glucose tiêm truyền tĩnh mạch. Kali clorid, natri clorid và glucose tiêm truyền tĩnh mạch. Natri clorid và glucose tiêm truyền tĩnh mạch. Kali clorid và glucose tiêm truyền tĩnh mạch.
Dung dịch uống phối hợp với các muối để bù mất nước.

THUỐC TIÊM GLUCOSE
Injectio Glucosi

Là dung dịch vô khuẩn của glucose khan hoặc glucose ngậm một phân tử nước trong nước để pha thuốc tiêm. Chế phẩm không được pha thêm chất bảo quản, sau khi pha chế phải tiệt khuẩn ngay.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng glucose, $C_6H_{12}O_6$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu hoặc màu hơi vàng nhưng không đậm hơn màu vàng nhạt.

Định tính
A. Lấy 1 ml chế phẩm, thêm 5 ml *thuốc thử Fehling (TT)*. Đun sôi sẽ xuất hiện tủa đồng (I) oxyd có màu đỏ gạch.
B. Dung dịch thu được trong phần Định lượng có độ quay cực hữu tuyền.

5-Hydroxymethylfurfural và các chất liên quan
Pha loãng một thể tích chế phẩm tương ứng với 1,0 g glucose với *nước* thành 250 ml. Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 284 nm không được lớn hơn 0,25.

pH
3,5 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Sử dụng dung dịch được chuẩn bị bằng cách pha loãng chế phẩm với *nước* (nếu cần) để được dung dịch có nồng độ glucose 5 % và thêm vào 100 ml dung dịch này 0,3 ml *dung dịch kali clorid bão hòa (TT)*.

Định lượng
Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương ứng với 2 g đến 5 g glucose khan, thêm 0,2 ml *dung dịch amoniac 5 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml. Trộn đều, để yên 30 min rồi xác định góc quay cực trong ống dài 2 dm (Phụ lục 6.4).
Giá trị góc quay cực đo được nhân với 0,9477 là khối lượng tính ra gam của glucose, $C_6H_{12}O_6$, có trong thể tích chế phẩm lấy ra định lượng.

Bảo quản
Chế phẩm thường được đóng trong ống thủy tinh 5 ml hàn kín. Để ở nơi không quá 25 °C. Tránh ánh sáng.

Hàm lượng thường dùng
1,5 g/5 ml (tính theo glucose khan).

THUỐC TIÊM TRUYỀN GLUCOSE
Infusio Glucosi

Là dung dịch vô khuẩn của glucose khan hoặc glucose ngậm một phân tử nước trong nước để pha thuốc tiêm. Chế phẩm không được pha thêm chất bảo quản, sau khi pha chế phải tiệt khuẩn ngay.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" mục "Thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng glucose, $C_6H_{12}O_6$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lấy 1 ml chế phẩm, thêm 5 ml *thuốc thử Fehling (TT)*. Đun sôi sẽ xuất hiện tủa đồng (I) oxyd có màu đỏ gạch.
B. Dung dịch thu được trong phần định lượng có độ quay cực hữu tuyến.

5-Hydroxymethylfurfural và các chất liên quan
Pha loãng một thể tích chế phẩm tương ứng với 1,0 g glucose với *nước* thành 250 ml. Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 284 nm không được lớn hơn 0,25.

pH
3,5 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).
Sử dụng dung dịch được chuẩn bị bằng cách pha loãng chế phẩm với *nước* (nếu cần) để được dung dịch có nồng độ glucose 5 % và thêm vào 100 ml dung dịch này 0,3 ml *dung dịch kali clorid bão hòa (TT)*.

Định lượng
Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương ứng với 2 đến 5 g glucose khan, thêm 0,2 ml *dung dịch amoniac 5 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml. Trộn đều, để yên 30 min rồi xác định góc quay cực trong ống dài 2 dm (Phụ lục 6.4).
Giá trị góc quay cực đo được nhân với 0,9477 là khối lượng tính ra gam của glucose, $C_6H_{12}O_6$, có trong thể tích chế phẩm lấy ra định lượng.

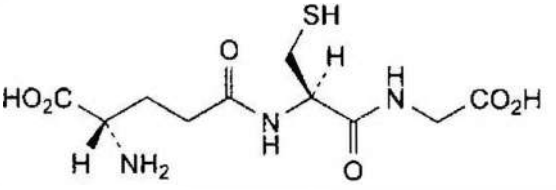
Nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2)
Pha loãng dung dịch tiêm nếu cần thiết với *nước BET* để có nồng độ tương đương 50,0 mg glucose trong 1 ml (dung dịch A). Giới hạn nồng độ nội độc tố của dung dịch A là 0,25 đơn vị trong 1 ml. Tiến hành thử nghiệm sử dụng giá trị độ pha loãng tối đa của dung dịch A được tính từ độ nhạy của thuốc thử lysat dùng trong phép thử.

Giới hạn tiểu phân
Khi chế phẩm được đóng ở thể tích 100 ml trở lên, tiến hành xác định giới hạn tiểu phân (Phụ lục 11.8). Chế phẩm phải đạt yêu cầu của phép thử A. Xác định giới hạn tiểu phân không nhìn thấy bằng mắt thường.

Bảo quản
Chế phẩm được đóng trong chai nút kín, để ở nơi không quá 25 °C.

Nồng độ thường dùng
5 %, 10 %, 20 %, 30 %.

GLUTATHION
Glutathionum



$C_{10}H_{17}N_3O_6S$ P.t.l: 307,3

Glutathion là L-γ-glutamyl-L-cysteinylglycin, phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $C_{10}H_{17}N_3O_6S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.
Chế phẩm thu được từ sản phẩm lên men.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hay gần như trắng hoặc tinh thể không màu. Dễ tan trong nước, rất khó tan trong ethanol 96 % và trong methylen clorid.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của glutathion chuẩn.
B. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Góc quay cực riêng (Phụ lục 6.4).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong *nước cất (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực riêng

Từ -15,5° đến -17,5°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Phương pháp điện di mao quản (Phụ lục 5.7). *Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.*

Dung dịch chuẩn nội (1): Hòa tan 0,100 g *phenylalanin (TT)* trong dung dịch điện giải và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch chuẩn nội (2): Pha loãng 10,0 ml dung dịch chuẩn nội (1) thành 100,0 ml bằng dung dịch điện giải.

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong dung dịch điện giải và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong dung dịch chuẩn nội (2) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong dung dịch chuẩn nội (1) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 50,0 ml bằng dung dịch điện giải.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 5 ml dung dịch điện giải. Thêm 1,0 ml dung dịch chuẩn nội (1), 0,5 ml dung dịch *L-cystein (TT)* (tạp chất B) 2 mg/ml trong dung dịch điện giải, 0,5 ml dung dịch *L-glutathion đã oxy hóa (TT)* (tạp chất C) 2 mg/ml trong dung dịch điện giải và 0,5 ml dung dịch *L-γ-glutamyl-L-cystein (TT)* (tạp chất D) 2 mg/ml trong dung dịch điện giải. Pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện điện di:

Cột mao quản bằng silica nung chảy không có lớp bao.

Chiều dài tổng cộng của cột: 60 cm, chiều dài hiệu dụng của mao quản 50 cm (từ đầu đến detector); đường kính trong 75 µm.

Nhiệt độ cột: 25 °C.

Dung dịch điện giải: Hòa tan 1,50 g *natri dihydrophosphat khan (TT)* trong 230 ml *nước* và điều chỉnh đến pH 1,80 bằng *acid phosphoric (TT)*. Pha loãng dung dịch thu được thành 250,0 ml bằng *nước*. Kiểm tra pH và nếu cần, điều chỉnh pH bằng *acid phosphoric (TT)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*.

Quy trình rửa cột mao quản mới: Rửa cột mao quản mới trước khi tiêm lần đầu với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* ở áp suất 138 kPa trong 20 min và với *nước* ở áp suất 138 kPa trong 10 min; Để cân bằng cột mao quản hoàn toàn, rửa mao quản với dung dịch điện giải ở áp suất 350 kPa trong 40 min, và sau đó ở mức điện thế 20 kV trong 60 min

Rửa cột mao quản trước khi bắt đầu phân tích mẫu: Rửa cột mao quản với dung dịch điện giải ở áp suất 138 kPa trong 40 min.

Quy trình rửa cột mao quản giữa các lần tiêm mẫu: Rửa cột mao quản với *nước* ở áp suất 138 kPa trong 1 min, với *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* ở áp suất 138 kPa trong 2 min, sau đó lại rửa với *nước* ở áp suất 138 kPa trong 1 min, tiếp theo rửa với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* ở áp suất 138 kPa trong 3 min và cuối cùng rửa với dung dịch điện giải ở áp suất 138 kPa trong 10 min.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 200 nm.

Điện thế sử dụng: 20 kV.

Tiêm mẫu: Dưới áp suất 3,45 kPa trong 5 s.

Thời gian chạy điện di: 45 min.

Cách tiến hành:

Tiến hành điện di với dung dịch thử (1) và (2), dung dịch đối chiếu (2) và (3) và dung dịch điện giải (mẫu trắng).

Thời gian di chuyển tương đối so với chuẩn nội (thời gian di chuyển khoảng 14 min): Tạp chất A khoảng 0,77; tạp chất B khoảng 1,04; tạp chất E khoảng 1,2; tạp chất C khoảng 1,26; tạp chất D khoảng 1,3.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống điện di: Trên điện di đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic chuẩn nội và tạp chất B ít nhất là 1,5. Nếu cần, tăng giá trị pH của dung dịch điện giải bằng *dung dịch natri hydroxyd 8,5 %*. Tỷ số đỉnh-hõm (p/v) phải ít nhất là 2,5; trong đó H_p là chiều cao của pic tạp chất D so với đường nền và H_v là chiều cao so với đường nền của điểm thấp nhất của đường cong phân tách giữa pic tạp chất D và pic glutathion trên điện di đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (3). Nếu cần, giảm giá trị pH của dung dịch điện giải bằng *acid phosphoric (TT)*.

Kiểm tra điện di đồ thu được từ dung dịch thử (1), không được xuất hiện pic nào có cùng thời gian di chuyển với chuẩn nội (trong trường hợp như vậy hiệu chỉnh lại diện tích của pic phenylalanin).

Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2).

Diện tích pic hiệu chỉnh: Chia diện tích của các pic cho thời gian di chuyển tương ứng.

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân tỷ số giữa diện tích pic hiệu chỉnh theo thời gian của tạp chất và chuẩn nội với hệ số hiệu chỉnh tương ứng: Tạp chất B là 3,0; tạp chất D là 1,4.

Tạp chất C: Tỷ số giữa diện tích pic hiệu chỉnh của tạp chất C và diện tích pic hiệu chỉnh của chuẩn nội không được lớn hơn 1,5 lần tỷ số giữa diện tích pic hiệu chỉnh của glutathion và diện tích pic hiệu chỉnh của chuẩn nội thu được trên điện di đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,5 %).

Tạp chất D: Tỷ số giữa diện tích pic hiệu chỉnh của tạp chất D và diện tích pic hiệu chỉnh của chuẩn nội không được lớn hơn tỷ số giữa diện tích pic hiệu chỉnh của glutathion và diện tích pic hiệu chỉnh của chuẩn nội thu được trên điện di đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %).

Tạp chất A, B và E: Với mỗi tạp chất, tỷ số giữa diện tích pic hiệu chỉnh của từng tạp chất và diện tích pic hiệu chỉnh của chuẩn nội không được lớn hơn 0,5 lần tỷ số giữa diện tích pic hiệu chỉnh của glutathion và diện tích pic hiệu

chính của chuẩn nội thu được trên điện di đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).
Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, tỷ số giữa diện tích pic hiệu chỉnh của từng tạp chất và diện tích pic hiệu chỉnh của chuẩn nội không được lớn hơn 0,2 lần tỷ số giữa diện tích pic hiệu chỉnh của glutathion và diện tích pic hiệu chỉnh của chuẩn nội thu được trên điện di đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).
Tổng tất cả các tạp chất: Tổng tỷ số giữa diện tích pic hiệu chỉnh của tất cả các tạp chất và diện tích pic hiệu chỉnh của chuẩn nội không được lớn hơn 2,5 lần tỷ số giữa diện tích pic hiệu chỉnh của glutathion và diện tích pic hiệu chỉnh của chuẩn nội thu được trên điện di đồ của dung dịch đối chiếu (2) (2,5 %).
Bỏ qua các tạp chất có tỷ số giữa diện tích pic hiệu chỉnh của tạp chất và diện tích pic hiệu chỉnh của chuẩn nội nhỏ hơn hoặc bằng 0,05 lần tỷ số giữa diện tích pic hiệu chỉnh của glutathion và diện tích pic hiệu chỉnh của chuẩn nội thu được trên điện di đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: L-cysteinylglycin.
Tạp chất B: Acid (2*R*)-2-amino-3-sulfanylpropanoic (cystein).
Tạp chất C: bis(L-γ-glutamyl-L-cysteinylglycin) disulfid (L-glutathion đã oxy hóa).
Tạp chất D: L-γ-glutamyl-L-cystein.
Tạp chất E: Chưa biết cấu trúc (sản phẩm phân hủy).

Clorid
Không được quá 200 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).
Pha loãng 2,5 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Sulfat
Không được quá 300 phần triệu (Phụ lục 9.4.14).
Pha loãng 5 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước cất* và tiến hành thử.

Amoni
Không được quá 200 phần triệu (Phụ lục 9.4.1).
Dùng 50 mg chế phẩm và tiến hành thử theo phương pháp B. Dùng 0,1 ml *dung dịch amoni mẫu 100 phần triệu NH_4 (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*. Chiết 3 lần, mỗi lần với 10 ml *methyl isobutyl keton (TT_1)* và lắc trong 3 min. Tập trung dịch chiết hữu cơ, thêm 10 ml *nước* và lắc trong 3 min. Lấy lớp nước và tiến hành thử.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Dùng 12 ml dung dịch S và tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 C; 3 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

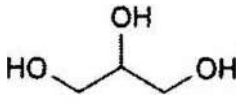
Định lượng
Trong một bình nón nút mài, hòa tan 0,500 g chế phẩm và 2 g *kali iodid (TT)* trong 50 ml *nước*. Làm lạnh dung dịch thu được trong nước đá và thêm 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT)* và 20,0 ml *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)*. Đậy nút bình và để yên ở chỗ tối trong 15 min. Chuẩn độ iod thừa bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)*, dùng 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị, cho vào lúc gần kết thúc chuẩn độ. Song song tiến hành làm mẫu trắng.
1 ml *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)* tương ứng với 30,73 mg $C_{10}H_{17}N_3O_6S$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Acid amin.

Chế phẩm
Viên nén, nang, thuốc tiêm.

GLYCERIN
Glycerinum
Glycerol



$C_3H_8O_3$ P.t.l: 92,1

Glycerin là propan-1,2,3-triol, phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $C_3H_8O_3$ (kl/kl), tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Chất lỏng sánh, nhờn, trong suốt, không màu hoặc gần như không màu, rất hút ẩm.
Trộn lẫn được với nước và ethanol 96 %, khó tan trong aceton, thực tế không tan trong dầu béo và tinh dầu.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Lấy 5 ml chế phẩm, thêm vào 1 ml *nước*, trộn cẩn thận. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của dung dịch thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của glycerin 85 %.
B. Trộn 1 ml chế phẩm với 0,5 ml *acid nitric (TT)*, nhỏ

lên trên bề mặt hỗn hợp thu được 0,5 ml *dung dịch kali dicromat 10 % (TT)*, một vòng xanh lam xuất hiện ở bề mặt phân cách giữa hai lớp. Để yên 10 min, màu xanh không phân tán vào lớp bên dưới.

C. Đun nóng 1 ml chế phẩm với 2 g *kali hydrosulfat (TT)* trong một đĩa, hơi bay lên làm đen giấy tẩm *dung dịch kali tetraiodomercurat kiềm (TT)*.

D. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Chỉ số khúc xạ.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Pha loãng 100,0 g chế phẩm thành 200 ml bằng *nước không có carbon dioxyd (TT)*.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2).

Pha loãng 10 ml dung dịch S thành 25 ml bằng *nước*, dung dịch thu được phải không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Lấy 50 ml dung dịch S, thêm 0,5 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)*, dung dịch thu được không màu. Thêm *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* cho đến khi có màu hồng. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* đã dùng không được quá 0,2 ml. Giữ lại dung dịch sau cùng này để dùng cho phép thử ester.

Chỉ số khúc xạ

Từ 1,470 đến 1,475 (Phụ lục 6.1).

Tạp chất A và tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch thử: Pha loãng 10,0 ml dung dịch S thành 100,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 10,0 g *glycerin (TT_1)* thành 20,0 ml bằng *nước*. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 1,000 g *diethylen glycol (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 10,0 ml bằng dung dịch đối chiếu (1). Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng dung dịch đối chiếu (1).

Dung dịch đối chiếu (4): Trộn 1,0 ml dung dịch thử và 5,0 ml dung dịch đối chiếu (2) và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (5): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 100,0 ml bằng *nước*.

Điều kiện sắc ký:

Cột (30 m × 0,53 mm), pha tĩnh là *polycyanopropylphenyl siloxan* 6 % và *polydimethylsiloxan* 94 %.

Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký khí*.

Tỷ lệ chia dòng: 1 : 10.

Vận tốc tuyến tính: 38 cm/s.

Chương trình nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0	100
	0 - 16	100 → 220
	16 - 20	220
Buồng tiêm		220
Detector		250

Detector: Ion hóa ngọn lửa.

Thể tích tiêm: 0,5 µl.

Thứ tự rửa giải: Tạp chất A, glycerin.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4), độ phân giải giữa pic của tạp chất A và pic của glycerin ít nhất là 7,0.

Giới hạn:

Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %).

Các tạp chất có thời gian lưu nhỏ hơn thời gian lưu của glycerin: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic tạp chất A trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất có thời gian lưu lớn hơn thời gian lưu của glycerin không được lớn hơn 5 lần diện tích pic tạp chất A trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,5 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic tạp chất A trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: 2,2'-Oxydiethanol (diethylen glycol).

Tạp chất B: Ethan-1,2-diol (ethylen glycol).

Tạp chất C: (*RS*)-Propan-1,2-diol (propylen glycol).

Aldehyd

Không được quá 10 phần triệu.

Lấy 7,5 ml dung dịch S cho vào bình nút mài, thêm 7,5 ml *nước* và 1,0 ml *dung dịch pararosanilin đã khử màu (TT)*. Đậy nắp và để yên trong 1 h ở nhiệt độ (25 ± 0,1) °C. Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch này đo ở bước sóng 552 nm không được lớn hơn độ hấp thụ của mẫu đối chiếu được tiến hành trong cùng điều kiện và cùng thời gian bằng cách dùng 7,5 ml *dung dịch formaldehyd 5 phần triệu CH_2O (TT)* thay cho dung dịch S. Phép thử chỉ có giá trị khi mẫu đối chiếu có màu hồng.

Ester

Thêm 10,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ)* vào dung dịch sau cùng của phép thử Giới hạn acid - kiềm. Đun sôi hồi lưu trong 5 min. Để nguội. Thêm 0,5 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)*. Lượng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* đã dùng không ít hơn 8,0 ml.

Các hợp chất halogen
Không được quá 35 phần triệu.
Lấy 10 ml dung dịch S cho vào cốc thủy tinh 50 ml, thêm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, 5 ml *nước* và 50 mg *hợp kim nhôm - nickel không có halogen (TT)*. Đun trên cách thủy trong 10 min, để nguội và lọc. Rửa cốc và phễu lọc với *nước* cho đến khi thu được 25 ml dịch lọc.
Lấy 5 ml dịch lọc, thêm 4 ml *ethanol 96 % (TT)*, 2,5 ml *nước*, 0,5 ml *acid nitric (TT)* và 0,05 ml *dung dịch bạc nitrat 1,7 % (TT)*, khuấy đều. Để yên trong 2 min. Dung dịch không được đục hơn dung dịch đối chiếu được chuẩn bị trong cùng điều kiện và cùng thời gian.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 7,0 ml *dung dịch clorid mẫu 5 phần triệu Cl (TT)*, thêm 4 ml *ethanol 96 % (TT)*, 0,5 ml *nước*, 0,5 ml *acid nitric (TT)* và 0,05 ml *dung dịch bạc nitrat 1,7 % (TT)*.

Clorid
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).
Lấy 1,0 ml dung dịch S pha loãng thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử. Dùng 1 ml *dung dịch clorid mẫu 5 phần triệu Cl (TT)* pha loãng thành 15 ml bằng *nước* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Đường
Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)*, đun nóng trên cách thủy 5 min. Thêm vào 3 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M trong nước không có carbon dioxyd*. Trộn đều và thêm từng giọt 1 ml *dung dịch đồng (II) sulfat 12,5 % (TT)* mới pha. Dung dịch phải có màu xanh lam và trong. Tiếp tục đun trên cách thủy trong 5 min. Màu của dung dịch vẫn phải xanh và không được có tủa tạo thành.

Kim loại nặng
Không được quá 5 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Pha loãng 8 ml dung dịch S thành 20 ml bằng *nước*. Lấy 12 ml dung dịch thu được thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Không được quá 2,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 1,000 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 5,0 g chế phẩm sau khi đun nóng đến sôi và nung.

Định lượng
Trộn đều 0,075 g chế phẩm trong 45 ml *nước*. Thêm 25,0 ml hỗn hợp *dung dịch acid sulfuric 0,1 M - dung dịch natri periodat 0,1 M* (1 : 20). Để yên ở chỗ tối 15 min, thêm 5,0 ml *dung dịch ethylen glycol 50 % trong nước (TT)* và để yên ở chỗ tối 20 min. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*, dùng 0,5 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* làm chỉ thị. Song song tiến hành làm mẫu trắng.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 9,21 mg $C_3H_8O_3$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Nhuận tràng, hút ẩm, dung môi hòa tan, tá dược.

Chế phẩm
Dung dịch thụt trực tràng.

GLYCEROL MONOSTEARAT 40 - 55
Glyceroli monostearas 40 - 55

Glycerol monostearat 40 - 55 là hỗn hợp các monoacyl glycerol, chủ yếu là monostearoylglycerol, cùng với di và triacylglycerol với hàm lượng khác nhau. Chế phẩm phải chứa từ 40,0 % đến 55,0 % monoacylglycerol, 30,0 % đến 45,0 % diacylglycerol và 5 % đến 15 % triacylglycerol, thu được bằng cách phân giải glycerol từng phần dầu thực vật chứa chủ yếu triacylglycerol của acid palmitic hoặc acid stearic, hay bằng cách ester hóa glycerol với acid stearic 50 (loại I), acid stearic 70 (loại II) hoặc acid stearic 95 (loại III). Các acid béo có thể có nguồn gốc từ động vật hoặc thực vật.

Tính chất
Khối sáp cứng hoặc bột, vảy nhờn, màu trắng hoặc gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, tan trong ethanol 96 % ở 60 °C.

Định tính
A. Nhiệt độ nóng chảy 54 °C đến 64 °C (Phụ lục 6.7). Cho chế phẩm vào ống mao quản và đặt trong bình kín trong vòng 24 h.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel.
Dung môi khai triển: Hexan - ether (30 : 70).
Dung dịch thử: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *methylen clorid (TT)* bằng cách đun nhẹ và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 1,0 g glycerol monostearat 40 - 55 chuẩn trong *methylen clorid (TT)* bằng cách đun nhẹ và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra và để khô ngoài không khí. Phun *dung dịch rhodamin B 0,01 % trong ethanol 96 %*, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở 365 nm. Các vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vị trí giống với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
C. Đáp ứng phép thử Thành phần acid béo tùy theo loại acid béo được qui định trên nhãn.
D. Đáp ứng các giới hạn định lượng (hàm lượng monoacyl glycerol).

Chỉ số acid
Không được quá 3,0 (Phụ lục 7.2).
Dùng 1,0 g chế phẩm pha trong hỗn hợp đồng thể tích *ethanol 96 % (TT)* và *toluen (TT)*, đun nóng nhẹ.

Chỉ số iod
Không được quá 3,0 (Phụ lục 7.5).

Chỉ số xà phòng hóa
158 đến 177 (Phụ lục 7.7).
Dùng 2,0 g chế phẩm. Đun nóng khi tiến hành.

Glycerol tự do
Không được quá 6,0 %, tiến hành như phần Định lượng.

Thành phần acid béo
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 2,0 % trong methanol* trong bình nón 25 ml và đun sôi dưới ống sinh hàn ngược trong 30 min. Thêm 5,0 ml *dung dịch boron trifluorid-methanol (TT)* qua ống sinh hàn và đun sôi 30 min. Thêm 4 ml *heptan (TT)* qua ống sinh hàn và đun sôi 5 min. Để nguội và thêm 10,0 ml *dung dịch natri clorid bão hòa (TT)*, lắc khoảng 15 s và thêm một lượng *dung dịch natri clorid bão hòa (TT)* để lớp phía trên nằm trên cổ của bình. Lấy 2 ml lớp phía trên, rửa bằng 2 ml *nước*, làm khô bằng *natri sulfat khan (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Chuẩn bị 0,50 g hỗn hợp các chất: Methyl laurat, methyl myristat, methyl palmitat, methyl stearat, methyl arachidat, methyl oleat (mỗi chất khoảng < 100 mg), sau đó hòa tan trong *heptan (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 10,0 ml bằng *heptan (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (3): Chuẩn bị 0,50 g hỗn hợp các chất methyl palmitat và methyl stearat. Hòa tan trong *heptan (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột bằng silica nung chảy, thủy tinh hoặc thạch anh, kích thước dài từ 10 m đến 30 m, đường kính 0,2 mm đến 0,8 mm.
Pha tĩnh: *Poly[(cyanopropyl)(methyl)][(phenyl)(methyl) siloxan* hoặc *macrogol 20 000* (phim dày 0,1 µm đến 0,5 µm) hoặc một vài pha tĩnh thích hợp khác.
Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký* hoặc *nitrogen dùng cho sắc ký*.
Tốc độ dòng: 1,3 ml/min (với đường kính cột 0,32 mm).
Tỷ lệ chia dòng: 1 : 100 hoặc nhỏ hơn, phụ thuộc vào đường kính trong của cột sử dụng (1 : 50 nếu đường kính cột là 0,32 mm).
Nhiệt độ: Cột: 160 °C đến 200 °C, phụ thuộc vào chiều dài cột sử dụng (200 °C với cột dài 30 m và được bao lớp macrogol 20 000); nếu cần, tăng nhiệt độ cột từ 170 °C đến 230 °C với tốc độ 3 °C/min (với cột macrogol 20 000). Buồng tiêm: 250 °C. Detector: 250 °C.
Detector ion hóa ngọn lửa.
Thể tích tiêm: 1 µl.
Tính phù hợp của hệ thống: Độ phân giải giữa pic của methyl oleat và methyl stearat trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) ít nhất là 1,8. Tỷ lệ giữa tín hiệu và nhiễu của pic methyl myristat trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) ít nhất là 5. Số đĩa lý thuyết ít nhất là 30 000, tính trên pic của methyl stearat trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
Đánh giá kết quả
Định tính: Định tính các pic dựa trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3).
Định lượng: Phương pháp chuẩn hóa coi tổng diện tích của tất cả các pic (trừ các pic của dung môi) là 100 %. Hàm lượng của mỗi thành phần được xác định bằng cách so sánh diện tích của pic đó với tổng diện tích của tất cả các pic. Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 % tổng diện tích.
Thành phần acid béo của chế phẩm phải đạt yêu cầu theo bảng sau:

	Acid béo dùng để ester hóa	Thành phần acid béo
Glycerol monostearat 40 - 55 (loại I)	Acid stearic 50	Acid stearic: 40,0 % đến 60,0 %. Tổng lượng acid palmitic và acid stearic: không thấp hơn 90,0 %.
Glycerol monostearat 40 - 55 (loại II)	Acid stearic 70	Acid stearic: 60,0 % đến 80,0 %. Tổng lượng acid palmitic và acid stearic: không thấp hơn 90,0 %.
Glycerol monostearat 40 - 55 (loại III)	Acid stearic 95	Acid stearic: 90,0 % đến 99,0 %. Tổng lượng acid palmitic và acid stearic: không thấp hơn 96,0 %.

Nickel
Không được quá 1 phần triệu (Phụ lục 9.4.11).

Nước
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 10.3)
Dùng 1,0 g chế phẩm và *pyridin (TT)* làm dung môi, đun nóng nhẹ.

Tro toàn phần
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.8).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Xác định hàm lượng glycerol tự do và hàm lượng di và triacylglycerol bằng phương pháp sắc ký rây phân tử (Phụ lục 5.5).
Điều kiện sắc ký:
Cột: Cột thẩm thấu gel dài 0,6 m, đường kính trong 7 mm được nhồi *styren-divinylbenzen copolymer (TT)* (đường kính tiểu phân 5 µm, kích thước lỗ xốp 10 nm).
Pha động: *Tetrahydrofuran (TT)*.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Detector: Khúc xạ kế vi sai.
Thể tích tiêm: 40 µl.
Dung dịch thử:
Cân 0,2 g (chính xác đến 0,1 mg) chế phẩm (m) cho vào bình dung tích 15 ml. Thêm 5 ml *tetrahydrofuran (TT)*, lắc mạnh để hòa tan. Cân lại bình, tính tổng khối lượng dung môi và chế phẩm (M).
Dung dịch đối chiếu:
Cân lần lượt (2,5 ± 0,1) mg, (5 ± 0,1) mg, (10 ± 0,1) mg, (20 ± 0,1) mg *glycerol (TT)* cho vào 4 bình dung tích 15 ml. Thêm vào mỗi bình 5 ml *tetrahydrofuran (TT)*, lắc mạnh để hòa tan. Cân lại các bình và tính nồng độ glycerol (mg/g) cho mỗi dung dịch đối chiếu.
Cách tiến hành:
Tiêm mỗi dung dịch. Trong điều kiện mô tả trên, sắc ký đồ thu được có thời gian lưu tương đối so với thời gian lưu của glycerol là khoảng 0,86 đối với monoacylglycerol, khoảng 0,81 đối với diacylglycerol và 0,77 đối với tricylglycerol. Từ đường chuẩn thu được của các dung dịch đối chiếu, xác định nồng độ C (mg/g) của glycerol trong dung dịch thử. Hàm lượng % glycerol tự do trong chế phẩm được tính bằng công thức:

$$\frac{C \times M}{m \times 10}$$

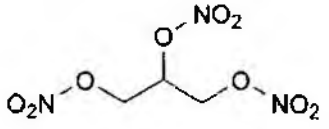
Hàm lượng (%) của mono, di và triacylglycerol được xác định bằng phương pháp chuẩn hóa.

Nhãn
Phải qui định loại glycerol monostearat 40 - 55.

Bảo quản
Bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Tá dược.

DUNG DỊCH GLYCERYL TRINITRAT
Solutio glycerylis trinitras



$C_3H_5N_3O_9$ P.t.l: 227,1

Dung dịch glyceryl trinitrat là dung dịch 1 % (kl/kl) đến 10 % (kl/kl) của propan-1,2,3-triyl trinitrat trong ethanol 96 %. Phải chứa từ 96,5 % đến 102,5 % hàm lượng glyceryl trinitrat ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu hoặc hơi vàng. Có thể trộn lẫn với aceton và ethanol 96 %. Glyceryl trinitrat nguyên chất thực tế không tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %, trộn lẫn với aceton.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, C.
Nhóm II: B, C.
Khi pha loãng dung dịch glyceryl trinitrat phải sử dụng ethanol khan nếu không các giọt glyceryl trinitrat nguyên chất có thể tách khỏi dung dịch.
Sau phép thử, phần cắn và dung dịch còn lại phải được đun nóng cách thủy với dung dịch natri hydroxyd loãng (TT) trong 5 min.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của glyceryl trinitrat chuẩn. Chuẩn bị mẫu bằng cách nhỏ 50 µl dung dịch chế phẩm [pha loãng bằng *ethanol (TT)* để được dung dịch 1 % (kl/tt) glyceryl trinitrat, nếu cần] lên viên nén dẹt kali bromid. Bay hơi dung môi trong chân không.
B. Sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Ethyl acetat - toluen (20 : 80).
Dung dịch thử: Pha loãng một lượng chế phẩm tương đương với 50 mg glyceryl trinitrat thành 100 ml với *aceton (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 0,05 ml *dung dịch glyceryl trinitrat (TT)* thành 1 ml với *aceton (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 2/3 chiều dài của bản mỏng. Lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí. Phun bản mỏng bằng *dung dịch kali iodid - tinh bột (TT)* mới pha. Đặt bản mỏng dưới ánh sáng từ ngoại ở bước sóng 254 nm trong 15 min rồi quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.
C. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu về giới hạn hàm lượng.

Màu sắc của dung dịch
Pha loãng dung dịch chế phẩm đến nồng độ 1 % với *ethanol (TT)*, nếu cần. Dung dịch phải không được có màu đậm hơn màu của dung dịch màu mẫu V_7 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Nitrat vô cơ
Không được quá 0,5 % hàm lượng glyceryl trinitrat, tính theo kali nitrat.
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel.
Dung môi khai triển: Toluen - aceton - acid acetic băng (60 : 30 : 15).
Dung dịch thử: Dùng dung dịch chế phẩm. Pha loãng đến nồng độ 1 % với *ethanol (TT)*, nếu cần.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 5 mg *kali nitrat (TT)* trong 1 ml *nước* rồi pha loãng thành 100 ml bằng *ethanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 2/3 chiều dài của bản mỏng. Lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí đến khi hết acid acetic, phun bằng *dung dịch*

kali iodid - tinh bột (TT). Đặt bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm trong 15 min rồi quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Bất kỳ vết nào tương ứng với vết nitrat trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được có màu đậm hơn màu của vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - nước (50 : 50).

Dung dịch thử: Hòa tan một lượng chế phẩm thử tương ứng với 2 mg glyceryl trinitrat trong pha động và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,10 g dung dịch glyceryl trinitrat chuẩn và một lượng pentaerythrityl tetranitrat loãng tương ứng với 1,0 mg pentaerythrityl tetranitrat trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Lắc siêu âm và lọc nếu cần.

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

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 210 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của pic chính.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của glyceryl trinitrat và pic của pentaerythrityl tetranitrat ít nhất là 2,0.

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

Diện tích của bất cứ pic nào, ngoài pic chính, không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1 %, tính theo glyceryl trinitrat) và tổng diện tích của các pic đó không được lớn hơn 3 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (3 %, tính theo glyceryl trinitrat).

Loại bỏ các pic với diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dug dịch đối chiếu (2) (0,1 %).

Định lượng

Dung dịch thử: Lấy chính xác một lượng dung dịch chế phẩm tương ứng với khoảng 1,0 mg glyceryl trinitrat hòa vào *methanol (TT)* trong bình định mức dung tích 250 ml. Thêm *methanol (TT)* tới vạch.

Dung dịch đối chiếu: Cân chính xác khoảng 70,0 mg *natri nitrit (TT)* hòa tan vào *methanol (TT)* trong bình định mức dung tích 250 ml. Thêm *methanol (TT)* tới vạch. Pha loãng 5,0 ml dung dịch trên thành 500,0 ml bằng *methanol (TT)*.

Lần lượt lấy 10,0 ml dung dịch thử, 10,0 ml dung dịch đối chiếu và 10,0 ml *methanol (TT)* vào 3 bình định mức dung tích 50 ml. Thêm vào mỗi bình 5 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*, đậy nắp, trộn đều, rồi để yên ở nhiệt độ phòng trong 30 min. Thêm 10 ml *dung dịch acid sulfanilic (TT)* và 10 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*, trộn đều. Sau đúng 4 min thêm 10 ml *dung dịch naphthylethylendiamin dihydroclorid (TT)*, pha loãng bằng *nước* đến vạch và trộn đều. Sau 10 min, đo độ hấp thụ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu ở 540 nm, sử dụng dung dịch trong bình định mức có chứa 10,0 ml *methanol (TT)* làm mẫu trắng.

Tính khối lượng glyceryl trinitrat (mg) trong dung dịch thử bằng công thức:

$$\frac{A_T \times m_S \times C}{A_R \times m_T \times 60{,}8 \times 100}$$

Trong đó:

A_T là độ hấp thụ của dung dịch thử.

m_T là khối lượng (mg) của glyceryl trinitrat trong dung dịch thử.

C là hàm lượng của natri nitrit pha dung dịch đối chiếu.

A_R là độ hấp thụ của dung dịch đối chiếu.

m_T là khối lượng cân (mg) của natri nitrit.

Bảo quản

Bảo quản các dung dịch loãng (1 %) tránh ánh sáng, ở nhiệt độ từ 2 °C đến 15 °C. Bảo quản các dung dịch đậm đặc hơn tránh ánh sáng, ở nhiệt độ từ 15 °C đến 20 °C.

Loại thuốc

Thuốc giãn mạch.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN GLYCERYL TRINITRAT

Tabellae Glicerylis trinitratis

Viên nén glyceryl trinitrat là viên ngậm dưới lưỡi được pha chế bằng cách thêm dung dịch glyceryl trinitrat có nồng độ thích hợp vào các hạt manitol đã sấy khô, trộn nhẹ nhàng, sấy khô ở nhiệt độ không quá 50 °C hoặc không sấy trong thời gian không quá 4 h và dập viên.

Chú ý: Glyceryl trinitrat dạng không pha loãng có thể phát nổ do sự va đập hoặc do nhiệt độ cao. Cần có biện pháp đề phòng thích hợp và nên chia từng lượng nhỏ khi vận chuyển.

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

Hàm lượng glyceryl trinitrat, $C_3H_5N_3O_9$, từ 85,0 % đến 115,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Pha động: Toluen.

Dung dịch thử. Lắc một lượng bột viên chứa 0,5 mg glyceryl trinitrat với 1 ml *aceton (TT)*, ly tâm.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng một lượng dung dịch glyceryl trinitrat chuẩn với *nước* vừa đủ để thu được dung dịch glyceryl trinitrat 0,05 %.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, sấy khô bản mỏng, phun *dung dịch diphenylamin 1 % trong acid sulfuric (TT)* và chiếu đèn tử ngoại ở bước sóng 365 nm trong 15 min. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng ban ngày. Vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết của dung dịch đối chiếu.

B. Chiết một lượng bột viên tương ứng 3 mg glyceryl trinitrat với 5 ml *ether (TT)*, lọc. Bốc hơi ether, hòa tan cặn trong 0,2 ml *acid sulfuric (TT)* có chứa một lượng rất nhỏ *diphenylamin (TT)*, xuất hiện màu xanh lam đậm.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - nước (40 : 60), điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.

Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên chứa 2,5 mg glyceryl trinitrat, hòa trong 10 ml *acetonitril (TT)*, siêu âm để hòa tan, lọc qua màng lọc 4 µm, pha loãng 1 thể tích dịch lọc với 1 thể tích *nước*.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với pha động.

Dung dịch phân giải: Pha dung dịch glyceryl trinitrat chuẩn với *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* để được dung dịch chứa 0,05 % glyceryl trinitrat. Làm nóng dung dịch trong lọ phản ứng ở 100 °C trong 30 min.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (250 × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (Cột Nucleosil ODS là thích hợp).

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

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

Thể tích tiêm: 50 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm lần lượt các dung dịch trên, triển khai sắc ký trong khoảng thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của pic chính. Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ thu được từ dung dịch phân giải có pic chính của glyceryl trinitrat và pic của tạp chất dinitrat, hai pic này phải tách rõ ràng, thời gian lưu tương đối của pic tạp chất dinitrat so với pic của glyceryl trinitrat khoảng 0,5.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất cứ pic phụ nào không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1 %) và tổng diện tích của các pic phụ không lớn hơn 3 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (3 %). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,1 %).

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với điều kiện sắc ký như mục Tạp chất liên quan.

Dung dịch thử: Thêm 2 ml *acetonitril (TT)* vào một viên, siêu âm trong 5 min để hòa tan, lọc qua màng lọc 4 µm, pha loãng 1 thể tích dịch lọc với 1 thể tích *nước*.

Dung dịch chuẩn: Pha loãng dung dịch glyceryl trinitrat chuẩn với pha động để được dung dịch glyceryl trinitrat có nồng độ tương đương với nồng độ dung dịch thử.

Dung dịch phân giải: Pha loãng dung dịch glyceryl trinitrat chuẩn với *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* để được dung dịch chứa 0,05 % glyceryl trinitrat. Làm nóng dung dịch trong lọ phản ứng ở 100 °C trong 30 min.

Cách tiến hành:

Tiêm lần lượt các dung dịch trên.

Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ thu được từ dung dịch phân giải có pic chính của glyceryl trinitrat và pic của tạp chất dinitrat, hai pic này phải tách rõ ràng, thời gian lưu tương đối của pic tạp chất dinitrat so với pic của glyceryl trinitrat khoảng 0,5.

Tính hàm lượng glyceryl trinitrat, $C_3H_5N_3O_9$, trong mỗi viên dựa vào diện tích pic glyceryl trinitrat trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_3H_5N_3O_9$ của dung dịch glyceryl trinitrat chuẩn.

Định lượng

Lấy kết quả trung bình của hàm lượng 10 viên thu được ở mục Độ đồng đều hàm lượng.

Bảo quản

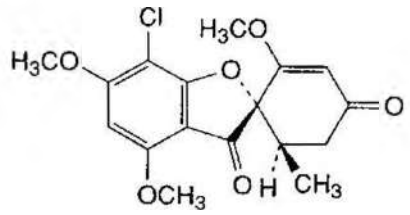
Viên nén glyceryl trinitrat nên bảo quản trong lọ thủy tinh nắp vặn bằng nhôm hoặc bằng thiếc, tránh ánh sáng. Tránh đóng gói thêm các chất có thể hấp thụ glyceryl trinitrat. Đơn vị đóng gói cho bệnh nhân không nên quá 100 viên.

Loại thuốc

Thuốc giãn mạch. Dự phòng cơn đau thắt ngực.

GRISEOFULVIN

Griseofulvinum



$C_{17}H_{17}ClO_6$ P.t.l: 352,8

Griseofulvin là (1'*S*,3-6'*R*)-7-cloro-2',4,6-trimethoxy-6'-methylspiro[benzofuran-2(3*H*),1'-[2]cyclohexen]-3,4'-dion, thu được từ việc nuôi cấy chủng *Penicillium griseofulvum* hoặc bằng các phương pháp khác; phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % $C_{17}H_{17}ClO_6$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột mịn màu trắng hoặc trắng ánh vàng, kích thước hạt thường nhỏ hơn 5 µm mặc dù vẫn có thể có các hạt kích thước lớn hơn 30 µm. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong dimethylformamid và trong tetracloroethan, khó tan trong ethanol và methanol.

Nhiệt độ nóng chảy khoảng 220 °C.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của griseofulvin chuẩn.
B. Hòa tan khoảng 5 mg chế phẩm trong 1 ml *acid sulfuric (TT)*, thêm khoảng 5 mg bột *kali dicromat (TT)*. Màu đỏ tối tạo thành.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 0,75 g chế phẩm trong *dimethylformamid (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu V_4 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid
Lắc 0,25 g chế phẩm với 20 ml *ethanol 96 % (TT)* để tạo thành hỗn dịch. Thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)*. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)* để làm chuyển màu của chỉ thị không quá 1,0 ml.

Góc quay cực riêng
Phải từ +354° đến +364° tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *dimethylformamid (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).
Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan 0,2 g *diphenylanthracen (TT)* trong *aceton (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *aceton (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *aceton (TT)*, thêm 1,0 ml dung dịch chuẩn nội và pha loãng thành 10,0 ml với *aceton (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 5,0 mg griseofulvin chuẩn trong *aceton (TT)*, thêm 1,0 ml dung dịch chuẩn nội và pha loãng thành 10,0 ml với *aceton (TT)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột thủy tinh (1 m × 4 mm) được nhồi pha tĩnh là *diatomit dùng cho sắc ký khí* đã được tẩm 1 % (kl/kl) *poly[(cyanopropyl)(methyl)][(phenyl)(methyl)]siloxan*.
Khí mang là nitrogen dùng cho sắc ký với tốc độ dòng 50 ml/min đến 60 ml/min.
Detector ion hóa ngọn lửa.
Nhiệt độ cột 250 °C, nhiệt độ buồng tiêm 270 °C và nhiệt độ detector 300 °C.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với khoảng thời gian gấp ba lần thời gian lưu của pic tương ứng với griseofulvin (khoảng 11 min).
Tiêm dung dịch đối chiếu, tính tỷ số giữa diện tích pic của griseofulvin và diện tích pic của chuẩn nội (R_s).
Tiêm dung dịch thử (2), tính tỷ số giữa diện tích pic của declorogriseofulvin (thời gian lưu tương đối so với griseofulvin khoảng 0,6) và diện tích pic của chuẩn nội (R_1).
Tính tỷ số như trên đối với dehydrogriseofulvin (pic có thời gian lưu tương đối so với griseofulvin khoảng 1,4) được R_2.
Giá trị R_1/R_s phải không lớn hơn 0,6 và giá trị R_2/R_s phải không lớn hơn 0,15.

Tạp chất tan trong ether dầu hỏa
Không được quá 0,2 %.
Lắc 1,0 g chế phẩm với 20 ml *ether dầu hỏa (TT)*. Đun sôi hồi lưu trong 10 min. Làm nguội, lọc, rửa phễu lọc ba lần, mỗi lần với 15 ml *ether dầu hỏa (TT)*. Gộp dịch lọc và các dịch rửa, bay hơi trên cách thủy tới khô. Sấy cắn ở 100 °C đến 105 °C trong 1 h. Khối lượng của cắn không được lớn hơn 2 mg.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,0 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 80,0 mg chế phẩm trong *ethanol (TT)* và pha loãng thành 200,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với *ethanol (TT)*. Đo độ hấp thụ tại cực đại 291 nm (Phụ lục 4.1). Tính hàm lượng $C_{17}H_{17}ClO_6$ theo A (1 %, 1 cm), lấy 686 là giá trị A (1 %, 1 cm) tại bước sóng 291 nm.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Chống nấm.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN GRISEOFULVIN
Tabellae Griseofulvini

Là viên nén chứa griseofulvin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng griseofulvin, $C_{17}H_{17}ClO_6$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lắc kỹ một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với 125 mg griseofulvin với 20 ml *cloroform (TT)*, thêm 1 g *natri sulfat khan (TT)*, lắc đều và lọc. Bốc hơi dịch lọc đến khô và sấy ở áp suất giảm không quá 0,7 kPa trong 1 h. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của griseofulvin.
B. Lắc một lượng bột viên tương ứng với 80 mg griseofulvin với 150 ml *ethanol 96 % (TT)* trong 20 min. Pha loãng với *ethanol 96 % (TT)* đến vừa đủ 200 ml và lọc. Pha loãng

tiếp 2 ml dịch lọc thành 100 ml với *ethanol 96 % (TT)*. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng từ 240 nm đến 400 nm phải có hai cực đại hấp thụ ở 291 nm, 325 nm và một vai ở 250 nm.

C. Hòa tan 5 mg bột viên trong 1 ml *acid sulfuric đậm đặc (TT)* và thêm 5 mg *kali dicromat (TT)* đã được nghiền mịn, xuất hiện màu đỏ.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 1000 ml *dung dịch natri lauryl sulfat 1,5 %*.

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan chế phẩm, lọc (bỏ dịch lọc đầu). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dịch lọc thu được ở bước sóng cực đại 291 nm, pha loãng dịch lọc (nếu cần) bằng *methanol 80 %*. Tính lượng griseofulvin, $C_{17}H_{17}ClO_6$, được hòa tan từ viên theo A (1 %, 1cm). Lấy 725 là giá trị A (1 %, 1cm) ở cực đại 291 nm.

Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % (Q) lượng griseofulvin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Hòa tan 50 mg 9,10-diphenylanthracen (chuẩn nội) trong *cloroform (TT)* vừa đủ 50 ml (Dung dịch A).

Dung dịch (1): Hòa tan 5 mg griseofulvin đối chiếu trong *cloroform (TT)*, thêm 2 ml dung dịch A và *cloroform (TT)* vừa đủ 200 ml. Bốc hơi 20 ml dung dịch này còn khoảng 1 ml.

Dung dịch (2): Thêm 60 ml *cloroform (TT)* vào một lượng bột viên tương ứng với 50 mg griseofulvin, vừa đun vừa lắc ở 60 °C trong 20 min, làm nguội và pha loãng thành 100 ml bằng *cloroform (TT)*. Ly tâm và bốc hơi 20 ml lớp chất lỏng trong ở trên còn khoảng 1 ml.

Dung dịch (3): Chuẩn bị như dung dịch (2) nhưng thêm 1 ml dung dịch A trước khi pha loãng thành 100 ml bằng *cloroform (TT)*.

Điều kiện sắc ký:

Cột thủy tinh (1 m × 4 mm) được nhồi chất mang *diatomit* đã được rửa bằng acid và silan hóa tẩm 1 % (kl/kl) pha tĩnh *cyanopropylmethyl phenyl methyl silicon* (OV-225 là thích hợp).

Duy trì nhiệt độ cột ở 250 °C.

Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch (3), nếu có xuất hiện các pic tương ứng với declorogriseofulvin (thời gian lưu bằng khoảng 0,6 lần thời gian lưu của griseofulvin) và/hoặc pic tương ứng với dehydrogriseofulvin (thời gian lưu bằng khoảng 1,4 lần thời gian lưu của griseofulvin) thì tỷ số giữa diện tích của pic tương ứng với declorogriseofulvin và pic tương ứng với dehydrogriseofulvin trên diện tích pic chất chuẩn nội lần lượt phải không quá 0,6 lần và 0,15 lần tỷ số giữa diện tích của pic griseofulvin trên diện tích pic chất chuẩn nội trên sắc ký đồ thu được của dung dịch (1).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Trộn một hỗn hợp gồm 57 thể tích *dung dịch kali dihydrophosphat 0,05 M (TT)*, 38 thể tích *acetonitril (TT)* và 5 thể tích *methanol (TT)*. Điều chỉnh pH của hỗn hợp đến 3,7 ± 0,2 bằng *acid phosphoric (TT)*.

Dung dịch chuẩn nội: Chuẩn bị một dung dịch diazepam trong *ethanol (TT)* có nồng độ 0,7 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên. Nghiền viên thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 100 mg griseofulvin, chuyển vào bình định mức 100 ml. Thêm khoảng 70 ml *ethanol (TT)*, lắc siêu âm 30 min, để nguội về nhiệt độ phòng. Thêm *ethanol (TT)* đến định mức và trộn đều. Lọc. Lấy chính xác 5,0 ml dịch lọc thu được cho vào bình định mức 50 ml, thêm chính xác 5,0 ml dung dịch chuẩn nội rồi pha loãng với *ethanol (TT)* đến định mức và trộn đều.

Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị tương tự như dung dịch thử, nhưng thay bột viên bằng một lượng cân chính xác khoảng 100 mg griseofulvin chuẩn.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) có chứa pha tĩnh C (5 µm hoặc 10 µm) (cột Lichrosorb RP18 là thích hợp).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn theo chỉ dẫn trong phần cách tiến hành ở dưới đây. Hiệu lực cột xác định trên pic chính griseofulvin không ít hơn 800 đĩa lý thuyết. Hệ số phân giải giữa các pic của griseofulvin và diazepam phải lớn hơn 1,5.

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

Tính hàm lượng griseofulvin, $C_{17}H_{17}ClO_6$, trong viên từ tỷ số giữa diện tích pic griseofulvin trên diện tích pic diazepam thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn và tỷ số giữa diện tích pic griseofulvin trên diện tích pic diazepam thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, và hàm lượng $C_{17}H_{17}ClO_6$ của griseofulvin chuẩn.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc

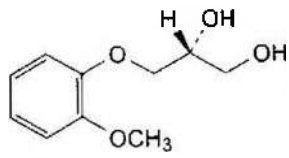
Thuốc chống nấm.

Hàm lượng thường dùng

0,1 g; 0,25 g.

GUAIFENESIN

Guaifenesinum



và đồng phân đối quang

$C_{10}H_{14}O_4$ P.t.l: 198,2

Guaifenesin là (2*RS*)-3-(2-methoxyphenoxy)propan-1,2-diol, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{10}H_{14}O_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hay gần như trắng, hơi tan trong nước, tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của guaifenesin chuẩn.

B. Điểm chảy: Từ 79 °C đến 83 °C (Phụ lục 6.7).

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Methylen cloríd - propanol (20 : 80).

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 30 mg guaifenesin chuẩn trong 10 ml *methanol (TT).*

Dung dịch thử: Hòa tan 30 mg chế phẩm trong 10 ml *methanol (TT).*

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được hơn 2/3 bản mỏng, để khô bản mỏng ngoài không khí. Phun lên bản mỏng hỗn hợp đồng thể tích của *dung dịch kali fericyanid 1 %, dung dịch sắt (III) clorid 20 %* và *ethanol 96 %(TT).* Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)*, đun nóng nhẹ nếu cần và pha loãng đến 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 0,05 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* vào 10 ml dung dịch S. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)* để làm thay đổi màu của chỉ thị không quá 0,1 ml.

Thêm 0,15 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)* vào 10 ml dung dịch S. Lượng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* để làm chuyển màu của chỉ thị sang màu đỏ không quá 0,1 ml.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Acid acetic băng - nước (10 : 990).

Pha động B: Acetonitril.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 20,0 ml bằng *acetonitril (TT).* Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng *acetonitril (TT).*

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg *guaiacol* (tạp chất A) trong *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 0,5 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng *acetonitril (TT).*

Dung dịch phân giải (3): Hòa tan 50,0 mg *guaiacol* trong *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng dung dịch thử.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 276 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 32	80 → 50	20 → 50
32 - 33	50 → 80	50 → 20
33 - 40	80	20

Thời gian lưu tương đối so với guaifenesin (khoảng 8 min): Tạp chất B khoảng 0,9; tạp chất A khoảng 1,4; tạp chất C khoảng 3,1 và tạp chất D khoảng 3,7.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa guaifenesin và tạp chất A ít nhất là 3,0.

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

Diện tích pic của tạp chất A không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).

Diện tích pic của tạp chất B không được lớn hơn hai lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1 %).

Diện tích của bất kỳ pic tạp nào khác không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).

Tổng diện tích của các pic tạp (trừ tạp chất B) không được lớn hơn hai lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %).

Bỏ qua các pic phụ có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: 2-methoxyphenol (guaiacol).

Tạp chất B: 2-(2-methoxyphenoxy)propan-1,3-diol (B-isomer).

Tạp chất C: 1,1'-oxybis[3-(2-methoxyphenoxy)-propan-2-ol] (bisether).

Tạp chất D: 1,3-bis(2-methoxyphenoxy)propan-2-ol.

Clorid và monoclorhydrin
Không được quá 250 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).
Thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* vào 10 ml dung dịch S và đun nóng trên cách thủy 5 min. Để nguội, thêm 3 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)* và tiến hành thử.

Kim loại nặng
Không được quá 25 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong một hỗn hợp *nước - ethanol 96 %* (1 : 9), và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi. Lấy 12 ml dung dịch này tiến hành thử theo phương pháp 2. Pha loãng *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb (TT)* trong hỗn hợp *nước - ethanol 96 %* (1 : 9) để thu được dung dịch chì mẫu 2 phần triệu. Dùng dung dịch chì mẫu 2 phần triệu này để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 60 °C; áp suất giảm; 3 h).

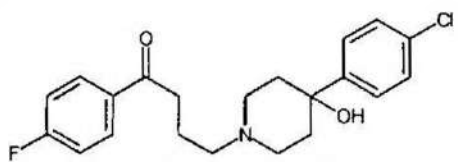
Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Thêm 10,0 ml hỗn hợp vừa mới chuẩn bị gồm 1 thể tích *anhydrid acetic (TT)* và 7 thể tích *pyridin (TT)* vào 0,500 g (*m* g) chế phẩm. Đun sôi dưới ống sinh hàn ngược 45 min. Để nguội và thêm 25 ml *nước*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ)* sử dụng 0,25 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* làm chỉ thị (n_1 ml). Song song làm mẫu trắng (n_2 ml). Tính hàm lượng phần trăm của guaifenesin $C_{10}H_{14}O_4$ bằng công thức:

$$\frac{19{,}82(n_2 - n_1)}{2m}$$

Loại thuốc
Long đờm.

HALOPERIDOL
Haloperidolum



$C_{21}H_{23}ClFNO_2$ P.t.l: 375,9

Haloperidol là 4-[4-4-clorophenyl)-4-hydroxypiperidin-1-yl]-1-(4-fluorophenyl)butan-1-on, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{21}H_{23}ClFNO_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột màu trắng hay gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, ít tan trong ethanol, methanol và methylen clorid.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, E.
Nhóm II: B, C, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của haloperidol chuẩn. Chuẩn bị chế phẩm dưới dạng đĩa.
B. Điểm chảy từ 150 °C đến 153 °C (Phụ lục 6.7).
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Octadecylsilyl silica gel.
Dung môi khai triển: Tetrahydrofuran - methanol - dung dịch natri clorid 5,8 % (10 : 45 : 45).
Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg haloperidol chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg haloperidol chuẩn và 10 mg bromperidol chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl của mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký trong bình chưa bão hòa dung môi khai triển trên một khoảng dài 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí và kiểm tra dưới ánh sáng tử ngoại tại bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng vị trí và kích thước như vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho hai vết riêng biệt cho dù không tách rời nhau hoàn toàn.
D. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 5 ml *ethanol (TT)*. Thêm 0,5 ml *dung dịch dinitrobenzen (TT)* và 0,5 ml *dung dịch kali hydroxyd 2 M trong ethanol (TT)*. Có màu tím xuất hiện và chuyển sang nâu đỏ sau 20 min.
E. Cho 0,1 g chế phẩm vào chén sứ, thêm 0,5 g *natri carbonat khan (TT)*. Đun nóng trên ngọn lửa trong 10 min. Để nguội. Hòa tan cặn bằng 5 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)* và lọc. Hòa loãng 1 ml dịch lọc bằng 1 ml *nước*. Dung dịch thu được cho phản ứng của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch chế phẩm 1,0 % trong dung dịch acid lactic 1,0 % (tt/tt) trong *nước* phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu V_7 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng và tránh ánh sáng.
Pha động A: Dung dịch tetrabutylamoni hydrosulfat 1,7 %.
Pha động B: Acetonitril (TT).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng bằng *methanol (TT)* thành 10,0 ml.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5,0 mg haloperidol chuẩn và 2,5 mg bromperidol chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Clorid và monoclorhydrin
Không được quá 250 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).
Thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* vào 10 ml dung dịch S và đun nóng trên cách thủy 5 min. Để nguội, thêm 3 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)* và tiến hành thử.

Kim loại nặng
Không được quá 25 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong một hỗn hợp *nước - ethanol 96 %* (1 : 9), và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi. Lấy 12 ml dung dịch này tiến hành thử theo phương pháp 2. Pha loãng *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb (TT)* trong hỗn hợp *nước - ethanol 96 %* (1 : 9) để thu được dung dịch chì mẫu 2 phần triệu. Dùng dung dịch chì mẫu 2 phần triệu này để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 60 °C; áp suất giảm; 3 h).

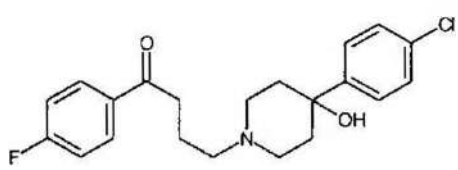
Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Thêm 10,0 ml hỗn hợp vừa mới chuẩn bị gồm 1 thể tích *anhydrid acetic (TT)* và 7 thể tích *pyridin (TT)* vào 0,500 g (*m* g) chế phẩm. Đun sôi dưới ống sinh hàn ngược 45 min. Để nguội và thêm 25 ml *nước*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ)* sử dụng 0,25 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* làm chỉ thị (n_1 ml). Song song làm mẫu trắng (n_2 ml). Tính hàm lượng phần trăm của guaifenesin $C_{10}H_{14}O_4$ bằng công thức:

$$\frac{19{,}82(n_2 - n_1)}{2m}$$

Loại thuốc
Long đờm.

HALOPERIDOL
Haloperidolum



$C_{21}H_{23}ClFNO_2$ P.t.l: 375,9

Haloperidol là 4-[4-4-clorophenyl)-4-hydroxypiperidin-1-yl]-1-(4-fluorophenyl)butan-1-on, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{21}H_{23}ClFNO_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột màu trắng hay gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, ít tan trong ethanol, methanol và methylen clorid.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, E.
Nhóm II: B, C, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của haloperidol chuẩn. Chuẩn bị chế phẩm dưới dạng đĩa.
B. Điểm chảy từ 150 °C đến 153 °C (Phụ lục 6.7).
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Octadecylsilyl silica gel.
Dung môi khai triển: Tetrahydrofuran - methanol - dung dịch natri clorid 5,8 % (10 : 45 : 45).
Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg haloperidol chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg haloperidol chuẩn và 10 mg bromperidol chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl của mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký trong bình chưa bão hòa dung môi khai triển trên một khoảng dài 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí và kiểm tra dưới ánh sáng tử ngoại tại bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng vị trí và kích thước như vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho hai vết riêng biệt cho dù không tách rời nhau hoàn toàn.
D. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 5 ml *ethanol (TT)*. Thêm 0,5 ml *dung dịch dinitrobenzen (TT)* và 0,5 ml *dung dịch kali hydroxyd 2 M trong ethanol (TT)*. Có màu tím xuất hiện và chuyển sang nâu đỏ sau 20 min.
E. Cho 0,1 g chế phẩm vào chén sứ, thêm 0,5 g *natri carbonat khan (TT)*. Đun nóng trên ngọn lửa trong 10 min. Để nguội. Hòa tan cắn bằng 5 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)* và lọc. Hòa loãng 1 ml dịch lọc bằng 1 ml *nước*. Dung dịch thu được cho phản ứng của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch chế phẩm 1,0 % trong dung dịch acid lactic 1,0 % (tt/tt) trong *nước* phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu V_7 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng và tránh ánh sáng.
Pha động A: Dung dịch tetrabutylamoni hydrosulfat 1,7 %.
Pha động B: Acetonitril (TT).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng bằng *methanol (TT)* thành 10,0 ml.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5,0 mg haloperidol chuẩn và 2,5 mg bromperidol chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *methanol (TT)*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng *methanol (TT)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) nhồi *base-deactivated octadecylsilyl silica gel* dùng cho sắc ký (3 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 230 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (%tt/tt)	Ghi chú
0 - 15	90 → 50	10 → 50	Gradient tuyến tính
15 - 20	50	50	Đẳng dòng
20 - 25	90	10	Chuyển về tỷ lệ ban đầu

Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) ít nhất đạt 50 % của thang đo.
Thời gian lưu của haloperidol khoảng 5,5 min và bromperidol khoảng 6 min. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa các pic của haloperidol và bromperidol đạt ít nhất là 3,0. Nếu cần thiết, có thể điều chỉnh tỷ lệ acetonitril trong pha động hay điều chỉnh thời gian của chương trình gradient dung môi.
Tiêm lần lượt *methanol (TT)* làm mẫu trắng, dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2).
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:
Diện tích của bất cứ pic nào không phải là pic chính cũng không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).
Tổng diện tích của tất cả các pic không phải là pic chính không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1 %).
Bỏ qua các pic tương ứng với pic thu được trên sắc ký đồ của mẫu trắng và các pic nhỏ hơn 0,1 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Quá trình định lượng phải tránh ánh sáng.
Cân 0,300 g chế phẩm, hòa tan trong 50 ml hỗn hợp gồm 1 thể tích *acid acetic khan (TT)* và 7 thể tích *methylethylketon (TT)*. Thêm 2 giọt *dung dịch α-naphtholbenzein (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* đến khi dung dịch chuyển thành màu xanh (Phụ lục 10.6). Song song tiến hành làm mẫu trắng.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 37,59 mg $C_{21}H_{23}ClFNO_2$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
An thần.

Chế phẩm
Viên nén, nang, thuốc tiêm, dung dịch uống, dung dịch uống nồng độ cao.

VIÊN NÉN HALOPERIDOL
Tabellae Haloperidoli

Là viên nén chứa haloperidol.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng haloperidol, $C_{21}H_{23}ClFNO_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Cân một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 10 mg haloperidol, thêm 10 ml *nước* và 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, lắc kỹ và chiết với 10 ml *ether (TT)*. Lọc dịch chiết ether qua lớp bông, bốc hơi dịch lọc đến khô và sấy cắn thu được ở nhiệt độ 60 °C, áp suất không quá 0,7 kPa. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của haloperidol hay với phổ của haloperidol chuẩn.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi khai triển: *Amoniac đậm đặc - dung dịch amoni acetat - nước - 1,4-dioxan* (0,5 : 20 : 20 : 60).
Dung dịch thử: Lắc kỹ một lượng bột viên tương ứng với khoảng 10 mg haloperidol với 10 ml *cloroform (TT)*, lọc và bốc hơi dịch lọc đến khô. Hòa tan cắn trong 1 ml *cloroform (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử thành 200 thể tích bằng *cloroform (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, để bản mỏng khô ngoài không khí. Sấy bản mỏng dưới dòng khí ấm trong 15 min và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.
Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử cũng không được đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu cho vết rõ ràng.

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Áp dụng cho viên có hàm lượng haloperidol dưới 2 mg.

Pha động: Dung dịch amoni acetat 1,0 % - acetonitril (55 : 45).
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng haloperidol chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,005 %.
Dung dịch thử: Cho 1 viên nén vào 10 ml pha động, để cho viên rã hoàn toàn và lắc siêu âm 2 min, ly tâm để thu được dung dịch trong. Pha loãng bằng pha động (nếu cần) để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,005 %.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 247 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng haloperidol, $C_{21}H_{23}ClFNO_2$, có trong một viên dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{21}H_{23}ClFNO_2$ của haloperidol chuẩn.

Định lượng

Viên nén có hàm lượng haloperidol không dưới 2 mg
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động và điều kiện sắc ký thực hiện như trong phần Độ đồng đều hàm lượng.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng haloperidol chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,020 %.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 20 mg haloperidol vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml pha động và lắc siêu âm 2 min. Pha loãng bằng pha động tới định mức, lắc đều. Lọc.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng haloperidol, $C_{21}H_{23}ClFNO_2$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{21}H_{23}ClFNO_2$ của haloperidol chuẩn.
Viên nén có hàm lượng haloperidol dưới 2 mg
Sử dụng giá trị trung bình của 10 kết quả thu được trong phần Độ đồng đều hàm lượng.

Bảo quản

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

Loại thuốc

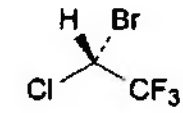
Thuốc an thần.

Hàm lượng thường dùng

0,5 mg, 1mg, 1,5 mg, 2 mg, 5 mg, 10 mg và 20 mg.

HALOTHAN

Halothanum



và đồng phân đối quang

$C_2HBrClF_3$ P.t.l: 197,4

Halothan là (*RS*)-2-bromo-2-cloro-1,1,1-trifluoroethan và được thêm 0,01 % (kl/kl) thymol.

Tính chất

Chất lỏng trong, không màu, tính linh động, nặng, không dễ cháy, khó tan trong nước, hòa trộn được với ethanol, ether và tricloroethylen.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của halothan. Phổ của chế phẩm được đo trong cóng có độ dày 0,1 mm.
B. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Khoảng chưng cất.
C. Thêm 0,1 ml chế phẩm vào 2 ml *2-methyl-2-propanol (TT)*. Thêm 1 ml *dung dịch đồng edetat (TT)*; 0,5 ml *amoniac đậm đặc (TT)* và một hỗn hợp gồm 0,4 ml *dung dịch hydrogen peroxyd 100 tt (TT)* và 1,6 ml *nước*. Đun nóng trong cách thủy ở 50 °C trong 15 min, làm nguội và thêm 0,3 ml *acid acetic băng (TT)*. Song song làm mẫu trắng.
Lấy 1 ml mỗi dung dịch thử và trắng thêm vào 0,5 ml hỗn hợp đồng thể tích vừa mới chuẩn bị của *dung dịch alizarin S (TT)* và *dung dịch zirconyl nitrat (TT)*. Dung dịch thử có màu vàng và dung dịch trắng có màu đỏ.
Lấy 1 ml mỗi dung dịch thử và trắng thêm vào 1 ml *dung dịch đệm pH 5,2 (TT)*, 1 ml *dung dịch đỏ phenol (TT)* đã được pha loãng 10 lần bằng *nước* và 0,1 ml *dung dịch cloramin 2 % (TT)*. Dung dịch thử có màu xanh tím và dung dịch trắng có màu vàng.
Lấy 2 ml mỗi dung dịch thử và trắng thêm vào 0,5 ml hỗn hợp *acid sulfuric - nước* (25 : 75); 0,5 ml *aceton (TT)* và 0,2 ml *dung dịch kali bromat 5 %* và lắc đều. Đun nóng trong cách thủy ở 50 °C trong 2 min, làm nguội và thêm 0,5 ml hỗn hợp đồng thể tích của *acid nitric (TT)* và *nước*, và thêm 0,5 ml *dung dịch bạc nitrat 1,7 % (TT)*. Dung dịch thử bị đục và tủa trắng xuất hiện sau vài phút, dung dịch trắng vẫn trong.

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 20 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* vào 20 ml chế phẩm, lắc trong 3 min và để tách lớp. Lấy lớp nước và thêm vào 0,2 ml *dung dịch đỏ tía bromocresol (TT)*.

Không quá 0,1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)* hay 0,6 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* được dùng để làm chuyển màu của chỉ thị.

Tỷ trọng
Từ 1,872 đến 1,877 (Phụ lục 6.5).

Khoảng chưng cất (Phụ lục 6.8)
Chế phẩm được cất hoàn toàn ở nhiệt độ từ 49,0 °C đến 51,0 °C và 95 % chế phẩm được cất trong khoảng nhiệt độ chênh lệch 1,0 °C.

Tạp chất bay hơi
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).
Không được quá 0,005 %.
Sử dụng triclorotrifluoroethan chuẩn làm chất chuẩn nội.
Dung dịch thử (1): Sử dụng chế phẩm.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 5,0 ml triclorotrifluoroethan chuẩn thành 100,0 ml bằng chế phẩm. Pha loãng tiếp 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng chế phẩm. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng chế phẩm.
Điều kiện sắc ký:
Cột thủy tinh (2,75 m × 5 mm) được nhồi diatomit đã được silan hóa dùng cho sắc ký khí có kích thước từ 180 µm đến 250 µm; 1,8 m đầu tiên được tẩm với 30 % (kl/kl) của *macrogol 400 (TT)* và phần còn lại được tẩm với 30 % (kl/kl) của *dinonyl phthalat (TT).*
Khí mang: *Nitrogen dùng cho sắc ký khí*, lưu lượng là 30 ml/min.
Detector ion hóa ngọn lửa.
Nhiệt độ cột ở 50 °C.
Thể tích tiêm: 5 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm các dung dịch thử. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2), tổng diện tích các pic phụ, trừ pic chính và pic chuẩn nội, không được lớn hơn diện tích pic chuẩn nội, hiệu chỉnh nếu bất kỳ pic tạp nào có cùng thời gian lưu với pic chuẩn nội.

Bromid và clorid
Dung dịch S: Lấy 10 ml chế phẩm thêm vào 20 ml *nước* và lắc trong 3 min và lấy lớp nước.
Lấy 5 ml dung dịch S thêm vào 5 ml *nước*, 0,05 ml *acid nitric (TT)* và 0,2 ml *dung dịch bạc nitrat 4,25 % (TT).* Dung dịch này không được đục hơn hỗn hợp của 5 ml dung dịch S và 5 ml *nước*.

Brom và clor
Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 1 ml *dung dịch kali iodid - tinh bột (TT).* Không được có màu xanh.

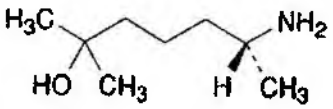
Thymol
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).
Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan 0,10 g *menthol (TT)* trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử: Lấy 20,0 ml chế phẩm và thêm vào 5,0 ml dung dịch chuẩn nội.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20,0 mg *thymol (TT)* trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng cùng dung môi. Lấy 20 ml dung dịch thu được và thêm 5,0 ml dung dịch chuẩn nội.
Điều kiện sắc ký:
Cột mao quản silica nung chảy (15 m × 0,53 mm) được bao một lớp phim mỏng 1,5 µm *poly (dimethyl) siloxan.*
Khí mang: *Nitrogen dùng cho sắc ký khí*, lưu lượng 15 ml/min.
Detector ion hóa ngọn lửa.
Nhiệt độ: Cột ở 150 °C, buồng tiêm ở 170 °C và detector ở 200 °C.
Thể tích tiêm: 1,0 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch chuẩn nội, dung dịch đối chiếu và dung dịch thử.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của pic thymol không được nhỏ hơn 75 % và không được lớn hơn 115 % diện tích của pic thymol trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu [0,008 % đến 0,012 % (kl/kl)].

Cắn không bay hơi
Không được quá 0,002 %.
Làm bay hơi 50 ml chế phẩm tới khô trên cách thủy và sấy cắn trong tủ sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 2 h. Khối lượng cắn còn lại không được quá 1 mg.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng, ở nhiệt độ không quá 25 °C. Nguyên liệu làm đồ đựng phải không tương kị với halothan.

Loại thuốc
Thuốc mê bay hơi hít qua đường thở.

HEPTAMINOL HYDROCLORID
Heptaminoli hydrochloridum



và đồng phân đối quang . HCl

$C_8H_{19}NO.HCl$ P.t.l.: 181,7

Heptaminol hydroclorid là (6*RS*)-6-amino-2-methyl-heptan-2-ol hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_8H_{19}NO.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hay gần như trắng.
Dễ tan trong nước, tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong methylen clorid.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của heptaminol hydroclorid chuẩn.
B. Ở mục Tạp chất liên quan, quan sát dưới ánh sáng ban ngày, dung dịch thử (2) phải cho vết chính có vị trí, màu sắc và kích thước tương ứng với vết chính của dung dịch đối chiếu (2).
C. Thêm 4 ml *nước* và 2 ml *dung dịch amoni ceri nitrat 20 % trong dung dịch acid nitric 4 M* vào 1 ml dung dịch S, màu nâu da cam xuất hiện.
D. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn màu mẫu VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Thêm 0,1 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)* và 0,3 ml *dung dịch acid hydroclorid 0,01 N (CĐ)* vào 10 ml dung dịch S, dung dịch phải có màu đỏ. Thêm 0,6 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)* dung dịch phải có màu vàng.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Amoniac - dioxan - 2-propanol (10 : 50 : 50).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml với *methanol (TT).*
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 3,0 ml dung dịch thử (1) thành 10,0 ml với *methanol (TT).* Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với *methanol (TT).*
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 0,10 g heptaminol hydroclorid chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10,0 mg tạp chất A chuẩn của heptaminol [(2*RS*)-6-methylhept-5-en-2-amin)] trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (3) thành 10,0 ml với *methanol (TT).*
Dung dịch đối chiếu (5): Lấy 2,5 ml dung dịch đối chiếu (3), thêm 0,5 ml dung dịch thử (2) và pha loãng thành 5 ml với *methanol (TT).*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl dung dịch thử (1), thử (2), đối chiếu (1), (2), (4) và (5). Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra và để khô ngoài không khí. Đặt bản mỏng trong bình bão hòa hơi iod ít nhất 15 h.
Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5) cho 2 vết chính tách nhau rõ ràng và dung dịch đối chiếu (1) cho 1 vết chính.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1): Vết tương ứng với vết tạp chất A không được có màu đậm hơn màu của vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,2 %); bất kỳ vết phụ nào ngoài vết chính và vết tạp chất A không được có màu đậm hơn màu của vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,6 %).

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 12 ml dung dịch S thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C; 4 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,140 g chế phẩm trong 50 ml *ethanol 96 % (TT)* và thêm 5,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ).*
Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ).*
Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Đọc thể tích đã tiêu thụ giữa 2 điểm uốn.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương ứng với 18,17 mg $C_8H_{19}NO.HCl$.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc
Thuốc điều trị hạ huyết áp.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN HEPTAMINOL
Tabellae Heptaminoli

Là viên nén chứa heptaminol hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng heptaminol, $C_8H_{19}NO.HCl$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Dioxan - 2-propanol - amoniac (50 : 50 : 10).

Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với 100 mg heptaminol hydroclorid với 10 ml *methanol (TT)*, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch heptaminol hydroclorid chuẩn nồng độ 10 mg/ml trong *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 3/4 bản mỏng. Lấy bản mỏng ra, để bay hết dung môi rồi đặt vào bình bão hòa hơi iod đến khi xuất hiện các vết. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, màu sắc, kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Lắc một lượng bột viên tương ứng với khoảng 100 mg heptaminol hydroclorid với 10 ml *nước*, lọc. Lấy 5 ml dịch lọc, thêm 2 ml *dung dịch amoni ceri nitrat 20 % trong acid nitric 4 M* sẽ xuất hiện màu nâu da cam.
C. Lắc một lượng bột viên tương ứng với 50 mg heptaminol hydroclorid với 20 ml *nước*, lọc. Dịch lọc cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

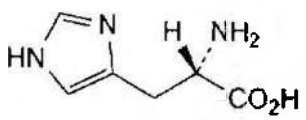
Định lượng
Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 140 mg heptaminol hydroclorid, hòa tan trong 50 ml *ethanol 96 % (TT)*, thêm 5,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Đọc thể tích dung dịch chuẩn độ tiêu thụ giữa 2 điểm uốn.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương ứng với 18,17 mg $C_8H_{19}NO.HCl$.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Điều trị hạ huyết áp.

Hàm lượng thường dùng
187,8 mg heptaminol hydroclorid.

HISTIDIN
Histidinum



$C_6H_9N_3O_2$ P.t.l: 155,2

Histidin là acid (*S*)-2-amino-3-(imidazol-4-yl)propanoic, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_6H_9N_3O_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hay gần như trắng hoặc tinh thể không màu, tan trong nước, rất khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của histidin chuẩn. Nếu phổ hấp thụ hồng ngoại của mẫu thử và mẫu chuẩn khác nhau thì hòa tan riêng rẽ chế phẩm và histidin chuẩn trong một thể tích tối thiểu *nước*, bay hơi đến khô ở 60 °C và ghi phổ mới các cặn thu được.
B. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu phép thử Góc quay cực riêng.
C. Trong phần Các chất dương tính với ninhydrin, vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải tương tự về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
D. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 7 ml *nước* và thêm 3 ml *dung dịch natri hydroxyd 20 % (TT)*. Hòa tan 50 mg *acid sulfanilic (TT)* trong hỗn hợp gồm 0,1 ml *acid hydrocloric (TT)* và 10 ml *nước*, thêm 0,1 ml *dung dịch natri nitrit 10 % (TT)*. Thêm dung dịch thứ hai vào dung dịch thứ nhất và trộn đều. Màu đỏ cam tạo thành.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước cất* bằng cách đun nóng trong cách thủy và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn màu mẫu VN_7 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực riêng
Từ +11,4° đến +12,4°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 2,75 g chế phẩm trong 12,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml bằng *nước*.

Chất dương tính với ninhydrin
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel.
Dung môi khai triển: Butanol - acid acetic băng - nước (60 : 20 : 20).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 50 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg histidin chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5 ml dung dịch thử (2) thành 20 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10 mg histidin chuẩn và 10 mg prolin chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 2/3 chiều dài bản mỏng. Để khô bản mỏng ngoài không khí và phun *dung dịch ninhydrin 0,2 % (TT)*. Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 15 min. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (1), bất kỳ vết phụ nào,

ngoài vết chính không được đậm màu hơn vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) cho 2 vết tách rõ ràng.

Clorid
Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.5).
Pha loãng 5 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Sulfat
Không được quá 0,03 % (Phụ lục 9.4.14).
Pha loãng 10 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Amoni
Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.1).
Lấy 50 mg chế phẩm và tiến hành thử theo phương pháp B. Dùng 0,1 ml *dung dịch amoni mẫu 100 phần triệu NH_4 (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.13)
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*. Chiết 3 lần, mỗi lần với 10 ml *methyl isobutyl keton (TT_1)* và lắc trong 3 min. Tập trung dịch chiết hữu cơ, thêm 10 ml *nước* và lắc trong 3 min. Lấy lớp nước và tiến hành thử.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 3 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và 15 ml *nước* bằng cách đun nóng nhẹ nếu cần, và pha loãng thành 20 ml bằng *nước*. Lấy 12 ml dung dịch thu được thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

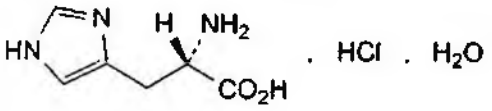
Định lượng
Hòa tan 0,130 g chế phẩm trong 50 ml *nước*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 15,52 mg $C_6H_9N_3O_2$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Acid amin.

Chế phẩm
Viên nén, nang, thuốc tiêm.

HISTIDIN HYDROCLORID MONOHYDRAT
Histidini hydrochloridum monohydricum



$C_6H_9N_3O_2.HCl.H_2O$ P.t.l: 209,6

Histidin hydroclorid monohydrat là acid (2*S*)-2-amino-3-(1*H*-imidazol-4-yl)propanoic hydroclorid monohydrat, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_6H_{10}ClN_3O_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng hoặc tinh thể không màu, dễ tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B, C, F.
Nhóm II: B, C, D, E, F.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của histidin hydroclorid monohydrat chuẩn.
B. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu phép thử Góc quay cực riêng.
C. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu phép thử pH.
D. Trong phần Các chất dương tính với ninhydrin, vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải tương tự về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
E. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 7 ml *nước* và thêm 3 ml *dung dịch natri hydroxyd 20 % (TT)*. Hòa tan 50 mg *acid sulfanilic (TT)* trong hỗn hợp 0,1 ml *acid hydrocloric (TT)* và 10 ml *nước*, thêm 0,1 ml *dung dịch natri nitrit 10 % (TT)*. Thêm dung dịch thứ hai vào dung dịch thứ nhất và trộn đều. Màu đỏ cam tạo thành.
F. Khoảng 20 mg chế phẩm cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn màu mẫu VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Từ 3,0 đến 5,0 (Phụ lục 6.2).
Dùng dung dịch S để đo.

Góc quay cực riêng
Từ +9,2° đến +10,6°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 2,75 g chế phẩm trong 12,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với *nước*.

Chất dương tính với ninhydrin
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel.
Dung môi khai triển: Butanol - acid acetic băng - nước (60 : 20 : 20).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 50 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg histidin hydroclorid monohydrat chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5 ml dung dịch thử (2) thành 20 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10 mg histidin hydroclorid monohydrat chuẩn và 10 mg prolin chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Làm khô vết chấm bằng luồng không khí. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí và phun *dung dịch ninhydrin 0,2 % (TT)*. Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 15 min. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (1), bất kỳ vết phụ nào, ngoài vết chính không được đậm màu hơn vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) cho 2 vết tách rõ ràng.

Sulfat
Không được quá 0,03 % (Phụ lục 9.4.14).
Pha loãng 10 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Amoni
Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.1).
Lấy 50 mg chế phẩm và tiến hành thử theo phương pháp B. Dùng 0,1 ml *dung dịch amoni mẫu 100 phần triệu NH_4 (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).
Trong một bình gạn, hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*. Chiết 3 lần, mỗi lần với 10 ml *methyl isobutyl keton (TT_1)* và lắc trong 3 min. Gộp các lớp dung môi hữu cơ đã chiết, thêm 10 ml *nước* và lắc trong 3 min. Lấy lớp nước và tiến hành thử.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Lấy 12 ml dung dịch thu được thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Từ 7,0 % đến 10,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 145 °C đến 150 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

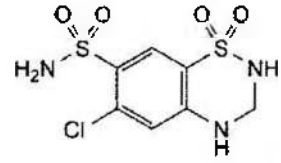
Định lượng
Hòa tan 0,160 g chế phẩm trong 50 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 19,16 mg $C_6H_{10}ClN_3O_2$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Acid amin.

Chế phẩm
Viên nén, nang, thuốc tiêm.

HYDROCLOROTHIAZID
Hydrochlorothiazidum



$C_7H_8ClN_3O_4S_2$ P.t.l: 297,7

Hydroclorothiazid là 6-cloro-3,4-dihydro-2*H*-1,2,4-benzothiadiazin-7-sulfonamid 1,1-dioxyd, phải chứa từ 97,5 % đến 102,0 % $C_7H_8ClN_3O_4S_2$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng, đa hình.
Rất khó tan trong nước, hơi tan trong ethanol 96 %, tan trong aceton, tan trong dung dịch hydroxyd kiềm loãng.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của hydroclorothiazid chuẩn. Nếu phổ của chế phẩm và chất chuẩn ở trạng thái rắn khác nhau, hòa tan riêng rẽ chế phẩm và chuẩn trong *ethanol (TT_1)*, bốc hơi đến khô, ghi phổ của cắn thu được.
B. Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT)*. Đo phổ hấp thụ tử ngoại của dung dịch thu được trong khoảng bước

sóng từ 250 nm đến 350 nm, dung dịch phải có cực đại hấp thụ ở các bước sóng 273 nm và 323 nm. Tỷ số giữa độ hấp thụ đo được tại bước sóng 273 nm và tại bước sóng 323 nm phải từ 5,4 đến 5,7.

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *aceton (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50 mg hydroclorothiazid chuẩn trong *aceton (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 25 mg clorothiazid chuẩn trong dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 2 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 1/2 bản mỏng. Để khô bản mỏng trong không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc đồ của dung dịch thử phải tương tự về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho hai vết tách biệt rõ ràng.

D. Đun nóng nhẹ khoảng 1 mg chế phẩm với 2 ml dung dịch mới pha có chứa 0,05 % *muối natri của acid chromotropic (TT)* trong hỗn hợp đã nguội gồm 35 thể tích *nước* và 65 thể tích *acid sulfuric (TT)*. Có màu tím xuất hiện.

Giới hạn acid - kiềm

Lắc 0,5 g chế phẩm dạng bột với 25 ml *nước* trong 2 min và lọc. Lấy 10 ml dịch lọc, thêm 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)* và 0,15 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)*. Dung dịch phải có màu vàng. Lượng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* cần dùng để làm dung dịch chuyển sang màu đỏ không quá 0,4 ml.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Thêm 60,0 ml *methanol (TT_2)* và 10,0 ml *tetrahydrofuran (TT)* vào 940 ml *dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (TT_1)* và trộn đều.

Pha động B: Thêm 50,0 ml *tetrahydrofuran (TT)* vào hỗn hợp gồm 500 ml *methanol (TT_2)* và 500 ml *dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (TT_1)* và trộn đều.

Hỗn hợp dung môi: Pha loãng 50,0 ml hỗn hợp đồng thể tích của *acetonitril (TT_1)* và *methanol (TT_2)* thành 200,0 ml bằng *dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (TT_1)*.

Dung dịch thử (1): Hòa tan 30,0 mg chế phẩm trong 5 ml hỗn hợp đồng thể tích của *acetonitril (TT_1)* và *methanol (TT_2)*, siêu âm nếu cần, sau đó pha loãng thành 20,0 ml bằng *dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (TT_1)*.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 20,0 ml bằng *dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (TT_1)*.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 3,0 mg clorothiazid chuẩn (tạp chất A) và 3 mg hydroclorothiazid chuẩn trong 5 ml hỗn hợp đồng thể tích của *acetonitril (TT_1)* và *methanol (TT_2)*, siêu âm nếu cần, sau đó pha loãng thành 20,0 ml bằng *dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (TT_1)*. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 30,0 mg hydroclorothiazid chuẩn trong 5 ml hỗn hợp đồng thể tích của của *acetonitril (TT_1)* và *methanol (TT_2)*, siêu âm nếu cần, và pha loãng thành 20,0 ml bằng *dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (TT_1)*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng *dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (TT_1)*.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 3 mg hydroclorothiazid chuẩn dùng để định tính pic (chứa tạp chất B và C) trong 0,5 ml hỗn hợp đồng thể tích của của *acetonitril (TT_1)* và *methanol (TT_2)*, siêu âm nếu cần, và pha loãng thành 2,0 ml bằng *dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (TT_1)*.

Điều kiện sắc ký:

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

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 224 nm.

Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1), (2) và (4).

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 17	100 → 55	0 → 45
17 - 30	55	45

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) để xác định pic của tạp chất A. Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo hydroclorothiazid chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của các tạp chất B và C.

Thời gian lưu tương đối so với hydroclorothiazid (thời gian lưu khoảng 8 min): Tạp chất B khoảng 0,7; tạp chất A khoảng 0,9; tạp chất C khoảng 2,8.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất A và pic của hydroclorothiazid ít nhất là 2,5.

Giới hạn:

Tạp chất A, B, C: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).

Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 10 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: 6-Cloro-2*H*-1,2,4-benzothiadiazin-7-sulfonamid 1,1-dioxyd (clorothiazid).

Tạp chất B: 4-Amino-6-clorobenzen-1,3-disulfonamid (salamid).

Tạp chất C: 6-Cloro-*N*-[(6-cloro-7-sulfamoyl-2,3-dihydro-4*H*-1,2,4-benzothiadiazin-4-yl 1,1-dioxid)methyl]-3,4-dihydro-2*H*-1,2,4-benzothiadiazin-7-sulfonamid 1,1-dioxyd.

Clorid

Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.4.5).

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 25 ml *aceton (TT)* và pha loãng thành 30 ml bằng *nước*. Dùng 15 ml dung dịch thu được để thử.

Dung dịch đối chiếu: Thêm 5 ml *aceton (TT)* chứa 15 % (tt/tt) *nước* vào 10 ml *dung dịch clorid mẫu 5 phần triệu Cl (TT)*.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 4	80	20
4 - 10	80 → 20	20 → 80

Tốc độ dòng: 1,6 ml/min.

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

Thời gian lưu tương đối so với hydroclorothiazid (thời gian lưu khoảng 2,2 min): Tạp chất A khoảng 0,9.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất A và pic của hydroclorothiazid ít nhất là 2,0.

Tính hàm lượng của $C_7H_8ClN_3O_4S_2$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (3) và hàm lượng của $C_7H_8ClN_3O_4S_2$ trong hydroclorothiazid chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín.

Loại thuốc

Lợi tiểu thiazid.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN HYDROCLOROTHIAZID

Tabellae Hydrochlorothiazidi

Là viên nén chứa hydroclorothiazid.

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

Hàm lượng hydroclorothiazid, $C_7H_8ClN_3O_4S_2$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan một lượng bột viên đã nghiền nhỏ có chứa 10 mg hydroclorothiazid với 10 ml *aceton (TT)*, lọc.

Dung dịch đối chiếu: Pha dung dịch hydroclorothiazid chuẩn 0,1 % trong *aceton (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra làm khô bằng một luồng khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Sau đó tiếp tục phun bản mỏng *dung dịch acid sulfuric 20 % trong ethanol 96 % (TT).* Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 30 min và ngay lập tức đặt vào bình thủy tinh kín chứa hơi acid nitric trong 15 min [hơi acid nitric có thể được tạo ra bằng cách nhỏ từng giọt *dung dịch acid sulfuric 7 M (TT)* vào một dung dịch chứa 10 % *natri nitrit (TT)* và 3 % *kali iodid (TT)*]. Đặt bản mỏng dưới một luồng khí ẩm trong 15 min và phun *dung dịch N-(1-naphthyl) ethylendiamin dihydroclorid 0,5 % trong ethanol 96 %.* Nếu cần, để khô và phun lại một lần nữa. Ở mỗi cách phát hiện, vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, màu sắc và độ đậm với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Tetrahydrofuran - methanol - dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (TT_1*)* (10 : 60 : 940).

Pha động B: Tetrahydrofuran - methanol - dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (TT_1*)* (50 : 500 : 500).

Dung dịch thử: Chiết một lượng bột thuốc đã nghiền chứa 50 mg hydroclorothiazid với 25 ml hỗn hợp đồng thể tích *acetonitril (TT)* và *methanol (TT)* (dung môi A) và pha loãng thành 100 ml bằng *dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (*TT_1*)*. Lọc qua phễu lọc sợi thủy tinh (Whatman 0,45 µ GD/X là loại thích hợp).

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng hỗn hợp *methanol - acetonitril - dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (*TT_1*)* (1 : 1 : 2).

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 15 mg hydroclorothiazid chuẩn và 15 mg clorothiazid chuẩn trong 25 ml dung môi A rồi pha loãng thành 100 ml bằng *dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (*TT_1*)*. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml với dung môi A.

Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) nhồi pha tĩnh C (3 µm) (Cột Phenosphere ODS 3 µ là phù hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 224 nm.
Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Cân bằng cột ít nhất 20 min bằng pha động A. Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Chú thích
0 - 17	100 → 55	0 → 45	Gradient tuyến tính
17 - 30	55	45	Đẳng dòng
30 - 35	55 → 100	45 → 0	Gradient tuyến tính
35 - 50	100	0	Đẳng dòng
50 = 0	100	0	Trở về thành phần dung môi ban đầu

Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2), hệ số phân giải giữa pic hydroclorothiazid và clorothiazid không nhỏ hơn 2,5. Nếu cần thì điều chỉnh tỉ lệ pha động hoặc chương trình thời gian của gradient tuyến tính.
Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử diện tích của bất kỳ pic phụ nào không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1 %) và tổng diện tích của các pic phụ không được lớn hơn 2,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (2,5 %).
Bỏ qua bất kỳ pic nào có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).

Định lượng
Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 30 mg hydroclorothiazid, thêm 50 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*, lắc 20 min và thêm *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* đến vừa đủ 100 ml. Lắc đều, lọc, hút chính xác 5 ml dịch lọc pha loãng đến vừa đủ 100 ml bằng *nước*. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở cực đại 273 nm.
Tính hàm lượng hydroclorothiazid, $C_7H_8ClN_3O_4S_2$, theo A (1 %, 1cm). Lấy 520 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở cực đại 273 nm.

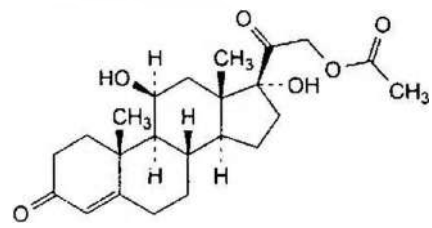
Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Thuốc lợi tiểu.

Hàm lượng thường dùng
25 mg, 100 mg.

HYDROCORTISON ACETAT

Hydrocortisoni acetas



$C_{23}H_{32}O_6$ P.t.l: 404,5

Hydrocortison acetat là 11β,17-dihydroxy-3,20-dioxopregn-4-en-21-yl acetat, phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % $C_{23}H_{32}O_6$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hay gần như trắng.
Thực tế không tan trong nước, khó tan trong ethanol khan và methylen clorid.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, C.
Nhóm II: B, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của hydrocortison acetat chuẩn.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi khai triển: Trộn đều hỗn hợp gồm 1,2 thể tích *nước*, 8 thể tích *methanol (TT)* với hỗn hợp gồm 15 thể tích *ether (TT)* và 77 thể tích *methylen clorid (TT)*.
Dung dịch thử (1): Hòa tan 25 mg chế phẩm trong *methanol (TT)*, pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi (dung dịch A). Pha loãng 2 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng *methylen clorid (TT)*.
Dung dịch thử (2): Lấy 2 ml dung dịch A cho vào ống nghiệm thủy tinh 15 ml có nút thủy tinh mài hoặc nắp bằng polytetrafluoroethylen. Thêm 10 ml *dung dịch bão hòa kali hydrocarbonat trong methanol (TT)* và ngay lập tức sục khí *nitrogen (TT)* đi qua trong 5 min. Đậy nút ống nghiệm. Đun nóng trong cách thủy ở 45 °C trong 2 h 30 min, tránh ánh sáng. Sau đó để nguội.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg hydrocortison acetat chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi (dung dịch B). Pha loãng 2 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng *methylen clorid (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Lấy 2 ml dung dịch B cho vào ống thủy tinh 15 ml có nút thủy tinh mài hoặc nắp bằng polytetrafluoroethylen. Thêm 10 ml *dung dịch bão hòa kali hydrocarborat trong methanol (TT)* và ngay lập tức sục khí *nitrogen (TT)* đi qua trong 5 min. Đậy nút ống nghiệm. Đun cách thủy ở 45 °C trong 2 h 30 min, tránh ánh sáng. Sau đó để nguội.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 3/4 bản mỏng, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trong mỗi sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải giống về vị trí và kích thước với vết chính thu được trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu tương ứng.

Phun *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT)* và sấy bản mỏng ở 120 °C trong 10 min, hoặc cho đến khi vết hiện rõ, để nguội. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày và tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính trên mỗi sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc dưới ánh sáng ban ngày, huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm và kích thước với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu tương ứng. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (2) có giá trị R_f thấp hơn rõ rệt giá trị R_f của vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (1).

C. Trong mục Định lượng: Pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải có thời gian lưu và diện tích tương tự thời gian lưu và diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4).

D. Thêm khoảng 2 mg chế phẩm vào 2 ml *acid sulfuric (TT)* và lắc đến khi tan. Trong vòng 5 min, màu đỏ nâu đậm dần lên có kèm ánh huỳnh quang xanh, huỳnh quang sẽ rõ hơn khi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Thêm vào dung dịch 10 ml *nước* và trộn đều. Màu sẽ nhạt dần và huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại không bị mất.

E. Khoảng 10 mg chế phẩm cho phản ứng của nhóm acetyl (Phụ lục 8.1).

Góc quay cực riêng

Từ +158° đến +167°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *dioxan (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng và tiến hành thử trong điều kiện tránh ánh sáng.

Pha động: Trộn đều 400 ml *acetonitril (TT)* với 550 ml *nước*, để cân bằng rồi thêm *nước* vừa đủ 1000 ml, trộn đều lại.

Hỗn hợp dung môi: *Acid acetic - nước - methanol* (1 : 10 : 90).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2 mg hydrocortison acetat chuẩn và 2 mg prednisolon acetat chuẩn (tạp chất C) trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 1,0 ml thu được thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5 mg hydrocortison acetat chuẩn dùng để định tính pic (chứa tạp chất A, B, D, E và G) trong 2,0 ml hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 25,0 mg hydrocortison acetat chuẩn trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1), (2) và (3). Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 4 lần thời gian lưu của hydrocortison acetat.

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo hydrocortison acetat chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của tạp chất A, B, D, E và G. Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) để xác định pic của tạp chất C.

Thời gian lưu tương đối so với hydrocortison acetat (thời gian lưu khoảng 10 min): Tạp chất A khoảng 0,4; tạp chất B khoảng 0,7; tạp chất C khoảng 0,9; tạp chất D khoảng 1,2; tạp chất G khoảng 1,8; tạp chất E khoảng 2,3.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất C và pic của hydrocortison acetat ít nhất là 1,5.

Giới hạn:

Tạp chất C: Diện tích pic tạp chất C không được lớn hơn 6 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,6 %).

Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).

Tạp chất B, D, E: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %).

Tạp chất G: Diện tích pic tạp chất G không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,15 %).

Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 15 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,5 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: 11β,17,21-Trihydroxypregn-4-en-3,20-dion (hydrocortison).

Tạp chất B: 11β,17-Dihydroxypregn-4-en-3,20-dion (oxenol).
Tạp chất C: 11β,17-Dihydroxy-3,20-dioxopregna-1,4-dien-21-yl acetat (prednisolon acetat).
Tạp chất D: 17-Hydroxy-3,11,20-trioxopregn-4-en-21-yl acetat (cortison acetat).
Tạp chất E: 17-Hydroxy-3,20-dioxopregna-4,9(11)-dien-21-yl acetat.
Tạp chất F: 11α,17-Dihydroxy-3,20-dioxopregn-4-en-21-yl acetat (*epi*-hydrocortison acetat).
Tạp chất G: 17-Hydroxy-3,20-dioxopregn-4-en-11β,21-diyl diacetat.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; chân không; 60 °C; 3 h).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (4).
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 1,5 lần thời gian lưu của hydrocortison acetat.
Thời gian lưu của hydrocortison acetat khoảng 10 min.
Tính hàm lượng của $C_{23}H_{32}O_6$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (4) và hàm lượng của $C_{23}H_{32}O_6$ trong hydrocortison acetat chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống viêm steroid.

Chế phẩm
Thuốc tiêm, kem, thuốc mỡ.

THUỐC MỠ HYDROCORTISON ACETAT
Unguentum Hydrocortisoni acetas

Là thuốc mỡ dùng ngoài, để bôi trên da có chứa hydrocortison acetat. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc mềm dùng trên da và niêm mạc" (Phụ lục 1.12) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng hydrocortison acetat, $C_{23}H_{32}O_6$, từ 90,0 % đến 110 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải cho pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic hydrocortison acetat trong sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Dicloromethan - ether - methanol - nước (77 : 15 : 8 : 1,2)
Thuốc mỡ có chứa trên 0,5 % (kl/kl) hydrocortison acetat
Dung dịch thử: Phân tán một lượng chế phẩm có chứa 25 mg hydrocortison acetat trong 5 ml *hexan (TT)* nóng, làm nguội, chiết với 10 ml *methanol 90 %* và lọc.
Dung dịch đối chiếu: Sử dụng một hỗn hợp đồng thể tích của dung dịch thử ở trên và một dung dịch có chứa 0,25 % hydrocortison acetat chuẩn trong *methanol (TT).*
Thuốc mỡ có chứa không lớn hơn 0,5 % (kl/kl) hydrocortison acetat
Dung dịch thử: Phân tán một lượng chế phẩm có chứa 5 mg hydrocortison acetat trong 5 ml *hexan (TT)* nóng, làm nguội, chiết với 10 ml *methanol 90 %* và lọc.
Dung dịch đối chiếu: Sử dụng một hỗn hợp đồng thể tích của dung dịch thử ở trên và một dung dịch có chứa 0,05 % hydrocortison acetat chuẩn trong *methanol (TT).*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 5 µl mỗi một dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí. Phun thuốc thử hiện màu *dung dịch xanh tetrazolium (TT).* Vết chính trên sắc ký đồ thu được với dung dịch thử phải phù hợp về vị trí và màu sắc với vết chính trong sắc ký đồ thu được với dung dịch đối chiếu. Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ thu được với dung dịch đối chiếu chỉ cho một vết chồng lên nhau của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - nước (1 : 1).
Thuốc mỡ có chứa trên 0,5 % (kl/kl) hydrocortison acetat
Dung dịch chuẩn nội: Dung dịch betamethason 0,5 % trong *methanol (TT).*
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác 25 mg hydrocortison acetat chuẩn, hòa tan trong 45 ml *methanol (TT)* thêm 5,0 ml dung dịch chuẩn nội và thêm *nước* vừa đủ 100,0 ml.
Dung dịch thử: Phân tán một lượng chế phẩm cân chính xác có chứa khoảng 25 mg hydrocortison acetat trong 100 ml *hexan (TT)* nóng, để nguội và chiết với 20 ml hỗn hợp được chuẩn bị bằng cách trộn 3 thể tích *methanol (TT)* và 1 thể tích *dung dịch natri clorid 15 %.* Tiếp tục chiết 2 lần nữa, mỗi lần 10 ml với cùng một dung môi chiết trên. Gộp các dịch chiết, thêm 5 ml *methanol (TT)* và thêm *nước* vừa đủ tới 100,0 ml. Trộn và lọc qua phễu lọc thủy tinh (Whatman GF/C là phù hợp).
Thuốc mỡ có chứa không lớn hơn 0,5 % (kl/kl) hydrocortison acetat
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác 5 mg hydrocortison acetat chuẩn, hòa tan trong 45 ml *methanol (TT),* thêm 5,0 ml dung dịch chuẩn nội betamethason 0,110 % trong *methanol (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 100,0 ml.
Dung dịch thử: Chuẩn bị một dung dịch thử theo cùng

một cách như trên, nhưng sử dụng một lượng chế phẩm có chứa 5 mg hydrocortison acetat.
Trong mỗi trường hợp chuẩn bị một dung dịch thứ 3 trong cùng một cách như dung dịch thử nhưng thêm 5,0 ml dung dịch chuẩn nội thay cho 5 ml methanol trước khi thêm *nước* tới vừa đủ 100,0 ml.
Điều kiện sắc ký :
Cột kích thước (10 cm × 5,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (Spherisorb ODS 1 là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 240 nm.
Tốc độ dòng 2 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký lần lượt các dung dịch trên.
Tính hàm lượng hydrocortison acetat, $C_{23}H_{32}O_6$, có trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{23}H_{32}O_6$ trong hydrocortison acetat chuẩn.

Bảo quản
Bảo quản trong bao bì kín, để ở nơi mát tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống viêm steroid.

Hàm lượng thường dùng
0,25 %, 1 %, 2,5 %.

THUỐC TIÊM HYDROCORTISON ACETAT
Injectio Hydrocortisoni acetas

Là hỗn dịch vô khuẩn của hydrocortison acetat trong dung môi thích hợp.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu qui định về hỗn dịch tiêm trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng hydrocortison acetat, $C_{23}H_{32}O_6$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Hỗn dịch màu trắng.

Định tính
Lấy chính xác một thể tích hỗn dịch tiêm tương ứng với khoảng 50 mg hydrocortison acetat, chiết 2 lần, mỗi lần với 10 ml *ether không có peroxyd (TT)*, bỏ dịch chiết ether. Lọc lớp nước còn lại qua phễu hút chân không. Rửa cặn trên phễu lọc với từng lượng *nước* nhỏ. Sấy khô cặn ở 105 °C trong 1 h. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cặn thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của hydrocortison acetat.

pH
5,0 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Định lượng
Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị một dung dịch của hydrocortison acetat chuẩn trong *ethanol 96 % (TT)* có nồng độ 0,01 mg/ml. Lấy chính xác 20 ml dung dịch trên cho vào bình nón nút mài 50 ml (bình A).
Dung dịch thử: Lấy chính xác một thể tích hỗn dịch chế phẩm tương ứng với khoảng 50 mg hydrocortison acetat, pha loãng với *nước* thành 15 ml. Chiết 4 lần, mỗi lần với 25 ml *cloroform (TT)*, lọc dịch chiết cloroform qua bông đã tẩm ướt bằng *cloroform (TT)* vào bình định mức 250 ml, thêm *cloroform (TT)* đến định mức, lắc đều. Lấy chính xác 10 ml dung dịch trên vào bình định mức 100 ml, thêm *cloroform (TT)* tới định mức. Lấy chính xác 10 ml dung dịch thu được cho vào bình nón nút mài 50 ml, bốc hơi cloroform trên cách thủy đến khô, để nguội, hòa tan cặn trong 20,0 ml *ethanol 96 % (TT)* (bình B).
Thêm vào mỗi bình chuẩn (A) và bình thử (B) 2,0 ml *dung dịch xanh tetrazolium 0,5 % trong ethanol 96 % (TT)*, tiếp tục thêm 2,0 ml hỗn hợp gồm *ethanol 96 % (TT)* và *dung dịch tetramethyl amoni hydroxyd (TT)* (9 : 1). Để yên trong tối 90 min. Song song tiến hành một mẫu trắng trong cùng điều kiện với 20,0 ml *ethanol 96 % (TT)*.
Đo ngay độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của các dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 525 nm, trong cốc đo dày 1 cm, so với mẫu trắng được chuẩn bị ở trên.
Tính hàm lượng hydrocortison acetat, $C_{23}H_{32}O_6$, trong mỗi ml hỗn dịch tiêm dựa vào độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{23}H_{32}O_6$ trong hydrocortison acetat chuẩn.

Bảo quản
Trong chai lọ kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống viêm steroid.

Hàm lượng thường dùng
25 mg/ml, 50 mg/ml.

THUỐC NHỎ MẮT HYDROCORTISON VÀ NEOMYCIN
Collyrium Hydrocortisoni et Neomycini

Thuốc nhỏ mắt hydrocortison và neomycin là hỗn dịch vô trùng của hydrocortison acetat trong dung dịch của neomycin sulfat trong nước.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nhỏ mắt" (Phụ lục 1.14) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng hydrocortison acetat, $C_{23}H_{32}O_6$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng neomycin, từ 90,0 % đến 130,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Hỗn dịch màu trắng đục, đồng nhất khi lắc kỹ.

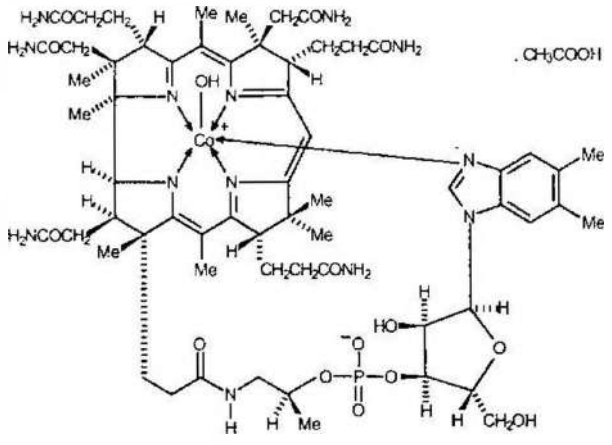
Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G.*
Dung môi khai triển: *Methanol - amoniac - cloroform* (60 : 40 : 20).
Dung dịch thử: Pha loãng một thể tích của thuốc nhỏ mắt chứa 3500 IU neomycin thành 2,5 ml bằng *nước*, lắc kỹ với 3 ml *cloroform (TT)*, ly tâm và sử dụng lớp nước phía trên.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch neomycin sulfat chuẩn 0,2 % trong *nước*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 chiều dài bản mỏng. Lấy bản mỏng ra và để bản mỏng khô ngoài không khí. Phun lên bản mỏng *dung dịch ninhydrin 1 % trong n-butanol (TT)* và sấy ở 105 °C trong 2 min. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.
B. Trong phần Định lượng hydrocortison acetat, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic hydrocortison acetat trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

pH
Từ 5,5 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).

Định lượng
Neomycin
Lấy chính xác một thể tích chế phẩm có chứa khoảng 3500 IU neomycin vào bình định mức 50 ml, thêm *dung dịch đệm số 2 (TT)* tới định mức. Pha loãng 10,0 ml dung dịch này với cùng một dung môi trên thành 100,0 ml. Tiến hành định lượng theo chuyên luận "Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật" (Phụ lục 13.9).
Hydrocortison acetat
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Butyl clorid - butyl clorid bão hòa nước - tetrahydrofuran - methanol - acid acetic băng* (95 : 95 : 14 : 7 : 6).
Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan một lượng cân chính xác fluoxymesteron trong *cloroform (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,8 mg/ml.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 10 mg hydrocortison acetat chuẩn, hòa tan trong 10,0 ml dung dịch chuẩn nội và 40,0 ml *cloroform (TT)*. Lọc.
Dung dịch thử: Lấy chính xác một thể tích chế phẩm, đã lắc kỹ và không có bọt khí, tương đương với 10 mg hydrocortison acetat vào bình gạn thích hợp. Thêm chính xác 10,0 ml dung dịch chuẩn nội và 40,0 ml *cloroform (TT)*, lắc kỹ trong khoảng 5 min và để phân lớp hoàn toàn. Lấy lớp cloroform làm dung dịch thử.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (30 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh A (10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn, thời gian lưu tương đối của hydrocortison acetat là 0,7 và fluoxymesteron là 1,0. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic hydrocortison acetat và chuẩn nội không nhỏ hơn 3,0; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic trong 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng hydrocortison acetat, $C_{23}H_{32}O_6$, trong chế phẩm dựa vào tỷ lệ giữa diện tích pic của hydrocortison acetat và diện tích pic chuẩn nội thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{23}H_{32}O_6$ trong hydrocortison acetat chuẩn.

Bảo quản
Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

HYDROXOCOBALAMIN ACETAT
Hydroxocobalamini acetas



$C_{62}H_{89}CoN_{13}O_{15}P.\ C_2H_4O_2$ P.t.l: 1406,0

Hydroxocobalamin acetat là Coα-[α-(5,6-dimethyl-benzimidazolyl)]-Coβ-hydroxocobamid acetat, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{62}H_{89}CoN_{13}O_{15}P.C_2H_4O_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh hoặc tinh thể màu đỏ đậm, tan trong nước và rất hút ẩm. Có thể bị phân hủy khi sấy khô.

Định tính
A. Hòa tan 2,5 mg chế phẩm trong dung dịch có chứa 0,8 % (tt/tt) *acid acetic khan (TT)* và 1,09 % *natri acetat (TT)* rồi

pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Phổ hấp thụ tử ngoại - khả kiến (Phụ lục 4.1) của dung dịch trên trong khoảng bước sóng 260 nm đến 610 nm có ba đỉnh hấp thụ cực đại ở bước sóng 274 nm, 351 nm và 525 nm. Tỷ số độ hấp thụ ở bước sóng 274 nm so với độ hấp thụ ở bước sóng 351 nm từ 0,75 đến 0,83. Tỷ số độ hấp thụ ở bước sóng 525 nm so với độ hấp thụ ở bước sóng 351 nm từ 0,31 đến 0,35.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Dung dịch amoniac 10 % - methanol (25 : 75).

Dung dịch thử: Hòa tan 2 mg chế phẩm trong 1 ml dung dịch đồng thể tích *ethanol 96 % (TT)* và *nước*.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 2 mg hydroxocobalamin acetat chuẩn trong 1 ml dung dịch đồng thể tích *ethanol 96 % (TT)* và *nước*.

Cách tiến hành: Tiến hành tránh ánh sáng.

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký trong bình sắc ký không bão hòa dung môi đến khi dung môi đi được 12 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

C. Chế phẩm phải cho phản ứng của acetat (Phụ lục 8.1).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3), dùng các dung dịch mới pha và tiến hành tránh ánh sáng.

Pha động: 19,5 thể tích *methanol (TT)* và 80,5 thể tích dung dịch có chứa 1,5 % *acid citric (TT)* và 0,81 % *dinatri hydrophosphat (TT)* trong *nước*.

Dung dịch thử: Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong pha động vừa đủ 10,0 ml.

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

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 10,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong 10 ml *nước*, làm nóng nếu cần thiết. Để nguội và thêm 1 ml *dung dịch cloramin T 2 % (TT)*, 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,05 M (TT)*, pha loãng thành 25 ml bằng *nước*. Lắc, để yên trong 5 min và tiêm ngay.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4 mm) nhồi pha tĩnh B (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 351 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 4 lần thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải có 3 pic chính và hệ số phân giải giữa hai pic gần nhau ít nhất là 3,0; sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) có 1 pic chính và tỷ số tín hiệu của pic này so với độ nhiễu đường nền ít nhất là 5.

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

Tổng diện tích của các pic phụ ngoài pic chính không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (5 %).

Bỏ qua tất cả các pic mà diện tích của chúng nhỏ hơn diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Mất khối lượng do làm khô

Từ 8,0 đến 12,0 % (Phụ lục 9.6).

(0,400 g; 100 °C đến 105 °C; áp suất không quá 0,7 kPa).

Định lượng

Cần phải tránh ánh sáng trong quá trình định lượng.

Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong dung dịch có chứa 0,8 % (tt/tt) *acid acetic khan (TT)* và 1,09 % *natri acetat (TT)*, rồi pha loãng đến 1000,0 ml bằng cùng dung môi. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch trên ở bước sóng cực đại 351 nm. Tính hàm lượng $C_{62}H_{89}CoN_{13}O_{15}P.C_2H_4O_2$ theo A (1 %, 1 cm), lấy 187 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở 351 nm.

Bảo quản

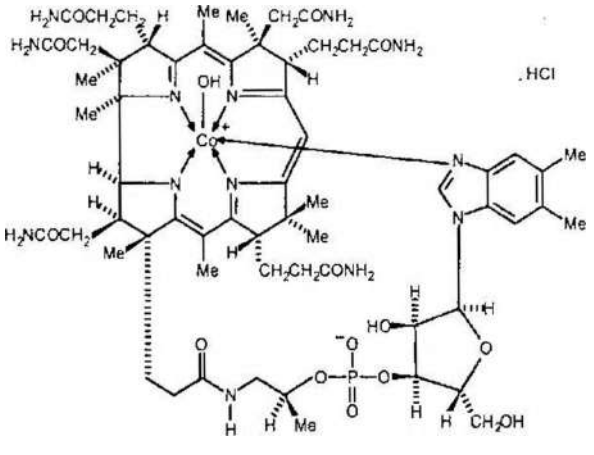
Trong bao bì kín và ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Vitamin B_{12}.

HYDROXOCOBALAMIN CLORID

Hydroxocobalamini chloridum



$C_{62}H_{89}CoN_{13}O_{15}P.HCl$ P.t.l: 1383,0

Hydroxocobalamin clorid là Coα-[α-(5,6-dimethyl-benzimidazolyl)]-Coβ-hydroxocobalamid clorid, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{62}H_{89}CoN_{13}O_{15}P.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh hoặc tinh thể màu đỏ đậm, tan trong nước và rất hút ẩm. Có thể bị phân hủy khi sấy khô.

Định tính

A. Hòa tan 2,5 mg chế phẩm trong dung dịch có chứa 0,8 % (tt/tt) *acid acetic khan (TT)* và 1,09 % *natri acetat (TT)* rồi pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Phổ hấp thụ tử ngoại - khả kiến (Phụ lục 4.1) của dung dịch trên trong khoảng bước sóng 260 nm đến 610 nm có ba đỉnh hấp thụ cực đại ở bước sóng 274 nm, 351 nm và 525 nm. Tỷ số độ hấp thụ ở bước sóng 274 nm so với độ hấp thụ ở 351 nm từ 0,75 đến 0,83. Tỷ số độ hấp thụ ở bước sóng 525 nm so với độ hấp thụ ở bước sóng 351 nm từ 0,31 đến 0,35.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Dung dịch amoniac 10 % - methanol (25 : 75).

Dung dịch thử: Hòa tan 2 mg chế phẩm trong 1 ml dung dịch đồng thể tích *ethanol 96 % (TT)* và *nước*.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 2 mg hydroxocobalamin clorid chuẩn trong 1 ml dung dịch đồng thể tích *ethanol 96 % (TT)* và *nước*.

Cách tiến hành: Tiến hành tránh ánh sáng.

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký trong bình sắc ký không bão hòa dung môi đến khi dung môi đi được 12 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

C. Chế phẩm phải cho phản ứng của clorid (Phụ lục 8.1).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3), sử dụng các dung dịch mới pha và trong điều kiện tránh ánh sáng.

Pha động: 19,5 thể tích *methanol (TT)* và 80,5 thể tích dung dịch có chứa 1,5 % *acid citric (TT)* và 0,81 % *dinatri hydrophosphat (TT)* trong *nước*.

Dung dịch thử: Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

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

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 10,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong 10 ml *nước*, làm nóng nếu cần thiết. Để nguội và thêm 1 ml *dung dịch cloramin T 2 % (TT)*, 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,05 M (TT)*, pha loãng thành 25 ml bằng *nước*. Lắc, để yên trong 5 min và tiêm ngay.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4 mm) nhồi bằng pha tĩnh B (5 µm).

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 351 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 4 lần thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải có 3 pic chính và hệ số phân giải giữa hai pic gần nhau ít nhất là 3,0; sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) có 1 pic chính và tỷ số tín hiệu của pic này so với độ nhiễu đường nền ít nhất là 5.

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

Tổng diện tích của các pic phụ ngoài pic chính không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (5 %).

Bỏ qua tất cả các pic mà diện tích của chúng nhỏ hơn diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Mất khối lượng do làm khô

Từ 8,0 đến 12,0 % (Phụ lục 9.6).

(0,400 g; 100 °C đến 105 °C; áp suất không quá 0,7 kPa).

Định lượng

Tránh ánh sáng trong quá trình định lượng.

Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong dung dịch có chứa 0,8 % (tt/tt) *acid acetic khan (TT)* và 1,09 % *natri acetat (TT)* rồi pha loãng thành 1000,0 ml với cùng dung môi. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch trên ở bước sóng cực đại 351 nm. Tính hàm lượng $C_{62}H_{89}CoN_{13}O_{15}P.HCl$ theo A (1 %, 1 cm), lấy 190 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở 351 nm.

Bảo quản

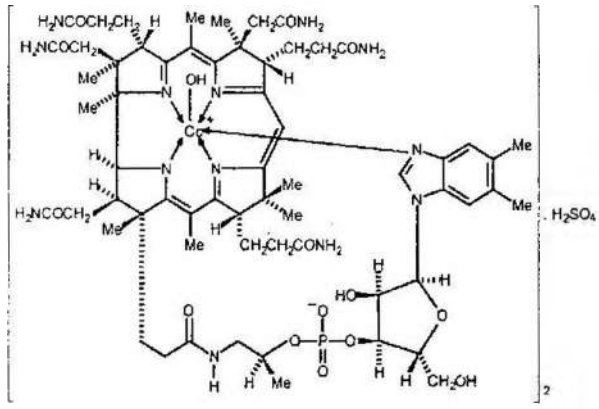
Trong bao bì kín, ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Vitamin B_{12}.

HYDROXOCOBALAMIN SULFAT

Hydroxocobalamini sulfas



$C_{124}H_{178}Co_2N_{26}O_{30}P_2.H_2SO_4$ P.t.l: 2791,0

Hydroxocobalamin sulfat là di-(Coα-[α-(5,6-dimethylbenzimidazolyl)]-Coβ-hydroxocobalamid) sulfat, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{124}H_{178}Co_2N_{26}O_{30}P_2.H_2SO_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh hoặc tinh thể màu đỏ đậm, tan trong nước và rất hút ẩm. Có thể bị phân hủy khi sấy khô.

Định tính

A. Hòa tan 2,5 mg chế phẩm trong dung dịch có chứa 0,8 % (tt/tt) *acid acetic khan (TT)* và 1,09 % *natri acetat (TT)* rồi pha loãng đến 100 ml với cùng dung môi. Phổ hấp thụ tử ngoại - khả kiến (Phụ lục 4.1) của dung dịch trên trong khoảng bước sóng 260 nm đến 610 nm có ba hấp thụ cực đại ở bước sóng 274 nm, 351 nm và 525 nm. Tỷ số độ hấp thụ ở bước sóng 274 nm so với độ hấp thụ ở bước sóng 351 nm từ 0,75 đến 0,83. Tỷ số độ hấp thụ ở bước sóng 525 nm so với độ hấp thụ ở bước sóng 351 nm từ 0,31 đến 0,35.

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

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Dung dịch amoniac 10 % - methanol* (25 : 75).

Dung dịch thử: Hòa tan 2 mg chế phẩm trong 1 ml dung dịch đồng thể tích *ethanol 96 % (TT)* và *nước*.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 2 mg hydroxocobalamin sulfat chuẩn trong 1 ml dung dịch đồng thể tích *ethanol 96 % (TT)* và *nước*.

Cách tiến hành: Tiến hành tránh ánh sáng.

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký trong bình sắc ký không bão hòa dung môi đến khi dung môi đi được 12 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

C. Chế phẩm phải cho phản ứng của sulfat (Phụ lục 8.1).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Sử dụng các dung dịch mới pha và trong điều kiện tránh ánh sáng.

Pha động: 19,5 thể tích *methanol (TT)* và 80,5 thể tích dung dịch có chứa 1,5 % *acid citric (TT)* và 0,81 % *dinatri hydrophosphat (TT)* trong *nước*.

Dung dịch thử: Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

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

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 10,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong 10 ml *nước*, làm nóng nếu cần thiết. Để nguội và thêm 1 ml *dung dịch cloramin T 2 % (TT)*, 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,05 M (TT)*. Pha loãng thành 25 ml bằng *nước*. Lắc, để yên trong 5 min và tiêm ngay.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4 mm) nhồi bằng pha tĩnh B (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 351 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm riêng biệt mỗi dung dịch trên và tiếp tục chạy sắc ký trong khoảng thời gian gấp 4 lần thời gian lưu của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải có 3 pic chính và hệ số phân giải giữa hai pic gần nhau ít nhất là 3,0; sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) có 1 pic chính và tỷ số tín hiệu của pic này so với độ nhiễu đường nền ít nhất là 5.

Giới hạn: Trong sắc ký đồ của dung dịch thử, tổng diện tích của các pic phụ ngoài pic chính không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (5 %). Bỏ qua tất cả các pic mà diện tích của chúng nhỏ hơn diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Mất khối lượng do làm khô

Từ 8,0 % đến 16,0 % (Phụ lục 9.6).

(0,400 g; 100 °C đến 105 °C; áp suất không quá 0,7 kPa).

Định lượng

Cần phải tránh ánh sáng trong quá trình định lượng.

Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong dung dịch có chứa 0,8 % (tt/tt) *acid acetic khan (TT)* và 1,09 % *natri acetat (TT)* rồi pha loãng đến 1000,0 ml với cùng dung môi. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch trên ở bước sóng cực đại 351 nm. Tính hàm lượng $C_{124}H_{178}Co_2N_{26}O_{30}P_2.H_2SO_4$ theo A (1 %, 1 cm), lấy 188 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở 351 nm.

Bảo quản

Trong bao bì kín, ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Vitamin B_{12}.

THUỐC TIÊM HYDROXOCOBALAMIN

Injectio Hydroxocobalamini

Là dung dịch vô khuẩn của hydroxocobalamin acetat, hydroxocobalamin clorid hay hydroxocobalamin sulfat trong nước để pha thuốc tiêm có chứa acid acetic, acid hydrocloric hay acid sulfuric đủ để chỉnh pH khoảng 4,0. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng hydroxocobalamin, $C_{62}H_{89}CoN_{13}O_{15}P$, từ 95,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn của hydroxocobalamin khan.

Tính chất

Dung dịch trong, màu đỏ.

Định tính

Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử ở phần định lượng tại bước sóng 351 nm và 361 nm. Tỷ số giữa độ hấp thụ ở 361 nm và 351 nm là khoảng 0,65.

pH
3,8 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - dung dịch chứa 1,5 % acid citric và 0,81 % dinatri hydrophosphat (19,5 : 80,5).
Các dung dịch dưới đây phải được tiêm ngay sau khi pha và phải được tránh ánh sáng.
Dung dịch thử: Pha loãng chính xác một thể tích chế phẩm trong pha động để được dung dịch có nồng độ hydroxocobalamin là 0,10 %.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng dung dịch thử trong pha động để được dung dịch có nồng độ hydroxocobalamin là 0,005 %.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng dung dịch đối chiếu (1) trong pha động để được dung dịch có nồng độ hydroxocobalamin là 0,0001 %.
Dung dịch phân giải: Hòa tan một lượng muối hydroxocobalamin chuẩn tương ứng với 5 mg hydroxocobalamin trong *nước*, thêm 0,2 ml *dung dịch cloramin T 2 % (TT)* mới pha và 0,1 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,05 M (TT)*. Pha loãng thành 10 ml bằng *nước*. Lắc và để yên 5 min, rồi tiêm ngay.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm), được nhồi pha tĩnh B (5 µm) (Cột Lichrosorb 100 CH8/11 là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 351 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải có 3 pic chính và hệ số phân giải giữa các cặp pic liền kề phải không được nhỏ hơn 3,0, sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) có 1 pic chính và tỷ số tín hiệu trên nhiễu không nhỏ hơn 5.
Giới hạn:
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, tổng diện tích của các pic phụ ngoài pic chính không được lớn hơn 2 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (10 %). Bỏ qua tất cả các pic mà diện tích của chúng nhỏ hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 0,4 EU/µg hydroxocobalamin (Phụ lục 13.2).

Định lượng
Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng
Hút chính xác một thể tích chế phẩm tương ứng với 2,5 mg hydroxocobalamin khan vào bình định mức 100 ml, pha loãng đến định mức bằng dung dịch có chứa 0,8 % (tt/tt) *acid acetic băng* và 1,09 % *natri acetat*. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 351 nm. Tính hàm lượng hydroxocobalamin, $C_{62}H_{89}CoN_{13}O_{15}P$, trong chế phẩm theo A (1 %, 1 cm). Lấy 195 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở cực đại 351 nm.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Vitamin.

Hàm lượng thường dùng
Ống tiêm 1 mg/ml, 1 mg/4 ml, 500 µg/ml, 2 µg/ml.

HYDROXYETHYLCELULOSE
Hydroxyethylcellulosum

Hydroxyethylcelulose là celulose được *O*-(2-hydroxyethyl) hóa một phần.

Tính chất
Hạt hay bột trắng, trắng ngà hay trắng xám. Tan trong nước nóng và nước lạnh tạo dung dịch keo, thực tế không tan trong aceton, ethanol 96 % và toluen.

Định tính
Dung dịch S: Phân tán một lượng chế phẩm tương đương 1,0 g đã làm khô trong 50 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*. Sau 10 min, pha loãng thành 100 ml bằng *nước không có carbon dioxyd (TT)* và khuấy cho đến khi tan hoàn toàn.
A. Đun 10 ml dung dịch S đến sôi, dung dịch vẫn phải trong.
B. Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 0,3 ml *dung dịch acid acetic loãng (TT)* và 2,5 ml *dung dịch acid tanic 10 %*. Xuất hiện tủa bông màu trắng ngà, tủa này tan trong *dung dịch amoniac loãng (TT)*.
C. Trong ống nghiệm có chiều dài khoảng 160 mm, trộn đều 1 g chế phẩm với 2 g bột mịn *mangan sulfat (TT)*. Đặt mẩu giấy lọc đã được tẩm hỗn hợp mới pha gồm 1 thể tích *dung dịch diethanolamin 20 %* và 11 thể tích *dung dịch natri nitroprusiat 5 % (TT)* được điều chỉnh pH đến khoảng 9,8 bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* vào phần trên của ống nghiệm sâu khoảng 2 cm. Đun ống nghiệm trong dầu silicon ở nhiệt độ 190 °C đến 200 °C sao cho phần ngập trong dầu khoảng 8 cm. Trong vòng 10 min, giấy lọc sẽ có màu xanh lam. Tiến hành song song mẫu trắng trong cùng điều kiện.
D. Hòa tan hoàn toàn 0,2 g chế phẩm, không đun nóng, trong 15 ml *dung dịch acid sulfuric 70 %*. Đổ dung dịch vào 100 ml *nước* đá vừa đổ vừa khuấy đều, pha loãng thành 250 ml bằng *nước* đá. Lấy 1 ml dung dịch thu được vào ống nghiệm, làm lạnh ống nghiệm trong nước đá, thêm bằng cách nhỏ giọt 8 ml *acid sulfuric (TT)*, và trộn đều. Đun trên cách thủy trong chính xác 3 min, sau đó làm lạnh trong nước đá ngay lập tức. Khi hỗn hợp nguội, thêm cẩn thận 0,6 ml *dung dịch ninhydrin (TT_2)* và trộn đều. Để yên ở 25 °C. Màu hồng xuất hiện ngay lập tức và không chuyển thành màu tím trong vòng 100 min.

pH
Từ 5,5 đến 8,5 (Phụ lục 6.2).
Dùng dung dịch S để đo.

Độ nhớt biểu kiến
Từ 75 % đến 140 % giá trị ghi trên nhãn (Phụ lục 6.3).
Vừa khuấy, vừa thêm một lượng chế phẩm tương đương 2,00 g đã làm khô vào 50 g *nước*. Pha loãng thành 100,0 g bằng *nước*, khuấy đến khi tan hoàn toàn. Xác định độ nhớt bằng nhớt kế quay ở 25 °C, với tốc độ trượt 100 s^{-1} cho các chế phẩm có độ nhớt dự kiến nhỏ hơn 100 mPa·s, tốc độ 10 s^{-1} với các chế phẩm có độ nhớt dự kiến từ 100 mPa·s đến 20 000 mPa·s và tốc độ 1 s^{-1} với các chế phẩm có độ nhớt dự kiến trên 20 000 mPa·s. Nếu không đạt được tốc độ trượt chính xác là 1s^{-1}, 10 s^{-1}, 100 s^{-1} thì có thể áp dụng một tốc độ hơi lớn hơn và một tốc độ hơi nhỏ hơn và dùng phép nội suy.

Clorid
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.4.5).
Pha loãng 1 ml dung dịch S thành 30 ml bằng *nước*. Lấy 15 ml dung dịch thu được để tiến hành thử.

Nitrat
Không được quá 3,0 % tính theo chế phẩm đã làm khô với hydroxyethylcelulose có độ nhớt biểu kiến không lớn hơn 1000 mPa·s.
Không được quá 0,2 % tính theo chế phẩm đã làm khô với hydroxyethylcelulose có độ nhớt biểu kiến lớn hơn 1000 mPa·s
Xác định bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2), điện cực nitrat làm điện cực chỉ thị và điện cực bạc - bạc clorid trong dung dịch *amoni sulfat* 1,32 % làm điện cực đối chiếu,
Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.
Dung dịch đệm: Trộn 50 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* và 800 ml *nước*, thêm 135 g *kali dihydrophosphat (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml. Pha loãng 80 ml dung dịch thu được thành 2000 ml bằng *nước*.
Dung dịch chuẩn nitrat (500 phần triệu NO_3): Hòa tan 0,8154 g *kali nitrat (TT)* trong 500 ml *dung dịch đệm* và pha loãng thành 1000,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong *dung dịch đệm* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dãy dung dịch đối chiếu: Nếu hydroxyethylcelulose có độ nhớt biểu kiến không lớn hơn 1000 mPa·s thì pha loãng 10,0 ml, 20,0 ml và 40,0 ml *dung dịch chuẩn nitrat (500 phần triệu NO_3)* thành 100,0 ml bằng *dung dịch đệm* và trộn đều. Nếu hydroxyethylcelulose có độ nhớt biểu kiến lớn hơn 1000 mPa·s thì pha loãng 1,0 ml, 2,0 ml và 4,0 ml *dung dịch chuẩn nitrat (500 phần triệu NO_3)* thành 100,0 ml bằng *dung dịch đệm* và trộn đều.
Đo các dung dịch, lập đường chuẩn và tính nồng độ nitrat trong mẫu thử từ đường chuẩn thu được.

Glyoxal
Không được quá 20 phần triệu.
Lấy 1,0 g chế phẩm cho vào ống nghiệm có nút mài, thêm 10,0 ml *ethanol khan (TT)*. Đậy ống nghiệm và lắc cơ học 30 min. Ly tâm. Lấy 2,0 ml dịch trong, thêm 5,0 ml *dung dịch methylbenzothiazolon hydrazon hydroclorid 0,4 % trong dung dịch acid acetic băng 80 % (tt/tt) trong nước*. Lắc cho đến khi đồng nhất. Sau 2 h, dung dịch không được đậm màu hơn mẫu đối chiếu được tiến hành đồng thời trong cùng điều kiện dùng 2,0 ml *dung dịch glyoxal mẫu 2 phần triệu $C_2H_2O_2$ (TT)* thay cho 2,0 ml dung dịch thử.

Ethylen oxyd
Không được quá 1 phần triệu (Phụ lục 10.15).
Phương pháp sắc ký khí tiêm pha hơi (Phụ lục 5.2).
Dung dịch thử: Lấy 1,00 g chế phẩm cho vào lọ dung tích 5 ml (có thể sử dụng lọ có thể tích khác tùy điều kiện thử nghiệm), thêm vào 1 ml *nước*. Chế phẩm không tan mà trương nở trong *nước*.
Dung dịch đối chiếu (1): Lấy 1,00 g chế phẩm cho vào lọ dung tích 5 ml. Thêm 0,1 ml *dung dịch ethylen oxyd (TT_2)* lạnh và 0,9 ml *nước*. Chế phẩm không tan mà trương nở trong *nước*.
Dung dịch đối chiếu (2): Thêm 0,1 ml *dung dịch acetaldehyd 10 mg/l* mới pha và 0,1 ml *dung dịch ethylen oxyd (TT_2)* vào lọ dung tích 5 ml.
Đậy kín các lọ ngay lập tức với nút có màng cao su butyl, bọc nhôm hoặc polytetrafluoroethylen và giữ chặt bằng nắp nhôm.

2-Cloroethanol
Không được quá 10 phần triệu.
Phương pháp sắc ký khí tiêm pha hơi (Phụ lục 5.2).
Dung dịch thử: Cân 50 mg chế phẩm cho vào lọ dung tích 10 ml (có thể sử dụng lọ có thể tích khác tùy điều kiện thử nghiệm). Thêm 2 µl *2-propanol (TT)*. Đậy kín và trộn đều.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,125 g *2-cloroethanol (TT)* trong *2-propanol (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng *2-propanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Cân 50 mg chế phẩm cho vào lọ dung tích 10 ml như trên. Thêm 2 µl dung dịch mẫu đối chiếu (1). Đậy kín và trộn đều.
Đậy nắp các lọ ngay lập tức với nút có màng cao su butyl, bọc nhôm hoặc polytetrafluoroethylen và giữ chặt bằng nắp nhôm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (50 m × 0,32 mm), pha tĩnh *poly(dimethyl) siloxan* (1,2 µm).
Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký khí*, vận tốc 25 - 35 cm/s.
Tỷ lệ chia dòng: 1 : 10.
Điều kiện tiêm pha hơi tĩnh có thể sử dụng: Nhiệt độ cân bằng: 110 °C, thời gian cân bằng: 20 min, nhiệt độ của hệ thống tiêm: 115 °C.
Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 6	60
	6 - 16	60 → 110
	16 - 31	110 → 230
	31 - 36	230
Buồng tiêm		150
Detector		250

Detector ion hóa ngọn lửa.
Thể tích tiêm: 2 ml.
Cách tiến hành:
Thời gian lưu của 2-cloroethanol khoảng 7,8 min.
Giới hạn:
Diện tích pic 2-cloroethanol trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic của 2-cloroethanol trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (2).

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 10,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, 105 °C, 3 h).

Tro sulfat
Không được quá 4,0 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Nhãn
Trên nhãn quy định độ nhớt biểu kiến tính theo milipascal. giây (mPa·s) cho dung dịch 2 % (kl/kl).

Công dụng
Tá dược.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

HYDROXYETHYLMETHYLCELULOSE
Hydroxyethylmethylcellulosum

Hydroxyethylmethylcelulose là celulose được *O*-methyl hóa và *O*-(2-hydroxyethyl) hóa từng phần.

Tính chất
Hạt hay bột trắng, trắng hơi vàng hoặc trắng xám, dễ hút ẩm sau khi sấy khô. Thực tế không tan trong nước nóng, aceton, ethanol, ether, toluen. Tan trong nước lạnh tạo dung dịch keo.

Định tính
Dung dịch S: Vừa khuấy vừa cho một lượng bột tương đương với 1,0 g chế phẩm đã làm khô vào 50 g *nước không có carbon dioxyd (TT)* đã được đun nóng đến 90 °C. Để nguội, thêm *nước không có carbon dioxyd (TT)* đến 100 g và khuấy cho đến khi tan hoàn toàn
A. Vừa khuấy vừa đun trong cách thủy 10 ml dung dịch S. Ở nhiệt độ trên 50 °C, dung dịch đục hoặc xuất hiện tủa bông. Dung dịch trong trở lại khi làm lạnh.
B. Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 0,3 ml *dung dịch acid acetic loãng (TT)* và 2,5 ml *dung dịch acid tanic 10 % (TT)*. Xuất hiện tủa bông màu trắng vàng, tủa này tan trong *dung dịch amoniac loãng (TT)*.
C. Trộn đều 1 g chế phẩm với 2 g bột mịn *mangan sulfat (TT)* trong ống nghiệm dài 160 mm. Đặt mẩu giấy lọc được tẩm hỗn hợp vừa được chuẩn bị gồm 1 thể tích *dung dịch diethanolamin 20 %* (tt/tt) và 11 thể tích *dung dịch natri nitroprusiat 5 % (TT)* đã được điều chỉnh pH đến khoảng 9,8 bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* vào phần trên của ống nghiệm sâu khoảng 2 cm. Đun cách dầu silicon ở 190 °C đến 200 °C sao cho ống nghiệm ngập trong dầu khoảng 8 cm. Giấy lọc phải có màu xanh lam trong vòng 10 min. Song song tiến hành mẫu trắng.
D. Hòa tan hoàn toàn 0,2 g chế phẩm (không đun nóng) trong 15 ml *dung dịch acid sulfuric 70 %* (kl/kl). Vừa để dung dịch vừa khuấy đều, vào 100 ml *nước đá* và pha loãng đến 250 ml với *nước đá*. Lấy 1 ml dung dịch trên cho vào ống nghiệm, làm lạnh trong nước đá và thêm 8 ml *acid sulfuric (TT)* bằng cách nhỏ giọt. Đun trong cách thủy chính xác trong 3 min, sau đó làm lạnh ngay trong nước đá. Khi hỗn hợp lạnh, thêm từ từ 0,6 ml *dung dịch ninhydrin (TT)*, trộn đều. Để yên ở 25 °C xuất hiện ngay màu hồng và không chuyển sang tím trong vòng 100 min.
E. Trải 1 ml dung dịch S lên mặt kính. Sau khi bốc hơi nước, một lớp film được tạo thành trên mặt kính.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu III (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn màu mẫu V_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
pH của dung dịch S phải từ 5,5 đến 8,0 (Phụ lục 6.2).

Độ nhớt biểu kiến
75 % đến 140 % giá trị ghi trên nhãn (Phụ lục 6.3).
Vừa khuấy vừa cho một lượng bột tương ứng với 6,0 g chế phẩm đã làm khô vào 150 g nước đã được làm nóng đến 90 °C. Khuấy bằng máy khuấy chân vịt 10 min làm lạnh trong nước đá và tiếp tục khuấy trong 40 min để hòa tan hoàn toàn. Điều chỉnh khối lượng đến 300 g, ly tâm dung dịch để đuổi hết khí. Điều chỉnh nhiệt độ dung dịch khoảng (20 ± 0,1) °C. Xác định độ nhớt bằng nhớt kế quay ở 20 °C với tốc độ trượt là 10 s^{-1}.

Clorid
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.4.5).
Pha loãng 1 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu. (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm và tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 10 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm đã làm khô.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Nhãn
Trên nhãn qui định độ nhớt tính theo milipascal giây (mPa·s) của dung dịch 2 % (kl/kl).

Loại thuốc
Tá dược.

HYDROXYPROPYLCELULOSE
Hyroxypropylcellulosum

Hyroxypropylcelulose là celulose được *O*-(2-hydroxypropyl) hóa một phần. Chứa không quá 0,6 % silic (SiO_2).

Tính chất
Hạt hay bột màu trắng hay trắng ngà. Sau khi sấy dễ hút ẩm. Tan trong nước lạnh, acid acetic băng, ethanol, methanol, propylen glycol, hỗn hợp chứa methanol và methylen clorid (10 : 90) tạo dung dịch keo. Tan ít hay hơi tan trong aceton tùy theo mức độ thế, thực tế không tan trong nước nóng, trong ethylen glycol và toluen.

Định tính
Dung dịch S: Cân lượng bột tương đương 1,0 g chế phẩm đã làm khô cho vào 50 g *nước không có carbon dioxyd (TT)* đã được đun nóng đến 90 °C. Để nguội, điều chỉnh đến khối lượng 100 g bằng *nước không có carbon dioxyd (TT)*, khuấy đến khi tan hoàn toàn.
A. Vừa khuấy vừa đun trong cách thủy 10,0 ml dung dịch S. Ở nhiệt độ trên 40 °C, dung dịch đục hoặc xuất hiện tủa bông. Dung dịch trong trở lại khi làm lạnh.
B. Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 0,3 ml *dung dịch acid acetic loãng (TT)* và 2,5 ml *dung dịch acid tanic 10 %*. Xuất hiện tủa bông màu trắng hơi vàng, tủa này tan trong *dung dịch amoniac loãng (TT)*.
C. Trộn đều 1,0 g chế phẩm với 2 g bột mịn *mangan sulfat (TT)* trong ống nghiệm dài 160 mm. Đặt mẩu giấy lọc được tẩm hỗn hợp vừa được chuẩn bị gồm 1 thể tích *dung dịch dietanolamin 20 %* (tt/tt) và 11 thể tích *dung dịch natri nitroprusiat 5 % (TT)* và đã được điều chỉnh pH đến khoảng 9,8 bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* vào phần trên của ống nghiệm sâu khoảng 2 cm. Đun cách dầu silicon ở 190 °C đến 200 °C sao cho ống nghiệm ngập trong dầu khoảng 8 cm. Giấy lọc phải có màu xanh lam trong vòng 10 min. Song song tiến hành mẫu trắng.
D. Hòa tan hoàn toàn 0,2 g chế phẩm (không đun nóng) trong 15 ml *dung dịch acid sulfuric 70 %* (kl/kl). Vừa khuấy vừa đổ dung dịch vào 100 ml *nước* đá và pha loãng đến 250 ml với *nước* đá. Lấy 1 ml dung dịch trên cho vào ống nghiệm, làm lạnh trong *nước* đá và thêm 8 ml *acid sulfuric (TT)* bằng cách nhỏ giọt. Đun trong cách thủy chính xác trong 3 min, sau đó làm lạnh ngay trong nước đá. Khi hỗn hợp lạnh, thêm từ từ 0,6 ml *dung dịch ninhydrin (TT)*, trộn đều để yên ở 25 °C. Xuất hiện ngay màu hồng và không chuyển sang tím trong vòng 100 min.
E. Trải 1 ml dung dịch S lên mặt kính. Sau khi bốc hơi nước, một lớp phim được tạo thành trên mặt kính.
F. 0,2 g chế phẩm không tan trong 10 ml *toluen (TT)* nhưng tan hoàn toàn trong 10 ml *ethanol (TT)*.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu III (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn màu mẫu V_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
pH của dung dịch S phải từ 5,0 đến 8,5 (Phụ lục 6.2).

Độ nhớt biểu kiến
75 % đến 140 % giá trị ghi trên nhãn (Phụ lục 6.3).
Vừa khuấy vừa cho một lượng bột tương ứng với 6,0 g chế phẩm đã được làm khô cho vào 150 g *nước* đã được làm nóng đến 90 °C. Khuấy bằng máy khuấy chân vịt trong 10 min, làm lạnh trong nước đá và tiếp tục khuấy trong 40 min để hòa tan hoàn toàn. Điều chỉnh khối lượng đến 300 g, ly tâm dung dịch để đuổi hết khí. Điều chỉnh nhiệt độ dung dịch khoảng (20 ± 0,1) °C. Xác định độ nhớt bằng nhớt kế quay ở 20 °C với tốc độ trượt là 10 s^{-1}.
Với chế phẩm có độ nhớt thấp, dùng lượng chế phẩm đủ để chuẩn bị dung dịch có nồng độ qui định trên nhãn.

Clorid
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.4.5).
Pha loãng 1 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm và tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 7,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,00 g, 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 1,6 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm và chén platin.

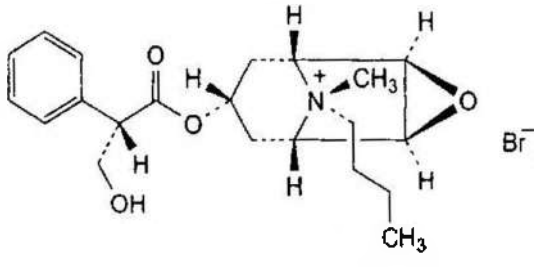
Silica
Không được quá 0,6 %.
Thêm một lượng vừa đủ *ethanol 96 % (TT)* vào cắn thu được ở mục Tro sulfat để thấm ướt cắn hoàn toàn. Thêm từng lượng nhỏ 6 ml *acid hydrofluoric*. Bốc hơi đến khô ở nhiệt độ 95 °C đến 105 °C, tiến hành cẩn thận để tránh mất mẫu. Làm lạnh và tráng thành chén platin bằng 6 ml *acid hydrofluoric*. Thêm 0,5 ml *acid sulfuric (TT)* và bốc hơi đến khô. Nâng dần nhiệt độ và nung ở 900 °C. Để nguội trong bình hút ẩm và cân. Lượng silica trong chế phẩm được tính bằng cách lấy lượng cắn thu được trong mục Tro sulfat trừ đi lượng cắn thu được.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Nhãn
Trên nhãn qui định độ nhớt tính theo milipascal giây của dung dịch 2 % (kl/kl).
Đối với chế phẩm có độ nhớt thấp phải qui định nồng độ dung dịch được dùng để xác định độ nhớt tính theo milipascal giây (mPa·s). Nếu cần, nhãn phải ghi sản phẩm chứa silica.

Loại thuốc
Tá dược.

HYOSCIN BUTYLBROMID
Hyoscini butylbromidum



$C_{21}H_{30}BrNO_4$ P.t.l: 440,4

Hyoscin butylbromid là (1*R*,2*R*,4*S*,5*S*,7*s*,9*r*)-9-butyl-7-[[(2*S*)-3-hydroxy-2-phenylpropanoyl]oxy]-9-methyl-3-oxa-9-azoniatricyclo-[3.3.1.0^{2,4}]nonan bromid, phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $C_{21}H_{30}BrNO_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan trong nước và trong methylen clorid, hơi tan trong ethanol khan.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B, F.
Nhóm II: B, C, D, E, F.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của hyoscin butylbromid chuẩn.
B. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Góc quay cực riêng.
C. Điểm chảy (Phụ lục 6.7) từ 139 °C đến 141 °C.
D. Lấy khoảng 1 mg chế phẩm, thêm 0,2 ml *acid nitric (TT)* và bốc hơi tới khô trên cách thủy. Hòa tan cắn trong 2 ml *aceton (TT)* và thêm 0,1 ml *dung dịch kali hydroxyd 3,0 % trong methanol*. Màu tím xuất hiện.
E. Thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* vào 5 ml dung dịch S (xem mục Độ trong và màu sắc dung dịch). Không có tủa tạo thành.
F. Chế phẩm cho phản ứng (A) của bromid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 1,25 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
pH của dung dịch S từ 5,5 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng
Từ -18° đến -20°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 5,8 g *natri dodecyl sulfat (TT)* trong hỗn hợp gồm 410 ml *acetonitril (TT)* và 605 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,7 % (TT)* đã được điều chỉnh đến pH 3,3 bằng *dung dịch acid phosphoric 0,05 M (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml bằng pha động. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 10,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5,0 mg tạp chất E chuẩn của hyoscin butylbromid trong pha động, thêm 1,0 ml dung dịch thử và pha loãng thành 10,0 ml bằng pha động. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (12,5 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh B (4 µm).
Nhiệt độ cột: (25 ± 1) °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 3,5 lần thời gian lưu của butylhyoscin.
Thời gian lưu tương đối so với butylhyoscin (thời gian lưu khoảng 7,0 min): Tạp chất B khoảng 0,1; tạp chất A

khoảng 0,36; tạp chất C khoảng 0,40; tạp chất D khoảng 0,7; tạp chất E khoảng 0,8; tạp chất F khoảng 0,9; tạp chất G khoảng 3,0.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic của tạp chất E và pic của butylhyoscin ít nhất là 1,5. Hệ số đối xứng của pic butylhyoscin không lớn hơn 2,5.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất B với 0,3; tạp chất G là 0,6.
Tạp chất B, C, D, E, F, G: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu cần, không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,4 %), bỏ qua pic của ion bromid xuất hiện gần pic dung môi.
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: (1*R*,2*R*,4*S*,5*S*,7*s*)-9-methyl-3-oxa-9-azatricyclo [3.3.1.$0^{2,4}$]non-7-yl (2*S*)-3-hydroxy-2-phenylpropanoat (hyoscin).
Tạp chất B: Acid (2*RS*)-3-hydroxy-2-phenylpropanoic (acid DL-tropic).
Tạp chất C: (1*R*,2*R*,4*S*,5*S*,7*s*)-7-[[(2*S*)-3-hydroxy-2-phenylpropanoyl]oxy]-9,9-dimethyl-3-oxa-9-azoniatricyclo[3.3.1.$0^{2,4}$] nonan (methylhyoscin).
Tạp chất D: (1*R*,2*R*,4*S*,5*S*,7*s*,9*r*)-7-[[(2*S*)-3-hydroxy-2-phenylpropanoyl] oxy]-9-methyl-9-propyl-3-oxa-9-azoniatricyclo[3.3.1.$0^{2,4}$]nonan (propylhyoscin).
Tạp chất E: (1*R*,2*R*,4*S*,5*S*,7*s*)-9-butyl-3-oxa-9-azatricyclo[3.3.1.$0^{2,4}$] nonan-7-yl (2*S*)-3-hydroxy-2-phenylpropanoat (*N*-butylhyoscin).
Tạp chất F: (1*R*,2*R*,4*S*,5*S*,7*s*,9*s*)-9-butyl-7-[[(2*S*)-3-hydroxy-2-phenylpropanoyl]oxy]-9-methyl-3-oxa-9-azoniatricyclo [3.3.1.$0^{2,4}$]nonan (pseudo-isomer).
Tạp chất G: (1*R*,2*R*,4*S*,5*S*,7*s*,9*r*)-9-butyl-9-methyl-7-[(2-phenylprop-2-enoyl)oxy]-3-oxa-9-azoniatricyclo[3.3.1.$0^{2,4}$]nonan (apo-*N*-butylhyoscin).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 2,5 % (Phụ lục 9.6).
(0,500 g, 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 0,5 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong 50 ml *nước*. Chuẩn độ bằng *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Dùng điện cực bạc làm điện cực chỉ thị, điện cực bạc - bạc clorid làm điện cực so sánh.
1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 44,04 mg $C_{21}H_{30}BrNO_4$.

Bảo quản
Trong bao bì kín và tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống co thắt.

Chế phẩm
Viên nén, thuốc tiêm.

VIÊN NÉN HYOSCIN BUTYLBROMID
Tabellae Hyoscini butylbromidi

Là viên nén chứa hyoscin butylbromid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng hyoscin butylbromid, $C_{21}H_{30}BrNO_4$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lắc một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg hyoscin butylbromid với 20 ml *cloroform (TT)*, lọc, bay hơi dịch lọc đến khô và phân tán cắn thu được trong 5 ml *acetonitril (TT)*. Bay hơi đến khô và làm khô cắn ở 50 °C, áp suất không quá 0,7 kPa trong 1 h. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của hyoscin butylbromid.
B. Lấy 1 mg cắn thu được trong phản ứng A, thêm 0,2 ml *acid nitric bốc khói (TT)* và bay hơi đến khô trên cách thủy. Hòa tan cắn trong 2 ml *aceton (TT)* và thêm 0,1 ml *dung dịch kali hydroxyd 3 % trong methanol* sẽ xuất hiện màu tím.
C. Lắc một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg hyoscin butylbromid với 20 ml *cloroform (TT)*, lọc, bay hơi dịch lọc đến khô. Lắc cắn với 50 ml *nước* và lọc. Phổ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng từ 230 đến 350 nm có cực đại hấp thụ ở 252 nm, 257 nm và 264 nm, và một vai ở 247 nm.

Hyoscin
Không được quá 0,1 %.
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 2,0 g *natri lauryl sulfat (TT)* trong hỗn hợp gồm 370 ml *acid hydrocloric 0,001 M (TT)* và 680 ml *methanol (TT)*.
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,1 g hyoscin butylbromid với 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,001 M (TT)*, siêu âm 15 min, ly tâm và lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch hyoscin hydrobromid chuẩn 0,001 % trong *dung dịch acid hydrocloric 0,001 M (TT)*.

Dung dịch phân giải: Pha loãng 10 µl dung dịch thử thành 10 ml với dung dịch đối chiếu.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (10 µm) (cột Lichrosorb C8, 10 µm là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch phân giải. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic hyoscin và butylhyoscin ít nhất là 5.
Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, diện tích của pic tương ứng với hyoscin không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (0,1 %).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel F_{254} hiệu năng cao (Bản mỏng Merck silica gel 60 F_{254} HPTLC là phù hợp).
Dung môi khai triển: Acid formic khan - nước - ethanol - dicloromethan (0,5 : 1,5 : 9 : 9).
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với khoảng 20 mg hyoscin butylbromid với 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*, ly tâm lấy dịch trong.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 3 thể tích dung dịch thử thành 100 thể tích bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT).*
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử thành 50 thể tích bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT).*
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử thành 400 thể tích bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT).*
Cách tiến hành:
Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl của mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra và làm khô ở 60 °C trong 15 min. Sau đó phun lên bản mỏng *dung dịch kali iodobismuthat (TT)* mới pha, để khô ngoài không khí và phun *dung dịch natri nitrit 5 % (TT)* và quan sát ngay.
Vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử có giá trị R_f khoảng 0,45. Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, bất cứ vết phụ nào có giá trị R_f nhỏ hơn giá trị R_f của vết chính thì không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) (3 %) và không được quá hai vết như vậy đậm hơn vết trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (3) (0,25 %), bất cứ vết phụ nào có giá trị R_f lớn hơn giá trị R_f của vết chính thì không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (2 %) và không được có quá một vết như vậy đậm hơn vết trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (3) (0,25 %).

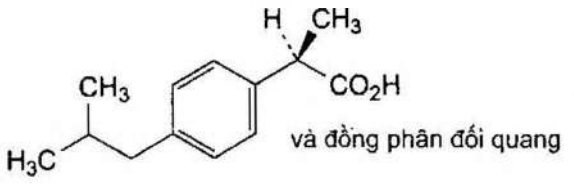
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, điều kiện sắc ký: Như mô tả trong mục Hyoscin.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, nghiền thành bột mịn. Cân một lượng bột viên tương ứng với 40 mg hyoscin butylbromid, thêm 60 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,001 M (TT)*, lắc kỹ, siêu âm 15 min, để nguội, pha loãng với *dung dịch acid hydrocloric 0,001 M (TT)* vừa đủ 100,0 ml, lắc đều. Ly tâm lấy dịch trong, lọc.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch hyoscin butylbromid chuẩn 0,04 % trong *dung dịch acid hydrocloric 0,001 M (TT).*
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng hyoscin butylbromid, $C_{21}H_{30}BrNO_4$, có trong viên dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{21}H_{30}BrNO_4$ của hyoscin butylbromid chuẩn.

Bảo quản
Ở nhiệt độ dưới 25 °C, nơi khô ráo, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống co thắt.

Hàm lượng thường dùng
10 mg.

IBUPROFEN
Ibuprofenum



$C_{13}H_{18}O_2$ P.t.l: 206,3

Ibuprofen là acid (2*RS*)-2-[4-(2-methylpropyl)phenyl] propanoic, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{13}H_{18}O_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng hay tinh thể không màu. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong aceton, methanol và methylen clorid. Tan trong các dung dịch hydroxyd kiềm loãng và carbonat kiềm.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của ibuprofen chuẩn.
B. Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung

dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 240 nm đến 300 nm, có hai cực đại hấp thụ ở bước sóng 264 nm và 272 nm và một vai ở bước sóng 258 nm. Tỷ số độ hấp thụ ở 264 nm và ở vai 258 nm từ 1,20 đến 1,30; tỷ số độ hấp thụ ở 272 nm và ở vai 258 nm từ 1,00 đến 1,10.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: n-Hexan - ethylacetat - acid acetic khan (71 : 24 : 5).

Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50 mg ibuprofen chuẩn trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm, lấy bản mỏng ra, sấy khô ở 120 °C trong 30 min. Phun lên bản mỏng *dung dịch kali permanganat 1,0 % trong dung dịch acid sulfuric 1 M* và sấy ở 120 °C trong 20 min. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

D. Điểm chảy phải từ 75 °C đến 78 °C (Phụ lục 6.7).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực

Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Góc quay cực (Phụ lục 6.4) của dung dịch thu được phải từ -0,05° đến +0,05°.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Trộn đều 0,5 ml *acid phosphoric (TT)*, 340 ml *acetonitril* (TT_1) và 600 ml *nước (TT)* để cân bằng rồi thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Pha động B: *Acetonitril* (TT_1).

Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong 2 ml *acetonitril* (TT_1) và pha loãng thành 10,0 ml bằng pha động A.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động A. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động A.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml tạp chất B chuẩn của ibuprofen thành 10,0 ml bằng *acetonitril* (TT_1) (dung dịch A). Hòa tan 20 mg ibuprofen chuẩn trong 2 ml *acetonitril* (TT_1), thêm 1,0 ml dung dịch A và pha loãng thành 10,0 ml bằng pha động A.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan ibuprofen chuẩn dùng để định tính pic (hỗn hợp tạp chất A, J và N) có trong 1 lọ chuẩn trong 1 ml *acetonitril* (TT_1) và pha loãng thành 5,0 ml bằng pha động A.

Điều kiện sắc ký:

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

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 214 nm.

Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 25	100	0
25 - 55	100 → 15	0 → 85
55 - 70	15	85

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo ibuprofen chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của tạp chất A, J và N.

Thời gian lưu tương đối so với ibuprofen (thời gian lưu khoảng 21 min): Tạp chất J khoảng 0,2; tạp chất N khoảng 0,3; tạp chất A khoảng 0,9; tạp chất B khoảng 1,1.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), tỷ số đỉnh - hõm (Hp/Hv) ít nhất là 1,5; trong đó Hp là chiều cao đỉnh pic tạp chất B so với đường nền và Hv là chiều cao tính từ đường nền lên đến đáy hõm giữa pic tạp chất B và pic ibuprofen. Nếu cần có thể điều chỉnh nồng độ acetonitril trong pha động A.

Giới hạn:

Tạp chất A, J, N: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,15 %).

Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,03 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: Acid (2*RS*)-2-[3-(2-methylpropyl)phenyl]propanoic.

Tạp chất B: Acid (2*RS*)-2-(4-butylphenyl)propanoic.

Tạp chất C: (2*RS*)-2-[4-(2-methylpropyl)phenyl]propanamid.

Tạp chất D: Acid (2*RS*)-2-(4-methylphenyl)propanoic.

Tạp chất E: 1-[4-(2-methylpropyl)phenyl]ethanon.

Tạp chất F: Acid 3-[4-(2-methylpropyl)phenyl]propanoic.

Tạp chất G: Acid (1*RS*,4*RS*)-7-(2-methylpropyl)-1-[4-(2-methylpropyl)phenyl]-1,2,3,4-tetrahydronaphthalen-1,4-dicarboxylic.

Tạp chất H: (3*RS*)-1,3-bis[4-(2-methylpropyl)phenyl]butan-1-on.

Tạp chất J: 1-(2-methylpropyl)-4-[(3*RS*)-3-[4-(2-methylpropyl)phenyl]butyl]benzen.

Tạp chất J: Acid (2*RS*)-2-[4-(2-methylpropanoyl)phenyl]propanoic.

Tạp chất N: Acid (2RS)-2-(4-ethylphenyl)propanoic.
Tạp chất K: Acid (2*RS*)-2-(4-formylphenyl)propanoic.
Tạp chất L: Acid 2-[4-(1-hydroxy-2-methylpropyl)phenyl]propanoic.
Tạp chất O: Acid 2-[4-(1-methylpropyl)phenyl]propanoic.
Tạp chất M: Acid (2*RS*)-2-hydroxy-2-[4-(2-methylpropyl)phenyl] propanoic.
Tạp chất P: (2*RS*)-2-[4-(2-methylpropyl)phenyl]propan-1-ol.
Tạp chất Q: 2-[4-(2-methylpropyl)phenyl]ethanol.
Tạp chất R: 1,1'-(ethan-1,1-diyl)-4,4'-(2-methylpropyl)dibenzen.

Tạp chất F
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2). Áp dụng phương pháp chuẩn hóa.
Dung dịch methyl hóa: Pha loãng 1 ml *N,N-dimethyl-formamid dimethylacetal (TT)* và 1 ml of *pyridin (TT)* thành 10 ml bằng *ethyl acetat (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong 1,0 ml *ethyl acetat (TT)* trong lọ có nắp kín, thêm 1 ml *dung dịch methyl hóa*, đậy kín và đun ở 100 °C trong 20 min. Để nguội. Bay hơi thuốc thử bằng luồng khí nitơ ở nhiệt độ phòng. Hòa tan cắn trong 5 ml *ethyl acetat (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,5 mg tạp chất F chuẩn của ibuprofen trong *ethyl acetat (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 50,0 mg ibuprofen chuẩn trong 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) trong lọ có nắp kín, thêm 1 ml *dung dịch methyl hóa*, đậy kín và đun ở 100 °C trong 20 min. Để nguội. Bay hơi thuốc thử bằng luồng khí nitơ ở nhiệt độ phòng. Hòa tan cắn trong 5 ml *ethyl acetat (TT)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột silica nung chảy kích thước (25 m × 0,53 mm) được phủ pha tĩnh *macrogol 20 000* (độ dày phim 2 µm).
Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký*.
Tốc độ dòng: 5,0 ml/min.
Nhiệt độ cột là 150 °C, nhiệt độ buồng tiêm là 200 °C, nhiệt độ detector là 250 °C.
Detector: Ion hóa ngọn lửa.
Thể tích tiêm: 1 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2).
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của ibuprofen.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Thời gian lưu tương đối so với ibuprofen (thời gian lưu khoảng 17 min) của tạp chất F khoảng 1,5.
Giới hạn:
Tạp chất F: không được quá 0,1 %.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 12 ml dung dịch S, tiến hành thử theo phương pháp 2. Dùng dung dịch chì mẫu 1 phần triệu được chuẩn bị bằng cách pha loãng *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb (TT)* bằng *methanol (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; trong chân không).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,450 g chế phẩm trong 50 ml *methanol (TT)*, chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*, dùng 0,4 ml *dung dịch phenolphtalein (TT_1)* làm chỉ thị. Song song tiến hành mẫu trắng trong cùng điều kiện.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 20,63 mg $C_{13}H_{18}O_2$.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Thuốc chống viêm không steroid.

Chế phẩm
Viên nén, nang, kem dùng ngoài, viên đạn đặt trực tràng.

VIÊN NÉN IBUPROFEN
Tabellae Ibuprofeni

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

Hàm lượng ibuprofen, $C_{13}H_{18}O_2$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lắc một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng khoảng 0,40 g ibuprofen với 15 ml *aceton (TT)*, lọc và để bay hơi dịch lọc tự nhiên tới khô. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại của ibuprofen chuẩn.
B. Cắn thu được ở trên, sau khi kết tinh lại với *ether dầu hỏa (TT)* (có khoảng sôi từ 40 °C đến 60 °C), có nhiệt độ nóng chảy khoảng 75 °C đến 78 °C.
C. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic ibuprofen trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *đệm phosphat chuẩn pH 7,2 (TT)*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 60 min.
Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau

khi hòa tan, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan để có nồng độ thích hợp và đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 221 nm. Tính hàm lượng ibuprofen, $C_{13}H_{18}O_2$, đã hòa tan tính theo A (1 %, 1 cm). Lấy 449 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng cực đại 221 nm.

Yêu cầu: Không ít hơn 85 % (Q) lượng ibuprofen so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 min.

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: n-Hexan - ethyl acetat - acid acetic băng (75 : 25 : 5).

Dung dịch thử: Chiết một lượng bột viên tương ứng khoảng 0,250 g ibuprofen với *cloroform (TT)*, chiết 3 lần, mỗi lần 10 ml *cloroform (TT)*, bay hơi dịch chiết còn khoảng 1 ml, thêm *cloroform (TT)* cho vừa đủ 5 ml.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100 ml với *cloroform (TT)*, lắc đều.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, để khô bản mỏng ngoài không khí, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch acid phosphoric 0,01 M - acetonitril (60 : 40).

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 100 mg ibuprofen chuẩn hòa tan trong pha động thành 50,0 ml, trộn đều.

Dung dịch thử: Cân 20 viên (đã được loại bỏ lớp bao, nếu cần) tính khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,2 g ibuprofen, thêm 60 ml pha động, lắc trong 20 min, thêm pha động vừa đủ 100,0 ml và trộn đều. Lọc hoặc li tâm.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm hoặc 10 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 224 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích đáp ứng từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2 %.

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

Tính hàm lượng ibuprofen, $C_{13}H_{18}O_2$, dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{13}H_{18}O_2$ trong ibuprofen chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

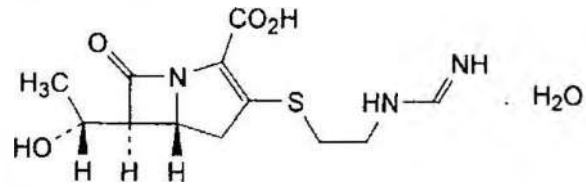
Thuốc chống viêm không steroid.

Hàm lượng thường dùng

200 mg; 400 mg; 600 mg.

IMIPENEM

Imipenemum



$C_{12}H_{17}N_3O_4S.H_2O$ P.t.l: 317,4

Imipenem là acid (5*R*,6*S*)-6-[(*R*)-1-hydroxyethyl]-3-[[2-[(iminomethyl)amino]ethyl]sulphanyl]-7-oxo-1-azabicyclo [3.2.0]hept-2-en-2-carboxylic monohydrat, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{12}H_{17}N_3O_4S$, tính theo chế phẩm khan. Chế phẩm bán tổng hợp từ một sản phẩm lên men.

Tính chất

Bột màu trắng, trắng ngà hay vàng nhạt. Hơi tan trong nước, khó tan trong methanol.

Định tính

Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của imipenem chuẩn.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong *dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT_3)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi. Dung dịch không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu số 6 của dãy dung dịch màu đối chiếu phù hợp nhất (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Từ 4,5 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Góc quay cực riêng

Từ +84° đến +89°, tính theo chế phẩm khan, đo ở 25 °C (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,125 g chế phẩm trong *dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT_3)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Trộn đều 0,7 thể tích *acetonitril (TT)* và 99,3 thể

tích *dung dịch dikali hydrophosphat* 0,87 % *(TT)* được điều chỉnh đến pH 7,3 bằng *dung dịch acid phosphoric loãng (TT)*.
Hỗn hợp dung môi: Trộn đều 0,7 thể tích *acetonitril (TT)* và 99,3 thể tích *dung dịch dikali hydrophosphat 0,135 g/l (TT)* được điều chỉnh đến pH 6,8 bằng *dung dịch acid phosphoric loãng (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 40,0 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với hỗn hợp dung môi.
Dung dịch phân giải: Đun nóng 20 ml dung dịch thử đã được điều chỉnh đến pH 10 bằng *dung dịch natri hydroxyd 20 % (TT)* ở 80 °C trong 5 min (điều chế tạp chất A).
Bảo quản các dung dịch trong nước đá và dùng trong vòng 8 h.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với mẫu trắng, dung dịch thử, dung dịch chuẩn và dung dịch phân giải với thời gian chạy sắc ký bằng 2 lần thời gian lưu của imipenem.
Thời gian lưu của imipenem khoảng 9 min, thời gian lưu tương đối của tạp A so với imipenem khoảng 0,8.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa pic tạp chất A và pic imipenem ít nhất là 3,5.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử.
Tạp chất A có diện tích pic không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1,0 %).
Các tạp chất khác: Diện tích pic của bất kỳ tạp chất nào khác không được lớn hơn 0,3 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (0,3 %).
Tổng diện tích pic của các tạp chất khác trừ tạp A: Không lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1,0 %).
Bỏ qua các pic có diện tích pic nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (0,1 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid (5*R*,6*S*)-3-[(2-aminoethyl)sulfanyl]-6-[(*R*)-1-hydroxyethyl]-7-oxo-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-en-2-carboxylic (thienamycin).

Nước
Từ 5,0 % đến 8,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,200 g chế phẩm.
Dùng thuốc thử iodosulfur có chứa imidazol thay thế cho pyridin và dùng cốc chuẩn độ sạch cho mỗi lần chuẩn độ.

Tro sulfat
Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 0,17 EU/mg (Phụ lục 13.2).
Nếu chế phẩm được dùng để sản xuất các dạng thuốc tiêm mà không có phương pháp hữu hiệu loại bỏ nội độc tố vi khuẩn thì phải đáp ứng yêu cầu của phép thử này.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, điều kiện sắc ký, dung dịch thử như phần thử Tạp chất liên quan.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan 40,0 mg imipenem chuẩn trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiêm lặp lại dung dịch chuẩn 6 lần, độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic đáp ứng từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 1,0 %.
Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng imipenem, $C_{12}H_{17}N_3O_4S$, dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{12}H_{17}N_3O_4S$ của imipenem chuẩn.

Bảo quản
Đựng trong bao bì kín, ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C. Nếu chế phẩm vô khuẩn thì phải bảo quản trong bao bì kín, vô khuẩn.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm carbapenem.

Chế phẩm
Thuốc tiêm.

BỘT PHA TIÊM IMIPENEM VÀ CILASTATIN
Imipemeni et Cilastatini pulvis ad injectionem

Bột pha tiêm imipenem và cilastatin là một hỗn hợp bột vô khuẩn của imipenem, cilastatin natri và natri bicarbonat để pha tiêm.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận chung về "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng imipenem, $C_{12}H_{17}N_3O_4S$, từ 90,0 % đến 115,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng cilastatin, $C_{16}H_{26}N_2O_5S$, từ 90,0 % đến 115,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột gần như trắng hoặc hơi vàng nhạt.

Định tính
Trong mục Định lượng, hai pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic imipenem và cilastatin trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn.

pH
pH của dung dịch tạo thành pha như hướng dẫn sử dụng trên nhãn phải từ 6,5 đến 8,5 (Phụ lục 6.2).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 3,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, 60 °C, chân không, 3 h).

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 0,17 EU cho 1 mg imipenem và 0,17 EU cho 1 mg cilastatin (Phụ lục 13.2).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm pH 6,8: Hòa tan 0,54 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 3600 ml *nước*, điều chỉnh pH tới 6,8 ± 0,1 bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,5 M* hoặc dung *dịch acid phosphoric 0,5 M*, thêm *nước* vừa đủ 4000 ml, trộn đều.
Pha động: Hòa tan 2,0 g *natri hexansulfonat (TT)* trong 800 ml dung dịch đệm pH 6,8. Điều chỉnh pH của dung dịch đến pH 6,8 bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,5 M* hoặc *dung dịch acid phosphoric 0,5 M*. Thêm dung dịch đệm pH 6,8 đến vừa đủ 1000 ml.
Dung dịch chuẩn imipenem: Cân chính xác khoảng 26 mg imipenem monohydrat chuẩn vào bình định mức 50 ml. Thêm 10 ml *dung dịch natri clorid đẳng trương (TT)*, 1,0 ml *dung dịch natri bicarbonat 0,1 %*, và khoảng 30 ml dung dịch đệm pH 6,8. Lắc siêu âm để hòa tan (chú ý thời gian siêu âm không quá 1 min). Thêm dung dịch đệm pH 6,8 đến định mức, lắc đều. Dung dịch này chứa khoảng 500 µg imipenem khan trong 1 ml. Sử dụng dung dịch ngay sau khi pha.
Dung dịch chuẩn cilastatin: Cân chính xác khoảng 25 mg cilastatin amoni chuẩn vào bình định mức 50 ml. Thêm 10 ml *dung dịch natri clorid đẳng trương (TT)*, 1,0 ml *dung dịch natri bicarbonat 0,1 %*, và khoảng 30 ml dung dịch đệm pH 6,8. Lắc và siêu âm để hòa tan (chú ý siêu âm không quá 1 min). Thêm dung dịch đệm pH 6,8 đến định mức, lắc đều. Dung dịch này chứa khoảng 500 µg cilastatin trong 1 ml. Sử dụng dung dịch ngay sau khi pha.
Dung dịch thử: Phân tán lượng bột thuốc có trong 1 lọ bằng một thể tích *dung dịch natri clorid đẳng trương (TT)* tương ứng với thể tích của dung môi đã ghi trên nhãn để pha tiêm. Dùng dung dịch đệm pH 6,8 chuyển hoàn toàn hỗn dịch này vào bình định mức 100 ml, lắc để hòa tan. Thêm dung dịch đệm pH 6,8 đến thể tích và trộn đều. Pha loãng một thể tích đã được đo chính xác với dung dịch đệm pH 6,8 để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 500 µg imipenem trong 1 ml.
Điều kiện sắc ký :
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm).
Nhiệt độ cột được duy trì ở (50 ± 1) °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn imipenem và dung dịch chuẩn cilastatin. Số đĩa lý thuyết xác định trên từng pic không được dưới 600. Hệ số đối xứng của mỗi pic không lớn hơn 1,5. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic đáp ứng từ 6 lần tiêm lặp lại không quá 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt các dung dịch chuẩn và thử. Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử và dung dịch chuẩn, hàm lượng của $C_{12}H_{17}N_3O_4S$ trong imipenem monohydrat chuẩn và $C_{16}H_{26}N_3O_2S$ trong cilastatin amoni chuẩn, tính hàm lượng phần trăm imipenem, $C_{12}H_{17}N_3O_4S$, và cilastatin, $C_{16}H_{26}N_2O_5S$, có trong chế phẩm.

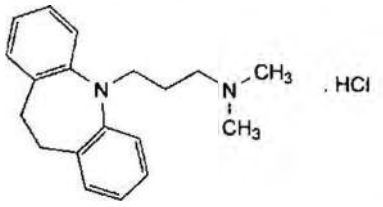
Bảo quản
Bảo quản trong lọ kín, vô khuẩn, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng sinh.

Nhãn
Trên nhãn phải ghi rõ thuốc tiêm sau khi hoàn nguyên phải hòa tan hoàn toàn trong dịch truyền phù hợp trước khi truyền tĩnh mạch.

Hàm lượng thường dùng:
250 mg imipenem và 250 mg cilastatin.
500 mg imipenem và 500 mg cilastatin.
750 mg imipenem và 750 mg cilastatin.

IMIPRAMIN HYDROCLORID
Imipramini hydrochloridum



$C_{19}H_{24}N_2.HCl$ P.t.l.: 316,9

Imipramin hydroclorid là 3-(10,11-dihydro-5*H*-dibenzo [*b,f*] azepin-5-yl)-*N,N*-dimethylpropan-1-amin hydroclorid, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{19}H_{24}N_2.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hay hơi vàng.
Dễ tan trong nước và trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D
Nhóm II: B, C, D
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm

phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của imipramin hydroclorid chuẩn.
B. Điểm chảy (Phụ lục 6.7): Từ 170 °C đến 174 °C.
C. Hòa tan khoảng 5 mg chế phẩm trong 2 ml *acid nitric (TT)*, màu xanh lam đậm xuất hiện.
D. Khoảng 20 mg chế phẩm cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan nhanh 3,0 g chế phẩm trong 20 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* bằng cách lắc và khuấy bằng đũa thủy tinh, pha loãng thành 30 ml với cùng dung môi. Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2). Sau khi pha xong lập tức pha loãng dung dịch S với cùng thể tích *nước*. Dung dịch thu được có màu không được đậm hơn màu mẫu VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Dung dịch S có pH từ 3,6 đến 5,0 (Phụ lục 6.2). Đo ngay sau khi pha.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Dung dịch acid hydrocloric 25 % - nước - acid acetic băng - ethyl acetat (5 : 5 : 35 : 55).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml với *methanol (TT)*. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 25 mg *iminodibenzyl* trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với *methanol (TT)*.
Các dung dịch trên chỉ pha trước khi dùng.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra và để khô ngoài không khí khoảng 5 min. Phun bản mỏng bằng *dung dịch kali dicromat 0,5 %* trong hỗn hợp *nước - acid sulfuric đặc* (4 : 1). Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng thường.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, vết tương ứng với vết iminodibenzyl không được có màu đậm hơn màu của vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2); bất kỳ vết phụ nào, ngoài vết chính và vết iminodibenzyl, không được có màu đậm hơn màu của vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong 20 ml *nước*.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 10 ml *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* thành 20 ml với *nước*.
Dung dịch mẫu trắng: 20 ml *nước*.
Dung dịch kiểm tra: Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* và pha loãng thành 20 ml với *nước*.
Thêm 2 ml *đệm acetat pH 3,5 (TT)* vào mỗi dung dịch trên. Lắc đều và thêm 1,2 ml *thuốc thử thioacetamid (TT)*. Lắc đều ngay. Lọc các dung dịch qua màng lọc 0,45 µm. So sánh các vết trên màng lọc. Phép thử chỉ có giá trị khi các vết của dung dịch đối chiếu và dung dịch kiểm tra có màu nâu nhạt khi so sánh với vết của dung dịch mẫu trắng. Chế phẩm đạt yêu cầu nếu vết của dung dịch thử nhạt màu hơn vết của dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 50 ml *ethanol 96 % (TT)* và thêm 5,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Đọc thể tích đã tiêu thụ giữa 2 điểm uốn.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương ứng với 31,69 mg $C_{19}H_{24}N_2.HCl$.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Ức chế tái thu hồi monoamin, chống trầm cảm 3 vòng.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN IMIPRAMIN
Tabellae Imipramini

Là viên nén chứa imipramin hydroclorid. Viên có thể được bao đường hay bao phim.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng imipramin hydroclorid, $C_{19}H_{24}N_2.HCl$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Chiết một lượng bột viên có chứa khoảng 100 mg imipramin hydroclorid với 10 ml *cloroform (TT)*. Lọc dịch cloroform vào một ống nghiệm miệng rộng, làm bay hơi dịch lọc đến còn khoảng 3 ml. Thêm từ từ và cẩn thận *ether (TT)* cho đến khi dung dịch trở nên đục, đun cách thủy cho dung dịch trong trở lại, làm lạnh, để yên cho kết

tủa hoàn toàn. Nếu cần có thể kết tinh lại tủa thu được trong *aceton (TT)*. Rửa tủa với *ether (TT)*, sấy chân không ở 105 °C. Tủa thu được phải đáp ứng các phép thử sau:
A. Điểm chảy: Từ 170 °C đến 174 °C (Phụ lục 6.7).
B. Hòa tan 5 mg trong 2 ml *acid nitric (TT)*, xuất hiện màu xanh lam đậm.
C. Chế phẩm phải cho phản ứng của clorid (Phụ lục 8.1).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Ethyl acetat - acid acetic băng - acid hydrocloric - nước (55 : 35 : 5 : 5).
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương đương với 0,2 g imipramin, chiết bằng *cloroform (TT)* 3 lần, mỗi lần 10 ml. Lọc và tập hợp các dịch chiết rồi bốc hơi đến khô. Hòa cắn thu được trong 10 ml *ethanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với *ethanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra và để khô ngoài không khí. Phun bản mỏng bằng *dung dịch kali dicromat 0,5 %* trong hỗn hợp *nước - acid sulfuric đặc* (4 : 1). Quan sát ngay bản mỏng, trên sắc ký đồ của dung dịch thử, bất kỳ vết phụ nào ngoài vết chính không được có màu đậm hơn màu của vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Đo độ hấp thụ của dung dịch thu được ở bước sóng 250 nm (Phụ lục 4.1) trong cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng. Tính lượng imipramin hydroclorid, $C_{19}H_{24}N_2.HCl$, đã hòa tan trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ đo được, lấy 264 là giá trị A (1 %,1 cm) của imipramin hydroclorid ở bước sóng cực đại 250 nm.
Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng imipramin hydroclorid, $C_{19}H_{24}N_2.HCl$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

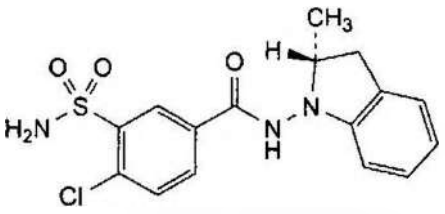
Định lượng
Cân 20 viên đã loại bỏ vỏ bao nếu cần và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 10 viên vào bình định mức 500 ml, thêm khoảng 300 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, lắc nhẹ nhàng trên máy lắc trong 30 min, thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* vừa đủ đến vạch, trộn đều. Lọc qua bông thủy tinh. Pha loãng dung dịch này với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* để có dung dịch thử cuối cùng có nồng độ 0,0025 % imipramin hydroclorid. Đo độ hấp thụ của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 250 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng imipramin hydroclorid, $C_{19}H_{24}N_2.HCl$, có trong chế phẩm dựa vào độ hấp thụ đo được, lấy 264 là giá trị A (1 %,1 cm) của imipramin hydroclorid ở bước sóng cực đại 250 nm.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống trầm cảm.

Hàm lượng thường dùng
10 mg, 25 mg, 50 mg.

INDAPAMID
Indapamidum



và đồng phân đối quang

$C_{16}H_{16}ClN_3O_3S$ P.t.l: 365,8

Indapamid là 4-cloro-*N*-[(2*RS*)-2-methyl-2,3-dihydro-1*H*-indol-1-yl]-3-sulfamoylbenzamid, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{16}ClN_3O_3S$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột màu trắng hoặc gần như trắng.
Thực tế không tan trong nước, tan trong ethanol (96 %).

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của indapamid chuẩn. Chuẩn bị mẫu đo dạng viên nén kali bromid.
B. Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với *ethanol 96 % (TT)*. Đo phổ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch trên ở dải sóng từ 220 nm đến 350 nm. Dung dịch cho một cực đại hấp thụ ở bước sóng 242 nm và hai vai ở bước sóng 279 nm và 287 nm. Độ hấp thụ riêng ở bước sóng cực đại trong khoảng từ 590 đến 630.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Acid acetic băng - aceton - toluen (1 : 20 : 79).
Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg indapamid chuẩn trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg indometacin chuẩn trong 5 ml dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 10 ml với *ethanol 96 % (TT).*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương tự về vị trí, kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách rõ ràng.

Góc quay cực
Từ -0,02° đến +0,02° (Phụ lục 6.4).
Hoà tan 0,250 g chế phẩm trong *ethanol khan (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Quá trình thử được tiến hành tránh ánh sáng và chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng hoặc bảo quản các dung dịch này ở 4 °C.
Pha động: Acid acetic băng - acetonitril - methanol - dung dịch natri edetat 0,02 % (0,1 : 17,5 : 17,5 : 65).
Dung dịch thử: Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong 7 ml hỗn hợp *acetonitril - methanol* (1 : 1) và pha loãng thành 20,0 ml với *dung dịch natri edetat 0,02 %.*
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 3,0 mg tạp chất B chuẩn của indapamid trong 3,5 ml hỗn hợp *acetonitril - methanol* (1 : 1) và pha loãng thành 10,0 ml với *dung dịch natri edetat 0,02 %.* Thêm 35 ml hỗn hợp *acetonitril - methanol* (1 : 1) vào 1,0 ml dung dịch trên và pha loãng thành 100,0 ml với *dung dịch natri edetat 0,02 %.*
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml với hỗn hợp *acetonitril - methanol - dung dịch natri edetat 0,02 %* (17,5 : 17,5 : 65). Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml với hỗn hợp *acetonitril - methanol - dung dịch natri edetat 0,02 %* (17,5 : 17,5 : 65).
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 20,0 mg indapamid chuẩn trong 7 ml hỗn hợp *acetonitril - methanol* (1 : 1) và pha loãng thành 20,0 ml với *dung dịch natri edetat 0,02 %.*
Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 25,0 mg indapamid chuẩn và 45,0 mg methylnitrosoindolin chuẩn (tạp chất A) trong 17,5 ml hỗn hợp *acetonitril - methanol* (1 : 1) và pha loãng thành 50,0 ml với *dung dịch natri edetat 0,02 %.*
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (20 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột: 40 °C.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 254 nm.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2,5 lần thời gian lưu của pic indapamid.
Thời gian lưu của indapamid khoảng 11 min.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (4), độ phân giải giữa pic tương ứng với indapamid và tạp chất A không nhỏ hơn 4,0.
Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2), tỷ số tín hiệu trên nhiễu (S/N) của pic chính không được nhỏ hơn 6.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử:
Tạp chất B: Diện tích của pic tương ứng với tạp chất B không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).
Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).
Tổng các tạp chất: Tổng diện tích pic của tất cả tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).
Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: (2*RS*)-2-Methyl-1-nitroso-2,3-dihydro-1*H*-indol.
Tạp chất B: 4-Cloro-*N*-(2-methyl-1*H*-indol-1-yl]-3-sulfamoyl-benzamid.

Tạp chất A
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Pha động: Acetonitril - tetrahydrofuran - dung dịch triethylamin 0,15 % đã được chỉnh về pH 2,8 bằng acid phosphoric (7 : 20 : 73).
Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong 1 ml *acetonitril* và pha loãng thành 10,0 ml với *nước.* Lắc 15 min. Để yên ở 4 °C trong 1 h, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Hoà tan 25,0 mg chế phẩm trong 1 ml dung dịch methylnitrosoindolin chuẩn (tạp chất A) 0,125 mg/l trong *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với *nước.* Lắc 15 min. Để yên ở 4 °C trong 1 h. Lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột: 30 °C
Tốc độ dòng: 1,4 ml/min.
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 305 nm.
Thể tích tiêm: 100 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu:
Tỷ số tín hiệu trên nhiễu (S/N) của pic tạp chất A (xuất hiện ngay trước pic của indapamid) không được nhỏ hơn 3.
Tỷ số đỉnh - hõm (H_p/H_v) ít nhất phải bằng 6,7, trong đó

H_P là chiều cao của đỉnh pic tạp chất A; H_V là chiều cao của đáy hõm phân tách giữa pic tạp chất A và pic indapamid.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của pic tương ứng với tạp chất A không được lớn hơn sự chênh lệch giữa diện tích pic tạp chất A trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu và diện tích pic tạp chất A trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (5 phần triệu).

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 2,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Không được quá 3,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,100 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (3).
Độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic thu được từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch đối chiếu (3) không lớn hơn 1,0 %. Nếu cần, có thể điều chỉnh các thông số tích phân.
Tính hàm lượng phần trăm indapamid, $C_{16}H_{16}ClN_3O_3S$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic indapamid thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (3) và hàm lượng $C_{16}H_{16}ClN_3O_3S$ trong indapamid chuẩn.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc lợi tiểu.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN INDAPAMID
Tabellae Indapamidi

Là viên nén hoặc viên bao chứa indapamid hemihydrat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng indapamid hemihydrat, $C_{16}H_{16}ClN_3O_3S.½H_2O$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Aceton - toluen (20 : 80)
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng 25 mg indapamid với 10 ml *aceton (TT)* trong 15 min, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Pha indapamid chuẩn trong *aceton (TT)* để được dung dịch chứa 0,25 % indapamid.
Thuốc thử 1: Hỗn hợp 10 ml *dung dịch kali iodobismuthat (TT)* và 20 ml *acid acetic băng (TT)*, pha loãng tới 100 ml với *nước*.
Thuốc thử 2: Dung dịch *natri nitrit (TT)* 5 % trong hỗn hợp đồng thể tích *nước và ethanol (TT).*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Sau đó phun thuốc thử 1 lên bản mỏng và quan sát thêm. Phun thuốc thử 2, tiếp tục quan sát. Ở mỗi phương pháp phát hiện vết, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử trong phần Định lượng phải tương ứng với thời gian lưu của pic indapamid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml *đệm phosphat chuẩn pH 6,8 (TT).*
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng indapamid chuẩn với *methanol (TT)* và pha loãng từng bước nếu cần với hỗn hợp môi trường hòa tan và *methanol (TT)* (99 : 1) để thu được dung dịch có nồng độ tương đương với dung dịch thử.
Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với điều kiện sắc ký và pha động như trong phần Định lượng, thể tích tiêm mẫu là 50 µl.
Tính hàm lượng indapamid hemihydrat, $C_{16}H_{16}ClN_3O_3S.½H_2O$, hòa tan từ mỗi viên dựa vào diện tích pic indapamid trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{16}ClN_3O_3S$ trong indapamid chuẩn.
1 mg indapamid, $C_{16}H_{16}ClN_3O_3S$, tương đương với 1,0246 mg indapamid hemihydrat, $C_{16}H_{16}ClN_3O_3S.½H_2O$.
Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng indapamid hemihydrat, $C_{16}H_{16}ClN_3O_3S.½H_2O$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với pha động và điều kiện sắc ký như phần Định lượng với thể tích tiêm 50 µl.
Dung dịch thử: Nghiền mịn một viên thuốc và chuyển vào bình định mức 25 ml, dùng khoảng 15 ml *acetonitril (TT)*

để tráng rửa cối chày rồi cho vào bình định mức trên, siêu âm trong khoảng 20 min để hòa tan. Làm nguội về nhiệt độ phòng, thêm *acetonitril (TT)* tới vạch, lắc đều, ly tâm dung dịch thu được với tốc độ 10000 rpm trong 10 min. Chuyển 10,0 ml dịch trong vào bình định mức 50 ml, thêm hỗn hợp *nước - acetonitril* (7 : 1) tới vạch, lắc đều.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác 25 mg indapamid chuẩn, hòa tan trong vừa đủ 50,0 ml *acetonitril (TT)*. Tiếp tục pha loãng bằng *acetonitril (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ indapamid tương đương hàm lượng của một viên pha trong 25 ml. Chuyển 10,0 ml dung dịch này vào bình định mức 50 ml, thêm hỗn hợp *nước - acetonitril* (7 : 1) tới vạch, lắc đều.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch A: Hòa tan 1,08 g *natri 1-octansulfonat (TT)* trong 700 ml *nước*, thêm vào 10 ml *acid acetic băng(TT)*, lắc đều.

Pha động: Dung dịch A - acetonitril (7 : 3). Điều chỉnh tỷ lệ pha động nếu cần.

Dung dịch chuẩn: Pha indapamid chuẩn trong *acetonitril (TT)* để có nồng độ indapamid chính xác khoảng 0,1 mg/ml. Chuyển 10,0 ml dung dịch này vào bình định mức 50 ml, thêm hỗn hợp *nước - acetonitril* (7 : 1) tới vạch, lắc đều.

Dung dịch thử: Cân 20 viên (bỏ vỏ bao nếu cần), tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng khoảng 5 mg indapamid cho vào bình định mức 50 ml, thêm khoảng 25 ml *acetonitril (TT)*, siêu âm trong khoảng 20 min để hòa tan. Làm nguội về nhiệt độ phòng, thêm *acetonitril (TT)* tới vạch, lắc đều, ly tâm dung dịch thu được với tốc độ 10000 r/min trong 10 min. Chuyển 10,0 ml dịch trong vào bình định mức 50 ml, thêm hỗn hợp *nước - acetonitril (TT)* (7 : 1) tới vạch, lắc đều.

Điều kiện sắc ký:

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

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 242 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic indapamid từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.

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

Tính hàm lượng indapamid hemihydrat, $C_{16}H_{16}ClN_3O_3S.½H_2O$, từ diện tích pic indapamid trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{16}ClN_3O_3S$ trong indapamid chuẩn.

1 mg indapamid, $C_{16}H_{16}ClN_3O_3S$, tương đương với 1,0246 mg indapamid hemihydrat, $C_{16}H_{16}ClN_3O_3S.½H_2O$.

Bảo quản

Để ở nơi mát, trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

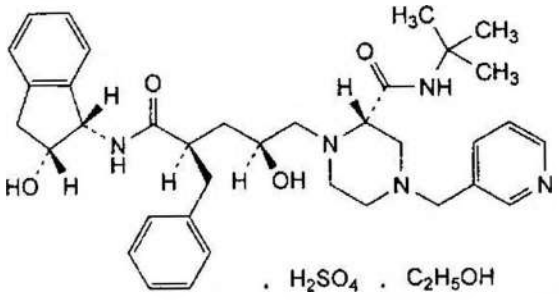
Thuốc lợi tiểu, điều trị tăng huyết áp.

Hàm lượng thường dùng

1,25 mg; 1,5 mg và 2,5 mg, tính theo indapamid hemihydrat.

INDINAVIR SULFAT

Indinaviri sulfas



$C_{36}H_{47}N_5O_4.H_2SO_4.C_2H_6O$ P.t.l: 758

Indinavir sulfat là (2*S*)-1-[(2*S*,4*R*)-4-benzyl-2-hydroxy-5-[[(1*S*,2*R*)-2-hydroxy-2,3-dihydro-1*H*-inden-1-yl]amino]-5-oxopentyl]-*N*-(1,1-dimethylethyl)-4-(pyridin-3-ylmethyl)piperazin-2-carboxamid sulfat ethanolat, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{36}H_{47}N_5O_4.H_2SO_4$, tính theo chế phẩm khan và không có ethanol.

Trong quá trình sản xuất phải kiểm tra tạp chất đồng phân đối quang trừ phi quy trình sản xuất đảm bảo chọn lọc được đồng phân.

Tính chất

Bột màu trắng hoặc gần như trắng, hút ẩm.

Dễ tan trong nước, tan trong methanol, thực tế không tan trong heptan.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của indinavir sulfat chuẩn.

B. Góc quay cực riêng (Phụ lục 6.4) của chế phẩm đo ở 25 °C, bước sóng 365 nm phải từ +122° đến +129°, tính theo chất khan và không có ethanol.

Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

C. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của sulfat (Phụ lục 8.1).

D. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Ethanol.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Dung dịch chứa *kali dihydrophosphat (TT)* nồng độ 0,27 g/l và *dikali hydrophosphat (TT)* nồng độ 1,40 g/l; lọc và đuổi khí.

Pha động B: Acetonitril (TT_1).

Dung dịch A: Hỗn hợp đồng thể tích của pha động A và *acetonitril (TT_1)*, trộn đều.

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong dung dịch A và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 4 mg indinavir chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký (chứa tạp chất B, C và E của indinavir) trong dung dịch A và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng dung dịch A. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng dung dịch A.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5,0 mg *cis*-aminoindanol (tạp chất A) trong dung dịch A và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng dung dịch A. Tiếp tục pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng dung dịch A.
Dung dịch đối chiếu (4): Thêm 0,25 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* vào 30 mg chế phẩm và để yên ở nhiệt độ phòng trong vòng 1 h. Thêm hỗn hợp dung môi *acetonitril (TT) - pha động A* (2 : 3) vừa đủ 100 ml, lắc đều (thu được hỗn hợp phân hủy có chứa tạp chất D của indinavir).
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 5	80	20
5 - 40	80 → 30	20 → 70
40 - 45	30	70
45 - 47	30 → 80	70 → 20
47 - 52	80	20

Tiến hành sắc sắc ký với dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (4).
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo indinavir chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) để xác định pic của các tạp chất B, C và E. Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của tạp chất D. Thời gian lưu tương đối so với indinavir (thời gian lưu khoảng 25 min): Tạp chất A khoảng 0,2; tạp chất B khoảng 0,8; tạp chất C khoảng 0,98; tạp chất D khoảng 1,1; tạp chất E khoảng 1,3.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất C và pic của indinavir ít nhất là 1,8.
Tiến hành sắc ký lần lượt với mẫu trắng là dung dịch A, các dung dịch đối chiếu (2), (3) và dung dịch thử.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính toán, nhân diện tích pic của tạp chất D với 1,8.
Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử:
Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %).
Diện tích pic tạp chất D không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).
Diện tích mỗi pic tạp chất B, C, E không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).
Diện tích mỗi pic tạp chất khác không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).
Tổng diện tích của tất cả các pic tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).
Bỏ qua các pic tạp chất có diện tích không lớn hơn 0,3 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,03 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: (1*S*,2*R*)-1-amino-2,3-dihydro-1*H*-inden-2-ol (*cis*-aminoindanol).
Tạp chất B: (2*S*)-1-[(2*S*,4*R*)-4-benzyl-2-hydroxy-5-[[(1*S*,2*R*)-2-hydroxy-2,3-dihydro-1*H*-inden-1-yl]amino]-5-oxopentyl]-*N*-(1,1-dimethylethyl)piperazin-2-carboxamid.
Tạp chất C: (2*S*)-1-[(2*R*,4*R*)-4-benzyl-2-hydroxy-5-[[(1*S*,2*R*)-2-hydroxy-2,3-dihydro-1*H*-inden-1-yl]amino]-5-oxopentyl]-*N*-(1,1-dimethylethyl)-4-(pyridin-3-ylmethyl)piperazin-2-carboxamid.
Tạp chất D: (3*R*,5*S*)-3-benzyl-5-[[(2*S*)-2-[(1,1-dimethylethyl) carbamoyl]-4-(pyridin-3-ylmethyl)piperazin-1-yl]methyl]-4,5-dihydrofuran-2(3*H*)-on.
Tạp chất E: (2*S*)-1,4-bis[(2*S*,4*R*)-4-benzyl-2-hydroxy-5-[[(1*S*,2*R*)-2-hydroxy-2,3-dihydro-1*H*-inden-1-yl]amino]-5-oxopentyl]-*N*-(1,1-dimethylethyl)piperazin-2-carboxamid.
Tạp chất F: 3-(cloromethyl)pyridin (nicotinyl clorid).

Ethanol

Hàm lượng phần trăm của ethanol phải từ 5,0 % đến 8,0 % (kl/kl).
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2)
Dung dịch chuẩn nội: Pha loãng 1,0 ml *propanol (TT)* thành 200,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch chuẩn: Pha loãng 1,0 ml *ethanol khan (TT)* thành 200,0 ml bằng *nước*. Hút 2,0 ml dung dịch thu được và 2,0 ml dung dịch chuẩn nội, pha loãng thành 25,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong 50,0 ml *nước*, thêm 8,0 ml dung dịch chuẩn nội và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*.
Điều kiện sắc ký:
Cột silica nung chảy dài 30 m, đường kính trong 0,53 mm, pha tĩnh là *macrogol 20 000* (lớp phim dày 1,0 µm).
Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký khí.*
Tốc độ dòng: 10 ml/min.
Tỷ lệ chia dòng: 1 : 10.
Detector ion hóa ngọn lửa.
Nhiệt độ: Duy trì nhiệt độ cột ở 35 °C, nhiệt độ buồng tiêm ở 140 °C và nhiệt độ detector ở 220 °C.
Thể tích tiêm: 1,0 µl.

Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, thời gian lưu của ethanol trong khoảng từ 2 min đến 4 min, độ phân giải giữa pic tương ứng với ethanol và propanol ít nhất bằng 5,0.
Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng phần trăm (kl/kl) của ethanol trong chế phẩm, tỷ trọng của ethanol là 0,790 g/ml.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Lấy 12 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị dung dịch đối chiếu.

Nước
Không được quá 1,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,500 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (phụ lục 5.3).
Dung dịch B: Thêm 20 ml *dibutylamoni phosphat loại dùng tạo cặp ion* vào 1000 ml *nước*, điều chỉnh về pH 6,5 bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*.
Pha động: Acetonitril - dung dịch B (45 : 55).
Dung dịch thử: Hòa tan 60,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml bằng cùng pha động.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan 50,0 mg indinavir chuẩn trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml bằng cùng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi *base-deactivated octylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Nhiệt độ cột: 40 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 260 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký các dung dịch chuẩn và dung dịch thử với thời gian gấp hai lần thời gian lưu của pic indinavir (thời gian lưu của pic indinavir khoảng 10 min).
Tính hàm lượng phần trăm indinavir sulfat, $C_{36}H_{47}N_5O_4$. H_2SO_4, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic indinavir trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{36}H_{47}N_5O_4$ trong indinavir chuẩn nhân với hệ số hiệu chỉnh 1,1598.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Ức chế enzym protease, kháng HIV.

Chế phẩm
Nang.

NANG INDINAVIR
Capsulae Indinaviri

Là nang cứng chứa indinavir sulfat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng indinavir, $C_{36}H_{47}N_5O_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lắc một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 0,1 g indinavir sulfat với 80 ml *nước* để hòa tan. Pha loãng bằng *nước* vừa đủ 100 ml và lọc. Pha loãng 5 ml dịch lọc thành 100 ml với *nước*. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở dải sóng từ 200 nm đến 300 nm phải cho cực đại hấp thụ ở bước sóng khoảng 260 nm.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic indinavir trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy, sử dụng đụng cụ giữ mẫu.
Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch đệm pH 3,8.
Dung dịch đệm pH 3,8: Hòa tan 21 g *acid citric (TT)* trong 880 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 3,8 ± 0,05 bằng *dung dịch natri hydroxyd 50 %* và pha loãng bằng *nước* vừa đủ 1000 ml, trộn đều.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, hút dịch hòa tan, lọc. Pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan (nếu cần) để thu được dung dịch có nồng độ indinavir phù hợp. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại khoảng 260 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. Tính hàm lượng indinavir, $C_{36}H_{47}N_5O_4$, hòa tan trong mỗi viên so sánh với dung dịch indinavir sulfat chuẩn có nồng độ indinavir tương đương trong dung dịch thử pha trong môi trường hòa tan.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng indinavir, $C_{36}H_{47}N_5O_4$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm phosphat pH 7,5: Hòa tan 8,7 g *dikali hydrophosphat (TT)* trong 800 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 7,5 ± 0,05 bằng *dung dịch acid phosphoric loãng (TT)* và pha loãng bằng *nước* vừa đủ 1000 ml.
Pha động A: Dung dịch đệm phosphat pH 7,5.
Pha động B: *Acetonitril (TT)*.
Dung môi pha mẫu: *Acetonitril - dung dịch đệm phosphat pH 7,5* (40 : 60).
Dung dịch đối chiếu: Cân chính xác một lượng indinavir sulfat chuẩn, tương ứng với khoảng 50 mg indinavir, vào

bình định mức 100 ml, thêm 80 ml dung môi pha mẫu và lắc kỹ để hòa tan. Thêm dung môi pha mẫu vừa đủ đến vạch và lắc đều. Pha loãng 1,0 ml dung dịch trên thành 100,0 ml bằng dung môi pha mẫu.

Dung dịch thử: Trộn đều bột thuốc của không dưới 20 nang, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 50 mg indinavir, vào bình định mức 100 ml, thêm 60 ml dung môi pha mẫu và lắc siêu âm 10 min. Thêm dung môi pha mẫu đến vạch, lắc đều và lọc.

Dung dịch kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Cân chính xác một lượng indinavir sulfat chuẩn tương ứng với khoảng 50 mg indinavir và 5 mg indinavir 4-epimer chuẩn vào bình định mức 100 ml. Thêm 80 ml dung môi pha mẫu, lắc kỹ để hòa tan và pha loãng bằng dung môi pha mẫu vừa đủ đến vạch.

Điều kiện sắc ký:

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

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 260 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 3	80	20
3 - 5	80 → 65	20 → 35
5 - 11	65	35
11 - 17	65 → 30	35 → 70
17 - 20	30	70
20 - 21	30 → 80	70 → 20
21 - 25	80	20

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch kiểm tra tính phù hợp hệ thống: số đĩa lý thuyết của cột tính trên pic indinavir không được dưới 10 000; hệ số đối xứng của pic indinavir không được quá 1,5; và độ phân giải giữa pic của indinavir và indinavir 4-epimer phải không dưới 1,5.

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

Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, ngoại trừ pic chính và các pic xuất hiện tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu, diện tích của bất kỳ pic nào khác đều không được lớn hơn 1,0 % và tổng diện tích của tất cả các pic đó không được lớn hơn 2,5 %, áp dụng theo phương pháp chuẩn hóa.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm phosphat pH 7,5: Như mô tả ở mục Tạp chất liên quan.

Pha động: *Acetonitril - dung dịch đệm phosphat pH 7,5* (40 : 60).

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng indinavir sulfat chuẩn, tương ứng với khoảng 50 mg indinavir vào bình định mức 50 ml, thêm 40 ml pha động và lắc kỹ để hòa tan. Thêm pha động vừa đủ đến vạch và lắc đều. Pha loãng 10,0 ml dung dịch trên thành 50,0 ml bằng pha động.

Dung dịch thử: Lấy 20 nang, cân xác định khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 100 mg indinavir vào bình định mức 100 ml, thêm 80 ml pha động và lắc siêu âm 10 min. Pha loãng bằng pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều và lọc. Pha loãng 10,0 ml dịch lọc thành 50,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 260 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký 6 lần riêng biệt đối với dung dịch chuẩn, số đĩa lý thuyết của cột tính trên pic indinavir không được dưới 6000; hệ số đối xứng của pic indinavir không được lớn hơn 1,5; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic indinavir không được lớn hơn 2,0 %.

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

Tính hàm lượng indinavir, $C_{36}H_{47}N_5O_4$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic indinavir thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{36}H_{47}N_5O_4$ trong indinavir sulfat chuẩn.

Bảo quản

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

Loại thuốc

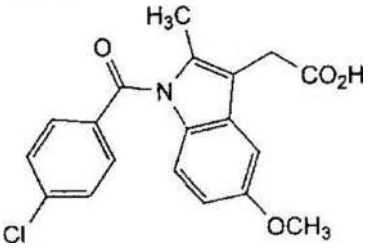
Kháng virus.

Hàm lượng thường dùng

400 mg.

INDOMETHACIN

Indomethacinum



$C_{19}H_{16}ClNO_4$ P.t.l: 357,8

Indomethacin là acid 1-(4-clorobenzoyl)-5-methoxy-2-methylindol-3-yl acetic, phải chứa từ 98,5 % đến 100,5 % $C_{19}H_{16}ClNO_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng đến vàng, không mùi hay hầu như không mùi.
Thực tế không tan trong nước, tan trong cloroform, hơi tan trong ethanol 96 % và ether.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, E.
Nhóm II: B, C, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của indomethacin chuẩn. Tiến hành đo mẫu thử và mẫu chuẩn trong trạng thái rắn không kết tinh lại.
B. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch chế phẩm 0,0025 % trong hỗn hợp *dung dịch acid hydrocloric 1 M - methanol* (1 : 9), được đo trong khoảng bước sóng từ 300 nm đến 350 nm, cho một cực đại hấp thụ ở bước sóng 318 nm. A (1 %, 1 cm) ở cực đại từ 170 đến 190.
C. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 10 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun nóng nhẹ nếu cần. Lấy 0,1 ml dung dịch này, thêm 2 ml dung dịch hỗn hợp mới pha gồm 1 thể tích *dung dịch hydroxylamin hydroclorid 25 % (TT* và 3 thể tích *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*. Thêm 2 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và 1 ml *dung dịch sắt (III) cloric 1,3 % (TT)*, lắc đều, xuất hiện màu hồng tím.
D. Lấy 0,5 ml dung dịch được pha như mục C, thêm 0,5 ml *dung dịch dimethylamino benzaldehyd* (TT_2), tủa tạo thành nhưng tan khi lắc. Đun nóng trên cách thủy, xuất hiện màu xanh chàm. Tiếp tục đun 5 min và làm lạnh trong nước đá 2 min, xuất hiện tủa và màu chuyển sang xanh xám nhạt. Thêm 3 ml *ethanol 96 % (TT)* thu được dung dịch trong và có màu hồng tím.
E. Điểm chảy: 158 °C đến 162 °C (Phụ lục 6.7).

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Cân 2,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 3. Dùng 4 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Được tráng bằng hỗn dịch *silica gel* HF_{254} trong *dung dịch natri dihydrophosphat 4,68 %*.
Dung môi khai triển: Ether - ether dầu hỏa (50 °C đến 70 °C) (70 : 30).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi, pha trước khi dùng.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 200 ml với *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào của dung dịch thử không được sẫm màu hơn vết chính của dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong 75 ml *aceton (TT)* cho dòng khí nitrogen sục qua dung dịch trên trong khoảng 15 min để loại hết khí carbon dioxyd. Duy trì cố định dòng khí đi qua và tiến hành chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*, dùng 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* làm chỉ thị. Song song làm mẫu trắng.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 35,78 mg $C_{19}H_{16}ClNO_4$.

Bảo quản
Trong lọ nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống viêm không steroid.

Chế phẩm
Viên nén, nang.

NANG INDOMETHACIN
Capsulae Indomethacini

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

Hàm lượng indomethacin, $C_{19}H_{16}ClNO_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử trong khoảng từ 300 nm đến 350 nm chỉ có một cực đại hấp thụ ở bước sóng khoảng 320 nm.
B. Lắc kỹ một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với 25 mg indomethacin trong 2 ml *nước*, thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*. Xuất hiện màu vàng tươi, phai màu nhanh.
C. Trong phần Tạp chất liên quan, sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (2) phải có vết tương ứng về vị trí và màu sắc với vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Ether - acid acetic băng (100 : 3).
Dung dịch thử (1): Cân một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với 0,1 g indomethacin, thêm 10 ml *methanol (TT)*, lắc kỹ trong 5 min, lọc.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml với *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (2) thành 20 ml với *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch indomethacin chuẩn 0,1 % trong *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra và để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất cứ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *đệm phosphat chuẩn pH 7,2 (TT)*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc thu được với môi trường hòa tan nếu cần. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 320 nm, dùng mẫu trắng là môi trường hòa tan.
Tính hàm lượng của indomethacin, $C_{19}H_{16}ClNO_4$, đã hòa tan theo A (1 %, 1 cm). Lấy 196 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 320 nm.
Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng indomethacin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng
Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang, trộn đều và nghiền thành bột mịn. Cân một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 50 mg indomethacin, thêm 10 ml *nước* và để yên trong 10 min, thỉnh thoảng lắc. Thêm 75 ml *methanol (TT)*, lắc kỹ và pha loãng thành 100,0 ml với *methanol (TT)*. Lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng 5,0 ml dịch này thành 100,0 ml với hỗn hợp đồng thể tích *methanol (TT)* và *đệm phosphat chuẩn pH 7,2 (TT)*. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 320 nm, dùng mẫu trắng là hỗn hợp đồng thể tích *methanol (TT)* và *đệm phosphat chuẩn pH 7,2 (TT)*.
Tính hàm lượng indomethacin, $C_{19}H_{16}ClNO_4$, theo A (1 %, 1 cm). Lấy 193 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 320 nm.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng viêm không steroid.

Hàm lượng thường dùng
25 mg; 75 mg.

VIÊN NÉN INDOMETHACIN
Tabellae Indomethacini

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

Hàm lượng indomethacin, $C_{19}H_{16}ClNO_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử trong khoảng từ 300 nm đến 350 nm chỉ có một cực đại hấp thụ ở bước sóng khoảng 320 nm.
B. Lắc kỹ một lượng bột viên tương ứng với 25 mg indomethacin trong 2 ml *nước*, thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*. Xuất hiện màu vàng tươi, phai màu nhanh.
C. Trong phần Tạp chất liên quan, sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (2) phải có vết tương ứng về vị trí và màu sắc với vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Ether - acid acetic băng (100 : 3)
Dung dịch thử (1): Cân một lượng bột viên tương ứng với 0,1 g indomethacin, thêm 10 ml *methanol (TT)*, lắc kỹ trong 5 min, lọc.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml với *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (2) thành 20 ml với *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch indomethacin chuẩn 0,1 % trong *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra và để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất cứ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *đệm phosphat chuẩn pH 7,2 (TT)*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc thu được với môi trường hòa tan nếu cần. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 320 nm, dùng mẫu trắng là môi trường hòa tan.
Tính hàm lượng của indomethacin, $C_{19}H_{16}ClNO_4$, đã hòa tan theo A (1 %, 1 cm). Lấy 196 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 320 nm.

Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng indomethacin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng
Cân 20 viên đã loại bỏ vỏ bao, tính khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg indomethacin vào bình định mức 100 ml, thêm 10 ml nước, để yên trong 10 min, thỉnh thoảng lắc. Thêm 75 ml *methanol (TT)*, lắc kỹ rồi thêm *methanol (TT)* đến định mức và lắc đều, lọc, bỏ khoảng 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thu được thành 100,0 ml với hỗn hợp đồng thể tích *methanol (TT)* và *đệm phosphat chuẩn pH 7,2 (TT)*. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 320 nm, dùng mẫu trắng là hỗn hợp đồng thể tích *methanol (TT)* và *đệm phosphat chuẩn pH 7,2 (TT)*.
Tính hàm lượng indomethacin, $C_{19}H_{16}ClNO_4$, theo A (1 %, 1 cm). Lấy 193 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 320 nm.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng viêm không steroid.

Hàm lượng thường dùng
25 mg.

IOD
Iodum

I_2 P.t.l: 253,8

Iod phải chứa từ 99,5 % đến 100,5 % I.

Tính chất
Phiến nhỏ hoặc tinh thể mịn, màu tím đen, có ánh kim loại, mùi kích ứng đặc biệt. Dễ bay hơi ở nhiệt độ thường.
Rất khó tan trong nước, tan trong ethanol 96 %, cloroform, khó tan trong glycerin, dễ tan trong các dung dịch muối iodid.

Định tính
A. Đốt nhẹ một ít chế phẩm trong ống nghiệm, sẽ bay hơi màu tím, hơi này ngưng tụ thành những muội tinh thể màu đen ánh xanh trên thành ống.
B. Lấy 10 ml dung dịch bão hòa chế phẩm, thêm 0,5 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)*, sẽ hiện màu lam. Màu sẽ mất khi đun nóng, để nguội màu lam xuất hiện trở lại.

Clorid và bromid
Không được quá 0,025 %.
Dung dịch S: Nghiền 1,5 g chế phẩm với 10 ml *nước*, lọc, rửa phễu lọc bằng *nước* và pha loãng dịch lọc thành 15 ml bằng *nước*. Thêm 0,5 g *kẽm bột (TT)* vào dung dịch trên. Khi dung dịch mất màu, lọc và rửa phễu lọc với *nước* cho tới khi thu được 20 ml dịch lọc.
Lấy 5 ml dung dịch S, thêm 1,5 ml *amoniac (TT)* và 3 ml *dung dịch bạc nitrat 2 % (TT)*. Lọc, rửa phễu với *nước* cho đến khi thu được 10 ml dịch lọc, thêm vào 1,5 ml *acid nitric (TT)* và để yên 1 min. Dung dịch này không được đục hơn dung dịch đối chiếu pha đồng thời với dung dịch thử gồm 10,75 ml *nước*; 0,25 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*; 0,2 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* và 0,3 ml *dung dịch bạc nitrat 2 % (TT)*.

Cắn không bay hơi
Không được quá 0,1%.
Cân chính xác 1,00 g chế phẩm vào bát sứ đã cân bì, đun trên cách thủy cho đến khi iod bay hơi hết. Sấy cắn ở 100 °C đến 105 °C đến khối lượng không đổi. Khối lượng cắn còn lại không được quá 1 mg.

Định lượng
Trong một bình nón nút mài, hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 5 ml *dung dịch kali iodid 20 %* và 1 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)*. Khi chế phẩm tan hết, thêm 50 ml *nước*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)*, thêm 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* vào lúc cuối định lượng.
1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 12,69 mg iod.

Bảo quản
Trong lọ thủy tinh màu, có nút thủy tinh kín, để ở nơi mát.

Loại thuốc
Sát khuẩn, kháng giáp.

Chế phẩm
Dung dịch iod 1 %, cồn iod 1 %, cồn iod 5 %.

DUNG DỊCH IOD 1 %
Solutio Iodo Iodidata 1 %

Dung dịch Lugol

Công thức điều chế
Iod 1 g
Kali iodid 2 g
Nước tinh khiết (mới đun sôi để nguội) vđ 100 ml
Hòa tan kali iodid và iod trong khoảng 3 ml nước, khuấy kỹ cho tan hết, sau đó thêm nước vừa đủ 100 ml.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Dung dịch thuốc" (Phụ lục 1.3) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng của iod, I, và hàm lượng của kali iodid, KI, từ 95,0 % đến 105 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, màu đỏ sẫm, mùi iod.

Định tính
A. Nhỏ 1 giọt chế phẩm vào 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* sẽ xuất hiện màu xanh tím.

B. Lấy vài ml chế phẩm cho vào một bát sứ, bốc hơi trên cách thủy cho khô và đốt nhẹ cho bay hết iod tự do. Hòa tan cắn vào một ít *nước*. Dung dịch thu được phải cho các phản ứng của kali và iodid (Phụ lục 8.1).

Định lượng

Iod: Lấy chính xác 20 ml chế phẩm, thêm 10 ml *nước*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)*. Vào lúc gần cuối chuẩn độ, khi dung dịch đã rất nhạt màu, thêm vài giọt *dung dịch hồ tinh bột (TT)*.

1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 12,69 mg I.

Kali iodid: Lấy chính xác 10 ml chế phẩm, thêm 20 ml nước, 40 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*, chuẩn độ bằng *dung dịch kali iodat 0,05 M (CĐ)* cho đến khi màu nâu sẫm chuyển sang nâu nhạt, thêm 1 ml *dung dịch amaranth S 0,2 % (TT)* rồi tiếp tục chuẩn độ chậm cho đến khi màu đỏ chuyển sang vàng nhạt.

Số gam kali iodid chứa trong 100 ml chế phẩm được tính bằng công thức:

$$0{,}166 \times \left(n_1 - \frac{n_2}{4} \right)$$

Trong đó:

n_1 là số ml *dung dịch kali iodat 0,05 M (CĐ)*.

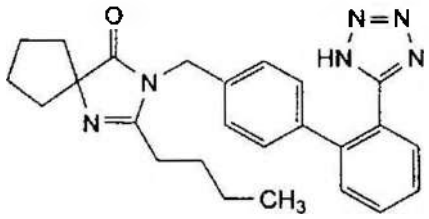
n_2 là số ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* đã dùng trong phép định lượng iod.

Bảo quản

Chế phẩm bảo quản trong chai thủy tinh màu, nút kín, để ở nơi mát.

IRBESARTAN

Irbesartanum



$C_{25}H_{28}N_6O$ P.t.l: 428,5

Irbesartan là 2-butyl-3-[[2'-(1*H*-tetrazol-5-yl)biphenyl-4-yl]methyl]-1,3-diazaspiro[4.4]non-1-en-4-on, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{25}H_{28}N_6O$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng, đa hình.

Thực tế không tan trong nước, hơi tan trong methanol, khó tan trong methylen clorid.

Định tính

Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của irbesartan chuẩn. Nếu phổ hồng ngoại ở trạng thái rắn của chế phẩm và của irbesartan chuẩn khác nhau thì hòa tan riêng rẽ chế phẩm và chất chuẩn trong *methanol (TT)*, bay hơi dung môi tới khô bằng cách sấy ở 60 °C và ghi lại phổ mới của các cắn thu được.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 1 thể tích *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)* và 9 thể tích *methanol (TT_2)*, pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu N_7 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất B

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch *natri hydroxyd (TT)* 0,42 % trong *nước không có carbon dioxyd (TT)*.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 25,0 mg *natri azid (TT)* (muối natri của tạp chất B) trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 0,25 ml dung dịch thu được thành 200,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (0,25 m × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh là *các hạt trao đổi anion có tính kiềm mạnh dùng cho sắc ký* (8,5 µm).

Detector: Điện hóa với độ nhạy 3 µS, dùng bộ khử tự phục hồi anion.

Trung hòa chất tách: Theo phương pháp hóa học hoặc theo phương pháp điện hóa.

Phương pháp hóa học: Bằng việc lưu thông liên tục dung môi trung hòa trong một màng vi lọc, quá trình thực hiện trước khi tiến hành phát hiện tại detector. Dung môi trung hòa: *Dung dịch acid sulfuric 0,025 M (TT)*. Tốc độ dòng: 10 ml/min. Áp suất: Tương đương khoảng 100 kPa.

Phương pháp điện hóa: Có thể dùng dòng điện, ví dụ dòng 300 mA.

Thể tích tiêm: 200 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu với thời gian chạy sắc ký là 25 min.

Thời gian lưu của tạp chất B khoảng 14 min.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu, tỉ số tín hiệu trên nhiễu ít nhất là 10 đối với pic tạp chất B.

Trên sắc ký đồ dung dịch thử, diện tích pic tạp chất B không được lớn hơn diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (10 ppm).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril (TT_1) - dung dịch đệm pH 3,2 (33 : 67).

Dung dịch đệm pH 3,2: Hỗn hợp 5,5 ml *acid phosphoric (TT)* và 950 ml *nước*, chỉnh đến pH 3,2 bằng *triethylamin (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *methanol (TT_2)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 20,0 ml với *methanol (TT_2)*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng *methanol (TT_2)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg chế phẩm và 5 mg tạp chất A chuẩn của irbesartan trong *methanol (TT_2)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng *methanol (TT_2)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký (5 µm)*.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 1,4 lần thời gian lưu của irbesartan.
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất A.
Thời gian lưu tương đối so với irbesartan (thời gian lưu khoảng 23 min): tạp chất A khoảng 0,7.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất A với pic của irbesartan ít nhất là 3,0.
Giới hạn:
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,15 %).
Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 1-(pentanoylamino)-*N*-[[2'-(1*H*-tetrazol-5-yl)biphenyl-4-yl]methyl]cyclopentanecarboxamid.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8)
Hỗn hợp dung môi: *Aceton - methanol* (20 : 80).
Lấy 0,25 g chế phẩm, tiến hành theo phương pháp 8.
Dùng 0,5 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 1,00 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2)
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong 50 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 42,85 mg $C_{25}H_{28}N_6O$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Đối kháng thụ thể angiotensin II.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN IRBESARTAN
Tabellae Irbesartani

Là viên nén chứa irbesartan.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng irbesartan, $C_{25}H_{28}N_6O$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lấy 1 viên, thêm 10 ml *methanol (TT)* và lắc siêu âm khoảng 10 min, lọc qua màng lọc 0,45 µm, làm bay hơi dịch lọc đến khô với dòng khí nitrogen. Lấy khoảng 1 mg cắn trộn đều với khoảng 250 mg *kali bromid (TT)* và dập thành viên nén. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn phân tán trong kali bromid phải phù hợp với phổ hồng ngoại của irbesartan chuẩn thực hiện trong cùng điều kiện.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic irbesartan trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 1000 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Pha loãng dịch lọc thu được tới nồng độ thích hợp với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 30 mg irbesartan chuẩn và chuyển vào bình định mức 100 ml, thêm 10 ml *methanol (TT)* để hòa tan sau đó thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* đến thể tích, lắc đều. Pha loãng dung dịch thu được với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ irbesartan tương đương với nồng độ irbesartan của dung dịch thử.

Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử, dung dịch chuẩn ở bước sóng có hấp thụ cực đại khoảng 244 nm, trong cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan.
Tính hàm lượng irbesartan, $C_{25}H_{28}N_6O$, hòa tan trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{25}H_{28}N_6O$ trong irbesartan chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng irbesartan, $C_{25}H_{28}N_6O$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, điều kiện sắc ký, dung dịch phân giải, dung dịch chuẩn, dung dịch thử thực hiện như mô tả trong phần Định lượng.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, ghi lại diện tích pic đáp ứng và tính hàm lượng phần trăm của mỗi tạp chất bằng phương pháp chuẩn hóa.
Giới hạn: Mỗi tạp chất không được quá 0,2 % và tổng lượng tạp chất không được quá 0,5 %.

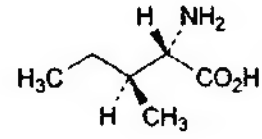
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm: Hòa tan 5,5 ml *acid phosphoric (TT)* trong khoảng 950 ml *nước*. Điều chỉnh đến pH 3,0 bằng *triethylamin (TT)*. Thêm *nước* vừa đủ 1000 ml, lắc đều.
Pha động: *Acetonitril - dung dịch đệm* (40 : 60). Điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.
Dung dịch phân giải: Cân chính xác một lượng irbesartan chuẩn và tạp chất A chuẩn của irbesartan và hòa tan trong *methanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ mỗi chất khoảng 0,1 mg/ml.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 37,5 mg irbesartan chuẩn, hòa tan trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với *methanol (TT)*. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng *methanol (TT)*.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 150 mg irbesartan vào bình định mức 100 ml, thêm 75 ml *methanol (TT)* và lắc siêu âm 15 min. Để nguội và thêm *methanol (TT)* đến định mức, lắc đều, lọc. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 50,0 ml bằng *methanol (TT)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, trên sắc ký đồ thu được, độ phân giải giữa pic irbesartan và pic tạp chất A chuẩn của irbesartan không nhỏ hơn 2,0.
Tiến hành sắc ký 6 lần riêng biệt đối với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic irbesartan không được lớn hơn 1,5 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng irbesartan, $C_{25}H_{28}N_6O$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{25}H_{28}N_6O$ của irbesartan chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín. Để nơi khô mát, nhiệt độ không quá 30 °C, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Điều trị tăng huyết áp.

Hàm lượng thường dùng
150 mg, 300 mg.

ISOLEUCIN
Isoleucinum



$C_6H_{13}NO_2$ P.t.l: 131,2

Isoleucin là acid (2*S*,3*S*)-2-amino-3-methylpentanoic, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_6H_{13}NO_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.
Chế phẩm thu được từ sản phẩm lên men, chiết xuất hoặc thủy phân protein.

Tính chất
Bột kết tinh hay dạng bông màu trắng hoặc gần như trắng. Hơi tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %. Tan trong dung dịch acid vô cơ loãng và trong dung dịch kiềm loãng.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, C.
Nhóm II: B, C.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của isoleucin chuẩn.
B. Trong phần Các chất dương tính với ninhydrin, vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (2) phải tương ứng về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1).
C. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử Góc quay cực riêng (Phụ lục 6.4).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực riêng
Từ + 40,0° đến + 43,0°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 1,00 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Các chất dương tính với ninhydrin
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel.
Dung môi khai triển: Butanol - acid acetic băng - nước (60 : 20 : 20).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 50 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg isoleucin chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử (2) thành 20 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10 mg isoleucin chuẩn và 10 mg valin chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô bản mỏng ngoài không khí. Phun lên bản mỏng *dung dịch ninhydrin 0,2 % (TT)* và sấy ở 100 °C đến 105 °C trong khoảng 15 min. Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (1), bất kỳ vết phụ nào ngoài vết chính, không được lớn hơn hay đậm màu hơn vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (3) cho hai vết tách biệt rõ ràng.

Clorid
Không được quá 200 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).
Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 15 ml với cùng dung môi.

Sulfat
Không được quá 300 phần triệu (Phụ lục 9.4.14).
Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 3 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và pha loãng thành 15 ml bằng *nước cất (TT).*

Amoni
Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.1).
Lấy 50 mg chế phẩm và tiến hành thử theo phương pháp B. Dùng 0,1 ml *dung dịch amoni mẫu 100 phần triệu NH_4 (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT).* Chiết 3 lần, mỗi lần với 10 ml *methyl isobutyl keton (TT_1)* và lắc trong 3 min. Tập trung dịch chiết hữu cơ, thêm 10 ml *nước* và lắc trong 3 min. Lấy lớp nước và tiến hành thử.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Dùng 0,25 g chế phẩm và tiến hành thử theo phương pháp 8. Dùng 0,25 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

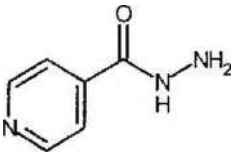
Định lượng
Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 3 ml *acid formic khan (TT)*, thêm 30 ml *acid acetic khan (TT).* Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Song song tiến hành làm mẫu trắng.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 13,12 mg $C_6H_{13}NO_2$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Acid amin.

Chế phẩm
Viên nén, nang, thuốc tiêm.

ISONIAZID
Isoniazidum



$C_6H_7N_3O$ P.t.l: 137,1

Isoniazid là pyridin-4-carbohydrazid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_6H_7N_3O$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hay tinh thể không màu, không mùi.
Dễ tan trong nước, hơi tan trong ethanol 96 %, khó tan trong cloroform, rất khó tan trong ether.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: B, C.
Nhóm II: A, C.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của isoniazid chuẩn hoặc phổ hồng ngoại đối chiếu của isoniazid chuẩn.
B. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 2 ml *nước*, thêm dung dịch nóng của 0,10 g *vanilin (TT)* trong 10 ml *nước*, để yên và cọ thành ống nghiệm bằng một đũa thủy tinh, sẽ có tủa vàng, tủa này sau khi kết tinh lại bằng 5 ml *ethanol 70 %* và sấy khô ở 100 °C đến 105 °C, có điểm chảy từ 226 °C đến 231 °C (Phụ lục 6.7).
C. Điểm chảy: 170 °C đến 174 °C (Phụ lục 6.7).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu VN_7 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
pH của dung dịch S từ 6,0 đến 8,0 (Phụ lục 6.2).

Hydrazin và tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Nước - aceton - methanol - ethyl acetat (10 : 20 : 20 : 50).
Dung dịch thử: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong hỗn hợp đồng thể tích *aceton (TT)* và *nước* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50,0 mg *hydrazin sulfat (TT)* trong 50 ml *nước* và pha loãng thành 100,0 ml bằng *aceton (TT)*. Lấy 10,0 ml dung dịch thu được, thêm 0,2 ml dung dịch thử và pha loãng thành 100,0 ml bằng hỗn hợp đồng thể tích *aceton (TT)* và *nước*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai bản mỏng đến khi dung môi đi được 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào ngoài vết chính của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết của dung dịch đối chiếu (0,2 %). Phun bản mỏng bằng *dung dịch dimethylamino benzaldehyd (*TT_1*)*. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Dung dịch đối chiếu xuất hiện thêm vết tương ứng với hydrazin. Vết tương ứng với hydrazin của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết tương ứng với hydrazin của dung dịch đối chiếu (0,05 %).

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 2,0 g chế phẩm thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Cân chính xác khoảng 0,250 g chế phẩm, hòa tan trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Lấy 20,0 ml dung dịch thu được, thêm 100 ml *nước*, 20 ml *acid hydrocloric (TT)*, 0,2 g *kali bromid (TT)* và 0,05 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)*. Định lượng từ từ bằng *dung dịch kali bromat 0,1 N (CĐ)*, lắc liên tục cho tới khi màu đỏ biến mất. Song song tiến hành mẫu trắng trong cùng điều kiện như trên.
1 ml *dung dịch kali bromat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 3,429 mg $C_6H_7N_3O$.

Bảo quản
Trong lọ thủy tinh nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống lao.

Chế phẩm
Viên nén, nang, thuốc tiêm, siro.

VIÊN NÉN ISONIAZID
Tabellae Isoniazidi

Là viên nén chứa isoniazid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng isoniazid, $C_6H_7N_3O$, từ 95,0 đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Chiết một lượng bột viên tương ứng với 0,1 g isoniazid bằng 10 ml *ethanol 96 % (TT)* trong 15 min, ly tâm và gạn lớp chất lỏng. Chiết cặn với *ethanol 96 % (TT)* thêm 2 lần nữa, mỗi lần 10 ml và gộp các dịch chiết rồi bốc hơi đến khô. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cặn thu được phải phù hợp với phổ đối chiếu của isoniazid.
B. Chiết một lượng bột viên tương ứng với 1 mg isoniazid bằng 50 ml *ethanol 96 % (TT)*, lọc. Thêm vào 5 ml dịch lọc 0,1 g *natri tetraborat (TT)* và 5 ml *dung dịch 1-cloro-2,4-dinitrobenzen 5 % trong ethanol 96 %*. Bốc hơi trên cách thủy đến khô và tiếp tục đun nóng trong 10 min nữa. Thêm vào cặn 10 ml *methanol (TT)*, trộn đều sẽ xuất hiện màu đỏ tía.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Đo độ hấp thụ của dịch lọc môi trường sau khi hòa tan (pha loãng nếu cần) ở bước sóng cực đại 263 nm (Phụ lục 4.1). Tính lượng isoniazid, $C_6H_7N_3O$, được hòa tan theo A (1 %, 1 cm). Lấy 307 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng cực đại 263 nm.
Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng isoniazid so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

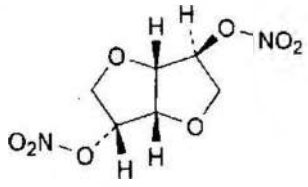
Định lượng
Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 0,4 g isoniazid và hòa tan kỹ với *nước*. Lọc và rửa cẩn bằng *nước*, tập trung dịch lọc và dịch rửa, thêm *nước* vừa đủ 250,0 ml. Hút 50,0 ml dung dịch thu được, thêm 50 ml *nước*, 20 ml *acid hydrocloric (TT)* và 0,2 g *kali bromid (TT)*. Chuẩn độ bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2) với *dung dịch kali bromat 0,1 N (CĐ)* hoặc dùng 2 giọt chỉ thị *đỏ methyl (TT)* và chuẩn độ cho đến khi hết màu đỏ.
1 ml *dung dịch kali bromat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 3,429 mg $C_6H_7N_3O$.

Bảo quản
Đựng trong bao bì kín, tránh ánh sáng và tránh ẩm.

Loại thuốc
Thuốc chống lao.

Hàm lượng thường dùng
10 mg; 50 mg; 150 mg; 300 mg.

ISOSORBID DINITRAT HỖN HỢP
Isosorbidi dinitras dilutus



$C_6H_8N_2O_8$ P.t.l: 236,1

Isosorbid dinitrat là 1,4:3,6-dianhydro-D-glucitol 2,5- dinitrat. Isosorbid dinitrat hỗn hợp là hỗn hợp khô của isosorbid dinitrat với lactose monohydrat hoặc manitol, phải chứa từ 95,0 % đến 105,0 % lượng ghi trên nhãn của 1,4:3,6-dianhydro-D-glucitol 2,5-dinitrat, $C_6H_8N_2O_8$.
Thận trọng: Isosorbid dinitrat không pha trộn có thể nổ khi tiếp xúc với nhiệt hoặc khi có va chạm. Cần hết sức thận trọng khi tiếp xúc và chỉ thao tác với lượng rất nhỏ.

Tính chất
Isosorbid dinitrat không pha trộn là bột kết tinh mịn, trắng hay gần như trắng.
Isosorbid dinitrat không pha trộn rất khó tan trong nước, rất tan trong aceton, hơi tan trong ethanol 96 %.

Độ tan của isosorbid dinitrat hỗn hợp phụ thuộc vào bản chất tá dược pha trộn và tỷ lệ isosorbid dinitrat trong hỗn hợp.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, C, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được từ phép thử định tính D, chuẩn bị dưới dạng đĩa nén phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của isosorbid dinitrat chuẩn.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Methylen clorid - methanol (95 : 5)
Dung dịch thử: Lắc một lượng chế phẩm tương đương với 10 mg isosorbid dinitrat với 10 ml *ethanol 96 % (TT)* trong 5 min và lọc.
Dung dịch đối chiếu: Lắc một lượng isosorbid dinitrat chuẩn tương đương với 10 mg isosorbid dinitrat với 10 ml *ethanol 96 % (TT)* trong 5 min và lọc.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Phun *dung dịch kali iodid - hồ tinh bột (TT)* mới pha, để bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm trong 15 min và quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Ethylen clorid - acid acetic khan - methanol - nước (50 : 25 : 15 : 10). Thể tích dung môi phải đong chính xác vì lượng nước hơi dư sẽ làm hỗn hợp dung môi bị đục.
Dung dịch thử: Lắc một lượng chế phẩm tương đương với 0,10 g lactose hoặc manitol với 10 ml *nước*, lọc nếu cần.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,10 g *lactose (TT)* trong *nước* và thêm *nước* vừa đủ 10 ml.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 0,10 g *manitol (TT)* trong *nước* và thêm *nước* vừa đủ 10 ml.
Dung dịch đối chiếu (3): Hỗn hợp đồng thể tích dung dịch đối chiếu (1) và (2).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl mỗi dung dịch trên, làm khô vết chấm, triển khai sắc ký lần đầu đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra làm khô bằng một luồng không khí ấm. Tiếp tục triển khai sắc ký ngay lần thứ 2 bằng dung môi khai triển mới pha lại đến khi dung môi đi được 15 cm. Làm khô bằng một luồng không khí ấm. Phun *dung dịch acid 4-aminobenzoic (TT)*, làm khô bằng một luồng không khí lạnh đến khi hơi aceton bay hết và sấy ở 100 °C trong 15 min. Để nguội, phun *dung dịch natri periodat 0,2 %*, làm khô bằng một luồng không khí lạnh và sấy ở 100 °C trong 15 min.
Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (3) cho 2 vết tách rõ rệt.
Đối với hỗn hợp sử dụng lactose, vết chính trên sắc ký đồ

thu được từ dung dịch thử phải có cùng vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
Đối với hỗn hợp sử dụng manitol, vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải có cùng vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).
D. Lắc một lượng chế phẩm tương ứng với 25 mg isosorbid dinitrat với 10 ml *aceton (TT)* trong 5 min. Lọc, bay hơi dịch lọc đến khô ở nhiệt độ dưới 40 °C, làm khô cắn bằng *phosphor pentoxyd (TT)* dưới áp suất không quá 0,7 kPa trong 16 h. Điểm chảy của cắn thu được từ 69 °C đến 72 °C (Phụ lục 6.7).

Tạp chất A
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel.
Dung môi khai triển: Toluen - aceton - acid acetic băng (60 : 30 : 15).
Dung dịch thử: Lắc một lượng chế phẩm tương đương với 0,10 g isosorbid dinitrat với 5 ml *ethanol 96 % (TT)* và lọc.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg *kali nitrat (TT)* trong 1 ml *nước* rồi pha loãng thành 100 ml bằng *ethanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, làm khô bằng một luồng không khí đến khi bay hết acid acetic, phun *dung dịch kali iodid - tinh bột (TT)* mới pha. Đặt bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm trong 15 min rồi quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Bất kỳ vết nào tương ứng với vết nitrat trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được có màu đậm hơn màu của vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 % tính theo kali nitrat).

Tạp chất B và C
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)
Pha động: Trimethylpentan - ethanol khan (85 : 15).
Dung dịch thử (1): Cân chính xác một lượng chế phẩm tương đương với 25 mg isosorbid dinitrat, thêm 20 ml pha động và lắc siêu âm trong 15 min, thêm pha động vừa đủ 25,0 ml. Lọc.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 10,0 ml với pha động.
Dung dịch đối chiếu (1): Cân chính xác một lượng isosorbid dinitrat chuẩn tương đương với 25 mg isosorbid dinitrat, thêm 20 ml pha động và lắc siêu âm trong 15 min, thêm pha động vừa đủ 25,0 ml, lọc.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10,0 mg isosorbid 2-nitrat chuẩn (tạp chất B) trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 0,1 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 10,0 mg isosorbid mononitrat chuẩn (tạp chất C) trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 0,1 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng pha động.
Dung dịch phân giải: Hòa tan 5 mg isosorbid 2-nitrat chuẩn trong pha động và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Lấy 1 ml dung dịch thu được, thêm 0,5 ml dung dịch đối chiếu (1) và thêm pha động vừa đủ 10 ml, lắc đều.
Điều kiện sắc ký
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *aminopropylmethylsilyl silica gel* (10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng từ 210 đến 215 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với các dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (3), (4) và dung dịch phân giải.
Thời gian lưu của isosorbid dinitrat khoảng 5 min, của isosorbid 2-nitrat (tạp chất B) khoảng 8 min, của isosorbid mononitrat (tạp chất C) khoảng 11 min.
Tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa pic isosorbid dinitrat và pic tạp chất B ít nhất là 6,0.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), diện tích pic tương ứng với tạp chất B không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,5 %); diện tích pic tương ứng với tạp chất C không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,5 %).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với các điều kiện sắc ký, pha động như mô tả ở mục Tạp chất B và C với một số thay đổi như sau:
Dung dịch thử: Dung dịch thử (2) của mục Tạp chất B và C.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch đối chiếu (2) của mục Tạp chất B và C.
Điều kiện sắc ký:
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, nếu giá trị diện tích pic từ hai lần tiêm lặp lại chênh lệch hơn 1,0 % thì tiêm lặp lại 4 lần nữa, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic của 6 lần tiêm không được quá 2,0 %.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử. Tính hàm lượng isosorbid dinitrat dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng isosorbid dinitrat, $C_6H_8N_2O_8$, trong isosorbid dinitrat chuẩn.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc trị đau thắt ngực nhóm nitrat.

Chế phẩm
Viên nén, viên nén giải phóng chậm.

VIÊN NÉN ISOSORBID DINITRAT
Tabellae Isosorbidi dinitras

Là viên nén chứa isosorbid dinitrat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng isosorbid dinitrat, $C_6H_8N_2O_8$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Sắc ký lớp mỏng
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Toluen.
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với khoảng 10 mg isosorbid dinitrat với 5 ml *ether (TT)*, ly tâm lấy dịch trong.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan một lượng isosorbid dinitrat chuẩn tương ứng với 10 mg isosorbid dinitrat trong 5 ml *ether (TT).*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được khoảng 3/4 bản mỏng, làm khô ngay bản mỏng bằng một luồng khí mát. Phun *dung dịch diphenylamin 1 % trong acid sulfuric.* Để bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại 254 nm và 365 nm trong 15 min. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.
B. Lắc một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg isosorbid dinitrat với *dung dịch acid sulfuric 50 % (TT)* nóng có chứa một lượng rất nhỏ *diphenylamin (TT)*, xuất hiện màu xanh dương đậm.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 1000 ml *nước.*
Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký và pha động như mô tả trong phần Định lượng.
Thể tích tiêm: 100 µl.
Dung dịch thử: Lấy một phần dịch hòa tan, lọc.
Dung dịch chuẩn: Pha dung dịch isosorbid dinitrat chuẩn trong *nước* để thu được dung dịch có nồng độ tương đương nồng độ dung dịch thử.
Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng isosorbid dinitrat, $C_6H_8N_2O_8$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

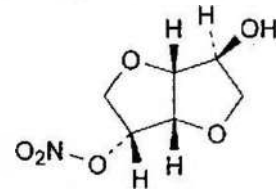
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - nước - dung dịch đệm (550 : 350 : 100).
Dung dịch đệm: Hòa tan 15,4 g *amoni acetat (TT)* trong *nước*, thêm 11,5 ml *acid acetic băng (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml. Dung dịch thu được có pH khoảng 4,7.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 25 mg isosorbid dinitrat và chuyển vào bình định mức 100 ml. Thêm 70 ml pha động, lắc siêu âm trong khoảng 15 min. Để nguội thêm pha động đến định mức, lắc đều, lọc.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng isosorbid dinitrat chuẩn tương ứng với 25 mg isosorbid dinitrat và chuyển vào bình định mức 100 ml, hòa tan bằng pha động và thêm pha động đến định mức, lắc đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic thu được từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử. Tính hàm lượng isosorbid dinitrat, $C_6H_8N_2O_8$, dựa vào diện tích pic isosorbid dinitrat thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_6H_8N_2O_8$ của isosorbid dinitrat chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc trị đau thắt ngực.

Hàm lượng thường dùng
5 mg, 10 mg.

ISOSORBID MONONITRAT HỖN HỢP
Isosorbidi mononitras dilutus



$C_6H_9NO_6$ P.t.l: 191,1

Isosorbid mononitrat là 1,4:3,6-dianhydro-D-glucitol 5-nitrat.
Isosorbid mononitrat hỗn hợp là hỗn hợp khô của isosorbid mononitrat với lactose monohydrat hoặc manitol, phải chứa từ 95,0 % đến 105,0 % lượng ghi trên nhãn của 1,4:3,6-dianhydro-D-glucitol 5-nitrat, $C_6H_9NO_6$.

Tính chất
Isosorbid mononitrat không pha trộn là bột kết tinh trắng hay gần như trắng.
Isosorbid mononitrat không pha trộn dễ tan trong nước, aceton, ethanol 96 % và trong methylen clorid.

Độ tan của isosorbid mononitrat hỗn hợp phụ thuộc vào bản chất tá dược pha trộn và tỷ lệ isosorbid mononitrat trong hỗn hợp.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, C, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được từ phép thử định tính D, chuẩn bị dưới dạng đĩa nén phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của isosorbid mononitrat chuẩn.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Methylen clorid - methanol (95 : 5)

Dung dịch thử: Lắc một lượng chế phẩm tương đương với 10 mg isosorbid mononitrat với 10 ml *ethanol 96 % (TT)* trong 5 min và lọc.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg isosorbid mononitrat chuẩn trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Phun *dung dịch kali iodid - hồ tinh bột (TT)* mới pha, để bản mỏng dưới ánh sáng từ ngoại ở bước sóng 254 nm trong 15 min và quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Ethylen clorid - acid acetic khan - methanol - nước (50 : 25 : 15 : 10). Thể tích dung môi phải đong chính xác vì lượng nước hơi dư sẽ làm hỗn hợp dung môi bị đục.

Dung dịch thử: Lắc một lượng chế phẩm tương đương với 0,10 g lactose hoặc manitol với 10 ml *nước*, lọc nếu cần.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,10 g *lactose (TT)* trong *nước* và thêm *nước* vừa đủ 10 ml.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 0,10 g *manitol (TT)* trong *nước* và thêm *nước* vừa đủ 10 ml.

Dung dịch đối chiếu (3): Hỗn hợp đồng thể tích dung dịch đối chiếu (1) và (2).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl mỗi dung dịch trên, làm khô vết chấm, triển khai sắc ký lần đầu đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra làm khô bằng một luồng không khí ấm. Tiếp tục triển khai sắc ký ngay lần thứ 2 bằng dung môi khai triển mới pha lại đến khi dung môi đi được 15 cm. Làm khô bằng luồng không khí ấm. Phun *dung dịch acid 4-aminobenzoic (TT)*, làm khô bằng một luồng không khí lạnh đến khi hơi aceton bay hết và sấy ở 100 °C trong 15 min. Để nguội, phun *dung dịch natri periodat 0,2 %*, làm khô bằng một luồng không khí lạnh và sấy ở 100 °C trong 15 min.

Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (3) cho 2 vết tách rõ rệt.

Đối với hỗn hợp sử dụng lactose, vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải có cùng vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Đối với hỗn hợp sử dụng manitol, vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải có cùng vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

D. Lắc một lượng chế phẩm tương ứng với 25 mg isosorbid mononitrat với 10 ml *aceton (TT)* trong 5 min. Lọc, bay hơi dịch lọc đến khô ở nhiệt độ dưới 40 °C, làm khô cắn bằng *phosphor pentoxyd (TT)* dưới áp suất không quá 0,7 kPa trong 16 h. Điểm chảy của cắn thu được từ 89 °C đến 91 °C (Phụ lục 6.7).

Tạp chất A

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

Bản mỏng: Silica gel.

Dung môi khai triển: Toluen - aceton - acid acetic băng (60 : 30 : 15).

Dung dịch thử. Lắc một lượng chế phẩm tương đương với 0,10 g isosorbid mononitrat với 5 ml *ethanol 96 % (TT)* và lọc.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg *kali nitrat (TT)* trong 1 ml *nước* rồi pha loãng thành 100 ml bằng *ethanol 96 % (TT).*

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, làm khô bằng một luồng không khí đến khi bay hết acid acetic, phun *dung dịch kali iodid - tinh bột (TT)* mới pha. Đặt bản mỏng dưới ánh sáng từ ngoại ở bước sóng 254 nm trong 15 min rồi quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Bất kỳ vết nào tương ứng với vết nitrat trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được có màu đậm hơn màu của vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 % tính theo kali nitrat).

Tạp chất B và C

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)

Pha động: Trimethylpentan - ethanol khan (85 : 15).

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng chế phẩm tương đương với 25 mg isosorbid mononitrat, thêm 20 ml pha động và lắc siêu âm trong 15 min, thêm pha động vừa đủ 25,0 ml. Lọc.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10,0 mg isosorbid 2-nitrat chuẩn (tạp chất C) trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 0,1 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Cân chính xác một lượng isosorbid dinitrat chuẩn (tạp chất B) tương đương với 10 mg isosorbid dinitrat, thêm 15 ml pha động và lắc siêu âm trong 15 min, thêm pha động vừa đủ 20,0 ml. Lọc. Pha loãng 0,1 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 5 mg isosorbid mononitrat chuẩn và 5 mg isosorbid 2-nitrat chuẩn trong pha động và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *aminopropylmethylsilyl silica gel* (10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng từ 210 đến 215 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với các dung dịch trên.
Thời gian lưu của isosorbid dinitrat (tạp chất B) khoảng 5 min, của isosorbid 2-nitrat (tạp chất C) khoảng 8 min, của isosorbid 5-nitrat khoảng 11 min.
Tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa pic isosorbid 2-nitrat và isosorbid 5-nitrat ít nhất là 4,0.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích pic tương ứng với tạp chất B không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %); diện tích pic tương ứng với tạp chất C không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với các điều kiện sắc ký, pha động như mô tả ở mục Tạp chất B và C với một số thay đổi như sau:
Dung dịch thử: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử ở mục Tạp chất B và C thành 10,0 ml với pha động.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan 25,0 mg isosorbid mononitrat chuẩn trong pha động và thêm pha động vừa đủ 25,0 ml. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng từ 230 nm.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, nếu giá trị diện tích pic từ hai lần tiêm lặp lại chênh lệch hơn 1,0 % thì tiêm lặp lại 4 lần nữa, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic của 6 lần tiêm không được quá 2,0 %.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Tính hàm lượng isosorbid mononitrat dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng isosorbid mononitrat, $C_6H_9NO_6$, trong isosorbid mononitrat chuẩn.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc trị đau thắt ngực nhóm nitrat.

Chế phẩm
Viên nén, viên nén giải phóng chậm.

VIÊN NÉN ISOSORBID MONONITRAT
Tabellae Isosorbidi mononitras

Là viên nén chứa isosorbid mononitrat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng isosorbid mononitrat, $C_6H_9NO_6$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Sắc ký lớp mỏng
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Dicloromethan - methanol (95 : 5).
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với khoảng 10 mg isosorbid mononitrat với 10 ml *ethanol 96 % (TT)*, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan một lượng isosorbid mononitrat chuẩn tương ứng với 10 mg isosorbid mononitrat trong 10 ml *ethanol 96 % (TT).*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được khoảng 3/4 bản mỏng, làm khô ngay bản mỏng bằng một luồng khí mát. Phun *dung dịch diphenylamin 1 % trong acid sulfuric*. Để bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại 254 nm và 365 nm trong 15 min. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng thời gian lưu với pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành:
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký và pha động như mô tả trong phần Định lượng.
Thể tích tiêm: 100 µl.
Dung dịch thử: Lấy một phần dịch hòa tan, lọc.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng isosorbid mononitrat chuẩn tương đương với khoảng 20 mg isosorbid mononitrat và chuyển vào bình định mức 100 ml, hòa tan bằng *nước* và thêm *nước* đến định mức. Pha loãng dung dịch thu được với *nước* để được dung dịch có nồng độ isosorbid mononitrat tương đương với dung dịch thử.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng isosorbid mononitrat, $C_6H_9NO_6$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Nước - methanol (70 : 30).

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 50 mg isosorbid mononitrat và chuyển vào bình định mức 100 ml. Thêm 70 ml pha động, lắc siêu âm trong khoảng 15 min. Để nguội, thêm pha động đến định mức, lắc đều, lọc. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng pha động.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng isosorbid mononitrat chuẩn tương ứng với khoảng 25 mg isosorbid mononitrat và chuyển vào bình định mức 25 ml, thêm 20 ml pha động và lắc siêu âm 15 min, để nguội và thêm pha động đến định mức. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch phân giải: Dung dịch có chứa 0,001 % isosorbid mononitrat chuẩn và 0,001 % isosorbid 2-nitrat chuẩn trong pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 50 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, độ phân giải giữa pic isosorbid mononitrat và isosorbid 2-nitrat ít nhất bằng 2,4.

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic thu được từ 6 lần tiêm lặp lại của dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch chuẩn. Tính hàm lượng isosorbid mononitrat, $C_6H_9NO_6$, dựa vào diện tích pic isosorbid mononitrat thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_6H_9NO_6$ của isosorbid mononitrat chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

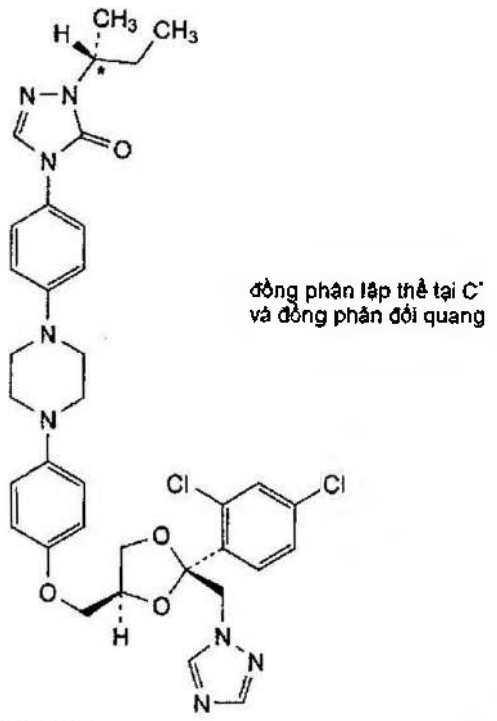
Thuốc trị đau thắt ngực.

Hàm lượng thường dùng

10 mg, 20 mg.

ITRACONAZOL

Itraconazolum



đồng phân lập thể tại C* và đồng phân đối quang

$C_{35}H_{38}Cl_2N_8O_4$ P.t.l: 706

Itraconazol là 4-[4-[4-[4-[[*cis*-2-(2,4-diclorophenyl)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl] methoxy]phenyl]piperazin-1-yl]phenyl]-2-[(1*RS*)-1-methylpropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on,phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{35}H_{38}Cl_2N_8O_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột màu trắng hay gần như trắng, thực tế không tan trong nước, dễ tan trong methylen clorid, rất khó tan trong ethanol (96 %).

Định tính

Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của itraconazol chuẩn.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi. Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không đậm hơn màu của dung dịch màu mẫu $Đ_6$ hoặc N_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.

Dung môi pha mẫu: Pha loãng 4,0 ml *acid hydrocloric (TT)* thành 1000 ml bằng *methanol (TT)*.

Pha động A: Dung dịch tetrabutylamoni hydrosulfat 2,72 %.

Pha động B: Acetonitril (TT_L).

Dung dịch thử: Hòa tan 100 mg chế phẩm trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với cùng môi pha mẫu. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml với dung môi pha mẫu.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg itraconazol chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (có chứa các tạp B, C, D, E, F và G) trong 1 ml dung môi pha mẫu.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *base-deactivated end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (3 µm hoặc 3,5 µm).
Nhiệt độ cột: 30 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 225 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 2	80	20
2 - 22	80 → 50	20 → 50
22 - 27	50	50

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo itraconazol chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) để định tính các tạp chất B, C, D, E, F và G.
Thời gian lưu tương đối so với itraconazol (thời gian lưu khoảng 14 min): Tạp chất B khoảng 0,7; tạp chất C và D khoảng 0,8; tạp chất E khoảng 0,9; tạp chất F khoảng 1,05; tạp chất G khoảng 1,3.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), tỷ số đỉnh - hõm (H_p/H_v) không được dưới 1,5, trong đó H_p là chiều cao của đỉnh pic tạp chất F và H_v là chiều cao của đáy hõm phân tách hai pic tạp chất F và pic itraconazol.
Giới hạn:
Tạp chất B, G: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 3 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).
Tạp chất E: Diện tích pic tạp chất E không được lớn hơn 2 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Tổng tạp chất C và D: Không được lớn hơn 3 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).
Tổng diện tích các pic tạp chất: Không lớn hơn 8 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) (0,8 %).
Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 4-[4-[4-(4-methoxyphenyl)piperazin-1-yl]phenyl]-2-[(1*RS*)-1-methylpropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on.
Tạp chất B: 4-[4-[4-[4-[[*cis*-2-(2,4-dichlorophenyl)-2-(4*H*-1,2,4-triazol-4-ylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl]methoxy]phenyl] piperazin-1-yl]phenyl]-2-[(1*RS*)-1-methylpropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on.
Tạp chất C: 4-[4-[4-[4-[[*cis*-2-(2,4-dichlorophenyl)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl]methoxy]phenyl]piperazin-1-yl]phenyl]-2-propyl-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on.
Tạp chất D: 4-[4-[4-[4-[[*cis*-2-(2,4-dichlorophenyl)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl]methoxy]phenyl]piperazin-1-yl]phenyl]-2-(1-methylethyl)-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on.
Tạp chất E: 4-[4-[4-[4-[[*trans*-2-(2,4-dichlorophenyl)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl]methoxy]phenyl] piperazin-1-yl]phenyl]-2-[(1*RS*)-1-methylpropyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol- 3-on.
Tạp chất F: 2-butyl-4-[4-[4-[4-[[*cis*-2-(2,4-dichlorophenyl)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl]methoxy]phenyl] piperazin-1-yl]phenyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on.
Tạp chất G: 4-[4-[4-[4-[[*cis*-2-(2,4-dichlorophenyl)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl]methoxy]phenyl] piperazin-1-yl]phenyl]-2-[[*cis*-2-(2,4-dichlorophenyl)-2-(1*H*-1,2,4-triazol-1-ylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl]methyl]-2,4-dihydro-3*H*-1,2,4-triazol-3-on.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C; 4 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong 70 ml hỗn hợp gồm 1 thể tích *acid acetic khan (TT)* và 7 thể tích *butan-2-on (TT)* bằng cách khuấy mạnh trong ít nhất 10 min. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N* (CĐ), xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2) và chuẩn độ đến bước nhảy thế thứ hai.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N* (CĐ) tương đương với 35,3 mg $C_{35}H_{38}Cl_2N_8O_4$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống nấm.

Chế phẩm
Nang.

NANG ITRACONAZOL
Capsulae Itraconazoli

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

Hàm lượng itraconazol, $C_{35}H_{38}Cl_2N_8O_4$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Trong mục Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic itraconazol trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Định lượng.
Pha động A: Dung dịch tetrabutylamoni hydrosulfat 0,02 M.
Pha động B: Acetonitril (TT).
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên, hòa tan với hỗn hợp *methanol - tetrahydrofuran* (4 : 1), pha loãng với cùng dung môi để thu được dung dịch có nồng độ itraconazol chính xác khoảng 2 mg/ml, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử trong vừa đủ 200 ml hỗn hợp *methanol - tetrahydrofuran* (4 : 1).
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0	80	20
20	60	40
25	60	40
30	50	50
44	50	50
45	80	20
50	80	20

Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính trên sắc ký đồ thu được ít nhất bằng 20 % thang đo.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch đối chiếu và dung dịch thử, với điều kiện sắc ký như mô tả, thời gian lưu của itraconazol khoảng 23 min.
Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử không được có pic phụ nào có diện tích lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %) và tổng diện tích của tất cả các pic phụ không được lớn hơn 3 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,5 %). Bỏ qua bất kỳ pic nào có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích của pic chính của dung dịch đối chiếu.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 1000 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*
Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan qui định, hút dịch hòa tan, lọc bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Lấy 5,0 ml dịch lọc thu được, pha loãng với hỗn hợp *methanol - môi trường hòa tan* (5 : 95) vừa đủ 25 ml.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan khoảng 20 mg itraconazol chuẩn trong 40 ml *methanol (TT)*, làm ấm trong cách thủy ở 40 °C, lắc để hòa tan. Để nguội, pha loãng với môi trường hòa tan vừa đủ 200 ml. Lấy 5,0 ml dịch thu được, pha loãng với môi trường hòa tan vừa đủ 25 ml.
Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử, dung dịch chuẩn ở bước sóng 255 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là hỗn hợp *methanol - môi trường hòa tan* (5 : 95). Tính hàm lượng itraconazol, hòa tan trong mỗi nang dựa vào độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{35}H_{38}Cl_2N_8O_4$ trong itraconazol chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng itraconazol, $C_{35}H_{38}Cl_2N_8O_4$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Acetonitril - dung dịch tetrabutylamoni hydrosulfat 0,02 M* (40 : 60).
Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang, nghiền mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với 50 mg itraconazol vào bình định mức 250 ml, hòa tan bằng cách lắc siêu âm với hỗn hợp *methanol - tetrahydrofuran* (4 : 1). Để nguội và pha loãng với cùng dung môi đến vạch, lắc kỹ và lọc.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng cân chính xác itraconazol chuẩn trong hỗn hợp *methanol - tetrahydrofuran* (4 : 1) bằng cách lắc siêu âm, pha loãng với cùng dung môi để thu được dung dịch có nồng độ itraconazol chính xác khoảng 0,2 mg/ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 225 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký 6 lần riêng biệt đối với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic itraconazol không được lớn hơn 2,0 %, số đĩa lý thuyết của cột không được nhỏ hơn 3000.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng itraconazol, $C_{35}H_{38}Cl_2N_8O_4$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{35}H_{38}Cl_2N_8O_4$ trong itraconazol chuẩn.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, tránh ẩm và ánh sáng, nhiệt độ không quá 30 °C.

Loại thuốc
Thuốc chống nấm.

Hàm lượng thường dùng
100 mg.

KALI BROMID
Kalii bromidum

KBr P.t.l: 119,0

Kali bromid phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % KBr, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Tinh thể không màu hay bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan trong nước và glycerin, khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính
A. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của bromid (Phụ lục 8.1).
B. *Dung dịch S*: Hòa tan 10,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải cho các phản ứng đặc trưng của kali (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)*. Màu của dung dịch phải chuyển khi thêm không quá 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* hoặc 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)*.

Clorid và sulfat
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 0,600 g *kali hydroxyd (TT)* trong *nước dùng cho sắc ký* và pha loãng thành 1000,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong 50 ml *nước dùng cho sắc ký* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 25,0 ml dung dịch thử (1) thành 50,0 ml bằng *nước dùng cho sắc ký*.
Dung dịch đối chiếu (1): Lấy 25,0 ml dung dịch thử (1), thêm 1,0 ml *dung dịch sulfat mẫu 10 phần triệu SO_4 (TT)* và 12,0 ml *dung dịch clorid mẫu 50 phần triệu Cl (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng *nước dùng cho sắc ký*.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 10,0 ml dung dịch thử (1) thành 100,0 ml bằng *nước dùng cho sắc ký*. Lấy 2,0 ml dung dịch thu được thêm 8,0 ml *dung dịch clorid mẫu 50 phần triệu Cl (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml bằng *nước dùng cho sắc ký*.
Mẫu trắng: Nước dùng cho sắc ký.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 2,0 mm) được nhồi pha tĩnh là *nhựa trao đổi anion có tính kiềm mạnh dùng cho sắc ký* (13 µm).
Detector dẫn điện có bộ khử ion phù hợp.
Tốc độ dòng: 0,4 ml/min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (1), (2) và mẫu trắng.
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2,5 lần thời gian lưu của bromid.
Thời gian lưu của clorid khoảng 5 min, của bromid khoảng 8 min và của sulfat khoảng 16 min.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của clorid và pic của bromid ít nhất là 8,0.
Giới hạn:
Hiệu chỉnh diện tích của các pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) và dung đối chiếu (1) bằng cách so sánh với các pic trên sắc ký đồ của mẫu trắng.
Clorid: Diện tích pic clorid trên sắc ký đồ dung dịch thử (2) không được lớn hơn diện tích chênh lệch giữa diện tích pic clorid trên sắc ký đồ dung dịch thử (2) và diện tích pic clorid trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (1) (0,6 %).
Sulfat: Diện tích pic sulfat trên sắc ký đồ dung dịch thử (2) không được lớn hơn diện tích chênh lệch giữa diện tích pic sulfat trên sắc ký đồ dung dịch thử (2) và diện tích pic sulfat trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (1) (0,01 %).

Bromat
Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)*, 0,1 ml *dung dịch kali iodid 10 % (TT)* và 0,25 ml *dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT)*. Để chỗ tối 5 min. Dung dịch không được có màu xanh hay tím.

Iodid
Lấy 5 ml dung dịch S, thêm 0,15 ml *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)* và lắc với 2 ml *methylen clorid (TT)*. Để yên cho phân lớp. Lớp dưới phải không có màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 1).

Sắt
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).
Pha loãng 5 ml dung dịch S thành 10 ml bằng *nước*.

Magnesi và các kim loại kiềm thổ
Không được quá 0,02 % tính theo calci (Phụ lục 9.4.16).
Dùng 10,0 g chế phẩm để thử. Thể tích *dung dịch natri edetat 0,01 M (CĐ)* đã dùng không được quá 5,0 ml.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 12 ml dung dịch S thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C; 3 h).

Định lượng
Hòa tan 100,0 mg chế phẩm trong *nước*, thêm 5 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* và pha loãng thành 50 ml bằng *nước*. Chuẩn độ bằng *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 11,90 mg KBr.
Tính hàm lượng phần trăm của KBr theo công thức sau:

$$a - 3{,}357 \times b$$

Trong đó:
a là hàm lượng phần trăm KBr và KCl xác định được trong phép Định lượng và tính theo KBr.
b là hàm lượng phần trăm Cl thu được từ phép thử Clorid và sulfat.

KALI CLORID
Kalii chloridum

KCl P.t.l: 74,6

Kali clorid phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % KCl, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Tinh thể không màu hoặc bột kết tinh trắng, không mùi.
Dễ tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol.

Định tính
Dung dịch S: Hòa tan 10,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải cho các phản ứng của ion kali và ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Lấy 50,0 ml dung dịch S, thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)*. Dung dịch phải chuyển màu khi thêm không quá 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)* hoặc 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*.

Sulfat
Không được quá 0,03 % (Phụ lục 9.4.14).
Pha loãng 5 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Iodid
Làm ẩm 5,0 g chế phẩm bằng cách thêm từng giọt hỗn hợp vừa mới pha gồm 25 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)*, 2,0 ml *dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT)* 0,15 ml *dung dịch natri nitrit 10 %* và 25 ml *nước*. Sau 5 min, quan sát dưới ánh sáng thường: Hỗn hợp thử nghiệm không được có bất kỳ tiểu phân hoặc vết màu xanh nào xuất hiện.

Bromid
Không được quá 0,1 %.
Pha loãng 1,0 ml dung dịch S thành 50 ml bằng *nước*. Thêm vào 5,0 ml dung dịch thu được 2,0 ml *dung dịch đỏ phenol (TT)* và 1,0 ml *dung dịch cloramin T 0,02 % (TT)*, trộn đều ngay. Sau đúng 2 min, thêm 0,15 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 M (TT)*, trộn đều và pha loãng thành 10,0 ml bằng *nước*.
Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 590 nm, dùng *nước* làm mẫu trắng, không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch được chuẩn bị trong cùng điều kiện và cùng thời gian nhưng thay 5,0 ml dung dịch thử bằng 5,0 ml dung dịch kali bromid chuẩn chứa 3,0 mg/l.

Bari
Lấy 5,0 ml dung dịch S, thêm 5,0 ml *nước* và 1,0 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)*. Sau 15 min, dung dịch thử không được đục hơn một hỗn hợp gồm 5,0 ml dung dịch S và 6,0 ml *nước*.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 12,0 ml dung dịch S và tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).
Pha loãng 5,0 ml dung dịch S thành 10 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Magnesi và các kim loại kiềm thổ
Không được quá 0,02 % (tính theo calci) (Phụ lục 9.4.16).
Dùng 10,0 g chế phẩm để thử. Thể tích *dung dịch natri edetat 0,01 M (CĐ)* đã dùng không được quá 5,0 ml.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 3 h).

Natri
Không được quá 0,1 %, nếu chế phẩm được dùng để pha chế dung dịch tiêm truyền hoặc thẩm tách máu.
Phương pháp quang phổ nguyên tử phát xạ (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Hòa tan 1,00 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan trong *nước* 0,5084 g *natri clorid (TT)* đã được sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 3 h và pha loãng thành 1000,0 ml với cùng dung môi (200 µg Na/ml), pha loãng tiếp theo yêu cầu.
Đo cường độ phát xạ ở bước sóng 589 nm.

Nhôm
Không được quá 1 phần triệu (Phụ lục 9.4.9), nếu chế phẩm được dùng để pha chế dung dịch thẩm tách máu.
Dung dịch thử: Hòa tan 4,0 g chế phẩm trong 100 ml *nước*, thêm 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0 (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Trộn 2,0 ml *dung dịch nhôm mẫu 2 phần triệu Al (TT)* với 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0 (TT)* và 98 ml *nước*.
Dung dịch mẫu trắng: Trộn 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0 (TT)* với 100 ml *nước*.

Định lượng
Hòa tan 1,300 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Lấy chính xác 10,0 ml dung dịch trên cho vào bình nón, thêm 50 ml *nước*, 5 ml *dung dịch acid nitric 12,5 % (TT)*, 25,0 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* và 2 ml *dibutylphtalat (hoặc nitrobenzen) (TT)*. Lắc đều và chuẩn độ bằng *dung dịch amoni thiocyanat 0,1 N (CĐ)*. Dùng 2 ml *dung dịch sắt (III) amoni sulfat 10 % (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 7,46 mg KCl.

Bảo quản
Trong lọ nút kín, để nơi khô ráo, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Bổ sung chất điện giải.

Chế phẩm
Dung dịch tiêm kali clorid; Dịch truyền dextrose kali clorid và natri clorid; Dịch truyền dextrose và kali clorid; Hỗn hợp muối pha dung dịch uống bù chất điện giải. Viên kali clorid tác dụng kéo dài.

Nhãn
Nhãn phải ghi rõ nếu chế phẩm phù hợp để pha dung dịch tiêm truyền hoặc thẩm tách máu.

DUNG DỊCH ĐẬM ĐẶC PHA TIÊM KALI CLORID
Injectio Kalii chloridi concentrata

Dung dịch đậm đặc pha tiêm kali clorid là dung dịch vô khuẩn chứa kali clorid trong nước để pha thuốc tiêm.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng kali clorid, KCl, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu.

Định tính
Dung dịch chế phẩm cho các phản ứng của ion clorid và ion kali (Phụ lục 8.1).

Giới hạn acid - kiềm
Pha loãng một thể tích chế phẩm với *nước không có carbon dioxyd (TT)* để được dung dịch có nồng độ kali clorid 10 %, nếu cần. Lấy 50 ml dung dịch trên, thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)*. Dung dịch phải chuyển màu khi thêm không quá 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)* hoặc 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*.

Nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2)
Pha loãng chế phẩm với *nước BET* để thu được dung dịch có nồng độ kali clorid 0,5 % và điều chỉnh pH của dung dịch bằng 7,0 nếu cần (dung dịch A). Giới hạn nồng độ nội độc tố của dung dịch A là 3,0 EU/ml. Tiến hành thử nghiệm sử dụng thuốc thử lysat có độ nhạy không được ít hơn 0,0625 EU/ml và giá trị pha loãng cực đại của dung dịch A được tính toán từ độ nhạy của thuốc thử lysat dùng trong thử nghiệm.

Định lượng
Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương đương với khoảng 0,15 g kali clorid, thêm 30 ml *nước*. Định lượng bằng *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)*, dùng *dung dịch kali cromat 5 % (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 7,46 mg KCl.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Bổ sung chất điện giải.

Hàm lượng thường dùng
Dung dịch tiêm 10 %.

VIÊN NÉN KALI CLORID
Tabellae Kalii chloridi

Là viên nén bao giải phóng dược chất kéo dài có chứa kali clorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) mục "Viên bao" và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng kali clorid, KCl, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Lấy một lượng bột viên chế phẩm (từ viên đã loại bỏ vỏ bao và nghiền mịn) tương đương với khoảng 1 g kali clorid, thêm 20 ml *nước*, lắc siêu âm 20 min, lọc. Dịch lọc phải cho các phản ứng của ion clorid và ion kali (Phụ lục 8.1).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4).
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.

Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 1 h, 2 h và 6 h.
Cách tiến hành: Hút chính xác 10,0 ml dung dịch môi trường hòa tan chế phẩm ở mỗi thời điểm (sau 1 h, sau 2 h và sau 6 h), thêm 25 ml *nước*, 5 ml *dung dịch chứa 25 % (tt/tt) acid acetic băng* và 0,1 ml *dung dịch bão hòa kali sulfat*. Chuẩn độ bằng *dung dịch bạc nitrat 0,01 N (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,01 N (CĐ)* tương đương với 0,746 mg kali clorid.
Yêu cầu: Lượng kali clorid, KCl, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan sau 1 h không được lớn hơn 50 %; sau 2 h không được ít hơn 25 % và không được lớn hơn 75 %; sau 6 h không được ít hơn 75 %.

Định lượng
Dung dịch thử: Lấy 10 viên cho vào bình định mức 500 ml, thêm 400 ml *nước*, lắc trong 30 min, đun trên cách thủy 45 h. Để nguội, thêm *nước* đến định mức, trộn đều và để yên trong 24 h. Lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu, pha loãng dịch lọc thu được bằng *nước* để thu được dung dịch có chứa nồng độ kali thích hợp.
Dung dịch chuẩn: Pha loãng một thể tích *dung dịch kali mẫu 600 phần triệu K* với *nước* để thu được dung dịch kali chuẩn có nồng độ thích hợp.
Tiến hành đo cường độ phát xạ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử bằng phương pháp quang phổ nguyên tử phát xạ và hấp thụ (Phụ lục 4.4) tại bước sóng 766,5 nm.
1 mg kali tương đương với 1,908 mg kali clorid.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Bổ sung chất điện giải.

Hàm lượng thường dùng
600 mg.

KALI IODID
Kalii iodidum

KI P.t.l: 166,0

Kali iodid phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % KI, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Tinh thể không màu hay bột kết tinh trắng, không mùi, dễ chảy khi tiếp xúc với không khí ẩm.
Rất dễ tan trong nước, dễ tan trong glycerin, tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Dung dịch S: Hòa tan 10,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải cho phản ứng của ion kali và ion iodid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn kiềm
Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 0,1 ml *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (TT)* và 1 giọt dung dịch *phenolphtalein (TT)*, dung dịch không được có màu.

Iodat
Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 0,25 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* và 0,2 ml dung dịch *acid sulfuric 10 % (TT)*. Để yên trong tối 2 min, hỗn hợp không được có màu xanh lam.

Sulfat
Không được quá 0,015 % (Phụ lục 9.4.14).
Pha loãng 10 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Thiosulfat
Thêm 0,1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* và 0,1 ml *dung dịch iod 0.005 M* vào 10 ml dung dịch S, màu xanh lam tạo thành.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 12 ml dung dịch S và tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).
Pha loãng 5 ml dung dịch S thành 10 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 3 h).

Định lượng
Hòa tan 1,500 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Lấy 20,0 ml dung dịch trên, thêm 40 ml *acid hydrocloric (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch kali iodat 0,05 M (CĐ)* cho tới khi màu chuyển từ đỏ sang vàng. Thêm 5 ml *cloroform (TT)* và tiếp tục chuẩn độ, lắc mạnh đến khi lớp cloroform mất màu.
1 ml *dung dịch kali iodat 0,05 M (CĐ)* tương đương với 16,60 mg KI.

Bảo quản
Trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chất kháng giáp.

Chế phẩm
Dung dịch uống.

KALI PERMANGANAT
Kalii permanganas

$KMnO_4$ P.t.l: 158,0

Kali permanganat phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % $KMnO_4$.

Tính chất
Tinh thể hình lăng trụ màu tím sẫm hoặc gần như đen, hoặc bột dạng hạt, màu tím sẫm hoặc đen nâu, thường có ánh kim, không mùi.
Dễ bị phân hủy và gây nổ khi tiếp xúc với một số chất hữu cơ và chất dễ bị oxy hóa. Tan trong nước lạnh, dễ tan trong nước sôi.
Cần thận trọng khi tiến hành thử nghiệm với kali permanganat vì khi tiếp xúc trực tiếp chất này với một số chất hữu cơ hoặc chất dễ bị oxy hóa khác nó có thể gây nổ ngay cả ở trạng thái lỏng hoặc rắn.

Định tính
A. Hòa tan khoảng 50 mg chế phẩm trong 5 ml *nước*, thêm 1 ml *ethanol 96 % (TT)* và 0,3 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*. Dung dịch xuất hiện màu xanh. Đun dung dịch đến sôi, tủa nâu xám xuất hiện.
B. Lọc hỗn hợp thu được từ phép thử A. Dịch lọc cho phản ứng của ion kali (Phụ lục 8.1).

Màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 0,75 g chế phẩm trong 25 ml *nước*, thêm 3 ml *ethanol 96 % (TT)* và đun sôi từ 2 min đến 3 min. Để nguội, thêm *nước* vừa đủ 30 ml và lọc.
Dung dịch S phải không màu (Phụ lục 9.3, Phương pháp 2).

Clorid
Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.5).
Pha loãng 10 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Sulfat
Không được quá 0,05 % (Phụ lục 9.4.14).
Pha loãng 12 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

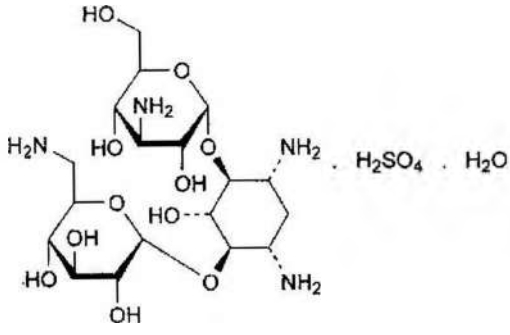
Các chất không tan trong nước
Không được quá 1,0 %.
Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 50 ml *nước*. Đun sôi, lọc qua phễu thủy tinh xốp đã cân bì trước (phễu có số độ xốp 16). Rửa cắn trên phễu bằng *nước* cho đến khi nước rửa không màu. Sấy cắn ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C cho đến khối lượng không đổi. Khối lượng cắn còn lại không được quá 5 mg.

Định lượng
Cân chính xác khoảng 0,300 g chế phẩm, hòa tan trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Lấy 20,0 ml dung dịch này cho vào bình nón có nút mài, thêm 20 ml *nước*, 1 g *kali iodid (TT)* và 10 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*. Chuẩn độ iod giải phóng ra bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)*, dùng 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị và được cho vào khi hỗn hợp định lượng nhạt màu.
1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 3,16 mg $KMnO_4$.

Bảo quản
Trong chai lọ nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chất sát trùng.

KANAMYCIN SULFAT
Kanamycini sulfas
Kanamycin monosulfat



$C_{18}H_{36}N_4O_{11}.H_2SO_4.H_2O$ P.t.l: 601

Kanamycin monosulfat là 6-*O*-(3-amino-3-deoxy-α-D-glucopyranosyl)-4-*O*-(6-amino-6-deoxy-α-D-glucopyranosyl)-2-deoxy-D-streptamin sulfat, thu được từ nuôi cấy một số chủng *Streptomyces kanamyceticus*. Hoạt lực không dưới 750 IU/mg, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Sản xuất
Phương pháp sản xuất kanamycin monosulphat được thiết lập sao cho có thể loại bỏ hoặc giảm thiểu các chất gây hạ huyết áp. Phương pháp sản xuất này phải được thẩm định để chứng minh rằng chế phẩm khi được kiểm tra thì phải đáp ứng yêu cầu của phép thử sau:
Độc tính bất thường (Phụ lục 13.5)
Tiêm vào mỗi chuột nhắt 0,5 ml dung dịch chứa 2 mg chế phẩm trong 1 ml.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hay gần như trắng.
Tan trong khoảng 8 phần nước. Thực tế không tan trong aceton và trong ethanol 96 %.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Trộn 0,3 g *carbomer (TT)* với 240 ml *nước*,

để yên và thỉnh thoảng lắc nhẹ nhàng trong 1 h. Tiếp tục chỉnh pH đến 7 bằng cách thêm từ từ *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, vừa thêm vừa lắc và thêm 30 g *silica gel H (TT)*. Tráng bản mỏng dày 0,75 mm.
Sấy bản mỏng ở 110 °C trong 1 h, để nguội và sử dụng ngay.
Dung môi khai triển: Dung dịch kali dihydrophosphat 7 % (TT).
Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg kanamycin monosulfat chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg kanamycin monosulfat chuẩn, 10 mg neomycin sulfat chuẩn và 10 mg streptomycin sulfat chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành:
Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 12 cm. Làm khô bản mỏng bằng luồng không khí ấm và phun lên bản mỏng hỗn hợp đồng thể tích của *dung dịch dihydroxynaphtalen 0,2 % trong ethanol 96 %* và *dung dịch acid sulphuric 46 %*. Sấy bản mỏng ở 150 °C trong 5 đến 10 min. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, màu sắc và kích thước so với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 3 vết tách rõ ràng.
B. Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 10 ml *nước*. Thêm 10 ml *dung dịch acid picric 1 % (TT)*, dùng đũa thủy tinh cọ thành ống nghiệm để tạo tủa nếu cần, để yên. Các tinh thể thu được sau khi rửa với 20 ml *nước* và sấy ở 100 °C, có nhiệt độ nóng chảy khoảng 235 °C (Phụ lục 6.7), kèm theo sự phân hủy.
C. Hòa tan khoảng 50 mg chế phẩm trong 2 ml *nước*. Thêm 1 ml *dung dịch ninhydrin 1 % (TT)* và đun nóng trên cách thủy trong vài phút. Dung dịch xuất hiện màu tím.
D. Chế phẩm cho các phản ứng của sulfat (Phụ lục 8.1).

pH
Từ 6,5 đến 8,5 (Phụ lục 6.2).
Hoà tan 0,20 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Góc quay cực riêng
Từ +112° đến +123°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).
Hoà tan 0,20 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Kanamycin B
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Chuẩn bị bản mỏng như chỉ dẫn trong phép thử định tính A.
Sấy bản mỏng ở 110 °C trong 1 h, để nguội và sử dụng ngay.
Dung môi khai triển: Dung dịch kali dihydrophosphat 7 %.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hoà tan 4 mg kanamycin B sulfat chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 4 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 12 cm. Làm khô bản mỏng bằng luồng không khí ấm và phun lên bản mỏng *thuốc thử ninhydrin - thiếc clorid (TT)*. Sấy bản mỏng ở 110 °C trong 15 min. Vết tương ứng với vết của kanamycin B trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm hơn với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,00 g; 60 °C; áp suất không quá 670 Pa; 3 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Sulfat
Từ 15,0 % đến 17,0 % sulfat (SO_4), tính theo chế phẩm đã làm khô.
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 100 ml *nước* và chỉnh pH của dung dịch đến 11 bằng *amoniac (TT)*. Thêm 10,0 ml *dung dịch bari clorid 0,1 M (CĐ)* và khoảng 0,5 mg *đỏ tía phtalein (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)*, khi dung dịch bắt đầu chuyển màu thêm 50 ml *ethanol 96 % (TT)* và tiếp tục chuẩn độ cho đến khi hết màu xanh tím.
1 ml *dung dịch bari clorid 0,1 M (CĐ)* tương đương với 9,606 mg sulfat (SO_4).

Chất gây sốt
Nếu chế phẩm được dùng để pha các dạng thuốc tiêm mà không áp dụng các biện pháp hữu hiệu để loại bỏ chất gây sốt thì phải đáp ứng yêu cầu Phép thử chất gây sốt (Phụ lục 13.4).
Tiêm 1 ml dung dịch chế phẩm nồng độ 10 mg/ml trong *nước để pha thuốc tiêm* cho mỗi kg thể trọng thỏ.

Định lượng
Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật (Phụ lục 13.9).

Bảo quản
Nếu chế phẩm vô khuẩn, bảo quản trong đồ đựng được tiệt trùng, tránh nhiễm khuẩn.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm aminoglycosid.

Chế phẩm
Thuốc tiêm.

THUỐC TIÊM KANAMYCIN
Injectio Kanamycini

Thuốc tiêm kanamycin là dung dịch vô khuẩn của kanamycin sulfat trong nước, chế phẩm có thể chứa chất đệm hoặc chất bảo quản thích hợp.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng kanamycin, $C_{18}H_{36}N_4O_{11}$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu hoặc hơi vàng nhạt.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cloroform - amoniac - methanol (2 : 1 : 1).
Dung dịch thử: Hòa loãng một thể tích dung dịch chế phẩm với *nước* để được dung dịch có nồng độ kanamycin sulfat khoảng 20 mg trong 1 ml.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch kanamycin sulfat chuẩn nồng độ 20 mg trong 1 ml.
Cách tiến hành:
Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl các dung dịch thử, dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí. Phun *dung dịch ninhydrin 0,2 % trong butanol bão hòa nước*, sau đó sấy bản mỏng ở 100 °C trong 10 min. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn phải có màu tím nâu và có cùng giá trị R_f.
B. Dung dịch chế phẩm cho phản ứng đặc trưng của ion sulfat (Phụ lục 8.1).

pH
Từ 4,5 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).

Kanamycin B
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G, hoạt hóa bản mỏng ở 110 °C trong 1 h và để nguội.
Dung môi khai triển: Dung dịch kali dihydrophosphat 7,5 %.
Dung dịch thử: Hòa loãng một thể tích dung dịch chế phẩm với *nước* để được dung dịch có nồng độ kanamycin sulfat 30 mg trong 1 ml.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 9 mg kanamycin sulfat chuẩn trong 10 ml *nước*.
Cách tiến hành:
Để bình sắc ký bão hòa dung môi trong 18 h. Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí sau đó phun *dung dịch ninhydrin 1 % trong butanol*. Sấy bản mỏng ở 110 °C trong 10 min. Bất kỳ vết nào ngoài vết chính không được đậm hơn vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2)
Không được quá 0,67 EU trong 1 mg kanamycin.

Định lượng
Tiến hành theo phương pháp Xác định hoạt lực kháng sinh bằng phương pháp vi sinh vật (Phụ lục 13.9).

Bảo quản
Trong bao đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm aminoglycosid.

Hàm lượng thường dùng
250 mg kanamycin trong 1 ml.
1000 mg kanamycin trong 3 ml.

KAOLIN NẶNG
Kaolinum ponderosum

Kaolin nặng là nhôm silicat thiên nhiên ngậm nước đã được loại tạp chất, có thành phần thay đổi.

Tính chất
Bột mịn trắng hoặc trắng ngà, sờ có cảm giác trơn. Thực tế không tan trong nước và các dung môi hữu cơ.

Định tính
A. Thêm 1 g *kali nitrat (TT)* và 3 g *natri carbonat (TT)* vào 0,5 g chế phẩm trong chén kim loại và đun nóng cho đến khi hỗn hợp chảy. Để nguội, thêm vào hỗn hợp 20 ml *nước* sôi, trộn đều và lọc. Rửa cặn với 50 ml *nước*. Thêm vào cặn 1 ml *acid hydrocloric (TT)* và 5 ml *nước*. Lọc, thêm vào dịch lọc 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)* và lọc. Thêm vào dịch lọc 3 ml *dung dịch amoni clorid (TT)*, tủa keo trắng xuất hiện.
B. Thêm 2,0 g chế phẩm được chia thành 20 phần vào 100 ml *dung dịch natri lauryl sulfat 1 %* trong một ống đong chia vạch 100 ml có đường kính 30 mm. Sắp xếp thứ tự thêm vào sao cho khoảng cách giữa các lần thêm vào của mỗi phần cách nhau 2 min. Để yên 2 h. Thể tích quan sát được của phần cặn lắng xuống không được lớn hơn 5 ml.
C. Lấy 0,25 g chế phẩm thử phản ứng của silicat (Phụ lục 8.1).

Giới hạn acid - kiềm
Thêm 20 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* vào 1,0 g chế phẩm, lắc trong 2 min và lọc. Thêm vào 10 ml dịch lọc 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)*. Dung dịch phải không màu và phải chuyển sang màu hồng khi thêm không quá 0,25 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (CĐ)*.

Tạp chất hữu cơ
Nung đến đỏ 0,3 g chế phẩm trong chén nung. Cặn chỉ được phép hơi có màu so với chế phẩm ban đầu.

Khả năng hấp phụ
Thêm 10,0 ml *dung dịch xanh methylen 0,37 %* vào 1,0 g chế phẩm trong ống nghiệm có nút mài và lắc trong 2 min. Để lắng. Ly tâm và pha loãng dung dịch này theo tỷ lệ 1 thành 100 bằng *nước*. Dung dịch thu được có màu không được đậm hơn màu của *dung dịch xanh methylen 0,003 %*.

Khả năng trương nở
Nghiền 2 g chế phẩm với 2 ml *nước*. Hỗn hợp thu được không được chảy.

Các chất tan trong acid vô cơ
Không được quá 1,0 %.
Thêm 7,5 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và 27,5 ml *nước* vào 5,0 g chế phẩm, đun sôi trong 5 min. Lọc, rửa cắn trên phễu lọc bằng *nước*. Pha loãng bằng *nước* toàn bộ dịch lọc và nước rửa thành 50,0 ml (giữ một phần dung dịch này dùng để thử kim loại nặng). Thêm 1,5 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* vào 10,0 ml dung dịch trên. Bốc hơi trên cách thủy đến khô và nung. Khối lượng của cắn không được quá 10 mg.

Clorid
Không được quá 0,025 % (Phụ lục 9.4.5).
Dung dịch S: Thêm một hỗn hợp gồm 6 ml *acid acetic (TT)* và 34 ml *nước* vào 4 g chế phẩm. Lắc trong 1 min và lọc.
Pha loãng 2 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.4.14).
Pha loãng 1,5 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Calci
Không được quá 0,025 % (Phụ lục 9.4.3).
Pha loãng 4 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Kim loại nặng
Không được quá 50 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Thêm 5 ml *nước*, 10 ml *acid hydrocloric (TT)* và 25 ml *methyl isobutyl ceton (TT)* vào 5 ml dung dịch được chuẩn bị để thử các chất tan trong acid vô cơ. Lắc trong 2 min. Để yên cho tách lớp. Bốc hơi lớp nước đến khô trên cách thủy. Hòa tan cắn trong 1 ml *acid acetic (TT)* và pha loãng thành 25 ml bằng *nước*, lọc. Lấy 12 ml dịch lọc tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.
Khi kaolin nặng được dự định dùng sản xuất các thuốc để dùng trong thì phải đáp ứng yêu cầu phép thử kim loại nặng dưới đây:

Kim loại nặng
Không được quá 25 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Thêm 10 ml *nước*, 20 ml *acid hydrocloric (TT)* và 25 ml *methyl isobutyl ceton (TT)* vào 10 ml dung dịch được chuẩn bị để thử các chất tan trong acid vô cơ. Lắc trong 2 min. Để yên cho tách lớp. Bốc hơi lớp nước đến khô trên cách thủy. Hòa tan cắn trong 1 ml *acid acetic (TT)* và pha loãng thành 25 ml bằng *nước*, lọc. Lấy 12 ml dịch lọc tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Giới hạn nhiễm khuẩn
Tổng số vi sinh vật hiếu khí: Không được quá 10^3 CFU trong 1 g chế phẩm và tổng số nấm không được quá 10^2 CFU trong 1 g chế phẩm.
Xác định bằng phương pháp đĩa thạch (Phụ lục 13.6).

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Nhãn
Phải ghi rõ nếu chế phẩm phù hợp cho mục đích sản xuất các thuốc dùng trong.

Chế phẩm
Thuốc đắp.

KAOLIN NHẸ
Kaolinum leve

Kaolin nhẹ là nhôm silicat thiên nhiên ngậm nước đã được loại hầu hết các tạp chất bằng cách gạn lọc và sấy khô. Có chứa tác nhân phân tán thích hợp.

Tính chất
Bột trắng nhẹ, không có các hạt cát sạn, không mùi hoặc gần như không mùi, sờ có cảm giác trơn. Thực tế không tan trong nước và các acid vô cơ.

Định tính
A. Thêm 1 g *kali nitrat (TT)* và 3 g *natri carbonat (TT)* vào 0,5 g chế phẩm trong chén kim loại và đun nóng cho đến khi hỗn hợp chảy. Để nguội, thêm vào hỗn hợp 20 ml *nước* sôi, trộn đều và lọc. Rửa cắn với 50 ml *nước*. Thêm vào cắn 1 ml *acid hydrocloric (TT)* và 5 ml *nước*, lắc kỹ. Lọc, thêm vào dịch lọc 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)* và lọc. Thêm vào dịch lọc 3 ml *dung dịch amoni clorid (TT)*, tủa keo trắng xuất hiện.
B. 0,25 g chế phẩm phải cho phản ứng đặc trưng của silicat (Phụ lục 8.1).
C. Nghiền 2 g chế phẩm với 2 ml *nước*. Hỗn hợp thu được sẽ chảy.

Tiểu phân thô
Chuyển 5 g chế phẩm vào ống đong có nút mài kích thước (16 cm × 35 mm), thêm 60 ml *dung dịch natri pyrophosphat 1 %*, lắc kỹ và để yên 5 min. Dùng pipet hút 50 ml ở vị trí dưới bề mặt chất lỏng khoảng 5 cm. Thêm 50 ml *nước* vào phần chất lỏng còn lại, lắc và để yên 5 min, tiến hành hút 50 ml chất lỏng giống như trên. Nhắc lại thao tác này

trong cùng điều kiện như trên đến khi hút được tổng số hỗn dịch là 400 ml. Chuyển phần còn lại trong ống đong vào cốc và bốc hơi đến khô trên cách thủy. Cắn thu được sau khi sấy đến khối lượng không đổi ở 105 °C không được quá 25 mg.

Tiểu phân mịn
Phân tán 5 g chế phẩm trong 250 ml *nước* bằng cách lắc mạnh trong 2 min trong bình nón có nút mài, rót ngay vào ống đong thủy tinh có đường kính 5 cm, đồng thời chuyển 20 ml hỗn dịch trên bằng pipet vào cốc thủy tinh và bốc hơi đến khô, sấy đến khối lượng không đổi ở 105 °C. Phần còn lại trong ống đong để yên trong 4 h ở 20 °C. Hút 20 ml hỗn dịch bằng pipet ở vị trí dưới bề mặt chất lỏng đúng 5 cm và không được làm đục, chuyển vào cốc thủy tinh và bốc hơi đến khô, sấy đến khối lượng không đổi ở 105 °C. Khối lượng cắn của lần hút sau không được nhỏ hơn 70 % khối lượng cắn của lần hút trước.

Arsen
Không được quá 2 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).
Lấy 0,50 g chế phẩm, thêm 25 ml *nước* và tiến hành thử theo phương pháp A.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Đun nóng trên cách thủy 6,0 g chế phẩm trong 15 min dưới ống sinh hàn ngược với hỗn hợp gồm 70 ml *nước* và 10 ml *acid hydrocloric (TT)*, lọc. Thêm 0,5 ml *acid nitric (TT)* vào 40 ml dịch lọc và bốc hơi đến khi được khối cắn nhão, sau đó thêm 20 ml *nước*, 2 g *amoni clorid (TT)*, 2 g *amoni thiocyanat (TT)* và chiết 2 lần, mỗi lần với 10 ml hỗn hợp đồng thể tích *alcol isoamyl* và *ether (TT)*. Thêm vào lớp nước 2 g *acid citric (TT)* và *nước* vừa đủ 60 ml. Lấy 12 ml dung dịch này tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Clorid
Không được quá 330 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).
Đun sôi 1,0 g chế phẩm với 80 ml *nước* và 20 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* dưới ống sinh hàn ngược trong 5 min, để nguội và lọc. Lấy 15 ml dịch lọc tiến hành thử.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Mất khối lượng do nung
Không được quá 15,0 %.
Nung 1,0 g chế phẩm ở 600 °C đến khối lượng không đổi.

Chất hòa tan
Đun sôi 2 g chế phẩm trong 100 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,2 M (TT)* dưới ống sinh hàn ngược trong 5 min, để nguội và lọc. Bốc hơi 50 ml dịch lọc đến khô. Cắn thu được, sau khi nung ở 600 °C trong 30 min, không được quá 10 mg.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Chống tiêu chảy.

Chế phẩm
Hỗn hợp kaolin.
Ghi chú: Khi kaolin hoặc kaolin nhẹ được kê đơn hoặc yêu cầu thì cấp phát kaolin nhẹ, trừ khi biết chắc chắn kaolin nhẹ thiên nhiên được yêu cầu.

KAOLIN NHẸ THIÊN NHIÊN
Kaolinum leve naturale

Kaolin nhẹ thiên nhiên là nhôm silicat thiên nhiên ngậm nước đã được loại hầu hết các tạp chất bằng cách gạn lọc và sấy khô. Không chứa các tác nhân phân tán.

Tính chất
Bột trắng nhẹ, không có các hạt cát sạn, không mùi hoặc gần như không mùi, sờ có cảm giác trơn. Thực tế không tan trong nước và các acid vô cơ.

Định tính
A. Thêm 1 g *kali nitrat (TT)* và 3 g *natri carbonat (TT)* vào 0,5 g chế phẩm trong chén kim loại và đun nóng cho đến khi hỗn hợp chảy. Để nguội, thêm vào hỗn hợp 20 ml *nước* sôi, trộn đều và lọc. Rửa cắn với 50 ml *nước*. Thêm vào cắn 1 ml *acid hydrocloric (TT)* và 5 ml *nước*, lắc kỹ. Lọc, thêm vào dịch lọc 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)* và lọc. Thêm vào dịch lọc 3 ml *dung dịch amoni clorid (TT)*, tủa keo trắng xuất hiện.
B. 0,25 g chế phẩm phải cho phản ứng đặc trưng của silicat (Phụ lục 8.1).
C. Nghiền 2 g chế phẩm với 2 ml nước. Hỗn hợp thu được không được chảy.

Tiểu phân thô
Chuyển 5 g chế phẩm vào ống đong có nút mài kích thước (16 cm × 35 mm), thêm 60 ml *dung dịch natri pyrophosphat 1 %*, lắc kỹ và để yên 5 min. Dùng pipet hút 50 ml ở vị trí dưới bề mặt chất lỏng khoảng 5 cm. Thêm 50 ml *nước* vào phần chất lỏng còn lại, lắc và để yên 5 min, tiến hành hút 50 ml chất lỏng giống như trên. Nhắc lại thao tác này trong cùng điều kiện như trên đến khi hút được tổng số hỗn dịch là 400 ml. Chuyển phần còn lại trong ống đong vào cốc và bốc hơi đến khô trên cách thủy. Cắn thu được sau khi sấy đến khối lượng không đổi ở 105 °C không được quá 25 mg.

Tiểu phân mịn
Phân tán 5 g chế phẩm trong 250 ml *nước* có chứa 50 mg *natri pyrophosphat (TT)* bằng cách lắc mạnh trong 2 min trong bình nón có nút mài, rót ngay vào ống đong thủy tinh có đường kính 5 cm, đồng thời chuyển 20 ml hỗn dịch trên

bằng pipet vào cốc thủy tinh và bốc hơi đến khô, sấy đến khối lượng không đổi ở 105 °C. Phần còn lại trong ống đong để yên trong 4 h ở 20 °C. Hút 20 ml hỗn dịch bằng pipet ở vị trí dưới bề mặt chất lỏng đúng 5 cm và không được làm đục, chuyển vào cốc thủy tinh và bốc hơi đến khô, sấy đến khối lượng không đổi ở 105 °C. Khối lượng cắn của lần hút sau không được nhỏ hơn 70 % khối lượng cắn của lần hút trước.

Arsen
Không được quá 2 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).
Lấy 0,50 g chế phẩm, thêm 25 ml *nước* và tiến hành thử theo phương pháp A.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Đun nóng trên cách thủy 6,0 g chế phẩm trong 15 min dưới ống sinh hàn ngược với hỗn hợp gồm 70 ml *nước* và 10 ml *acid hydrocloric (TT)*, lọc. Thêm 0,5 ml *acid nitric (TT)* vào 40 ml dịch lọc và bốc hơi đến khi được khối cắn nhão, sau đó thêm 20 ml *nước*, 2 g *amoni clorid (TT)*, 2 g *amoni thiocyanat (TT)* và chiết 2 lần, mỗi lần với 10 ml hỗn hợp đồng thể tích *alcol isoamyl* và *ether (TT)*. Thêm vào lớp nước 2 g *acid citric (TT)* và *nước* vừa đủ 60 ml. Lấy 12 ml dung dịch này tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Clorid
Không được quá 330 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).
Đun sôi 1,0 g chế phẩm với 80 ml *nước* và 20 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* dưới ống sinh hàn ngược trong 5 min, để nguội và lọc. Lấy 15 ml dịch lọc tiến hành thử.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Mất khối lượng do nung
Không được quá 15,0 %.
Nung 1,0 g chế phẩm ở 600 °C đến khối lượng không đổi.

Chất hòa tan
Đun sôi 2 g chế phẩm trong 100 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,2 M (TT)* dưới ống sinh hàn ngược trong 5 min, để nguội và lọc. Bốc hơi 50 ml dịch lọc đến khô. Cắn thu được, sau khi nung ở 600 °C trong 30 min, không được quá 10 mg.

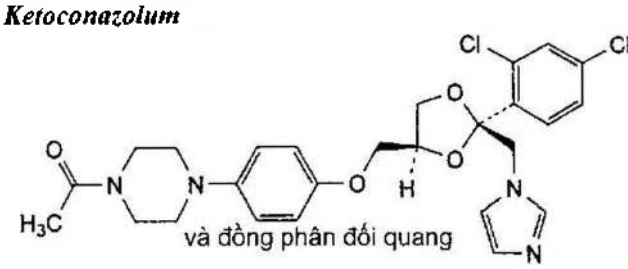
Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Chống tiêu chảy.

Chế phẩm
Hỗn hợp kaolin.

KETOCONAZOL

Ketoconazolum



$C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$ P.t.l: 531,4

Ketoconazol là 1-acetyl-4-[4-[[(2*RS*,4*SR*)-2-(2,4-dicloro-phenyl)-2-(1*H*-imidazol-1-ylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl] methoxy]phenyl]piperazin, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột trắng hay gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong methylen clorid, tan trong methanol, hơi tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của ketoconazol chuẩn. Chuẩn bị mẫu đo dưới dạng đĩa nén.
B. Điểm chảy từ 148 °C đến 152 °C (Phụ lục 6.7).
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Octadecylsilyl silica gel.
Dung môi khai triển: Dung dịch amoni acetat - dioxan - methanol (20 : 40 : 40).
Dung dịch amoni acetat: Hòa tan 150 g *amoni acetat (TT)* trong *nước*, thêm 3 ml *acid acetic băng (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Dung dịch thử: Hòa tan 30 mg chế phẩm trong dung môi khai triển và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 30 mg ketoconazol chuẩn trong dung môi khai triển và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 30 mg ketoconazol chuẩn và 30 mg econazol nitrat chuẩn trong dung môi khai triển và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Làm khô bản mỏng bằng luồng khí ấm trong 15 min, sau đó đặt vào bình bão hòa hơi iod đến khi hiện vết. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách rõ rệt.
D. Lấy khoảng 30 mg chế phẩm vào chén nung sứ, thêm 0,3 g *natri carbonat khan (TT)*. Đốt trên ngọn lửa trong

10 min. Để nguội, hòa tan cắn bằng 5 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)* và lọc. Thêm 1 ml *nước* vào 1 ml dịch lọc. Dung dịch thu được phải cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm hơn màu mẫu VN_4 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực

Từ -0,10° đến +0,10° (Phụ lục 6.4).
Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Acetonitril (TT_1) - Dung dịch tetrabutyl amoni hydrosulfat 0,34 % (5 : 95).
Pha động B: Acetonitril (TT_1) - Dung dịch tetrabutyl amoni hydrosulfat 0,34 % (50 : 50).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *methanol (TT)* pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2,5 mg ketoconazol chuẩn và 2,5 mg loperamid hydroclorid chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *methanol (TT)*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng *methanol (TT)* .
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Mẫu trắng: *Methanol (TT).*
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 10	100 → 0	0 → 100
10 - 15	0	100

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và (2).
Thời gian lưu của ketoconazol khoảng 6 min; loperamid khoảng 8 min.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của ketoconazol với pic của loperamid ít nhất là 15; nếu cần thì điều chỉnh nồng độ acetonitril trong pha động hoặc điều chỉnh thời gian trong chương trình dung môi.
Giới hạn:
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:
Tạp chất A: 1-acetyl-4-[4-[[(2*RS*,4*SR*)-2-(2,4-dichlorophenyl)-2-(1*H*-imidazol-1-ylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl]methoxy]phenyl] 1,2,3,4-tetrahydropyrazin.
Tạp chất B: 1-acetyl-4-[4-[[(2*RS*,4*SR*)-2-(2,4-dichlorophenyl)-2-(1*H*-imidazol-1-ylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl] methoxy]-3-[4-(4-acetylpiperazin-1-yl)phenoxy]phenyl]piperazin.
Tạp chất C: 1-acetyl-4-[4-[[(2*RS*,4*RS*)-2-(2,4-dichlorophenyl)-2-(1*H*-imidazol-1-ylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl]methoxy]phenyl] piperazin.
Tạp chất D: 1-[4-[[(2*RS*,4*SR*)-2-(2,4-dichlorophenyl)-2-(1*H*-imidazol-1-ylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl] methoxy]phenyl]piperazin.
Tạp chất E: [(2*RS*,4*SR*)-2-(2,4-dichlorophenyl)-2-(1*H*-imidazol-1-ylmethyl)-1,3-dioxolan-4-yl]methyl 4-methylbenzenesulfonat.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm, tiến hành theo phương pháp 4. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 70 ml hỗn hợp *acid acetic khan - methyl ethyl keton* (1 : 7). Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 26,57 mg $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chống nấm.

Chế phẩm

Viên nén, kem bôi ngoài da.

KEM KETOCONAZOL
Cremoris Ketoconazoli

Là thuốc kem có chứa ketoconazol.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu chung trong chuyên luận "Thuốc mềm dùng trên da và niêm mạc" (Phụ lục 1.12) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng ketoconazol, $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Kem màu trắng ngà, đồng nhất.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi khai triển: *n-Hexan - ethyl acetat - methanol - nước - acid acetic* (42 : 40 : 15 : 2 :1).
Dung dịch thử: Lắc một lượng kem tương ứng với khoảng 50 mg ketoconazol trong 50 ml *cloroform (TT)* và lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch ketoconazol chuẩn 0,1 % trong *cloroform (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Trong phần Định lượng, trên sắc ký đồ của dung dịch thử pic chính phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic ketoconazol trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Methanol - dung dịch amoni acetat 1 %* (90 : 10). Thay đổi tỷ lệ dung môi nếu cần.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 30 mg ketoconazol chuẩn, hòa tan trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Lấy 5,0 ml dung dịch này pha loãng với pha động thành 50,0 ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng chế phẩm tương ứng với khoảng 30 mg ketoconazol, thêm 40 ml *methanol (TT)*, đặt trên cách thủy khuấy cho tan, để lạnh trong nước đá ít nhất 30 min. Gạn và lọc qua giấy lọc đã thấm ướt bằng *methanol (TT)*. Tiếp tục chiết như trên 2 lần nữa, mỗi lần với 20 ml *methanol (TT)*. Rửa cốc và giấy lọc bằng *methanol (TT)*. Tập trung dịch lọc và dịch rửa, thêm *methanol (TT)* vừa đủ 100,0 ml. Lấy 5,0 ml dịch lọc thu được pha loãng thành 50,0 ml với pha động.
Điều kiện sắc ký :
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm) (cột Lichrosorb RP18 là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 244 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng (%) ketoconazol, $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$, so với lượng ghi trên nhãn dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$ trong ketoconazol chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống nấm.

Hàm lượng thường dùng
2 %.

VIÊN NÉN KETOCONAZOL
Tabellae Ketoconazoli

Là viên nén có chứa ketoconazol.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng ketoconazol, $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi khai triển: *n-Hexan - ethyl acetat - methanol - nước - acid acetic* (42 : 40 : 15 : 2 : 1).
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg ketoconazol với 50 ml *cloroform (TT)* và lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch ketoconazol chuẩn 0,1 % trong *cloroform (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic ketoconazol trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* để được dung dịch có nồng độ thích hợp (nếu cần). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 270 nm, dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng. So sánh với dung dịch chuẩn ketoconazol có nồng độ tương đương pha trong môi trường hòa tan. Tính hàm lượng ketoconazol, $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$, được hòa tan dựa vào độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của ketoconazol chuẩn.
Yêu cầu: Không được ít hơn 80 % (Q) ketoconazol so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)
Pha động: Methanol - dung dịch đệm amoni acetat 1,0 % (90 : 10). Thay đổi tỷ lệ dung môi nếu cần.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan 30 mg ketoconazol chuẩn trong 40 ml *methanol (TT)*, lắc cho tan, thêm *methanol (TT)* vừa

đủ 50,0 ml. Lấy 5,0 ml dung dịch này pha loãng thành 100,0 ml với pha động.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 30 mg ketoconazol cho vào bình định mức 50 ml. Thêm 40 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm trong 10 min, thêm *methanol (TT)* tới định mức, lắc đều. Lọc qua giấy lọc, loại bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Lấy chính xác 5,0 ml dịch lọc pha loãng thành 100,0 ml với pha động.
Điều kiện sắc ký :
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm) (Lichrosob RP18 là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 244 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml /min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn, phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic của 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng ketoconazol, $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$, có trong viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$ trong ketoconazol chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống nấm.

Hàm lượng thường dùng
200 mg.

KEM KETOCONAZOL VÀ NEOMYCIN
Cremoris Ketoconazoli et Neomycini

Là kem bôi da có chứa ketoconazol và neomycin sulfat. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc mềm dùng trên da và niêm mạc" (Phụ lục 1.12) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng ketoconazol, $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$, từ 90,0 % đến 110,0 %, so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng neomycin từ 90,0 % đến 120,0 % so với hoạt lực ghi trên nhãn.

Tính chất
Kem màu trắng đục, đồng nhất.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: n-Hexan - ethyl acetat - methanol - nước - acid acetic băng (42 : 40 : 15 : 2 : 1).
Dung dịch thử: Chuyển một lượng chế phẩm tương ứng với 50 mg ketoconazol vào bình gạn bằng 50 ml *cloroform (TT)* và lắc kỹ. Thêm 5 ml *nước*, lắc kỹ và để phân lớp hoàn toàn. Lấy lớp cloroform và lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch ketoconazol chuẩn có nồng độ 1 mg/ml trong *cloroform (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí và màu sắc.
B. Trong phần Định lượng ketoconazol, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Methanol - amoniac - cloroform (60 : 40 : 20).
Dung dịch thử: Chuyển một lượng chế phẩm tương ứng với 7000 IU neomycin vào bình gạn bằng 10 ml *cloroform (TT)* và thêm 5 ml *nước*, lắc kỹ và để phân lớp hoàn toàn. Lấy lớp nước và lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch neomycin sulfat chuẩn 0,2 %.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, để bản mỏng khô ngoài không khí và phát hiện vết bằng cách đặt bản mỏng trong bình kín đã bão hòa hơi iod đến khi xuất hiện vết hoặc phun *dung dịch ninhydrin 1 % trong n-butanol* và sấy ở 105 °C trong 5 min. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí và màu sắc.

Định lượng
Định lượng ketoconazol
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - dung dịch amoni acetat 1 % (9 : 1).
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng ketoconazol chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 30 µg/ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng chế phẩm tương ứng với 15 mg ketoconazol vào cốc có mỏ. Thêm khoảng 30 ml pha động, làm nóng trong cách thủy ở 60 °C và siêu âm khoảng 3 min. Lặp lại quá trình hòa tan trên thêm 2 lần nữa. Để nguội và chuyển hỗn hợp vào bình định mức dung tích 50,0 ml, tráng rửa cốc bằng pha động và gộp dịch rửa vào bình định mức trên, thêm pha động đến định mức, trộn đều. Làm lạnh trong nước đá trong khoảng 15 min, lọc và bỏ dịch lọc đầu, để dịch lọc về nhiệt độ phòng. Hút chính xác 5,0 ml dịch lọc và thêm pha động vừa đủ 50,0 ml, trộn đều.

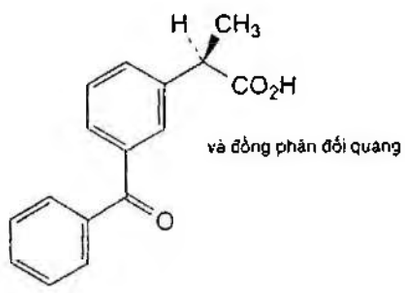
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 244 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic ketoconazol của 6 lần tiêm liên tiếp nhỏ hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng ketoconazol, $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$ trong ketoconazol chuẩn.
Định lượng neomycin sulfat
Dung dịch thử: Chuyển một lượng chế phẩm tương ứng với 16 000 IU neomycin vào bình gạn bằng 50 ml *cloroform (TT)*, lắc kỹ và chiết 4 lần, mỗi lần với 20 ml dung dịch đệm số 2. Gộp các dịch chiết, thổi khí nitơ để loại cloroform hòa tan và chuyển vào bình định mức dung tích 100 ml, thêm dung dịch đệm số 2 đến định mức. Lọc qua giấy lọc và bỏ dịch lọc đầu. Tiếp tục pha loãng dịch lọc bằng dung dịch đệm số 2 để thu được dung dịch thử có nồng độ tương đương với nồng độ của dung dịch chuẩn.
Tiến hành định lượng theo phương pháp Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật (Phụ lục 13.9).

Bảo quản
Trong bao bì kín. Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống nấm.

Hàm lượng thường dùng
Ketoconazol 2,0 %.
Neomycin sulfat 3500 IU/g (0,5 %).

KETOPROFEN
ketoprofenum



$C_{16}H_{14}O_3$ P.t.l: 254,3

Ketoprofen là acid (2*RS*)-2-(3-benzoylphenyl)propanoic, phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % $C_{16}H_{14}O_3$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong aceton, ethanol 96 % và methylen clorid.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của ketoprofen chuẩn.
B. Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng *ethanol 96 % (TT)*. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 230 nm đến 350 nm, phổ thu được phải cho một cực đại hấp thụ ở 255 nm. Độ hấp thụ riêng tại cực đại hấp thụ: Từ 615 đến 680.
C. Điểm chảy: Từ 94 °C đến 97 °C (Phụ lục 6.7).
D. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Acid acetic băng - methylen clorid - aceton (1 : 49 : 50).
Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong *aceton (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg ketoprofen chuẩn trong *aceton (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg indometacin chuẩn trong *aceton (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Trộn đều 1 ml dung dịch thu được với 1 ml dung dịch đối chiếu (1).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 3/4 bản mỏng, để khô bản mỏng ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.
Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí và kích thước. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách riêng biệt.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *aceton (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu V_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.
Pha động: Dung dịch đệm phosphat pH 3,5 mới pha - *acetonitril - nước* (2 : 43 : 55).

Dung dịch thử: Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5,0 mg tạp chất A chuẩn của ketoprofen trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5,0 mg tạp chất C chuẩn của ketoprofen trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml bằng cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Trộn đều 1 ml dung dịch thu được với 1 ml dung dịch đối chiếu (2).
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) có diện tích bề mặt riêng là 350 m^2/g và kích thước lỗ xốp là 10 nm.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 233 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 7 lần thời gian lưu của ketoprofen.
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất A. Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của tạp chất C.
Thời gian lưu tương đối so với ketoprofen (thời gian lưu khoảng 7 min): Tạp chất C khoảng 0,3; tạp chất E khoảng 0,69; tạp chất B khoảng 0,73; tạp chất D khoảng 1,35; tạp chất A khoảng 1,5; tạp chất F khoảng 2,0.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4), độ phân giải giữa pic của ketoprofen với pic của tạp chất A ít nhất là 7,0.
Giới hạn:
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).
Tạp chất C: Diện tích pic tạp chất C không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,2 %).
Tạp chất B, D, E, F: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất trừ tạp chất A và C không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,4 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,25 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Ghi chú:
Tạp chất A: 1-(3-benzoylphenyl)ethanon.
Tạp chất B: Acid (3-benzoylphenyl)acetic.
Tạp chất C: Acid 3-[(1*RS*)-1-carboxyethyl]benzoic.
Tạp chất D: Acid (2*RS*)-2-[3-(4-methylbenzoyl)phenyl]propanoic.
Tạp chất E: (2*RS*)-2-(3-benzoylphenyl)propanamid.
Tạp chất F: (2*RS*)-2-(3-benzoylphenyl)propanenitril.
Tạp chất G: Acid 3-[(1*RS*)-1-cyanoethyl]benzoic.
Tạp chất H: Acid 3-(cyanomethyl)benzoic.
Tạp chất I: (3-benzoylphenyl)ethanenitril.
Tạp chất J: Acid (2*RS*)-2-[3-(2,4-dimethylbenzoyl)phenyl] propanoic.
Tạp chất K: Hỗn hợp của acid (2*RS*)-2-[3-(2,3,4-trimethylbenzoyl) phenyl]propanoic và acid (2*RS*)-2-[3-(3,4,5-trimethylbenzoyl) phenyl]propanoic.
Tạp chất L: Acid (2*RS*)-2-[3-(2,4,5-trimethylbenzoyl)phenyl] propanoic.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 2,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 60 °C; áp suất không quá 0,67 kPa).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 25 ml *ethanol 96 % (TT)*, thêm 25 ml *nước*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 25,43 mg $C_{16}H_{14}O_3$.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Chống viêm, giảm đau ức chế cyclo-oxygenase.

Chế phẩm
Nang, gel.

NANG KETOPROFEN
Capsulae Ketoprofeni

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

Hàm lượng ketoprofen, $C_{16}H_{14}O_3$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Lắc một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với 0,5 g ketoprofen với 50 ml *cloroform (TT)* trong 5 min, lọc và bốc hơi đến khô bằng thiết bị cất quay và tạo tinh thể bằng cách cọ liên tục lên thành bình bằng đũa thủy tinh. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của tinh thể thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của ketoprofen.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch đệm phosphat pH 7,5.*
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Dung dịch đệm phosphat pH 7,5: Hòa tan 1,46 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 20,06 g *dinatri hydrophosphat (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml, điều chỉnh tới pH 7,5 bằng *acid phosphoric (TT)* nếu cần.
Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan chế phẩm, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc thu được với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ ketoprofen khoảng 0,001 %. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch này ở bước sóng cực đại 260 nm, dùng môi trường hòa tan làm mẫu trắng. Tính lượng ketoprofen, $C_{16}H_{14}O_3$, được hòa tan từ nang theo A (1 %, 1 cm), lấy 662 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở cực đại hấp thụ 260 nm.
Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % (Q) lượng ketoprofen, $C_{16}H_{14}O_3$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi sử dụng.
Dung môi pha mẫu: Acetonitril - nước (40 : 60).
Pha động: Dung dịch đệm phosphat pH 3,5 mới pha - acetonitril - nước (2 : 43 : 55)
Dung dịch thử : Lắc một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với 100 mg ketoprofen với 100,0 ml dung môi pha mẫu. Lọc.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử với dung môi pha mẫu thành 50,0 ml. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml với dung môi pha mẫu.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 233 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký lần lượt dung dịch đối chiếu và dung dịch thử với thời gian chạy sắc ký gấp 7 lần thời gian lưu của ketoprofen. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của bất cứ pic phụ nào cũng không được lớn hơn diện tích của pic chính thu được từ dung dịch đối chiếu (0,2 %). Tổng diện tích của các pic phụ không được lớn hơn 2,5 lần diện tích của pic chính thu được từ dung dịch đối chiếu (0,5 %). Bỏ qua các pic tạp chất có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích của pic chính thu được từ dung dịch đối chiếu (0,02 %).

Định lượng
Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang, trộn đều và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 50 mg ketoprofen vào bình định mức 500 ml, thêm 300 ml *methanol 75 % (TT)*, lắc khoảng 10 min và thêm *methanol 75 %* đến định mức. Để yên, lấy chính xác 5,0 ml chất lỏng ở trên và pha loãng thành 100 ml bằng *methanol 75 %*. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở cực đại 258 nm, dùng *methanol 75 %* làm mẫu trắng.
Tính hàm lượng ketoprofen, $C_{16}H_{14}O_3$, trong nang theo A (1 %, 1 cm). Lấy 662 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở cực đại 258 nm.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Thuốc chống viêm, giảm đau.

Hàm lượng thường dùng
40 mg, 50 mg.

KẼM OXYD
Zinci oxydum

ZnO P.t.l: 81,4

Kẽm oxyd phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % ZnO, tính theo chế phẩm đã nung khô.

Tính chất
Bột vô định hình xốp, màu trắng hoặc trắng hơi ngà vàng. Để ra ngoài không khí dễ hút ẩm và khí carbon dioxyd.
Thực tế không tan trong nước và ethanol 96 %, tan trong các acid vô cơ loãng; tan trong các dung dịch hydroxyd kiềm và dung dịch amoniac loãng.

Định tính
A. Đốt một ít chế phẩm, sẽ chuyển sang màu vàng. Để nguội, màu vàng mất.
B. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 1,5 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và pha loãng thành 5 ml bằng *nước*. Dung dịch cho phản ứng đặc trưng của kẽm (Phụ lục 8.1).

Giới hạn kiềm
Lắc 1,0 g chế phẩm với 10 ml *nước* sôi, thêm 2 giọt *dung dịch phenolphtalein (TT)* và lọc. Nếu dịch lọc có màu hồng thì màu phải mất khi thêm không quá 0,3 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ).*

Carbonat và chất không tan trong acid
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 15 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT).* Chế phẩm phải tan và không sủi bọt. Dung

dịch thu được không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Arsen
Không được quá 5 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).
Lấy 0,2 g chế phẩm thử theo phương pháp A.

Cadmi
Không được quá 10 phần triệu.
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 2).
Dung dịch thử: Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong 14 ml hỗn hợp đồng thể tích của *nước* và *acid nitric không có chì và cadmi (TT)*. Đun sôi trong 1 min, làm nguội và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị các dung dịch chuẩn bằng cách dùng *dung dịch cadmi mẫu 1000 phần triệu Cd (TT)* và pha loãng với *dung dịch acid nitric không có chì và cadmi 3,5 % (tt/tt)*.
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 228,8 nm, dùng đèn cathod rỗng cadmi làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - acetylen hoặc không khí - propan.

Sắt
Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.13).
Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 1 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và pha loãng với *nước* thành 10 ml để tiến hành thử. Dùng 0,5 ml *acid mercaptoacetic (TT)* trong phép thử này.

Chì
Không được quá 50 phần triệu.
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 2).
Dung dịch thử: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 24 ml hỗn hợp đồng thể tích của *nước* và *acid nitric không có chì và cadmi (TT)*. Đun sôi trong 1 min, làm nguội và pha loãng thành 100,0 ml với *nước*.
Dung dịch chuẩn: Pha các dung dịch chuẩn bằng cách dùng *dung dịch chì mẫu 1000 phần triệu Pb (TT)* và pha loãng với *dung dịch acid nitric không có chì và cadmi 3,5 % (tt/tt)*.
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 283,3 nm, dùng đèn cathod rỗng chì làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - acetylen. Tùy theo thiết bị, có thể sử dụng vạch 217,0 nm hoặc 283,3 nm.

Mất khối lượng do nung
Không được quá 1,0 %.
(1,00 g; 500 °C tới khối lượng không đổi).

Định lượng
Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong *dung dịch acid acetic loãng (TT)*. Tiến hành chuẩn độ bằng *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)* theo phương pháp định lượng kẽm bằng chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).
1 ml *dung dịch dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)* tương đương với 8,14 mg ZnO.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc
Thuốc làm se.

Chế phẩm
Kem, thuốc mỡ.

THUỐC MỠ KẼM OXYD
Unguentum Zinci oxydi

Là thuốc mỡ dùng ngoài da chứa kẽm oxyd.
Kẽm oxyd phải được tán thật mịn qua rây số 125 trước khi điều chế.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc mềm dùng trên da và niêm mạc" (Phụ lục 1.12) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng kẽm oxyd, ZnO, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Thuốc mỡ màu trắng.

Định tính
Lấy một lượng thuốc mỡ tương ứng với khoảng 50 mg kẽm oxyd cho vào chén nung, đun nhẹ cho chảy rồi tiếp tục đốt nóng từ từ, tăng dần nhiệt độ cho đến khi toàn bộ chế phẩm cháy thành than. Tiếp tục đốt mạnh, sẽ có màu vàng xuất hiện, khi để nguội thì trở thành màu trắng, cho thêm 10 ml *nước* và 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)* vào cắn, lắc kỹ và lọc. Thêm 2 đến 3 giọt *dung dịch kali ferocyanid 10 % (TT)* vào dịch lọc, sẽ xuất hiện tủa trắng.

Calci, magnesi và các chất vô cơ lạ
Chuyển 2 g thuốc mỡ vào chén nung, đun nhẹ cho chảy rồi đốt nóng từ từ, tăng dần nhiệt độ cho đến khi toàn khối thuốc cháy thành than. Tiếp tục nung cho đến khi cắn có màu vàng đồng đều. Thêm 6 ml *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)* vào cắn. Đun hỗn hợp trên cách thủy 10 min đến 15 min, dung dịch phải không màu, trong. Lọc dung dịch thu được. Pha loãng dịch lọc đến 10 ml với *nước* và thêm dung dịch *amoniac 10 % (TT)* đến khi có tủa tạo thành rồi lại tan. Thêm tiếp 2 ml *dung dịch amoni oxalat 3,5 % (TT)* và 2 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 12 % (TT)*, dung dịch thu được phải không thay đổi hoặc chỉ hơi đục nhẹ trong vòng 5 min.

Định lượng
Cân chính xác một lượng thuốc mỡ tương ứng với khoảng 75 mg kẽm oxyd, cho vào chén nung, đun nhẹ đến chảy lỏng rồi đốt nóng từ từ, tăng dần nhiệt độ đến khi toàn khối cháy thành than. Tiếp tục nung đến khi thu được cắn có màu vàng đồng đều, để nguội. Hòa cắn trong 10 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)*, đun nóng nếu cần để hòa tan hết cắn vào dung dịch. Chuyển dung dịch vào một bình nón. Rửa chén nung với từng lượng nhỏ *nước* và gộp nước

rửa vào bình nón trên đến khi thu được khoảng 50 ml dung dịch trong bình. Điều chỉnh pH của dung dịch từ 6 đến 7 bằng cách thêm từng giọt *dung dịch amoniac 10 % (TT)*. Thêm 10 ml *đệm amoniac pH 10,0* và 1 ml *dung dịch đen eriocrom T (TT)* làm chỉ thị và chuẩn độ bằng *dung dịch Trilon B 0,05 M (CĐ)*.
1 ml *dung dịch Trilon B 0,05 M (CĐ)* tương ứng với 4,069 mg ZnO.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, để chỗ mát.

Hàm lượng thường dùng
1%.

KẼM SULFAT
Zinci sulfas

$ZnSO_4.7H_2O$ P.t.l: 287,5

Kẽm sulfat phải chứa từ 99,0 % đến 104,0 % $ZnSO_4.7H_2O$.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc tinh thể trong suốt không màu, không mùi, dễ lên hoa khi để ngoài không khí khô.
Rất tan trong nước, dễ tan trong glycerin, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 50 ml.
Dung dịch S phải cho phản ứng định tính của kẽm và sulfat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
pH của dung dịch S phải từ 4,4 đến 5,6 (Phụ lục 6.2).

Clorid
Không được quá 0,03 % (Phụ lục 9.4.5).
Pha loãng 3,3 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Sắt
Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.4.13).
Pha loãng 2 ml dung dịch S thành 10 ml bằng *nước* và tiến hành thử. Dùng 0,5 ml *dung dịch acid mercaptoacetic (TT)* trong phép thử này.

Định lượng
Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 5 ml *acid acetic loãng (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* theo phương pháp định lượng kẽm bằng chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).
1 ml dung *dịch dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 28,75 mg $ZnSO_4.7H_2O$.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín không bằng kim loại, để chỗ mát.

Loại thuốc
Thuốc làm se, sát khuẩn.

Chế phẩm
Thuốc nhỏ mắt.

THUỐC NHỎ MẮT KẼM SULFAT
Collyrium Zinci sulfatis

Là dung dịch vô khuẩn của kẽm sulfat trong nước.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nhỏ mắt" (Phụ lục 1.14) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng kẽm sulfat, $ZnSO_4.7H_2O$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong suốt, không màu.

Định tính
Dung dịch chế phẩm cho các phản ứng của các ion kẽm và sulfat (Phụ lục 8.1).

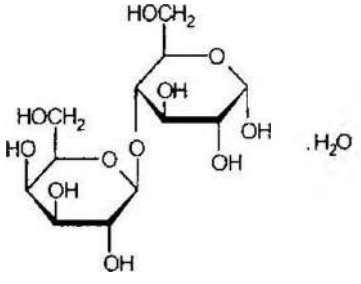
pH
Từ 4,5 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Định lượng
Lấy chính xác một thể tích thuốc nhỏ mắt chứa 25 mg kẽm sulfat, thêm 50 ml *nước* và 10 ml *đệm amoniac pH 10,0 (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch Trilon B 0,01 M (CĐ)*, dùng *hỗn hợp đen eriocrom T (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch Trilon B 0,01 M (CĐ)* tương đương với 2,875 mg $ZnSO_4.7H_2O$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Hàm lượng thường dùng
0,5 %.

LACTOSE
Lactosum



$C_{12}H_{22}O_{11}.H_2O$ P.t.l: 360,3

rửa vào bình nón trên đến khi thu được khoảng 50 ml dung dịch trong bình. Điều chỉnh pH của dung dịch từ 6 đến 7 bằng cách thêm từng giọt *dung dịch amoniac 10 % (TT)*. Thêm 10 ml *đệm amoniac pH 10,0* và 1 ml *dung dịch đen eriocrom T (TT)* làm chỉ thị và chuẩn độ bằng *dung dịch Trilon B 0,05 M (CĐ)*.
1 ml *dung dịch Trilon B 0,05 M (CĐ)* tương ứng với 4,069 mg ZnO.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, để chỗ mát.

Hàm lượng thường dùng
1%.

KẼM SULFAT
Zinci sulfas

$ZnSO_4.7H_2O$ P.t.l: 287,5

Kẽm sulfat phải chứa từ 99,0 % đến 104,0 % $ZnSO_4.7H_2O$.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc tinh thể trong suốt không màu, không mùi, dễ lên hoa khi để ngoài không khí khô.
Rất tan trong nước, dễ tan trong glycerin, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 50 ml.
Dung dịch S phải cho phản ứng định tính của kẽm và sulfat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
pH của dung dịch S phải từ 4,4 đến 5,6 (Phụ lục 6.2).

Clorid
Không được quá 0,03 % (Phụ lục 9.4.5).
Pha loãng 3,3 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Sắt
Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.4.13).
Pha loãng 2 ml dung dịch S thành 10 ml bằng *nước* và tiến hành thử. Dùng 0,5 ml *dung dịch acid mercaptoacetic (TT)* trong phép thử này.

Định lượng
Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 5 ml *acid acetic loãng (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* theo phương pháp định lượng kẽm bằng chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).
1 ml dung *dịch dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 28,75 mg $ZnSO_4.7H_2O$.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín không bằng kim loại, để chỗ mát.

Loại thuốc
Thuốc làm se, sát khuẩn.

Chế phẩm
Thuốc nhỏ mắt.

THUỐC NHỎ MẮT KẼM SULFAT
Collyrium Zinci sulfatis

Là dung dịch vô khuẩn của kẽm sulfat trong nước.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nhỏ mắt" (Phụ lục 1.14) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng kẽm sulfat, $ZnSO_4.7H_2O$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong suốt, không màu.

Định tính
Dung dịch chế phẩm cho các phản ứng của các ion kẽm và sulfat (Phụ lục 8.1).

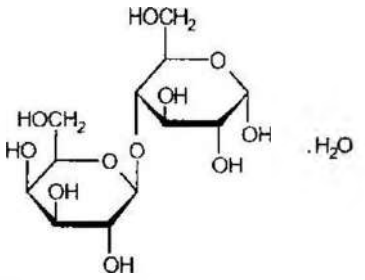
pH
Từ 4,5 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Định lượng
Lấy chính xác một thể tích thuốc nhỏ mắt chứa 25 mg kẽm sulfat, thêm 50 ml *nước* và 10 ml *đệm amoniac pH 10,0 (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch Trilon B 0,01 M (CĐ)*, dùng *hỗn hợp đen eriocrom T (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch Trilon B 0,01 M (CĐ)* tương đương với 2,875 mg $ZnSO_4.7H_2O$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Hàm lượng thường dùng
0,5 %.

LACTOSE
Lactosum



$C_{12}H_{22}O_{11}.H_2O$ P.t.l: 360,3

Lactose là *O*-β-D-galactopyranosyl-(1 → 4)-α-D-glucopyranose monohydrat. Nó có thể bị thay đổi về tính chất vật lý và có thể chứa những tỷ lệ khác nhau của lactose vô định hình.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan nhưng tan chậm trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: B, C, D.
Nhóm II: A, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của lactose chuẩn.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Nước - methanol - acid acetic băng - ethylen clorid (10 : 15 : 25 : 50) (cần đong chính xác vì thừa một lượng nhỏ nước sẽ gây đục).
Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong hỗn hợp *nước - methanol* (2 : 3) và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg lactose chuẩn trong hỗn hợp *nước - methanol* (2 : 3) và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg của mỗi chất chuẩn sau đây: fructose, glucose, lactose và sucrose trong hỗn hợp *nước - methanol* (2 : 3) và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành:
Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl của mỗi dung dịch trên và sấy khô những điểm chấm tại đường xuất phát. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Sấy khô bản mỏng bằng một luồng khí ấm. Thay pha động mới, chạy nhắc lại bản mỏng ngay. Sấy bản mỏng bằng một luồng khí ấm và phun đều lên bản mỏng dung dịch có chứa 0,5 g *thymol (TT)* trong hỗn hợp gồm 5 ml *acid sulfuric (TT)* và 95 ml *ethanol 96 % (TT)*. Sấy bản mỏng ở 130 °C trong 10 min. Vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 4 vết tách rõ ràng.
C. Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong 5 ml *nước*. Thêm 5 ml *amoniac (TT)* và đun nóng trong nồi cách thủy ở 80 °C trong 10 min, màu đỏ xuất hiện.
D. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Nước.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước* bằng cách đun nóng đến 50 °C và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi, để nguội. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu VN_7 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Hòa tan 6,0 g chế phẩm bằng cách đun nóng trong 25 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, để nguội và thêm 0,3 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)*, dung dịch không màu. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* được dùng để làm chuyển màu chỉ thị thành màu hồng không quá 0,4 ml.

Góc quay cực riêng
Từ +54,4° đến +55,9°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 10,0 g chế phẩm trong 80 ml *nước* bằng cách đun nóng đến 50 °C. Để nguội và thêm 0,2 ml *dung dịch amoniac loãng (TT)*. Để yên trong 30 min và pha loãng đến 100,0 ml bằng *nước* để đo.

Độ hấp thụ
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước* sôi và pha loãng thành 10,0 ml bằng *nước* (dung dịch A).
Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch A được đo ở bước sóng 400 nm không được lớn hơn 0,04.
Pha loãng 1,0 ml dung dịch A thành 10,0 ml bằng *nước*. Đo độ hấp thụ của dung dịch này từ bước sóng 210 nm đến 300 nm. Tại những bước sóng từ 210 đến 220 nm, độ hấp thụ không được lớn hơn 0,25. Tại những bước sóng từ 270 nm đến 300 nm, độ hấp thụ không được lớn hơn 0,07.

Kim loại nặng
Không được quá 5 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 4,0 g chế phẩm trong *nước* nóng, thêm 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 20 ml. Lấy 12 ml dung dịch trên thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Từ 4,5 % đến 5,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,500 g chế phẩm và hỗn hợp *formamid - methanol* (1 : 2) làm dung môi.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

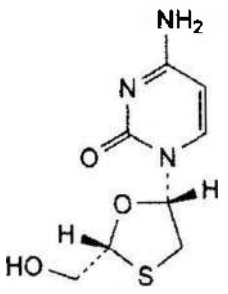
Giới hạn nhiễm khuẩn
Tổng số vi sinh vật hiếu khí: Không được quá 10^2 CFU/g, xác định bằng phương pháp đĩa thạch. Chế phẩm không được có *E.coli* (Phụ lục 13.6).

Bảo quản
Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc
Tá dược.

LAMIVUDIN

Lamivudinum



$C_8H_{11}N_3O_3S$ P.t.l: 229,3

Lamivudin là 4-amino-1-[(2*R*,5*S*)-2-(hydroxymethyl)-1,3-oxathiolan-5-yl]pyrimidin-2(1*H*)-on, phải chứa từ 97,5 % đến 102,0 % $C_8H_{11}N_3O_3S$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, đa hình. Tan trong nước, hơi tan trong methanol, khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, C.

Nhóm II: A, B.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của lamivudin chuẩn. Nếu phổ hồng ngoại ở trạng thái rắn của mẫu thử và lamivudin chuẩn khác nhau thì hòa tan riêng rẽ chế phẩm và lamivudin chuẩn trong *methanol (TT)*, bay hơi tới cắn. Ghi phổ mới của các cắn thu được.

B. Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Góc quay cực riêng của dung dịch thu được phải từ -97° đến -99°, tính theo chế phẩm đã làm khô.

C. Chế phẩm phải đạt yêu cầu trong phép thử "Đồng phân đối quang của lamivudin".

Độ hấp thụ ánh sáng

Hòa tan 1,00 g chế phẩm trong *nước*, siêu âm nếu cần và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Độ hấp thụ của dung dịch thu được ở bước sóng 440 nm trong cốc đo có độ dày 4 cm (Phụ lục 4.1) không được quá 0,3.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch đệm pH 3,8 - methanol (95 : 5), điều chỉnh nếu cần thiết.

Dung dịch đệm pH 3,8: Hòa tan 1,9 g *amoni acetat (TT)* trong 900 ml *nước*, điều chỉnh pH đến 3,8 bằng *acid acetic băng (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg *acid salicylic (TT)* trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 50,0 mg lamivudin chuẩn trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 5 mg *cytosin (TT)* và 5 mg *uracil (TT)* trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (5): Hòa tan 5 mg lamivudin chuẩn để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống 1 (chứa tạp chất A và B) trong 2 ml pha động, thêm 1,0 ml dung dịch đối chiếu (4) và pha loãng thành 10,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *base-deactivated octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).

Nhiệt độ cột: 35 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 277 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của lamivudin.

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) và (5) để xác định pic của tạp chất A, B, E, F và C.

Thời gian lưu tương đối so với lamivudin (thời gian lưu khoảng 9 min): Tạp chất E khoảng 0,28; tạp chất F khoảng 0,32; tạp chất A khoảng 0,36; tạp chất B khoảng 0,91; tạp chất J khoảng 1,45; tạp chất C khoảng 2,32.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5), độ phân giải giữa pic của tạp chất F với pic của tạp chất A ít nhất là 1,5; độ phân giải giữa pic của tạp chất B với pic của lamivudin ít nhất là 1,5.

Giới hạn:

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng: Tạp chất E là 0,6; tạp chất F là 2,2; tạp chất J là 2,2.

Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).

Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).

Tạp chất C: Diện tích pic tạp chất C không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).

Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 6 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,6 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid (2*RS*,5*SR*)-5-(4-amino-2-oxopyrimidin-1(2*H*)-yl)-1,3-oxathiolan-2-carboxylic.
Tạp chất B: 4-amino-1-[(2*RS*,5*RS*)-2-(hydroxymethyl)-1,3-oxathiolan-5-yl]pyrimidin-2(1*H*)-on ((±)-*trans*-lamivudin).
Tạp chất C: Acid 2-hydroxybenzenecarboxylic (acid salicylic).
Tạp chất D: 4-amino-1-[(2*S*,5*R*)-2-(hydroxymethyl)-1,3-oxathiolan-5-yl]pyrimidin-2(1*H*)-on.
Tạp chất E: 4-aminopyrimidin-2(1*H*)-on (cytosin).
Tạp chất F: pyrimidin-2,4(1*H*,3*H*)-dion (uracil).
Tạp chất G: 4-amino-1-[(2*R*,3*S*,5*S*)-2-(hydroxymethyl)-1,3-oxathiolan-5-yl]pyrimidin-2(1*H*)-on *S*-oxid.
Tạp chất H: 4-amino-1-[(2*R*,3*R*,5*S*)-2-(hydroxymethyl)-1,3-oxathiolan-5-yl]pyrimidin-2(1*H*)-on *S*-oxid.
Tạp chất I: 4-amino-1-[(2*S*,4*S*)-2-(hydroxymethyl)-1,3-dioxolan-4-yl]pyrimidin-2(1*H*)-on.
Tạp chất J: 1-[(2*R*,5*S*)-2-(hydroxymethyl)-1,3-oxathiolan-5-yl] pyrimidin-2,4(1*H*,3*H*)-dion.

Đồng phân đối quang của lamivudin
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Sử dụng phương pháp chuẩn hóa.
Pha động: Dung dịch amoni acetat 0,77 % - methanol (95 : 5).
Dung dịch thử: Hoà tan 25,0 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan lamivudin chuẩn để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống 2 (chứa tạp chất D) có trong 1 lọ chuẩn trong 1,0 ml *nước*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *silica gel BC dùng cho sắc ký tách đồng phân đối quang* (5 µm).
Nhiệt độ cột duy trì cố định trong khoảng từ 15 °C đến 30 °C. Nhiệt độ được điều chỉnh để tối ưu hóa độ phân giải giữa pic của lamivudin và tạp chất D, nhiệt độ thấp hơn sẽ làm tăng độ phân giải.
Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 270 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của lamivudin.
Thời gian lưu tương đối so với lamivudin (thời gian lưu khoảng 8 min): Tạp chất D khoảng 1,2; tạp chất B và đồng phân đối quang khoảng 1,3 và 1,5.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu, tỷ số đỉnh - hõm (H_p/H_v) ít nhất là 15; trong đó H_p là chiều cao đỉnh pic tạp chất D so với đường nền và H_v là chiều cao tính từ đường nền lên đến đáy hõm giữa pic tạp chất D và pic lamivudin.
Tính giới hạn tạp chất D bằng cách lấy tổng hàm lượng phần trăm của tất cả các pic tạp chất có thời gian lưu tương đối từ 1,2 đến 1,5 trừ đi hàm lượng phần trăm của tạp chất B tính được ở phép thử tạp chất liên quan.
Giới hạn: Tạp chất D không được quá 0,3 %.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo Phương pháp 6. Dùng 2,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (3). Tính hàm lượng của $C_8H_{11}N_3O_3S$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (3) và hàm lượng của $C_8H_{11}N_3O_3S$ trong lamivudin chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng virus HIV, ức chế enzym sao chép ngược nucleosid.

Chế phẩm
Viên nén, thuốc bột uống.

DUNG DỊCH UỐNG LAMIVUDIN
Lamivudini solutionum peroralum

Là dung dịch thuốc uống chứa lamivudin trong một dung môi thích hợp.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Dung dịch thuốc" (Phụ lục 1.3) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng lamivudin, $C_8H_{11}N_3O_3S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Dicloromethan - acetonitril - methanol - amoniac (67 : 20 : 10 : 3).
Dung dịch thử: Pha loãng một thể tích chế phẩm có chứa 50 mg lamivudin thành 50 ml bằng *methanol (TT)*, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch lamivudin chuẩn có nồng độ 1 mg/ml trong *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 10 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu phải tương ứng về màu sắc, hình dạng và giá trị R_f.

B. Thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử trong phần Định lượng phải tương ứng với thời gian lưu của pic lamivudin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

pH
Từ 5,5 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hỗn hợp 5 thể tích *methanol (TT)* và 95 thể tích dung dịch đệm pH 3,8 [dung dịch 1,9 g/l của *amoni acetat (TT)* đã được điều chỉnh về pH 3,8 bằng *acid acetic băng (TT)*].
Dung dịch thử: Tiến hành xác định khối lượng riêng của chế phẩm (Phụ lục 6.5). Cân chính xác một lượng chế phẩm tương ứng với khoảng 50 mg lamivudin vào bình định mức 100 ml, thêm 60 ml pha động và lắc để hòa tan. Pha loãng bằng pha động đến định mức và trộn đều. Lọc.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử bằng pha động vừa đủ 100,0 ml (dung dịch đối chiếu 1,0 %).
Dung dịch giả dược (thực hiện khi có đủ điều kiện): Hòa tan tất cả các thành phần tá dược (bao gồm cả các parahydroxybenzoat nếu có) bằng dung môi thích hợp (dung môi sử dụng trong công thức bào chế) để thu được dung dịch có nồng độ các chất này giống như chế phẩm. Pha loãng dung dịch thu được bằng pha động như cách pha dung dịch thử.
Dung dịch phân giải: Hòa tan một lượng thích hợp chất chuẩn lamivudin dùng thử độ thích hợp của hệ thống (có chứa lamivudin và tạp chất B của lamivudin) với pha động để thu được dung dịch có nồng độ 0,25 mg/ml.
Điều kiện sắc ký: Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) được duy trì ở nhiệt độ 35 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 277 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù thích hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, ghi lại sắc ký đồ. Hệ số phân giải giữa lamivudin và tạp chất B của lamivudin (đồng phân không đối quang của lamivudin, có thời gian lưu tương đối so với lamivudin khoảng 0,9) ít nhất phải bằng 1,5.
Tiến hành sắc ký đối với dung dịch giả dược, dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. Thời gian chạy sắc ký của dung dịch thử gấp 3 lần thời gian lưu của lamivudin. Với chế phẩm chứa các chất bảo quản parahydroxybenzoat, tiến hành sắc ký dung dịch thử với thời gian gấp 9 lần thời gian lưu của lamivudin để rửa giải hết các tá dược này ra khỏi cột sắc ký.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử:
Diện tích của bất kỳ pic nào trừ pic chính đều không được lớn hơn 1,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,5 %), không có quá 1 pic có diện tích lớn hơn 0,7 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,7 %), không có quá 2 pic có diện tích lớn hơn 0,3 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,3 %) và tổng diện tích của tất cả các pic trừ pic chính không được lớn hơn 3 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3,0 %).
Bỏ qua các pic có thời gian lưu trùng với các pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch giả dược, các pic có thời gian lưu tương đối so với lamivudin lớn hơn 2,0 (tương ứng với các pic parahydroxybenzoat) và bất cứ pic nào có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,05 %).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng lamivudin chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,020 %.
Dung dịch thử: Tiến hành xác định khối lượng riêng của chế phẩm (Phụ lục 6.5). Cân chính xác một lượng chế phẩm tương ứng với khoảng 50 mg lamivudin vào bình định mức 100 ml, thêm 60 ml pha động và lắc để hòa tan, thêm pha động đến định mức và trộn đều. Lọc, pha loãng 10,0 ml dịch lọc bằng pha động vừa đủ 25,0 ml.
Pha động và điều kiện sắc ký: thực hiện như nêu trong phần Tạp chất liên quan.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic lamivudin trong 6 lần tiêm lặp lại nhỏ hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng lamivudin, $C_8H_{11}N_3O_3S$, có trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn, khối lượng riêng của chế phẩm và hàm lượng của $C_8H_{11}N_3O_3S$ trong lamivudin chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín.
Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng virus.

Hàm lượng thường dùng
50 mg trong 5 ml.

VIÊN NÉN LAMIVUDIN
Tabellae Lamivudini

Là viên nén hoặc viên nén bao phim chứa lamivudin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng lamivudin, $C_8H_{11}N_3O_3S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: Phép thử A.
Nhóm II: Phép thử B và C.
A. Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg lamivudin, thêm 20 ml *methanol (TT)*, lắc để hòa tan và lọc. Bốc hơi dịch lọc đến cắn. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của lamivudin hay với phổ của lamivudin chuẩn.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi khai triển: *Dicloromethan - acetonitril - methanol - amoniac đậm đặc* (67 : 20 : 10 : 3).
Dung dịch thử: Lắc kỹ một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg lamivudin với 50 ml *methanol (TT)*, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch lamivudin chuẩn có nồng độ 1 mg/ml trong *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.
C. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic lamivudin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hỗn hợp 5 thể tích *methanol (TT)* và 95 thể tích dung dịch đệm pH 3,8 [dung dịch 1,9 g/l của *amoni acetat (TT)* đã được điều chỉnh về pH 3,8 bằng *acid acetic băng (TT)*].
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg lamivudin vào bình định mức 100 ml, thêm 60 ml pha động và lắc siêu âm để hòa tan. Pha loãng bằng pha động đến định mức và trộn đều, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử bằng pha động vừa đủ 100,0 ml. Tiếp tục pha loãng 1,0 ml dung dịch trên bằng pha động vừa đủ 10,0 ml.
Dung dịch phân giải: Hòa tan một lượng thích hợp chất chuẩn lamivudin dùng thử tính phù hợp của hệ thống (có chứa lamivudin và tạp chất B của lamivudin) với pha động để thu được dung dịch có nồng độ 0,25 mg/ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) được duy trì ở nhiệt độ 35 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 277 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký đối với dung dịch phân giải, độ phân giải giữa hai pic lamivudin và tạp chất B của lamivudin (đồng phân không đối quang của lamivudin, có thời gian lưu tương đối so với lamivudin khoảng 0,9) phải không nhỏ hơn 1,5.
Tiến hành sắc ký đối với dung dịch đối chiếu, dung dịch thử. Thời gian ghi sắc ký đồ của dung dịch thử gấp 3 lần thời gian lưu của lamivudin. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic nào trừ pic chính đều không được lớn hơn 3 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,3 %), không có quá 1 pic có diện tích lớn hơn 2 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,2 %), không có quá 2 pic có diện tích lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,1 %) và tổng diện tích của tất cả các pic trừ pic chính không được lớn hơn 6 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,6 %). Loại bỏ các pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,05 %).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc (bỏ 20 ml dịch lọc đầu). Pha loãng dịch lọc thu được tới nồng độ thích hợp với môi trường hòa tan nếu cần. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng có hấp thụ cực đại khoảng 280 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan.
Tính hàm lượng lamivudin, $C_8H_{11}N_3O_3S$, hòa tan trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ của dung dịch lamivudin chuẩn có nồng độ tương đương pha trong môi trường hòa tan.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng lamivudin, $C_8H_{11}N_3O_3S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). *Pha động* và *điều kiện sắc ký* thực hiện như mô tả ở phần Tạp chất liên quan.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng lamivudin chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,02 %.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg lamivudin vào bình định mức 100 ml, thêm 60 ml pha động và lắc siêu âm để hòa tan. Pha loãng bằng pha động đến định mức và trộn đều. Lọc qua giấy lọc và bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng 10,0 ml dịch lọc bằng pha động vừa đủ 25,0 ml.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic lamivudin trong 6 lần tiêm lặp lại nhỏ hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng lamivudin, $C_8H_{11}N_3O_3S$, có trong viên dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của $C_8H_{11}N_3O_3S$ trong lamivudin chuẩn.

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

Loại thuốc
Kháng virus.

Hàm lượng thường dùng
150 mg và 300 mg.

VIÊN NÉN LAMIVUDIN VÀ ZIDOVUDIN
Tabellae Lamivudini et Zidovudinum

Là viên nén hoặc viên nén bao phim chứa lamivudin và zidovudin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng lamivudin, $C_8H_{11}N_3O_3S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng zidovudin, $C_{10}H_{13}N_5O_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Acid acetic - methanol - dicloromethan (3 : 10 : 90).
Dung dịch thử: Lắc kỹ một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 0,1 g zidovudin với 50 ml *methanol (TT)*, lọc.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50 mg lamivudin chuẩn trong 50 ml *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 100 mg zidovudin chuẩn trong 50 ml *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên và để khô vết. Triển khai sắc ký trong bình đã bão hòa dung môi đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 bản mỏng. Sau khi triển khai sắc ký, để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát ngay bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.
Sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho hai vết chính tương ứng về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và (2).
B. Trong phần Định lượng, hai pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic lamivudin và zidovudin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*
Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành:
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - dung dịch amoni acetat 0,77 % (1 : 9).
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu.

Dung dịch chuẩn: Pha dung dịch hỗn hợp lamivudin và zidovudin chuẩn trong môi trường hòa tan để có nồng độ tương đương với dung dịch thử, có thể dùng một lượng nhỏ *methanol (TT)* để hòa tan nhưng không quá 2 %.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột: 40 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 270 nm.
Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Trên sắc ký đồ thu được, số đĩa lý thuyết không nhỏ hơn 1500 tính trên pic lamivudin, không nhỏ hơn 3000 tính trên pic zidovudin, hệ số đối xứng của pic lamivudin và zidovudin không lớn hơn 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic lamivudin và zidovudin từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính lượng lamivudin và zidovudin đã hòa tan trong mỗi viên từ diện tích pic lamivudin và zidovudin trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_8H_{11}N_3O_3S$ trong lamivudin chuẩn và $C_{10}H_{13}N_5O_4$ trong zidovudin chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng lamivudin, $C_8H_{11}N_3O_3S$, và zidovudin, $C_{10}H_{13}N_5O_4$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, dung môi pha loãng, dung dịch thử, dung dịch phân giải, điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Định lượng.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống như mô tả trong phần Định lượng.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử. Với điều kiện sắc ký nêu trên, các pic lần lượt rửa giải theo thứ tự và thời gian lưu tương đối như sau:

Tên chất	Thời gian lưu tương đối
Tạp lamivudin (cytosin)	0,11
Tạp lamivudin (uracil)	0,14
Tạp lamivudin (acid carboxylic)	0,17
Tạp lamivudin (*S*-sulfoxyd)	0,20
Tạp lamivudin (*R*-sulfoxyd)	0,22
Tạp chất C của zidovudin (thymin)	0,27
Lamivudin diastereomer	0,50
Lamivudin	0,52
Tạp zidovudin (thymidin)	0,60
Tạp lamivudin (dẫn chất uracil)	0,70
Tạp lamivudin (acid salicylic)	0,80
Zidovudin	1,00
Tạp chất B của zidovudin	1,10

Tính hàm lượng phần trăm của mỗi tạp chất liên quan của lamivudin theo công thức sau:

$$(A_i / A_t) \times 100$$

Trong đó A_i là diện tích pic của từng tạp chất liên quan của lamivudin, A_t là tổng diện tích pic của lamivudin và các tạp chất liên quan của lamivudin.

Tính hàm lượng phần trăm của mỗi tạp chất liên quan của zidovudin hoặc của bất kỳ tạp chất chưa xác định nào khác (không có tên trong bảng trên) theo công thức sau:

$$(A_i / A_t) \times 100$$

Trong đó A_i là diện tích pic của từng tạp chất liên quan của zidovudin hoặc của tạp chất chưa xác định, A_t là tổng diện tích pic zidovudin, các tạp chất liên quan của zidovudin và các tạp chất chưa xác định. Để tính hàm lượng phần trăm tạp chất C của zidovudin, nhân diện tích pic tương ứng với 0,6.

Giới hạn:

Tạp chất A của lamivudin (acid carboxylic): Không được quá 0,3 %.

Lamivudin diastereomer: Không được quá 0,2 %.

Tổng các tạp chất của lamivudin: Không được quá 0,6 %.

Tạp chất C của zidovudin: Không được quá 2,0 %.

Bất kỳ tạp chất chưa xác định nào: Không được quá 0,1 %.

Tổng các tạp chất của zidovudin và các tạp chất chưa xác định: Không được quá 3,0 %.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Dung dịch amoni acetat 0,025 M, điều chỉnh pH 4,0 bằng *acid acetic băng (TT)*.

Pha động B: Methanol (TT).

Pha động C: Acetonitril (TT).

Dung môi pha loãng: Pha động A - Pha động B (95 : 5)

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 15 mg lamivudin chuẩn và 30 mg zidovudin chuẩn, hòa tan bằng dung môi pha loãng và thêm dung môi pha loãng vừa đủ 100,0 ml, lắc đều.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 300 mg zidovudin vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml *nước* và lắc siêu âm 20 min, thêm *nước* vừa đủ đến vạch, lắc đều và lọc. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 50,0 ml bằng dung môi pha loãng.

Dung dịch phân giải: Hòa tan hỗn hợp thử độ phân giải B của lamivudin (chứa lamivudin và lamivudin diastereomer) trong dung môi pha loãng để thu được dung dịch nồng độ 0,17 mg/ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 3 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

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

Tốc độ dòng: 0,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Pha động C (% tt/tt)
0,0	95	5	0
15,0	95	5	0
30,0	70	30	0
38,0	70	30	0
38,1	0	0	100
45,0	0	0	100
45,1	95	5	0
60,0	95	5	0

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn và dung dịch phân giải.

Thời gian lưu tương đối so với zidovudin: của lamivudin diastereomer khoảng 0,5, của lamivudin khoảng 0,52. Độ phân giải giữa lamivudin diastereomer và lamivudin không nhỏ hơn 1,5. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic lamivudin và zidovudin từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử. Tính hàm lượng lamivudin, $C_8H_{11}N_3O_3S$, và zidovudin, $C_{10}H_{13}N_5O_4$, có trong viên dựa vào diện tích pic lamivudin và zidovudin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_8H_{11}N_3O_3S$ và $C_{10}H_{13}N_5O_4$ trong lamivudin và zidovudin chuẩn.

Bảo quản

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

Loại thuốc

Thuốc kháng virus.

Hàm lượng thường dùng

Lamivudin 150 mg và zidovudin 300 mg.

LANOLIN KHAN

Lanolinum anhydricum

Lanolin khan là chất giống như sáp, khan, tinh khiết, thu được từ lông của loài cừu (*Ovis aries*), có thể chứa chất chống oxy hóa thích hợp.

Tính chất

Khối mềm, mịn, đặc quánh, màu vàng, có mùi đặc trưng. Khi chảy lỏng cho chất lỏng màu vàng, trong hoặc gần như trong. Trộn với ether dầu hỏa tạo dung dịch đục.

Thực tế không tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính

A. Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 5 ml *methylen clorid (TT)*, thêm 1 ml *anhydrid acetic (TT)* và 0,1 ml *acid sulfuric (TT)*, màu xanh lục sẽ xuất hiện.

B. Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 5 ml *methylen clorid (TT)*, thêm 5 ml *acid sulfuric (TT)* và lắc. Màu đỏ xuất

hiện và có huỳnh quang màu xanh lục đậm ở lớp dưới khi quan sát dưới ánh sáng thường với nguồn sáng rọi từ phía sau người quan sát.

Acid hoặc kiềm tan trong nước

Đun chảy 5,0 g chế phẩm trên cách thủy và lắc mạnh trong 2 min với 75 ml *nước* đã được đun nóng trước đến 90 °C - 95 °C. Để nguội và lọc qua giấy lọc đã được rửa trước bằng *nước*. Thêm 0,25 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)* vào 60 ml dịch lọc (dịch lọc có thể không được trong). Màu của chỉ thị phải thay đổi khi cho thêm không quá 0,2 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,02 N (CĐ)* hoặc 0,15 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)*.

Khả năng hút nước

Chuyển 10 g chế phẩm đã được làm nóng chảy vào một cái cối và để nguội đến nhiệt độ phòng, cân cối. Thêm từng lượng *nước* một, mỗi lần từ 0,2 ml đến 0,5 ml *nước* bằng buret, khuấy mạnh sau mỗi lần thêm để dung nạp hết lượng nước thêm vào. Sử dụng một đũa hình trụ (ví dụ, dài 120 mm và đường kính 10 mm) làm bằng polypropylen có tỉ trọng cao để khuấy thay cho chày. Điểm kết thúc đạt được khi quan sát thấy những giọt nước còn lưu lại không thể bị dung nạp tiếp. Cân lại khối lượng cối và xác định lượng nước đã được hút vào. Lượng nước tiêu thụ không được ít hơn 20 ml.

Chỉ số acid

Không được quá 1,0 (Phụ lục 7.2).

Dùng 5,0 g chế phẩm và hòa tan trong 25 ml hỗn hợp dung môi.

Chỉ số peroxyd

Không được quá 20 (Phụ lục 7.6, phương pháp A).

Trước khi thêm 0,5 ml *dung dịch kali iodid bão hòa (TT)*, làm nguội dung dịch thu được đến nhiệt độ phòng.

Chỉ số xà phòng hóa

Từ 90 đến 105 (Phụ lục 7.7).

Dùng 2,00 g chế phẩm đun nóng dưới sinh hàn trong 4 h.

Chất dễ oxy hóa tan trong nước

Thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* và 0,1 ml *dung dịch kali permanganat 0,02 M (CĐ)* vào 10 ml dịch lọc thu được ở mục Acid hoặc kiềm tan trong nước. Sau 10 min, dung dịch không được mất màu hoàn toàn.

Parafin

Không được quá 1,0 %.

Chú ý: Các vòi, khóa và dụng cụ dùng trong phép thử không được có dầu mỡ. Chuẩn bị một cột nhôm oxyd khan có chiều dài 230 mm và đường kính 20 mm bằng cách nhồi ướt hỗn hợp *nhôm oxyd khan (TT)* và *ether dầu hỏa (40 °C đến 60 °C)* vào ống thủy tinh có van khóa và chứa *ether dầu hỏa (40 °C đến 60 °C)* (trước khi dùng, nhôm oxyd khan được loại nước bằng cách nung ở 600 °C trong 3 h). Để lắng và làm giảm chiều cao của lớp dung môi ở phía trên cột còn khoảng 40 mm. Hòa tan 3,0 g chế phẩm trong 50 ml *ether dầu hỏa (40 °C đến 60 °C)* ấm, để nguội, cho dung dịch thu được chảy qua cột ở tốc độ 3 ml/min và rửa cột với 250 ml *ether dầu hỏa (40 °C đến 60 °C)*. Cất thu hồi dung môi dịch rửa giải và nước rửa đến khi thu được một khối cặn nhão, bốc hơi trên cách thủy đến khô và sấy cặn ở 105 °C trong những khoảng thời gian 10 min cho tới khi khối lượng thu được giữa hai lần cân không khác nhau quá 1 mg. Khối lượng cặn không được quá 30 mg.

Dư lượng thuốc diệt côn trùng

Không được quá 0,05 phần triệu cho mỗi thuốc diệt côn trùng nhóm clor hữu cơ.

Không được quá 0,5 phần triệu cho mỗi thuốc diệt côn trùng khác.

Tổng các thuốc diệt côn trùng không được quá 1 phần triệu.

Tất cả dụng cụ thủy tinh sử dụng được rửa kỹ bằng chất tẩy rửa không có phosphat như sau. Thủy tinh được nhúng ngập trong bể dung dịch thuốc tẩy (nồng độ 5 % trong nước khử ion) trong 24 h. Các chất tẩy rửa được rửa sạch nhiều lần bằng aceton và hexan dùng để phân tích thuốc diệt côn trùng. Điều quan trọng là phải giữ dụng cụ thủy tinh dùng riêng cho các phép phân tích thuốc diệt côn trùng, không được lẫn với dụng cụ thủy tinh sử dụng cho các thử nghiệm khác. Dụng cụ thủy tinh được sử dụng phải sạch không có dung môi chứa clor, chất dẻo và cao su, đặc biệt là nhựa phthalat, hợp chất oxy hóa và các dung môi được nitrogen hóa như acetonitril. Sử dụng hexan, toluen và aceton dùng để phân tích thuốc diệt côn trùng. Sử dụng ethyl acetat, cyclohexan và nước đạt độ tinh khiết dùng cho sắc ký lỏng.

Thử nghiệm bao gồm sự phân lập dư lượng thuốc diệt côn trùng bằng Phương pháp sắc ký rây phân tử (Phụ lục 5.5) tiếp theo là chiết pha rắn và xác định bằng Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2) kết hợp với một detector cộng kết điện tử hoặc detector nhiệt điện tử (detector nitrogen-phosphor).

Phân lập thuốc diệt côn trùng

Phương pháp sắc ký rây phân tử (Phụ lục 5.5).

Sử dụng detector quang phổ tử ngoại - khả kiến đặt ở bước sóng 254 nm để hiệu chỉnh cột sắc ký thấm qua gel.

Hiệu chuẩn rất quan trọng trong sắc ký thấm qua gel (GPC) để kiểm tra áp suất, tốc độ dòng chảy dung môi, tỷ lệ dung môi, nhiệt độ và cột được duy trì ở điều kiện không đổi. Các cột gel thấm thấm phải được hiệu chuẩn định kỳ, thường sử dụng một hỗn hợp chuẩn được chuẩn bị như sau: Lấy 50,00 g *dầu ngô (TT)*, 0,20 g *methoxyclor (TT)* và 50,0 mg *perylen(TT)* cho vào bình định mức 1000 ml và thêm một hỗn hợp đồng thể tích của *cyclohexan (TT)* và *ethyl acetat (TT)* đến vạch, trộn đều.

Để hiệu chỉnh cột tiến hành sắc ký như sau:

Pha động: *Cyclohexan - ethyl acetat* (50 : 50).

Tốc độ dòng: 5 ml/min.

Tiêm 5 ml hỗn hợp chuẩn và ghi lại sắc ký đồ. Thời gian lưu của các chất phân tích thay đổi không được quá ± 5 % giữa các lần hiệu chuẩn. Nếu thời gian lưu thay đổi lớn hơn ± 5 % thì cần phải khắc phục. Thời gian lưu thay đổi nhiều có thể do:

- Kiểm soát nhiệt độ trong phòng thí nghiệm chưa đạt yêu cầu.

- Bơm có chứa không khí, điều này có thể kiểm tra bằng cách đo tốc độ dòng: Thu 25 ml dịch rửa giải vào bình định mức và ghi lại thời gian (300 ± 5 s).
- Hệ thống bị rò rỉ.

Những thay đổi về áp suất, tốc độ dòng của pha động, nhiệt độ cột, hoặc cột bẩn có thể ảnh hưởng đến thời gian lưu và phải được theo dõi. Nếu tốc độ dòng và áp lực cột không như mong đợi thì phải thay tiền cột hoặc cột.

Dung dịch thử: Hòa tan 1 g chế phẩm trong hỗn hợp *ethyl acetat - cyclohexan* (1 : 7) trong bình định mức 20 ml. Thêm 1 ml chuẩn nội [dung dịch 2 phần triệu của *isodrin (TT)* hoặc *ditalimphos (TT)*] và pha loãng thành 20 ml.

Các dung dịch chuẩn nội được sử dụng để đánh giá sự thu hồi của thuốc diệt côn trùng từ các giai đoạn tinh chế GPC, bốc hơi và giai đoạn chiết pha rắn ở mức chấp nhận được. Mức độ thu hồi của các chuẩn nội từ lanolin được xác định bằng cách so sánh diện tích các pic của chất chiết xuất từ lanolin với diện tích pic của chuẩn nội.

Pha động: *Ethyl acetat - cyclohexan* (10 : 70).

Tiền cột: Dài 7,5 cm, đường kính 21,2 mm được nhồi pha tĩnh *styren-divinylbenzen copolymer* (5 µm).

Cột gel thẩm thấu: Dài 30 cm, đường kính 21,2 mm được nhồi pha tĩnh *styren-divinylbenzen copolymer* (5 µm).

Tốc độ dòng: 5 ml/min.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tiêm 5 ml dung dịch thử. Bỏ 95 ml (19 min) dịch rửa giải đầu tiên có chứa chất thử. Lấy 155 ml tiếp theo (31 min) có chứa dư lượng thuốc diệt côn trùng.

Cho 155 ml dịch rửa giải thu được từ cột sắc ký gel thẩm vào bình bay hơi. Để bình này trong thiết bị bay hơi tự động, đặt nhiệt độ ở 45 °C và áp suất khí nitơ ở 55 kPa, bốc hơi đến khi còn 0,5 ml.

Để điều chế các cột chiết pha rắn, lấy *magnesi silicat dùng cho phân tích thuốc diệt côn trùng (TT)* nung ở 700 °C trong 4 h để loại ẩm và polyclorinated biphenyls. Sau đó để nguội trong 2 h và chuyển thẳng vào một lò có nhiệt độ từ 100 °C đến 105 °C, để yên trong 30 min. Sau đó chuyển magnesi silicat vào cốc thủy tinh có nắp đậy và để cân bằng trong 48 h. Nguyên liệu này có thể sử dụng trong 2 tuần. Sau khoảng thời gian đó magnesi silicat có thể được hoạt hóa lại bằng cách nung 600 °C trong 2 h. Sau đó để nguội và bảo quản trong lọ thủy tinh kín. Khử hoạt tính magnesi silicat bằng cách thêm 1 % *nước*. Sau khi thêm *nước*, lắc liên tục hơn 15 min trước khi sử dụng. Magnesi silicat đã khử hoạt tính chỉ sử dụng trong 1 tuần. Chỉ sử dụng magnesi silicat đã khử hoạt tính cho phép thử này.

Cân 1 g magnesi silicat đã khử hoạt tính cho vào cột chiết pha rắn rỗng dung tích 6 ml.

Phần dịch chiết thu được ở giai đoạn GPC vẫn chứa khoảng 10 % chế phẩm, vì vậy cần tiếp tục làm sạch. Có phương pháp phân lập riêng được thực hiện đối với thuốc diệt côn trùng là dẫn chất của clor hữu cơ và pyrethroid tổng hợp hoặc thuốc diệt côn trùng phospho hữu cơ. Đặt một cột chiết pha rắn chưa được cân bằng chứa 1 g *magnesi silicat đã khử hoạt tính dùng để phân tích dư lượng thuốc diệt côn trùng* vào chân không.

Cân bằng cột bằng cách: Thêm 10 ml *toluen (TT)* vào cột chiết và cho dung môi rửa giải qua cột. Cho 0,5 ml dung môi từ bình bay hơi vào cột. Rửa giải từng phần thuốc diệt côn trùng từ các cột, sử dụng 20 ml của một trong hai hệ dung môi sau:

a) Xác định các thuốc diệt côn trùng clor hữu cơ và pyrethroid tổng hợp: *Toluen (TT)*; một lượng rất nhỏ của các chất được kiểm tra đồng rửa giải.

b) Xác định các loại thuốc diệt côn trùng phosphor hữu cơ: *Aceton - toluen* (2 : 98); hệ dung môi này được sử dụng để rửa giải tất cả các loại thuốc diệt côn trùng bao gồm cả thuốc diệt côn trùng phosphor hữu cơ phân cực; tuy nhiên với hệ dung môi này, một phần chế phẩm cùng rửa giải và có thể tương tác với detector cộng kết điện tử.

Gộp các dịch rửa giải vào lọ thủy tinh 25 ml và chuyển vào bình bay hơi, rửa lọ thủy tinh 3 lần, mỗi lần với 10 ml *hexan (TT)*.

Đặt bình bay hơi chứa dịch rửa giải vào thiết bị bay hơi tự động đến khi còn 0,5 ml trong bể cách thủy ở 45 °C và áp suất nitrogen là 55 kPa.

Kiểm tra dư lượng thuốc diệt côn trùng

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2) sử dụng detector cộng kết điện tử và detector nhiệt điện tử như được mô tả dưới đây:

Sự thu hồi: Tính toán hệ số hiệu chỉnh thu hồi (R_{cf}) của chuẩn nội [*ditalimphos (TT)* hoặc *isodrin (TT)*] thêm vào dung dịch thử theo công thức sau:

$$\frac{A_2}{A_1} \times 100$$

Trong đó:

A_1 là diện tích pic của chuẩn nội từ dung dịch có nồng độ 1 phần triệu.

A_2 là diện tích pic của chuẩn nội chiết được từ dung dịch thử.

Lấy 5 ml trong 20 ml dung dịch thử có chứa 1 ml chuẩn nội 2 phần triệu cô đặc đến 0,5 ml sẽ được dung dịch có nồng độ khoảng 1 phần triệu chuẩn nội.

Phép thử chỉ có giá trị khi giá trị thu hồi trong khoảng từ 70 % đến 110 %.

Dung dịch đối chiếu: Chuẩn bị dung dịch đối chiếu chứa chất chuẩn thuốc diệt côn trùng ở nồng độ 0,5 phần triệu (xem thành phần của dung dịch đối chiếu A đến D trong Bảng 1). Các dung dịch chuẩn trên thị trường có nồng độ 10 phần triệu.

Chuẩn bị đồng thời dung dịch chứa thuốc diệt côn trùng có nồng độ tương đương với giới hạn phát hiện của phương pháp (xem khuyến cáo trong Bảng 1). Những dung dịch đối chiếu đã được sử dụng để tối ưu hóa detector cộng kết điện tử và detector nhiệt điện tử để đạt được các giới hạn phát hiện của phương pháp (dung dịch đối chiếu E và F).

Bảng 1. Thành phần của các dung dịch đối chiếu

Dung dịch đối chiếu A *(0,5 phần triệu hay 0,5 mg/ml) Thuốc diệt côn trùng có nhóm clor hữu cơ hay thuốc diệt côn trùng pyrethroid tổng hợp*	**Dung dịch đối chiếu B** *(0,5 phần triệu hay 0,5 mg/ml) Thuốc diệt côn trùng có nhóm clor hữu cơ hay thuốc diệt côn trùng pyrethroid tổng hợp*
Cyhalothrin	Aldrin
Cypermethrin	o,p'-DDT
o,p'-DDE	p,p'-DDD
p,p'-DDE	p,p'-DDD
p,p'-DDT	Dieldrin
Deltamethrin	α-endosulfan
Endrin	β-endosulfan
Heptaclor	Fenvalerat
Heptaclor epoxid	α-Hexaclorocyclohexan
Hexaclorobenzen	β-Hexaclorocyclohexan
Lindan	δ-Hexaclorocyclohexan
Tecnazen	Methoxyclor
	Permethrin
Dung dịch đối chiếu C *(0,5 phần triệu hay 0,5 mg/ml) Thuốc diệt côn trùng có nhóm phosphor hữu cơ*	**Dung dịch đối chiếu D** *(0,5 phần triệu hay 0,5 mg/ml) Thuốc diệt côn trùng có nhóm phosphor hữu cơ*
Bromophos-ethyl	Bromophos
Carbophenothion	Clorpyriphos
Clorfenvinphos	Clorpyriphos-methyl
Diazinon	Coumaphos
Diclofenthion	Phosalon
Ethion	Pirimiphos-ethyl
Fenclorphos	Tetraclorvinphos
Malathion	
Propetamphos	
Dung dịch đối chiếu E *Hỗn hợp lập đường chuẩn dùng detector cộng kết điện tử*	**Dung dịch đối chiếu F** *Hỗn hợp lập đường chuẩn dùng detector nhiệt điện tử*
Aldrin (0,01 mg/l)	
Cypermethrin (0,1 mg/l)	Clorfenvinphos (0,05 mg/l)
o,p'-DDD (0,01 mg/l)	Diazinon (0,05 mg/l)
Deltamethrin (0,1 mg/l)	Ethion (0,05 mg/l)
Endrin (0,01 mg/l)	Fenclorphos (0,05 mg/l)
β-Hexaclorocyclohexan (0,01 mg/l)	Propetamphos (0,05 mg/l)
Dung dịch đối chiếu G *Chuẩn nội thuốc diệt côn trùng phosphor hữu cơ*	**Dung dịch đối chiếu H** *Chuẩn nội thuốc diệt côn trùng clor hữu cơ*
Ditalimphos (2 phần triệu hoặc 2,0 mg/l)	Isodrin (2 phần triệu hoặc 2,0 mg/l)
Ditalimphos (1 phần triệu hoặc 1,0 mg/l)	Isodrin (1 phần triệu hoặc 1,0 mg/l)

Định tính và định lượng dư lượng thuốc diệt côn trùng

So sánh sắc ký đồ của chế phẩm với sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu A đến D để định tính thuốc diệt côn trùng.

Để định tính các thuốc diệt côn trùng có thể dùng các mẫu chuẩn được chuẩn bị trước hoặc sử dụng các sắc ký đồ chuẩn trong phần mềm tích hợp trên máy tính. Việc đưa ra kết quả phân tích dư lượng thuốc diệt côn trùng dạng vết là vô cùng phức tạp. Các detector, đặc biệt là detector cộng kết điện tử, dễ bị ảnh hưởng bởi các chất cần kiểm tra, bởi dung môi, hóa chất và các loại thiết bị dùng trong chiết xuất. Các pic đáp ứng có thể dễ bị nhầm hoặc dương tính giả. Thuốc diệt côn trùng có thể được xác định bằng cách chạy mẫu thử và mẫu chuẩn trên các cột mao quản khác nhau (xem hệ thống sắc ký A hoặc B được mô tả dưới đây). Xác định các pic dựa vào thông tin trong Bảng 2.

Biết rõ sự đáp ứng khác nhau của những thuốc diệt côn trùng trên cả hai detector rất hữu ích trong việc xác định các pic chưa biết. Sau khi định tính, tính hàm lượng của mỗi thuốc diệt côn trùng theo công thức sau:

$$C_P = \frac{P_P \times D \times C_e}{P_e} \times \frac{100}{R_{cf}}$$

Trong đó:

C_p là nồng độ thuốc diệt côn trùng đã định tính được (phần triệu).

P_p là diện tích pic của từng thuốc diệt côn trùng trên sắc ký đồ của dung dịch thử.

C_e là nồng độ của từng thuốc diệt côn trùng trong dung dịch chuẩn ngoại (phần triệu).

P_e là diện tích pic của từng thuốc diệt côn trùng trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn ngoại.

D là hệ số pha loãng.

R_{cf} là hệ số thu hồi.

Hệ số pha loãng (D) có thể tính như sau:

$$\frac{V_1}{m \times \frac{V_2}{V_3}}$$

Trong đó:

V_1 là thể tích dung dịch thử sau khi bay hơi lần thứ 2.

m là khối lượng chế phẩm.

V_2 là thể tích tiêm GPC.

V_3 là thể tích bình định mức dùng để pha mẫu thử.

Bảng 2. Thứ tự rửa giải của các thuốc diệt côn trùng trong hệ thống sắc ký A và B

Hệ thống sắc ký A	Hệ thống sắc ký B
Tecnazen	Tecnazen
α-Hexaclorocyclohexan	Hexaclorobenzen
Hexaclorobenzen	α-Hexaclorocyclohexan
β-Hexaclorocyclohexan	Diazinon
Lindan	Lindan
Propetamphos	Propetamphos
δ-Hexaclorocyclohexan	Heptaclor
Diazinon	Diclofenthion
Diclofenthion	Aldrin
Clopyriphos-methyl	Clopyriphos-methyl
Heptaclor	Fenclophos
Fenclophos	β-Hexaclorocyclohexan
Aldrin	δ-Hexaclorocyclohexan
Malathion	Pirimiphos-ethyl
Clorpyriphos	Clorpyriphos
Bromophos	Bromophos
Pirimiphos-ethyl	Malathion
Heptaclor epoxyd	Heptaclor epoxyd
Clorfenvinphos *(E)*	*o,p'*-DDE
Clorfenvinphos *(Z)*	Clorfenvinphos *(E)*
Bromophos-ethyl	α-Endosulfan
o,p'-DDE	Clorfenvinphos *(Z)*
α-Endosulfan	Bromophos-ethyl
Tetraclorvinphos	*p,p'*-DDE
Dieldrin	Dieldrin
p,p'-DDE	Tetraclorvinphos
o,p'-DDT	*o,p'*-DDT
Endrin	Endrin
β-Endosulfan	*o,p'*-DDD
o,p'-DDD	*p,p'*-DDD
p,p'-DDD	β-Endosulfan
Ethion	Ethion
Carbophenothion	*p,p'*-DDT
p,p'-DDT	Carbophenothion
Methoxyclor	Methoxyclor
Phosalon	Cyhalothrin
Cyhalothrin (2 đồng phân)	*Cis*-Permethrin
Cis-Permethrin	Phosalon
Trans-Permethrin	*Trans*-Permethrin
Coumaphos	Cypermethrin (4 đồng phân)
Cypermethrin (4 đồng phân)	Coumaphos
Fenvalerat (2 đồng phân)	Fenvalerat (2 đồng phân)
Deltamethrin	Deltamethrin

**** Hệ thống sắc ký A:***

Tiền cột: Cột silica khử hoạt tính, chiều dài 4,5 m, đường kính 0,53 mm.

Cột: Silica nung chảy, chiều dài 60 m, đường kính 0,25 mm, phủ pha tĩnh *poly(dimethyl)(diphenyl) siloxan* (độ dày phim 0,25 µm).

Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký.*

Tốc độ: 25 cm/s.

Áp suất: 180 kPa.

Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 1	75
	1 - 5	75 → 175
	5 - 30	175 → 275
	30 - 40	275 → 285
	40 - 55	285
Buồng tiêm		300
Detector		350

Detector: Cộng kết điện tử hoặc nhiệt điện tử.

Thể tích tiêm: 2 µl.

**** Hệ thống sắc ký B:***

Tiền cột: Cột silica bất hoạt, chiều dài 4,5 m, đường kính 0,53 mm.

Cột: Silica nung chảy, chiều dài 60 m, đường kính 0,25 mm, phủ pha tĩnh *poly(cyanopropyl)(7) (phenyl) (7)(methyl)(86) siloxan* (độ dày phim 0,25 µm).

Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký.*

Tốc độ: 25 cm/s.

Áp suất: 180 kPa.

Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 1	75
	1 - 5	75 → 175
	5 - 30	175 → 275
	30 - 40	275 → 285
	40 - 55	285
Buồng tiêm		300
Detector		350

Detector: Cộng kết điện tử hoặc nhiệt điện tử.

Thể tích tiêm: 2 µl.

Clorid

Không được quá 0,015 %.

Đun sôi 1,0 g chế phẩm với 20 ml *ethanol 90 % (TT)* trong một bình cầu đáy tròn dưới sinh hàn hồi lưu trong 5 min. Để nguội, thêm 40 ml *nước* và 0,5 ml *acid nitric (TT)*, lọc. Thêm 0,15 ml *dung dịch bạc nitrat 1 % trong ethanol 90 %* vào dịch lọc. Để yên trong 5 min, tránh ánh sáng. Dung dịch này không được đục hơn dung dịch đối chiếu được chuẩn bị trong cùng một thời gian bằng cách thêm 0,15 ml *dung dịch bạc nitrat 1 % trong ethanol 90 %* vào

hỗn hợp gồm 0,2 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,02 M (CĐ)*, 20 ml *ethanol 90 % (TT)*, 40 ml *nước* và 0,5 ml *acid nitric (TT)*.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C; 1 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,15 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Nung 5,0 g chế phẩm và dùng cắn để xác định tro sulfat.

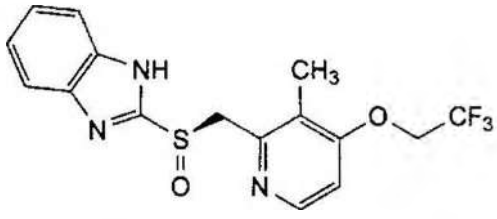
Bảo quản
Ở nhiệt độ không quá 25 °C.

CÁC ĐẶC TÍNH LIÊN QUAN ĐẾN CÔNG DỤNG CỦA NGUYÊN LIỆU
Các đặc tính sau đây có thể liên quan đến việc sử dụng lanolin khan làm tá dược thuốc mỡ và thuốc kem.

Khả năng hút nước (xem ở trên)

Điểm nhỏ giọt
Từ 38 °C đến 44 °C (Phụ lục 6.7, phương pháp 4).
Làm đầy chế phẩm trong cốc kim loại bằng cách đun chảy chế phẩm trên nồi cách thủy, để nguội đến khoảng 50 °C, rót vào cốc và để yên ở 15 °C đến 20 °C trong 24 h.

LANSOPRAZOL
Lansoprazolum



và đồng phân đối quang

$C_{16}H_{14}F_3N_3O_2S$ P.t.l.: 369,4

Lansoprazol là 2-[(*RS*)-[[3-methyl-4-(2,2,2-trifluoroethoxy)-pyridin-2-yl]methyl]sulfinyl]-1*H*-benzimidazol, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{16}H_{14}F_3N_3O_2S$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột đa hình, màu trắng hay nâu nhạt.
Tan trong ethanol tuyệt đối, rất khó tan trong acetonitril, thực tế không tan trong nước.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của lansoprazol chuẩn. Nếu phổ khác nhau, hòa tan chế phẩm và chất chuẩn riêng rẽ trong *ethanol (TT)*, bốc hơi đến khô và ghi lại phổ của các cắn thu được.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *dimethyl formamid (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn màu mẫu N_2 hoặc VN_2 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Nước.
Pha động B: Acetonitril - nước - triethylamin (160 : 40 : 1), điều chỉnh pH đến 7,0 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 125 mg chế phẩm, hòa tan trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml với hỗn hợp *pha động A - pha động B* (9 : 1). Dung dịch chỉ pha trước khi dùng.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 25 mg lansoprazol chuẩn, hòa tan trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml với *methanol (TT)*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml với hỗn hợp *pha động A - pha động B* (9 : 1).
Dung dịch mẫu trắng: Pha loãng 1,0 ml *methanol (TT)* thành 10,0 ml với hỗn hợp *pha động A - pha động B* (9 : 1).
Dung dịch phân giải: Hòa tan 5 mg lansoprazol chuẩn và 5 mg 2-[[[3-methyl-4-(2,2,2-trifluoroethoxy)-2-pyridyl]-methyl]sulfonyl]benzimidazol chuẩn (tạp chất A) trong 200,0 ml *methanol (TT)*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml với hỗn hợp *pha động A - pha động B* (9 : 1).
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 285 nm.
Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.
Thể tích tiêm: 40 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành chạy sắc ký theo chương trình dung môi sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Điều kiện rửa giải
0 - 40	90 → 20	10 → 80	Gradient tuyến tính
40 - 50	20	80	Đẳng dòng
50 - 51	20 → 90	80 → 10	Gradient tuyến tính
51 - 60	90	10	Đẳng dòng

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiêm dung dịch phân giải, phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic lansoprazol và pic tạp chất A không nhỏ hơn 6. Tiêm dung dịch chuẩn lặp lại 6 lần, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic tạp chất A không được quá 3 %.
Tiêm dung dịch mẫu trắng, dung dịch chuẩn và dung dịch

thử. Bỏ qua các pic của dung dịch thử tương ứng với các pic trên sắc ký đồ của mẫu trắng.
Hàm lượng phần trăm từng tạp chất được tính theo công thức:

$$(50 \times C \times A_i)/ (W \times A_s)$$

Trong đó:
C: Nồng độ lansoprazol (mg/ml) trong dung dịch chuẩn.
W: Lượng cân chế phẩm (mg).
A_i: Diện tích của từng pic tạp.
A_s: Diện tích của pic lansoprazol trong dung dịch chuẩn.
Tổng hàm lượng của các tạp chất không được quá 0,1 %.

Nước
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 1,000 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong 40 ml *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 50 ml với *nước*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương ứng với 36,94 mg $C_{16}H_{14}F_3N_3O_2S$.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Ức chế tiết acid dịch vị, ức chế bơm proton.

Chế phẩm
Nang tan trong ruột.

NANG TAN TRONG RUỘT LANSOPRAZOL
Capsulae Lansoprazoli

Là nang cứng chứa các vi hạt được bao tan trong ruột có chứa lansoprazol.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng lansoprazol, $C_{16}H_{14}F_3N_3O_2S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần thử Độ đồng đều hàm lượng, phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử phải tương ứng với phổ hấp thụ tử ngoại thu được từ dung dịch chuẩn.
B. Trong mục Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic lansoprazol trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Giai đoạn trong môi trường acid (giai đoạn 1)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 500 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*
Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 60 min.
Cách tiến hành: Cho từng nang vào trong cốc và vận hành theo quy định. Sau 60 min lấy 25 ml dung dịch (để lại 475 ml dung dịch trong cốc dùng cho giai đoạn 2), lọc. Đo độ hấp thụ ở bước sóng cực đại khoảng 306 nm (Phụ lục 4.1), trong cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Chuẩn bị dung dịch lansoprazol chuẩn bằng cách hòa tan một lượng chất chuẩn lansoprazol tương đương với khoảng 8 % lượng lansoprazol ghi trên nhãn trong 500 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1M (TT)* [có thể dùng *methanol (TT)* để hòa tan lansoprazol trước khi pha loãng với *dung dịch acid hydrochlorid 0,1M (TT)* nhưng lượng methanol không được quá 0,5 % thể tích dung dịch chuẩn]. Tính lượng lansoprazol được hòa tan dựa vào độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng đã biết của lansoprazol chuẩn.
Yêu cầu: Không được quá 10 % lượng lansoprazol, $C_{16}H_{14}F_3N_3O_2S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 min.
Giai đoạn trong môi trường đệm (giai đoạn 2)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml hỗn hợp gồm 425 ml dung dịch đệm và 475 ml dung dịch acid hydrocloric 0,1 M có sẵn trong cốc ở giai đoạn 1, điều chỉnh đến pH 6,8 bằng *acid phosphoric (TT)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd.*
Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 60 min.
Dung dịch đệm: Hòa tan 65,4 g *natri dihydrophosphat (TT),* 28,2 g *natri hydroxyd (TT)* và 12 g *natri dodecyl sulfat (TT)* trong *nước* và thêm *nước* vừa đủ 4000 ml.
Dung dịch mẫu trắng: Hỗn hợp gồm dung dịch đệm và *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* (17 : 19), điều chỉnh đến pH 6,8 bằng *acid phosphoric (TT)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd.*
Cách tiến hành: Sau 60 min thử theo các điều kiện nêu trên, lấy một lượng dung dịch, lọc, bỏ 10 ml dịch lọc đầu, pha loãng nếu cần. Đo độ hấp thụ ở bước sóng khoảng 286 nm và 650 nm (Phụ lục 4.1), trong cốc đo dày 1 cm. Đồng thời đo độ hấp thụ của dung dịch lansoprazol được chuẩn bị bằng cách hòa tan một lượng chất chuẩn lansoprazol bằng khoảng 70 % lượng ghi trên nhãn trong 900 ml dung dịch mẫu trắng [có thể dùng *methanol (TT)* để hòa tan lansoprazol trước khi pha loãng với dung dịch mẫu trắng nhưng lượng methanol không được quá 2 % thể tích dung dịch chuẩn]. Tính lượng lansoprazol được hòa tan dựa vào hiệu số độ hấp thụ ở bước sóng 286 nm và 650 nm của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng đã biết của lansoprazol chuẩn.

Yêu cầu: Không được ít hơn 80 % (Q) lượng lansoprazol, $C_{16}H_{14}F_3N_3O_2S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong cả 2 giai đoạn.

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)

Cho toàn bộ lượng thuốc của từng nang vào bình định mức dung tích 100 ml, thêm 30 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M*, lắc siêu âm để làm rã các hạt. Thêm 65 ml *acetonitril (TT)*, để nguội và thêm *acetonitril (TT)* đến vạch, lắc đều. Ly tâm và lọc. Pha loãng dịch lọc với hỗn hợp *acetonitril (TT)* và *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* (7 : 3) để được dung dịch có nồng độ lansoprazol khoảng 0,012 mg/ml. Pha dung dịch lansoprazol chuẩn có cùng nồng độ trong cùng dung môi.

Đo độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn ở bước sóng cực đại khoảng 294 nm (Phụ lục 4.1), trong cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là hỗn hợp *acetonitril (TT)* và *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* (7 : 3).

Tính lượng lansoprazol có trong mỗi nang dựa vào độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng đã biết của lansoprazol chuẩn.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).

(Dùng 1,000 g thuốc trong nang; áp suất không quá 5 mmHg; phosphor pentoxyd; 60 °C; 5 h).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung môi pha loãng: Hỗn hợp gồm *nước - acetonitril - triethylamin* (60 : 40 : 1), điều chỉnh đến pH 10,0 bằng *acid phosphoric (TT)*.

Pha động: Hỗn hợp gồm *nước - acetonitril - triethylamin* (60 : 40 : 1), điều chỉnh đến pH 7,0 bằng *acid phosphoric (TT)*. Thay đổi tỷ lệ nếu cần.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan (bằng cách lắc siêu âm) một lượng lansoprazol chuẩn trong hỗn hợp *acetonitril (TT)* và *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* (2 : 3) để được dung dịch có nồng độ khoảng 3,0 mg/ml. Pha loãng tiếp với dung môi pha loãng để được dung dịch có nồng độ lansoprazol khoảng 0,1 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của thuốc trong nang. Cân chính xác một lượng thuốc trong nang tương ứng với 300 mg lansoprazol vào bình định mức dung tích 100 ml. Thêm 60 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M*, lắc siêu âm đến khi các hạt rã hoàn toàn. Thêm *acetonitril (TT)* vừa đủ đến vạch, trộn đều. Ly tâm lấy phần dung dịch trong ở trên. Pha loãng dung dịch với dung môi pha loãng để được dung dịch có nồng độ lansoprazol khoảng 0,1 mg/ml.

Điều kiện sắc ký:

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

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 285 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic lansoprazol trên sắc ký đồ thu được trong 6 lần tiêm nhắc lại không lớn hơn 2,0 %.

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

Tính hàm lượng lansoprazol, $C_{16}H_{14}F_3N_3O_2S$, có trong nang dựa vào diện tích pic lansoprazol thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của lansoprazol chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

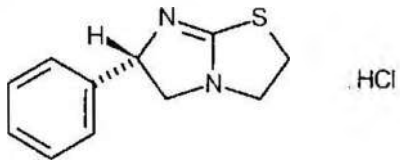
Thuốc chống loét dạ dày, tá tràng, ức chế bơm proton.

Hàm lượng thường dùng

30 mg.

LEVAMISOL HYDROCLORID

Levamisoli hydrochloridum



$C_{11}H_{12}N_2S.HCl$ P.t.l: 240,8

Levamisol hydroclorid là (6*S*)-6-phenyl-2,3,5,6-tetrahydroimidazo[2,1-*b*]thiazol hydroclorid, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{11}H_{12}N_2S.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, dễ tan trong nước, tan trong ethanol 96 %, khó tan trong methylen clorid.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của levamisol hydroclorid chuẩn.

B. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử Góc quay cực riêng.

C. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn dung dịch màu đối chiếu V_7 (Phụ lục 9.3, Phương pháp 2).

pH
pH của dung dịch S từ 3,0 đến 4,5 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng
Từ -121° đến -128°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Xác định trên dung dịch S.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Các dung dịch được chuẩn bị ngay trước khi dùng, tránh ánh sáng và giữ ở nhiệt độ dưới 25 °C.
Pha động A: Hòa tan 0,5 g *amoni dihydrophosphat (TT)* trong 90 ml *nước*, chỉnh pH của dung dịch đến 6,5 bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* và pha loãng thành 100 ml bằng *nước*.
Pha động B: Acetonitril (TT).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *methanol (TT)*, thêm 1,0 ml *amoniac (TT)* và thêm *methanol (TT)* vừa đủ 10,0 ml.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50 mg chất đối chiếu levamisol hydroclorid dùng cho kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký (có chứa các tạp chất A, B, C, D và E) trong *methanol (TT)*, thêm 0,5 ml *amoniac (TT)* và thêm *methanol (TT)* vừa đủ 5,0 ml.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *methanol (TT)*. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml với *methanol (TT)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *base-deactivated octadecylsilyl silica gel loại dùng cho sắc ký* (3 µm).
Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại ở bước sóng 215 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Cân bằng cột ít nhất trong 4 min bằng hỗn hợp pha động A và B (9 : 1) sau đó tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 8	90 → 30	10 → 70
8 - 10	30	70

Định tính các tạp chất: Dùng sắc ký đồ đi kèm theo chất đối chiếu levamisol hydroclorid dùng cho kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký và sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) để xác định các pic tạp chất A, B, C, D và E.
Thời gian lưu tương đối (so với levamisol có thời gian lưu khoảng 3 min) của tạp chất A khoảng 0,9; tạp chất B khoảng 1,4; tạp chất C khoảng 1,5; tạp chất D khoảng 1,6; tạp chất E khoảng 2,0.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) phải tương ứng với sắc ký đồ cung cấp kèm theo chất đối chiếu levamisol hydroclorid dùng cho kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký. Hệ số đối xứng không quá 3,5 tính trên pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2).
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính toán hàm lượng các tạp chất, nhân diện tích pic thu được của mỗi tạp với các hệ số hiệu chỉnh tương ứng sau: tạp chất A = 2,0; tạp chất B = 1,7; tạp chất C = 2,9; tạp chất D = 1,3 tạp chất E = 2,7.
Diện tích pic của mỗi tạp chất A, B, C, D, E sau khi hiệu chỉnh không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).
Tạp chất không xác định: Diện tích pic của mỗi tạp chất không lớn hơn một nửa diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).
Tổng các tạp chất: Không quá 1,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %).
Bỏ qua những pic có diện tích pic bằng hoặc nhỏ hơn 0,25 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 3-[(2*RS*)-2-amino-2-phenylethyl]thiazolidin-2-on.
Tạp chất B: 3-[(*E*)-2-phenylethenyl]thiazolidin-2-imin.
Tạp chất C: (4*RS*)-4-phenyl-1-(2-sulphanylethyl)imidazolidin-2-on.
Tạp chất D: 6-phenyl-2,3-dihydroimidazo[2,1-*b*]thiazol.
Tạp chất E: 1,1'-[(disulphan-1,2-diyl)bis(ethylen)]bis-[(4*RS*)-4-phenylimidazolidin-2-on].

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 12 ml dung dịch S và tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 - 105 °C; 4 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

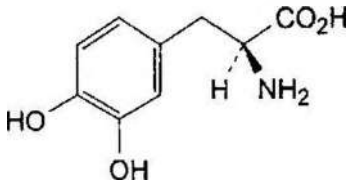
Định lượng
Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 30 ml *ethanol 96 % (TT)*, thêm 5,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* và chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Đọc thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* thêm vào giữa 2 điểm uốn.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 24,08 mg $C_{11}H_{12}N_2S.HCl$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kích thích miễn dịch, trị giun sán.

Chế phẩm
Thuốc tiêm, viên nén, dung dịch.

LEVODOPA
Levodopum



$C_9H_{11}NO_4$ P.t.l: 197.2

Levodopa là acid [(2*S*)-2-amino-3-(3,4-dihydroxyphenyl)] propanoic, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_9H_{11}NO_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc màu trắng ngà.
Khó tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %.
Dễ tan trong dung dịch acid hydrocloric 1 M và hơi tan trong dung dịch acid hydrocloric 0,1 M.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A
Nhóm II: B, C, D
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của levodopa chuẩn.
B. Hòa tan khoảng 2 mg chế phẩm trong 2 ml *nước* và thêm 0,2 ml *dung dịch sắt (III) clorid 1,3 % (TT)*. Màu xanh lá cây xuất hiện và chuyển thành màu tím ánh lam khi thêm 0,1 g *hexamethylentetramin (TT)*.
C. Hòa tan khoảng 5 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi gồm 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* và 5 ml *nước (TT)*. Thêm 0,1 ml *dung dịch amoni molybdat 10 % (TT)* trong *dung dịch natri nitrit 10 % (TT)*. Màu vàng xuất hiện và chuyển thành màu đỏ khi thêm *dung dịch natri hydroxyd đậm đặc (TT)*.
D. Thêm 1 ml *nước*, 1 ml *pyridin (TT)* và 5 mg *nitrobenzoyl clorid (TT)* vào 5 mg chế phẩm. Trộn đều và để yên khoảng 3 min. Màu tím xuất hiện và chuyển thành màu vàng nhạt khi đun sôi. Vừa thêm vừa lắc với 0,2 ml *dung dịch natri carbonat 10 % (TT)*, màu tím xuất hiện trở lại.

Màu sắc của dung dịch
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được có màu không đậm hơn màu mẫu VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Lắc 0,10 g chế phẩm trong 10 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* khoảng 15 min. pH của hỗn dịch thu được từ 4,5 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực
Từ -1,27° đến -1,34° (Phụ lục 6.4).
Hòa tan một lượng chế phẩm tương đương với 0,200 g chế phẩm đã được làm khô và 5 g *hexamethylentetramin (TT)* trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung dịch acid. Để dung dịch tránh ánh sáng trong khoảng 3 h và tiến hành đo.

Độ hấp thụ ánh sáng
Hòa tan và pha loãng 30,0 mg chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1M (TT)* thành 100,0 ml. Pha loãng 10,0 ml dung dịch trên thành 100,0 ml với cùng acid. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch ở bước sóng từ 230 nm đến 350 nm, phổ tử ngoại thu được chỉ có 1 cực đại hấp thụ ở bước sóng 280 nm. Độ hấp thụ riêng ở cực đại 280 nm phải từ 137 đến 147, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Celulose loại dùng cho sắc ký (TT)*.
Dung môi khai triển: Acid acetic băng - nước - butanol (25 : 25 : 50).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 5 ml *acid formic khan (TT)* và pha loãng thành 10 ml bằng *methanol (TT)*, sử dụng dung dịch ngay sau khi pha.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 0,5 ml dung dịch thử thành 100 ml với *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 30 mg *tyrosin (TT)* trong 1 ml *acid formic khan (TT)* và pha loãng thành 100 ml bằng *methanol (TT)*. Trộn 1 ml dung dịch này với 1 ml dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl dung dịch thử, 10 µl dung dịch đối chiếu (1) và 20 µl dung dịch đối chiếu (2). Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để khô bản mỏng trong luồng khí ấm và phun hỗn hợp dung dịch đồng thể tích gồm *dung dịch sắt (III) clorid 10 % (TT)* và *dung dịch kali fericyanid 5 % (TT)* vừa mới pha. Kiểm tra ngay sắc ký đồ. Bất cứ vết phụ nào khác với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho thấy ở trên vết chính có một vết tách riêng biệt đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 2,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3.
Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(0,50 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,180 g chế phẩm trong 5 ml *acid formic khan (TT)*, đun nóng nếu cần, thêm 25 ml *acid acetic khan (TT)* và 25 ml *dioxan (TT)*. Chuẩn độ với *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* cho đến khi dung dịch có màu xanh lá cây, dùng 0,1 ml *dung dịch tím tinh thể (TT)* làm chỉ thị. 1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 19,72 mg $C_9H_{11}NO_4$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Điều trị bệnh Parkinson.

Chế phẩm
Nang, viên nén.

VIÊN NÉN LEVODOPA
Tabellae Levodopi

Là viên nén chứa levodopa.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng levodopa, $C_9H_{11}NO_4$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Cân một lượng bột viên tương ứng với 500 mg levodopa, thêm 25 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*. Lắc kỹ, lọc. Điều chỉnh đến pH 3 bằng cách thêm từng giọt *dung dịch amoniac 5 M (TT)* kết hợp với khuấy, sau đó để lắng trong vài giờ, tránh ánh sáng. Lọc, rửa tủa với *nước* và sấy khô ở 105 °C. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của levodopa.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: n-Butanol - acid acetic băng - nước (50 : 25 : 25)
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với 0,1 g levodopa với 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch levodopa chuẩn 1 % trong *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản sắc ký ra và làm khô bằng không khí nóng, sau đó phun hỗn hợp đồng thể tích *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)* và *dung dịch kali fericyanid 5 % (TT)*, quan sát sắc ký đồ dưới ánh sáng ban ngày.
Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.
C. Cân một lượng bột viên tương ứng với 20 mg levodopa, thêm 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, lắc kỹ để hòa tan. Thêm 0,1 ml *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, dung dịch xuất hiện màu xanh lục. Chia đôi dung dịch vào 2 ống nghiệm, một ống nghiệm thêm một lượng thừa *dung dịch amoniac 5 M (TT)*, xuất hiện màu tím; một ống nghiệm thêm một lượng thừa *dung dịch natri hydroxyd 5 M (TT)*, xuất hiện màu đỏ.

Góc quay cực riêng
Từ -38,5° đến -41,5° (Phụ lục 6.4).
Xác định theo cách sau: Lắc một lượng bột viên chứa 1,25 g levodopa với 25 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,5 M (TT)* trong 30 min, ly tâm và lọc, bỏ 5 ml dịch lọc đầu. Lấy chính xác 10 ml dịch lọc cho vào bình định mức 50 ml, thêm 10 ml *dung dịch nhôm sulfat 21,5 %* và 20 ml *dung dịch natri acetat 21,8 %*, thêm *nước* vừa đủ, lắc đều, đo năng suất quay cực.
Lấy chính xác 5 ml dịch lọc trên cho vào bình định mức 200 ml, thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Pha loãng 10 ml dung dịch này thành 200 ml với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thử ở bước sóng 280 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng. Tính nồng độ của levodopa, $C_9H_{11}NO_4$, trong dịch lọc, lấy 142 là giá trị A (1 %, 1 cm) của levodopa ở bước sóng 280 nm, từ đó tính góc quay cực riêng.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: n-Butanol - acid acetic băng - nước (50 : 25 : 25).
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với 0,1 g levodopa với 10 ml hỗn hợp đồng thể tích *acid formic khan (TT)* và *methanol (TT)*, lọc, sử dụng ngay.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử thành 200 thể tích bằng *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Là hỗn hợp đồng thể tích của dung dịch thử và của một dung dịch được chuẩn bị như sau: Hòa tan 30 mg *L-tyrosin* trong 1 ml *acid formic (TT)* sau đó thêm *methanol (TT)* vừa đủ 100 ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1), 20 µl dung dịch đối chiếu (2). Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản sắc ký ra và làm khô bằng không khí nóng, sau đó phun hỗn hợp đồng thể tích của *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)* và *dung dịch kali fericyanid 5 % (TT)*, quan sát ngay lập tức sắc ký đồ dưới ánh sáng ban ngày.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, bất kỳ vết phụ nào ngoài vết chính không được có màu đậm hơn màu của vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) có một vết tách rõ rệt có giá trị R_f lớn hơn giá trị R_f của vết chính và có màu đậm hơn màu của vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Đối với viên chứa hàm lượng levodopa nhỏ hơn hoặc bằng 250 mg, hút chính xác 2 ml dịch lọc vào bình định mức 10 ml, thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Đối với viên chứa hàm lượng levodopa lớn hơn 250 mg, hút chính xác 1 ml dịch lọc vào bình định mức 10 ml, thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thử ở bước sóng 280 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng. Tính lượng levodopa, $C_9H_{11}NO_4$, đã hòa tan trong mỗi viên từ độ hấp thụ đo được của dung dịch thử, lấy 142 là giá trị A (1 %, 1 cm) của levodopa ở bước sóng 280 nm.
Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % (Q) lượng levodopa, $C_9H_{11}NO_4$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng
Cân 20 viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 30 mg levodopa cho vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 70 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* lắc kỹ để hòa tan, thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* vừa đủ đến vạch. Lắc đều, lọc, loại bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Hút chính xác 10 ml dịch lọc vào bình định mức 100 ml, thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thử ở bước sóng 280 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng. Tiến hành song song với chuẩn trong cùng điều kiện hoặc tính hàm lượng levodopa, $C_9H_{11}NO_4$, theo A (1 %, 1 cm), lấy 142 là giá trị A (1 %, 1 cm) của levodopa ở bước sóng 280 nm.

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

Loại thuốc
Thuốc trị bệnh Parkinson.

Hàm lượng thường dùng
50 mg, 125 mg, 250 mg, 500 mg.

VIÊN NÉN LEVODOPA VÀ CARBIDOPA
Tabellae Levodopi et Carbidopi

Là viên nén hoặc viên nén bao chứa levodopa và carbidopa. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng carbidopa khan, $C_{10}H_{14}N_2O_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng levodopa, $C_9H_{11}NO_4$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong mục Định lượng, sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử có 2 pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic carbidopa và levodopa trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn.
B. Lấy một lượng bột viên tương ứng với 1 mg carbidopa khan, thêm 5 ml *dung dịch acid sulfuric 0,05 M*, lắc 2 min và lọc. Thêm 5 ml *thuốc thử dimethylaminobenzaldehyd (TT)* vào dịch lọc, xuất hiện màu vàng đậm.
C. Lấy một lượng bột viên tương ứng với 50 mg levodopa, thêm 4 ml *ethanol 96 % (TT)* và 1 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)*, lắc 2 min. Thêm 2 ml *cinamaldehyd (TT)*, để yên 20 min, thêm 50 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, lắc 2 min và để cho tách lớp. Lọc lớp nước, thêm vào 5 ml dịch lọc 0,1 ml *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)*. Chia dung dịch thu được làm 2 phần vào 2 ống nghiệm. Thêm vào ống nghiệm thứ nhất một lượng thừa *dung dịch amoniac 5 M (TT)*, xuất hiện màu tím đỏ. Thêm vào ống nghiệm thứ hai một lượng thừa *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, xuất hiện màu đỏ đậm.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay
Môi trường hòa tan: 750 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng với Pha động và Điều kiện sắc ký như mô tả ở mục Định lượng.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng levodopa chuẩn và carbidopa chuẩn pha trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* sao cho thu được dung dịch có nồng độ levodopa và nồng độ carbidopa tương ứng với nồng độ trong dung dịch thử.
Dung dịch thử: Lấy một phần dịch hòa tan sau thời gian hòa tan quy định, lọc, loại bỏ dịch lọc đầu.
Tính hàm lượng carbidopa, $C_{10}H_{14}N_2O_4$, và levodopa, $C_9H_{11}NO_4$, đã hòa tan trong mỗi viên dựa vào diện tích pic của carbidopa và levodopa trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn dung dịch thử, hàm lượng $C_{10}H_{14}N_2O_4$ trong carbidopa chuẩn và hàm lượng $C_9H_{11}NO_4$ trong levodopa chuẩn.
Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % (Q) lượng carbidopa,

$C_{10}H_{14}N_2O_4$, và levodopa, $C_9H_{11}NO_4$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch kali dihydrophosphat 0,1 M được điều chỉnh đến pH 3,0 bằng dung dịch acid phosphoric 1 M.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng levodopa chuẩn, carbidopa chuẩn pha trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* sao cho nồng độ levodopa là 0,05 % và tỷ lệ nồng độ levodopa và carbidopa tương ứng với tỷ lệ levodopa và carbidopa trong viên.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,25 g levodopa vào bình định mức 100 ml, thêm 60 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, lắc 15 min, thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* đến vạch, lắc đều, lọc. Pha loãng 10,0 ml dịch lọc thành 50,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (20 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh B (10 µm), Lichrosorb RP8 là phù hợp.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 282 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm riêng biệt dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng carbidopa, $C_{10}H_{14}N_2O_4$, và levodopa, $C_9H_{11}NO_4$, trong chế phẩm dựa vào diện tích của pic carbidopa và levodopa trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn, dung dịch thử, hàm lượng $C_{10}H_{14}N_2O_4$ trong carbidopa chuẩn và hàm lượng $C_9H_{11}NO_4$ trong levodopa chuẩn.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

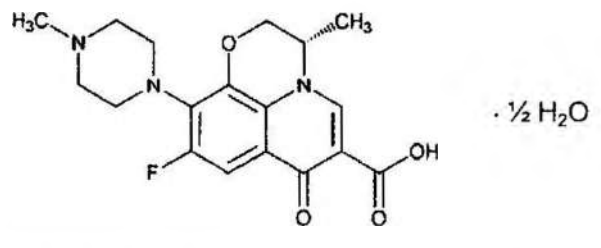
Điều trị Parkinson.

Hàm lượng thường dùng

Carbidopa (tính theo chất khan) và levodopa tương ứng 25 mg và 100 mg, 10 mg và 100 mg, 25 mg và 250 mg.

LEVOFLOXACIN

Levofloxacinum



· ½ H_2O

$C_{18}H_{20}FN_3O_4$. ½ H_2O P.t.l: 370,4

Levofloxacin là acid (–)-*(S)*-9-fluoro-2,3-dihydro-3-methyl-10-(4-methyl-1-piperazinyl)-7-oxo-7*H*-pyrido[1,2,3-*de*]-1,4-benzoxazin-6-carboxylic hemihydrat, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{18}H_{20}FN_3O_4$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh hay tinh thể màu trắng ngà đến trắng hơi vàng. Tan trong dimethyl sulfoxyd và trong acid acetic, hơi tan trong nước, aceton và methanol.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của levofloxacin chuẩn.

B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương tự thời gian lưu của pic levofloxacin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Góc quay cực riêng

Từ -92° đến -106°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Xác định trên dung dịch chế phẩm 0,5 % trong *methanol (TT)*.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch A, pha động, dung dịch thử và điều kiện sắc ký như mô tả trong mục Định lượng.

Dung dịch kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Dung dịch levofloxacin chuẩn trong pha động có nồng độ 1 mg/ml.

Dung dịch kiểm tra độ nhạy: Dung dịch levofloxacin chuẩn trong pha động có nồng độ 0,3 µg/ml.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký:

Tiến hành sắc ký với dung dịch kiểm tra tính phù hợp của hệ thống, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic levofloxacin giữa các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 1,0 %.

Tiến hành sắc ký với dung dịch kiểm tra độ nhạy, tỷ số tín hiệu trên nhiễu (S/N) xác định trên pic levofloxacin không được nhỏ hơn 10.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, tính hàm lượng phần trăm mỗi tạp chất trong chế phẩm theo công thức:

$$\frac{r_u \times 100}{r_s \times F}$$

Trong đó:

r_u là diện tích pic tạp chất cần xác định trong dung dịch thử;

r_s là diện tích pic levofloxacin trong dung dịch thử;

F là hệ số đáp ứng tương đối, được trình bày trong Bảng 1.

Giới hạn:

Từng tạp chất: xem trong Bảng 1.

Tổng các tạp chất trừ tạp chất D-isomer: Không được lớn hơn 0,5 %.

Bảng 1 - Danh mục các tạp chất

Tên chất	Thời gian lưu tương đối	Hệ số đáp ứng tương đối	Giới hạn tạp chất (%)
N-Desmethyl levofloxacin[a]	0,47	1,0	0,3
Diamin derivative[b]	0,52	0,9	0,3
Levofloxacin N-oxid[c]	0,63	1,1	0,3
9-Desfluoro levofloxacin[d]	0,73	1,0	0.3
Levofloxacin	1,0	—	—
D-Isomer[e]	1,23	1,0	0,8
Từng tạp khác	—	1,0	0,1

Ghi chú:

[a] Acid *(S)*-9-fluoro-2,3-dihydro-3-methyl-10-(piperazin-1-yl)-7-oxo-7*H*-pyrido[1,2,3-*de*][1,4]-benzoxazin-6-carboxylic.

[b] Acid *(S)*-9-fluoro-2,3-dihydro-3-methyl-10-[2-(methylamino) ethylamino]-7-oxo-7*H*-pyrido[1,2,3-*de*][1,4]benzoxazin-6-carboxylic.

[c] *(S)*-4-(6-Carboxy-9-fluoro-2,3-dihydro-3-methyl-7-oxo-7*H*-pyrido[1,2,3-*de*][1,4]-benzoxazin-10-yl)-1-methyl-piperazin-1-oxid.

[d] Acid *(S)*-2,3-dihydro-3-methyl-10-(4-methyl-1-piperazinyl)-7-oxo-7*H*-pyrido[1,2,3-*de*][1,4]-benzoxazin-6-carboxylic.

[e] Acid *(R)*-9-fluoro-2,3-dihydro-3-methyl-10-(4-methyl-1-piperazinyl)-7-oxo-7*H*-pyrido[1,2,3-*de*][1,4]-benzoxazin-6-carboxylic.

Nước

Từ 2,0 % đến 3,0 % (Phụ lục 10.3).

Tro sulfat

Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm, dùng chén nung platin.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (phụ lục 5.3).
Dung dịch A: Dung dịch chứa *amoni acetat (TT)* 8,5 g/l, *đồng sulfat ngậm năm phân tử nước (TT)* 1,25 g/l và *L-isoleucin (TT)* 1,3 g/l.
Pha động: Methanol - dung dịch A (3 : 7).
Dung dịch thử: Dung dịch chế phẩm trong pha động có nồng độ 1 mg/ml.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch levofloxacin chuẩn trong pha động có nồng độ 1 mg/ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 360 nm.
Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.
Thể tích tiêm: 25 µl.
Nhiệt độ cột: 45 °C.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, phép thử chỉ có giá trị khi hệ số đối xứng của pic levofloxacin nằm trong khoảng từ 0,5 đến 1,5 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic levofloxacin giữa các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 1,0 %.
Tiến hành sắc ký các dung dịch thử và dung dịch chuẩn.
Tính hàm lượng levofloxacin, $C_{18}H_{20}FN_3O_4$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{18}H_{20}FN_3O_4$ trong levofloxacin chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc kháng sinh nhóm quinolon.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN LEVOFLOXACIN

Tabellae Levofloxacini

Là viên nén hoặc viên nén bao phim chứa levofloxacin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây.

Hàm lượng levofloxacin, $C_{18}H_{20}FN_3O_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

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

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, hút một phần dịch hòa tan, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 5,5 µg/ml. Đo độ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 294 nm, sử dụng cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. So sánh với dung dịch levofloxacin chuẩn pha trong môi trường hòa tan có nồng độ tương đương.
Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng levofloxacin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch A: Dung dịch có chứa *amoni acetat (TT)* 8,5 g/l, *đồng sulphat (TT)* 1,25 g/l, *L-isoleucin (TT)* 1,3 g/l pha trong *nước*.

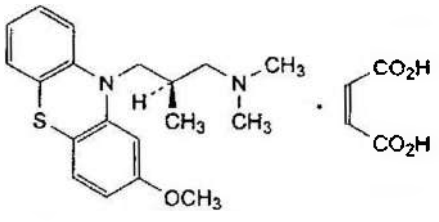
Pha động: Methanol - dung dịch A (3 : 7).
Dung dịch chuẩn: Pha dung dịch của levofloxacin chuẩn trong pha động có nồng độ chính xác khoảng 1 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân 20 viên (bỏ lớp bao phim, nếu cần), tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 100 mg levofloxacin vào bình định mức 100 ml. Thêm khoảng 85 ml pha động, lắc siêu âm để hòa tan. Pha loãng với pha động vừa đủ, trộn đều. Lọc.
Dung dịch phân giải: Pha dung dịch của ofloxacin chuẩn trong pha động có nồng độ khoảng 1 mg/ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột: 45 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 360 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 25 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, hệ số phân giải giữa pic levofloxacin và dextrofloxacin không nhỏ hơn 1,5.
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng của pic levofloxacin không lớn hơn 2,0, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic của các lần tiêm lặp lại không quá 2,0 %.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử. Từ diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{18}H_{20}FN_3O_4$ trong levofloxacin chuẩn, tính hàm lượng levofloxacin trong viên.

Bảo quản
Trong bao bì kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm quinolon.

Hàm lượng thường dùng
250 mg; 500 mg.

LEVOMEPROMAZIN MALEAT
Levomepromazini maleas



$C_{19}H_{24}N_2OS.C_4H_4O_4$ P.t.l: 444,6

Levomepromazin maleat là (2*R*)-3-(2-methoxy-10*H*-phenothiazin-10-yl)-*N*,*N*,2-trimethylpropan-1-amin-(*Z*)-butendioat, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{19}H_{24}N_2OS.C_4H_4O_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hay vàng nhạt, khó tan trong nước và ethanol 96 %, hơi tan trong methylen clorid, thực tế không tan trong ether.
Dễ bị phân hủy khi tiếp xúc với không khí và ánh sáng, chảy ở nhiệt độ khoảng 186 °C kèm theo phân hủy.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của levomepromazin maleat chuẩn.
B. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Góc quay cực riêng.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4). Tiến hành tránh ánh sáng.
Bản mỏng: Kieselguhr G. Thấm bản mỏng bằng cách để vào trong bình có sẵn một lớp mỏng dung dịch có chứa *2-phenoxyethanol 10 % và polyethylen glycol 300 5,0 % trong aceton*, sao cho bản mỏng ngập trong dung môi khoảng 5 mm, sau đó để dung môi thấm dần lên khoảng 17 cm. Lấy bản mỏng ra và tiến hành sắc ký ngay lập tức.
Pha động: Lắc hỗn hợp gồm 100 thể tích *ether dầu hỏa (50 °C đến 70 °C)*, 2 thể tích *diethylamin (TT)* và 6 đến 8 thể tích *2-phenoxyethanol (TT)* cho đến khi thấy vẩn đục bền vững, gạn và sử dụng lớp phía trên mặc dù có vẩn đục.
Dung dịch thử: Dung dịch chế phẩm 0,2 % trong *cloroform (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch levomepromazin chuẩn 0,2 % trong *cloroform (TT)*.
Cách tiến hành: Tiến hành chạy sắc ký giống như chuẩn bị bản mỏng. Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở 365 nm trong một vài phút. Vết trong sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc, huỳnh quang và kích thước với vết thu được từ dung dịch đối chiếu. Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol*, màu của vết thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu phải giống nhau, và cùng giữ nguyên màu trong vòng 20 min sau khi phun.
D. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Nước - acid formic khan - diisopropyl ether (3 : 7 : 90).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong 10 ml hỗn hợp *nước - aceton* (10 : 90).
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50 mg acid maleic chuẩn trong 10 ml hỗn hợp *nước - aceton* (10 : 90).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên thành dải có kích thước 10 mm × 2 mm. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 12 cm, để khô bản mỏng ngoài không khí. Sấy bản mỏng ở nhiệt độ 120 °C trong 10 min và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có một dải ở vạch xuất phát và phải có một dải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, và kích thước.

pH
Lắc 0,50 g chế phẩm với 25,0 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* và để lắng. pH của phần dung dịch phía trên phải từ 3,5 đến 5,5 (Phụ lục 6.2). Tiến hành phép thử trong điều kiện tránh ánh sáng.

Góc quay cực riêng
Từ -7,0° đến -8,5°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4). Hòa tan 1,25 g chế phẩm trong *dimethylformamid (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi và tiến hành thử.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4). Tiến hành phép thử trong điều kiện tránh ánh sáng.
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Aceton - diethylamin - cyclohexan (10 : 10 : 80).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong 10 ml hỗn hợp *nước - aceton* (10 : 90).
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 0,5 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng hỗn hợp *nước - aceton* (10 : 90).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, để khô bản mỏng ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết thứ hai nào thu được ngoài vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C ; 3 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,350 g chế phẩm trong 50 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 44,46 mg $C_{23}H_{28}N_2O_5S$.

Bảo quản
Trong đồ đựng nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Đối kháng thụ thể dopamin, chống loạn thần.

Chế phẩm
Viên nén, thuốc tiêm.

VIÊN NÉN LEVOMEPROMAZIN
Tabellae Levomepromazini

Là viên nén chứa levomepromazin maleat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng levomepromazin maleat,
$C_{19}H_{24}N_2OS.C_4H_4O_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lấy một lượng bột viên tương ứng với 50 mg levomepromazin maleat, thêm 10 ml *nước* và 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, lắc đều. Chiết với 15 ml *ether (TT)* và để yên cho tách lớp. Rửa lớp ether bằng 5 ml *nước*, lọc qua giấy lọc có *natri sulfat khan (TT)*, bay hơi dịch chiết ether đến khô rồi sấy cắn ở 100 °C trong 3 h. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của levomepromazin.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel F_{254}.
Dung môi khai triển: Diisopropyl ether - acid formic khan - nước (90 : 7 : 3).
Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên chứa 0,2 g levomepromazin maleat, thêm 10 ml hỗn hợp *aceton - nước* (9 : 1), lắc siêu âm trong 5 min, để yên và lấy dịch trong ở phía trên.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch acid maleic chuẩn 0,6 % trong *acid formic khan (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra sấy ở 120 °C trong 10 min. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ thu được, dung dịch thử có một vết tại điểm chấm sắc ký và một vết tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Toluen - aceton - diethylamin (85 : 10 : 5).
Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên tương ứng với 0,1 g levomepromazin maleat, thêm 10 ml hỗn hợp *methanol - amoniac* 18 M (99 : 1), lắc siêu âm 5 min, lọc, bỏ dịch lọc đầu.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 200 lần dung dịch thử bằng cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra và để khô ngoài không khí. Quan sát dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử cũng không được đậm hơn vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %). Không tính đến các vết tại điểm chấm sắc ký.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường: 500 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc thu được bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* để có nồng độ khoảng 0,005 % levomepromazin maleat. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 311 nm, cốc đo dày 1cm, mẫu trắng là *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. So sánh với một dung dịch chuẩn levomepromazin maleat có nồng độ tương đương trong cùng dung môi. Tính hàm lượng levomepromazin maleat đã hòa tan dựa vào nồng độ levomepromazin maleat trong dung dịch chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 60 % (Q) lượng levomepromazin maleat, $C_{19}H_{24}N_2OS.C_4H_4O_4$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

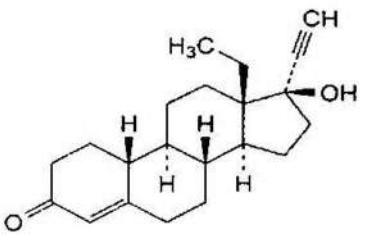
Định lượng
Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 50 mg levomepromazin maleat, thêm 15 ml *dung dịch amoniac 0,2 M trong methanol (TT)*, lắc trong 2 min, lọc lấy dịch lọc. Tiếp tục chiết 3 lần, mỗi lần với 15 ml *dung dịch amoniac 0,2 M trong methanol (TT)*, dùng đũa thủy tinh nghiền cắn trước mỗi lần chiết. Tập hợp dịch lọc và thêm *dung dịch amoniac 0,2 M trong methanol (TT)* vừa đủ 100,0 ml. Pha loãng 10 thể tích dung dịch thu được thành 100 thể tích bằng *methanol (TT)*. Tiếp tục pha loãng 10 thể tích dung dịch này thành 100 thể tích bằng *methanol (TT)*. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 254 nm, mẫu trắng là *methanol (TT)*. Song song tiến hành đo dung dịch levomepromazin maleat chuẩn 0,0005 % trong *dung dịch amoniac 0,002 M trong methanol (TT)*. Tính hàm lượng levomepromazin maleat, $C_{19}H_{24}N_2OS.C_4H_4O_4$, có trong viên dựa vào hàm lượng $C_{19}H_{24}N_2OS.C_4H_4O_4$ trong levomepromazin maleat chuẩn.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
An thần.

Hàm lượng thường dùng
25 mg.

LEVONORGESTREL
Levonorgestrelum



$C_{21}H_{28}O_2$ P.t.l: 312,5

Levonorgestrel là 13-ethyl-17-hydroxy-18,19-dinor-17α-pregn-4-en-20-yn-3-on, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{21}H_{28}O_2$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, hơi tan trong methylen clorid, khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của levonorgestrel chuẩn.
B. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử Góc quay cực riêng.

Góc quay cực riêng
Từ -35° đến -30° (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: *Acetonitril (TT_1) - nước dùng cho sắc ký* (40 : 60).
Pha động B: *Acetonitril (TT_1)*.
Hỗn hợp dung môi: *Nước dùng cho sắc ký - acetonitril (TT_1)* (30 : 70).
Dung dịch thử: Siêu âm hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong 7 ml *acetonitril (TT_1)* và pha loãng thành 10,0 ml bằng *nước dùng cho sắc ký*.
Dung dịch đối chiếu (1): Siêu âm hòa tan 5 mg levonorgestrel chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa các tạp chất A, H, K, M, O và S) trong 3,5 ml *acetonitril (TT_1)* và pha loãng thành 5,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5,0 mg tạp chất B chuẩn của levonorgestrel trong 35 ml *acetonitril (TT_1)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng *nước dùng cho sắc ký*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 5,0 mg norethisteron chuẩn (tạp chất U) trong 35 ml *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng *nước dùng cho sắc ký*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octylsilyl silica gel dùng cho sắc ký có chứa các nhóm phân cực* (5 µm).

Nhiệt độ cột: 30 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm và ở bước sóng 200 nm đối với tạp chất O.

Tốc độ dòng: 0,7 ml/min.

Thể tích tiêm: 50 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 50	100 → 20	0 → 80

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo levonorgestrel chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) ở bước sóng 215 nm để xác định pic của tạp chất A, H, K, M và S; và ở bước sóng 200 nm để xác định pic của tạp chất O. Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của tạp chất B. Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của tạp chất U.

Thời gian lưu tương đối so với levonorgestrel (thời gian lưu khoảng 20 min): Tạp chất H khoảng 0,5; tạp chất U khoảng 0,8; tạp chất K khoảng 0,85; tạp chất A khoảng 0,91; tạp chất M khoảng 0,95; tạp chất O khoảng 1,16; tạp chất B khoảng 1,26; tạp chất S khoảng 1,9.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), tỉ số tín hiệu trên nhiễu ít nhất là 60 đối với pic chính. Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), tỷ số đỉnh - hõm (H_p/H_v) ít nhất là 3,0; trong đó H_p là chiều cao đỉnh pic tạp chất M so với đường nền và H_v là chiều cao tính từ đường nền lên đến đáy hõm giữa pic tạp chất M và pic tạp chất A.

Giới hạn:

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng: Tạp chất A là 0,4; tạp chất M là 3,1; tạp chất O là 2,6.

Tạp chất A, K: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %).

Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B không được lớn hơn 3 lần diện tích pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,3 %).

Tạp chất O: Diện tích pic tạp chất O không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %) (ở bước sóng 200 nm).

Tạp chất M, S: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).

Tạp chất U: Diện tích pic tạp chất U không được lớn hơn 2 lần diện tích pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,2 %).

Tạp chất H: Diện tích pic tạp chất H không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,15 %).

Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất trừ tạp chất O không được quá 1,0 %.

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: 13-ethyl-17-hydroxy-18,19-dinor-17α-pregna-4,8(14)-dien-20-yn-3-on.

Tạp chất B: 13-ethyl-17-hydroxy-18,19-dinor-17α-pregn-5(10)-en-20-yn-3-on.

Tạp chất C: 13-ethyl-3-ethynyl-18,19-dinor-17α-pregna-3,5-dien-20-yn-17-ol.

Tạp chất D: 13-ethyl-18,19-dinor-17α-pregn-4-en-20-yn-17-ol (3-deoxolevonorgestrel).

Tạp chất G: 13-ethyl-6α,17-dihydroxy-18,19-dinor-17α-pregn-4-en-20-yn-3-on (6α-hydroxylevonorgestrel).

Tạp chất H: 13-ethyl-6β,17-dihydroxy-18,19-dinor-17α-pregn-4-en-20-yn-3-on (6β-hydroxylevonorgestrel).

Tạp chất I: 13-ethyl-10,17-dihydroxy-18,19-dinor-17α-pregn-4-en-20-yn-3-on (10-hydroxylevonorgestrel).

Tạp chất J: 13-ethyl-17-hydroxy-18,19-dinor-17α-pregn-4-en-20-yne-3,6-dion (6-oxolevonorgestrel).

Tạp chất K: 13-ethyl-17β-hydroxygon-4-en-3-on (18-methylnandrolon).

Tạp chất L: 13-ethylgon-4-en-3,17-dion (levodion).

Tạp chất M: 13-ethyl-17-hydroxy-18,19-dinor-17α-pregna-4,6-dien-20-yn-3-on (Δ6-levonorgestrel).

Tạp chất N: 13-ethylgon-5(10)-en-3,17-dion (Δ5(10)-levodion).

Tạp chất O: 13-ethyl-17-hydroxy-5α-methoxy-18,19-dinor-17α-pregn-20-yn-3-on (4,5-dihydro-5α-methoxylevonorgestrel).

Tạp chất P: 13-ethyl-17-hydroxy-18,19-dinor-17α-pregn-5-en-20-yn-3-on (Δ5-levonorgestrel).

Tạp chất Q: 13-ethyl-3-methoxygona-2,5(10)-dien-17β-ol.

Tạp chất R: 13-ethyl-3-methoxygona-2,5(10)-dien-17-on.

Tạp chất S: 13-ethyl-3-methoxy-18,19-dinor-17α-pregna-3,5-dien-20-yn-17-ol.

Tạp chất T: 13-ethyl-3-methoxy-18,19-dinor-17α-pregna-2,5(10)-dien-20-yn-17-ol.

Tạp chất U: 17-hydroxy-19-nor-17α-pregn-4-en-20-yn-3-on (norethisteron).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 45 ml *tetrahydrofuran (TT)*, thêm 10 ml *dung dịch bạc nitrat 10 % (TT)*. Sau

1 min, chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Song song làm mẫu trắng.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 31,25 mg $C_{21}H_{28}O_2$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Progestogen.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN LEVONORGESTREL
Tabellae Levonorgestreli

Là viên nén chứa levonorgestrel.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng levonorgestrel, $C_{21}H_{28}O_2$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Độ đồng đều hàm lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic levonorgestrel trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G.*
Dung môi triển khai: *Methylen clorid - ethyl acetat* (80 : 20).
Dung dịch thử: Lắc kỹ một lượng bột viên đã nghiền mịn có chứa khoảng 5 mg levonorgestrel với 10 ml *cloroform (TT)*, lọc. Pha loãng 2 ml dịch lọc thành 10 ml với *methylen clorid (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch 0,01 % levonorgestrel trong *methylen clorid (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng để khô ngoài không khí và phun *dung dịch acid phosphomolybdic 10 % trong ethanol 96 % (TT)*, sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 15 min. Quan sát dưới ánh sáng thường ngay sau khi phun thuốc thử. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có hình dạng, màu sắc và R_f phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Methanol - acetonitril - nước* (100 : 240 : 500).
Dung dịch thử: Thêm 10 ml hỗn hợp đồng thể tích *methanol (TT)* và *nước* vào một lượng bột viên có chứa khoảng 0,36 mg levonorgestrel, lắc siêu âm trong 30 min, khuấy kỹ trong 15 min, ly tâm và sử dụng phần dung dịch ở phía trên, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 100 ml với hỗn hợp đồng thể tích *methanol (TT)* và *nước*.
Dung dịch thử độ phân giải: Dung dịch có chứa ethinylestradiol chuẩn 0,004 % và levonorgestrel chuẩn 0,004 % trong hỗn hợp đồng thể tích *methanol (TT)* và *nước*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) nhồi pha tĩnh C (5 µm) (Cột Spherisorb ODS 2 là thích hợp).
Nhiệt độ cột: 30 °C.
Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.
Thể tích tiêm: 200 µl.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Cách tiến hành:
Với mỗi dung dịch, tiến hành sắc ký với thời gian gấp đôi thời gian lưu của levonorgestrel.
Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dung dịch thử độ phân giải, hệ số phân giải giữa hai pic ethinylestradiol và levonorgestrel ít nhất là 12.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1 %) và tổng diện tích của các pic phụ đó không được lớn hơn hai lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2 %).

Độ đồng đều hàm lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Acetonitril - nước* (50 : 50).
Dung dịch thử: Thêm 5,0 ml pha động vào một viên chế phẩm, hòa tan bằng siêu âm trong 45 min (cách khoảng 15 min lại lắc trộn đều), ly tâm và dùng lớp dung dịch phía trên.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch levonorgestrel pha trong pha động có nồng độ tương đương với dung dịch thử.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (12,5 cm × 4,6 mm) nhồi pha tĩnh C (5 µm) (Cột Hypersil ODS là thích hợp).
Tốc độ dòng: 1,3 ml/min.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Thể tích tiêm: 25 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng levonorgestrel, $C_{21}H_{28}O_2$, trong viên dựa vào diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{21}H_{28}O_2$ trong levonorgestrel chuẩn.

Định lượng
Sử dụng kết quả trung bình của 10 lần định lượng trong phép thử độ đồng đều hàm lượng.

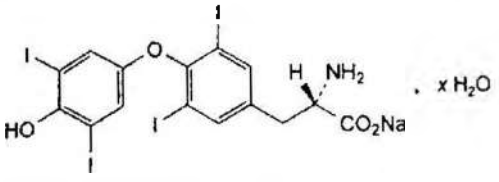
Bảo quản
Trong đồ đựng kín, để nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Progestogen.

Hàm lượng thường dùng
0,030 mg, 0,75 mg.

LEVOTHYROXIN NATRI

Levothyroxinum natricum



$C_{15}H_{10}I_4NNaO_4.xH_2O$ (với $x \approx 5$)

P.t.l: 798,9 (dạng khan)

Levothyroxin natri là natri (2*S*)-2-amino-3-[4-(4-hydroxy-3,5-diiodophenoxy)-3,5-diiodophenyl]propanoat, chế phẩm thường chứa lượng nước thay đổi, phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % $C_{15}H_{10}I_4NNaO_4$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh gần như trắng hoặc vàng nâu nhạt, mịn, khó hút ẩm.

Rất khó tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %, tan được trong các dung dịch hydroxyd kiềm loãng.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của levothyroxin natri chuẩn.

B. Thêm 2 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* vào 200 mg chế phẩm. Đun nóng trên cách thủy rồi sau đó đốt cẩn thận trên ngọn lửa, tăng dần nhiệt độ cho tới khoảng 600 °C ± 50 °C. Tiếp tục nung cho tới khi hầu như không còn các tiểu phần màu đen. Hòa tan cắn trong 2 ml *nước*. Dung dịch thu được phải cho phản ứng (A) của natri (Phụ lục 8.1).

Màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong 23 ml hỗn hợp dung môi *dung dịch acid hydrocloric 1 M - ethanol 96 %* (1 : 4) đang sôi nhẹ. Để nguội và pha loãng thành 25,0 ml bằng cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch S mới pha không được có màu đậm hơn màu mẫu VN_3 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực riêng

Từ +16° đến +20°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4). Dùng dung dịch S mới pha để đo.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Thực hiện trong điều kiện tránh ánh sáng.

Pha động A: Hòa tan 1,97 g *acid phosphoric (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 2 L với cùng dung môi.

Pha động B: Hòa tan 1,97 g *acid phosphoric (TT)* trong *acetonitril (TT_1)* và pha loãng thành 2 L với cùng dung môi.

Hỗn hợp dung môi: Pha động A - ethanol 96 % (1 : 2).

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2,5 mg levothyroxin natri chuẩn và 2,5 mg liothyronin natri chuẩn (tạp chất A) trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

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

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 25,0 mg levothyroxin natri chuẩn trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 2,0 mg levothyroxin chuẩn dùng để định tính pic (chứa tạp chất F và G) trong 10,0 ml hỗn hợp dung môi và siêu âm trong 10 min.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (15 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (3 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 225 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 25 µl dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1), (2), (4).

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 10	70	30
10 - 40	70 → 20	30 → 80
40 - 50	20	80

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo levothyroxin chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của tạp chất F và G.

Thời gian lưu tương đối so với levothyroxin (thời gian lưu khoảng 11 min): Tạp chất A khoảng 0,5; tạp chất F khoảng 2,0; tạp chất G khoảng 2,4.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất A với pic của levothyroxin ít nhất là 5,0.

Giới hạn:

Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %).

Tạp chất F: Diện tích pic tạp chất F không được lớn hơn 5 lần diện tích pic levothyroxin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).

Tạp chất G: Diện tích pic tạp chất G không được lớn hơn 3 lần diện tích pic levothyroxin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %).

Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 2 lần diện tích pic levothyroxin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được quá 2,0 %.

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic levothyroxin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: (2*S*)-2-amino-3-[4-(4-hydroxy-3-iodophenoxy)-3,5-diiodophenyl]propanoic (liothyronin).

Tạp chất B: Acid (2*S*)-2-amino-3-[4-(3-cloro-4-hydroxy-5-iodophenoxy)-3,5-diiodophenyl]propanoic.

Tạp chất C: Acid [4-(4-hydroxy-3-iodophenoxy)-3,5-diiodophenyl] acetic (triiodothyroacetic).

Tạp chất D: Acid [4-(4-hydroxy-3,5-diiodophenoxy)-3,5-diiodophenyl] acetic (tetraiodothyroacetic).

Tạp chất E: Acid (2*S*)-2-amino-3-[4-(4-hydroxyphenoxy)-3,5-diiodophenyl] propanoic (diiodothyronin).

Tạp chất F: Acid (2*S*)-2-amino-3-[4-[4-(4-hydroxy-3,5-diiodophenoxy)-3,5-diiodophenoxy]-3,5-diiodophenyl] propanoic.

Tạp chất G: Chưa biết cấu trúc.

Tạp chất H: Acid 4-(4-hydroxy-3,5-diiodophenoxy)-3,5-diiodobenzoic.

Tạp chất J: Acid (2*S*)-2-amino-3-[4-(4-hydroxy-3-iodophenoxy)-3-iodophenyl]propanoic.

Tạp chất K: Acid (2*S*)-2-amino-3-[4-(4-hydroxy-3,5-diiodophenoxy)-3-iodophenyl]propanoic.

Nước

Từ 6,0 % đến 12,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,100 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (3). Tính hàm lượng của $C_{15}H_{10}I_4NNaO_4$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (3) và hàm lượng của $C_{15}H_{10}I_4NNaO_4$ trong levothyroxin natri chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng, ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C.

Loại thuốc

Hormon tuyến giáp.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN LEVOTHYROXIN
Tabellae Levothyroxini

Là viên nén chứa levothyroxin natri.

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

Hàm lượng levothyroxin natri, $C_{15}H_{10}I_4NNaO_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

A. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic levothyroxin natri trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

B. Lấy một lượng bột viên tương ứng với 0,5 mg levothyroxin natri khan, thêm hỗn hợp 3 ml *ethanol 50 % (TT)* và 0,2 ml *acid hydrocloric (TT)*, đun sôi nhẹ trong 30 s. Để nguội, lọc, thêm vào dịch lọc 0,1 ml *dung dịch natri nitrit 10 % (TT)* và đun sôi, xuất hiện màu vàng. Để nguội và kiềm hóa bằng *dung dịch amoniac 5 M (TT)*, dung dịch có màu cam.

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, điều kiện sắc ký tiến hành như mục Định lượng.

Dung dịch thử: Lấy một viên, thêm *dung dịch natri hydroxyd 0,05 M* để thu được dung dịch có nồng độ levothyroxin natri khan khoảng 6 µg/ml, lắc siêu âm đến khi viên phân tán hoàn toàn. Để nguội và lắc 2 min, thêm *dung dịch natri hydroxyd 0,05 M* vừa đủ để có nồng độ khoảng 0,0004 % levothyroxin natri khan.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch levothyroxin natri chuẩn 0,0004 % trong *dung dịch natri hydroxyd 0,05 M*.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Nước - acetonitril - acid phosphoric (70 : 30 : 0,5).

Dung môi hòa mẫu: Hỗn hợp đồng thể tích *methanol (TT)* và *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M*.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình viên. Với viên hàm lượng levothyroxin natri khan dưới 50 µg, phân tán một lượng bột viên tương đương 50 µg levothyroxin natri khan bằng cách lắc siêu âm 10 min với 8 ml dung môi hòa mẫu. Tiếp tục lắc 2 min, để nguội và thêm dung môi hòa mẫu vừa đủ 10,0 ml, lọc. Với viên hàm lượng levothyroxin natri khan bằng hoặc trên 50 µg, phân tán một lượng bột viên tương đương 0,1 mg levothyroxin natri khan bằng cách lắc siêu âm 10 min với 8 ml dung môi hòa mẫu. Tiếp tục lắc 2 min, để nguội và thêm dung môi hòa mẫu vừa đủ 10,0 ml, lọc.

Dung dịch chuẩn: Với viên hàm lượng levothyroxin natri khan dưới 50 µg, dùng dung dịch chứa 0,0005 % levothyroxin natri chuẩn trong dung môi hòa mẫu.

Với viên hàm lượng levothyroxin natri khan bằng hoặc trên 50 µg, dùng dung dịch chứa 0,001 % levothyroxin natri chuẩn trong dung môi hòa mẫu.

Dung dịch phân giải: Dung dịch có chứa 0,0005 % liothyronin chuẩn và 0,0005 % levothyroxin natri chuẩn trong dung môi hòa mẫu.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *nitril*

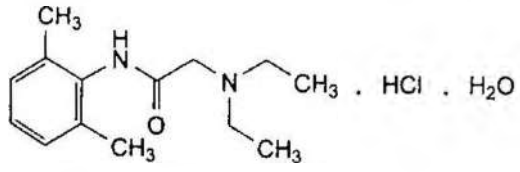
silica gel dùng cho sắc ký (5 µm) (cột Nucleosil 5 CN là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 225 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch phân giải, phép định lượng chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic chính trên sắc ký đồ thu được ít nhất bằng 4.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng levothyroxin natri, $C_{15}H_{10}I_4NNaO_4$, trong viên dựa vào diện tích các pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{15}H_{10}I_4NNaO_4$ trong levothyroxin natri chuẩn.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Hormon tuyến giáp.

Hàm lượng
50 µg, 100 µg.

LIDOCAIN HYDROCLORID
Lidocaini hydrochloridum



$C_{14}H_{22}N_2O.HCl.H_2O$ P.t.l: 288,8

Lidocain hydroclorid là 2-(diethylamino)-*N*-(2,6-dimethylphenyl)acetamid hydroclorid monohydrat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{14}H_{22}N_2O.HCl$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng. Rất dễ tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của lidocain hydroclorid chuẩn.
B. Điểm chảy từ 74 °C đến 79 °C (Phụ lục 6.7), xác định trên chế phẩm chưa được sấy khô trước.
C. Lấy khoảng 5 mg chế phẩm, thêm 0,5 ml *acid nitric bốc khói (TT)*. Bốc hơi đến khô trên cách thủy, để nguội. Hòa tan cắn trong 5 ml *aceton (TT)*, thêm 1 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,1 M trong ethanol (TT)*, dung dịch có màu xanh lục.
D. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Pha loãng 1,0 ml dung dịch S thành 10 ml bằng *nước không có carbon dioxyd (TT)*.
pH của dung dịch thu được phải từ 4,0 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Acetonitril dùng cho sắc ký - dung dịch đệm pH 8,0* (30 : 70).
Dung dịch đệm pH 8,0: *Dung dịch kali dihydrophosphat 0,485 % (TT)* được điều chỉnh đến pH 8,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50,0 mg *2,6-dimethylanilin (TT)* (tạp chất A) trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg *2-cloro-N-(2,6-dimethylphenyl)acetamid (TT)* (tạp chất H) trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (4): Trộn đều 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1), 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) và 1,0 ml dung dịch đối chiếu (3) và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 3,9 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped polar-embedded octadecylsilyl amorphous organosilica polymer* (5 µm).
Nhiệt độ cột: 30 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 3,5 lần thời gian lưu của lidocain.
Thời gian lưu tương đối so với lidocain (thời gian lưu khoảng 17 min): Tạp chất H khoảng 0,37; tạp chất A khoảng 0,40.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4), độ phân giải giữa pic của tạp chất H với pic của tạp chất A ít nhất là 1,5.

Giới hạn:
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,01 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic lidocain trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic lidocain trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,5 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic lidocain trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 2,6-dimethylanilin.
Tạp chất B: 2-(diethylazinoyl)-*N*-(2,6-dimethylphenyl)acetamid (lidocain *N*²-oxyd).
Tạp chất C: *N*-(2,6-dimethylphenyl)acetamid.
Tạp chất D: *N*-(2,6-dimethylphenyl)-2-(ethylamino)acetamid.
Tạp chất E: 2-2'-(azanediyl)bis[*N*-(2,6-dimethylphenyl)acetamid].
Tạp chất F: 2-(diethylamino)-*N*-(2,3-dimethylphenyl)acetamid.
Tạp chất G: *N*-(2,6-dimethylphenyl)-2-[(1-methylethyl)amino] acetamid.
Tạp chất H: 2-cloro-*N*-(2,6-dimethylphenyl)acetamid.
Tạp chất I: 2-(diethylamino)-*N*-(2,4-dimethylphenyl)acetamid.
Tạp chất J: 2-(diethylamino)-*N*-(2,5-dimethylphenyl)acetamid.
Tạp chất K: *N*-(2,6-dimethylphenyl)-2-(ethylmethylamino)acetamid.

Kim loại nặng
Không được quá 5 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước* vừa đủ 25 ml, lọc lần đầu (màng lọc phụ ở trên). 10 ml dịch lọc đáp ứng yêu cầu theo phương pháp 5. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Từ 5,5 % đến 7,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,250 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,220 g chế phẩm trong 50 ml *ethanol 96 % (TT)*, thêm 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Đọc thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tiêu thụ giữa 2 điểm uốn.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 27,08 mg $C_{14}H_{22}N_2O.HCl$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc gây tê tại chỗ, thuốc chống loạn nhịp tim.

Chế phẩm
Thuốc tiêm, gel.

THUỐC TIÊM LIDOCAIN
Injectio Lidocaini

Thuốc tiêm lidocain là dung dịch vô khuẩn của lidocain hydroclorid trong nước để pha thuốc tiêm.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng lidocain hydroclorid, $C_{14}H_{22}N_2O.HCl.H_2O$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu.

Định tính
A. Lấy một thể tích chế phẩm tương đương 0,1 g lidocain hydroclorid, kiềm hóa bằng *dung dịch natri hydroxyd 5 M (TT)*. Lọc lấy tủa, rửa tủa bằng *nước*. Hòa tan tủa trong 1 ml *ethanol 96 % (TT)*, thêm 0,5 ml dung dịch *cobalt (II) clorid 10 %* và lắc 2 min. Xuất hiện tủa màu xanh.
B. Lấy một thể tích chế phẩm chứa 0,1 g lidocain hydroclorid, thêm 10 ml *dung dịch acid picric (TT)*. Lọc lấy tủa, rửa tủa bằng *nước*, sấy khô ở 105 °C, nhiệt độ nóng chảy của tủa khoảng 229 °C (Phụ lục 6.7).
C. Chế phẩm phải cho phản ứng của ion clorid (Phụ lục 8.1).

pH
4,0 đến 6,0 (Phụ lục 6.2).

2,6-Dimethylanilin
Lấy một thể tích chế phẩm có chứa 25 mg lidocain hydroclorid, thêm *nước* thành 10 ml, kiềm hóa bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)* rồi chiết bằng *cloroform (TT)* 4 lần, mỗi lần 5 ml, mỗi lần đều lọc qua cùng một phễu có *natri sulfat khan (TT)*. Dịch chiết cloroform được bốc hơi dưới áp suất giảm (2 kPa). Hòa cắn trong 2 ml *methanol (TT)*, thêm 1 ml dung dịch *4-dimethylamino benzaldehyd* 1 % trong *methanol (TT)* và 2 ml *acid acetic băng (TT)*, để yên ở nhiệt độ phòng 10 min. Song song tiến hành một mẫu đối chiếu, thay chế phẩm bằng 10 ml dung dịch đối chiếu *2,6-dimethylanilin (TT)* (1 µg/ml) trong *nước*. Màu vàng của mẫu thử không được đậm hơn màu của mẫu đối chiếu.

Định lượng
Lấy chính xác một thể tích chế phẩm chứa khoảng 0,1 g lidocain hydroclorid, kiềm hóa bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, chiết 3 lần, mỗi lần với 20 ml *cloroform*

(TT), rửa mỗi dịch chiết với cùng một lượng 10 ml *nước*, lọc dịch chiết qua giấy lọc đã thấm ướt với *cloroform (TT)*, rửa giấy lọc bằng 10 ml *cloroform (TT)*.Tập trung toàn bộ dịch rửa và dịch lọc. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,02 N (CĐ)*, dùng *dung dịch tím tinh thể (TT)* làm chỉ thị.

1 ml *dung dịch acid percloric 0,02 N (CĐ)* tương đương với 5,776 mg $C_{14}H_{22}N_2O.HCl.H_2O$.

Bảo quản

Nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

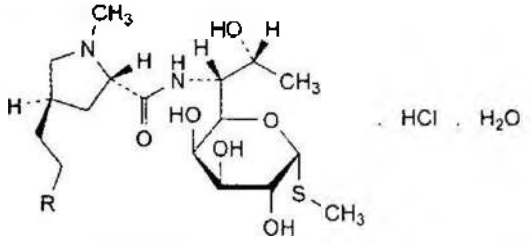
Thuốc tê, thuốc chống loạn nhịp.

Hàm lượng

0,5 % , 1 %, 2 %, 4 %, 10 %, 20 %.

LINCOMYCIN HYDROCLORID

Lincomycini hydrochloridum



Thành phần	R	Công thức	P.t.l
Lincomycin	CH_3	$C_{18}H_{35}ClN_2O_6S.H_2O$	461,0
Lincomycin B	H	$C_{17}H_{33}ClN_2O_6S.H_2O$	447,0

Lincomycin hydroclorid là hỗn hợp kháng sinh có thành phần chủ yếu là methyl 6,8-dideoxy-6-[[[(2*S*,4*R*)-1-methyl-4-propylpyrolidin-2-yl]carbonyl]amino]-1-thio-D-*erythro*-α-D-*galacto*-octopyranosid hydroclorid, thu được từ nuôi cấy chủng *Streptomyces lincolnensis* var. *lincolnensis* hoặc được điều chế bằng các phương pháp khác. Tổng hàm lượng của lincomycin hydroclorid và lincomycin B hydroclorid phải từ 96,0 % đến 102,0 %, tính theo chế phẩm khan. Hàm lượng của lincomycon B hydroclorid không được quá 5,0 %, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng. Rất tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %, rất khó tan trong aceton.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của lincomycin hydroclorid chuẩn (Phụ lục 4.2).

B. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi, dung dịch thu được phải cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu của dung dịch màu mẫu V_6 (Phụ lục 9.3; phương pháp 2).

pH

Từ 3,5 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Dùng dung dịch S để đo.

Góc quay cực riêng

Phải từ +135° đến +150°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 1,000 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Methanol - acetonitril (TT$_1$) - dung dịch đệm pH 6,1 (8 : 17 : 75).

Dung dịch đệm pH 6,1: Hòa tan 34 g *acid phosphoric (TT)* trong 900 ml *nước dùng cho sắc ký (TT)*, điều chỉnh đến pH 6,1 bằng *amoniac (TT)* và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước dùng cho sắc ký (TT)*.

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25,0 mg lincomycin hydroclorid chuẩn trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg lincomycin hydroclorid chuẩn dùng kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa tạp chất A, B và C) trong 2 ml pha động.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 2,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (3) thành 20,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped base-deactivated octylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).

Nhiệt độ cột: 50 °C.

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (2), (3) và (4).

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 5,5 lần thời gian lưu của lincomycin.

Thời gian lưu tương đối so với lincomycin (thời gian lưu khoảng 10 min): Tạp chất C khoảng 0,4; lincomycin B khoảng 0,5; tạp chất A khoảng 0,7; tạp chất B khoảng 1,2 và 1,3.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của lincomycin và pic thứ nhất của tạp chất B ít nhất là 1,8.

Giới hạn:
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,5 %).
Tổng diện tích các pic của tạp chất B không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,5 %).
Tạp chất C: Diện tích pic tạp chất C không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,2 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (2,0 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Methyl 6,8-dideoxy-6-[[[(2*R*,4*R*)-1-methyl-4-propyl-pyrrolidin-2-yl]carbonyl]amino]-1-thio-D-*erythro*-α-D-*galacto*-octopyranosid (α-amid epimer).
Tạp chất B: Methyl 6,8-dideoxy-6-[[[(2*S*,4*EZ*)-1-methyl-4-propyl-idenpyrrolidin-2-yl]carbonyl]amino]-1-thio-D-*erythro*- α-D-*galacto*-octopyranosid (propyliden analog).
Tạp chất C: Methyl 6,8-dideoxy-6-[[[(2*S*,4*R*)-4-propyl-pyrrolidin-2-yl]carbonyl]amino]-1-thio-D-*erythro*-α-D-*galacto*-octopyranosid (*N*-desmethyl lincomycin).
Tạp chất D: Methyl 6,8-dideoxy-6-[[[(2*S*,4*R*)-1-methyl-4-propyl-pyrrolidin-2-yl]carbonyl]amino]-1-thio-L-*threo*-α-D-*galacto*-octopyranosid (7-*epi*-lincomycin).
Tạp chất E: Acid (2*S*,4*R*)-1-methyl-4-propylpyrrolidin-2-carboxylic (acid 4-propyl hygric).
Tạp chất F: Methyl 6-amino-6,8-dideoxy-1-thio-D-*erythro*-α-D-*galacto*-octopyranosid (methyl-1-thiolincosaminid).

Kim loại nặng
Không được quá 5 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 2,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 1,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Từ 3,1 % đến 4,6 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,500 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn
Phải ít hơn 0,50 EU/mg (Phụ lục 13.2), nếu chế phẩm được dùng để pha chế thuốc tiêm mà không áp dụng các biện pháp thích hợp để loại bỏ nội độc tố vi khuẩn.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1), (3).
Tính hàm lượng của $C_{18}H_{35}ClN_2O_6S$ và $C_{17}H_{33}ClN_2O_6S$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic của lincomycin và lincomycin B thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích pic lincomycin trong dung dịch đối chiếu (1) khi tính hàm lượng của lincomycin và diện tích pic lincomycin trong dung dịch đối chiếu (3) khi tính hàm lượng của lincomycin B; hàm lượng lincomycin trong lincomycin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín và nhiệt độ không quá 30 °C. Nếu chế phẩm là vô khuẩn, bảo quản trong bao bì vô khuẩn, đảm bảo và kín.

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

Loại thuốc
Kháng sinh.

Chế phẩm
Thuốc nang, thuốc tiêm.

NANG LINCOMYCIN
Capsulae Lincomycini

Là nang cứng chứa lincomycin hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng lincomycin, $C_{18}H_{34}N_2O_6S$, từ 90,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Chiết một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với 0,2 g lincomycin hydroclorid bằng 5 ml hỗn hợp *cloroform - methanol* (4 : 1), lọc và bốc hơi dịch lọc cho đến khi thu được cắn dạng dầu. Hòa tan cắn trong 1 ml *nước* rồi thêm *aceton (TT)* cho tới khi bắt đầu xuất hiện tủa, thêm tiếp 20 ml *aceton (TT)* nữa. Lọc lấy tủa. Rửa tủa hai lần, mỗi lần với 10 ml *aceton (TT)*. Hòa tan tủa trong một lượng nhỏ hỗn hợp *cloroform - methanol* (4 : 1) rồi bốc hơi đến khô. Sấy cắn thu được ở 60 °C dưới áp suất không quá 2 kPa trong 4 h. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được phải phù hợp với phổ đối chiếu của lincomycin hydroclorid.
B. Trong phần Định lượng, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic lincomycin hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Lincomycin B
Trong phần Định lượng, trên sắc ký đồ của dung dịch thử thu được, diện tích của pic lincomycin B (được xác định

là pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic được rửa giải ngay trước pic lincomycin trong sắc ký đồ của dung dịch chuẩn) không được lớn hơn 5 % tổng diện tích của pic lincomycin B và pic lincomycin.

Nước
Không quá 7,0 % (Phụ lục 10.3).
Lấy 0,3 g bột thuốc.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch đệm pH 6,0 - acetonitril - methanol (780 : 150 : 150). Có thể điều chỉnh tỷ lệ dung môi nếu cần.
Dung dịch đệm pH 6,0: Thêm 13,5 ml *acid phosphoric (TT)* vào 1000 ml *nước* rồi điều chỉnh đến pH 6,0 bằng *amoniac (TT)*.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch lincomycin hydroclorid chuẩn có nồng độ chính xác khoảng 1,2 mg/ml trong pha động. Có thể lắc siêu âm nếu cần để dễ hòa tan.
Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang, trộn đều và nghiền mịn nếu cần. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 50 mg lincomycin cho vào một bình định mức 50 ml. Thêm khoảng 40 ml pha động, lắc kỹ trong 10 min với sự trợ giúp của siêu âm nếu cần. Thêm pha động đến định mức, trộn đều và lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm hoặc 10 µm) (Lichrosorb RP8 là thích hợp).
Nhiệt độ cột: 46 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng thu được từ pic chính lincomycin không lớn hơn 1,3; hiệu lực cột xác định trên pic chính lincomycin không ít hơn 4 000 đĩa lý thuyết; độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích đáp ứng từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng lincomycin, $C_{18}H_{34}N_2O_6S$, trong nang dựa vào diện tích pic lincomycin thu được từ sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{18}H_{34}N_2O_6S$ trong lincomycin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để ở nhiệt độ không quá 30 °C, tránh ánh sáng trực tiếp.

Loại thuốc
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
250 mg, 500 mg (tính theo lincomycin).

THUỐC TIÊM LINCOMYCIN
Injectio Lincomycini

Là dung dịch vô khuẩn của lincomycin hydroclorid trong nước để pha thuốc tiêm. Chế phẩm có thể chứa các chất ổn định.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng của lincomycin, $C_{18}H_{34}N_2O_6S$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu hoặc gần như không màu.

Định tính
A. Thêm *aceton (TT)* vào một thể tích chế phẩm có chứa khoảng 0,2 g lincomycin hydroclorid đến khi xuất hiện tủa, thêm tiếp 20 ml *aceton (TT)*. Lọc lấy tủa, rửa tủa 2 lần mỗi lần với 10 ml *aceton (TT)*. Hòa tan tủa trong một lượng tối thiểu hỗn hợp *cloroform - methanol* (4 : 1). Làm bay hơi dung môi đến khô và sấy cắn ở 60 °C dưới áp suất không quá 2 kPa trong 4 h. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được phải phù hợp với phổ đối chiếu của lincomycin hydroclorid.
B. Trong phần Định lượng, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic chính lincomycin hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

pH
Từ 3,0 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Lincomycin B
Trong phần Định lượng, trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của pic lincomycin B (được xác định là pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic được rửa giải ngay trước pic lincomycin trong sắc ký đồ của dung dịch chuẩn) không được lớn hơn 5 % tổng diện tích của pic lincomycin B và pic lincomycin.

Nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2).
Pha loãng thuốc tiêm nếu cần với nước BET để thu được dung dịch có chứa 10 mg lincomycin trong 1 ml (dung dịch A). Nồng độ giới hạn nội độc tố của dung dịch A là 5,0 IU/ml. Giá trị độ pha loãng tối đa của dung dịch A được tính từ độ nhạy của thuốc thử lysat dùng trong phép thử.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch đệm pH 6,0 - acetonitril - methanol (780 : 150 : 150). Có thể điều chỉnh tỷ lệ dung môi nếu cần.
Dung dịch đệm pH 6,0: Thêm 13,5 ml *acid phosphoric (TT)* vào 1000 ml *nước* rồi điều chỉnh đến pH 6,0 bằng *amoniac (TT)*.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch lincomycin hydroclorid chuẩn có nồng độ chính xác khoảng 1,2 mg/ml trong pha động. Có thể lắc siêu âm nếu cần để dễ hòa tan.

Dung dịch thử: Lấy chính xác một thể tích thuốc tiêm tương đương với khoảng 500 mg lincomycin cho vào bình định mức 50 ml, pha loãng với pha động đến định mức. Lấy chính xác 5,0 ml dung dịch thu được pha loãng với pha động thành 50,0 ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm hoặc 10 µm) (Lichrosorb RP8 là thích hợp).
Nhiệt độ cột: 46 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng thu được từ pic chính lincomycin không lớn hơn 1,3; hiệu lực cột xác định trên pic chính lincomycin không ít hơn 4000 đĩa lý thuyết; độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích đáp ứng từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng lincomycin, $C_{18}H_{34}N_2O_6S$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic lincomycin thu được từ sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{18}H_{34}N_2O_6S$ trong lincomycin hydroclorid chuẩn.

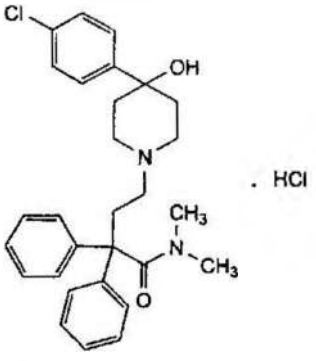
Bảo quản
Thuốc tiêm lincomycin phải được bảo quản ở nơi khô mát, nhiệt độ không quá 30 °C, tránh ánh sáng.

Dạng thuốc
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
300 mg/2 ml; 600 mg/2 ml (tính theo lincomycin).

LOPERAMID HYDROCLORID

Loperamidi hydrochloridum



$C_{29}H_{33}ClN_2O_2.HCl$ P.t.l: 513,5

Loperamid hydroclorid là 4-[4-(4-clorophenyl)-4-hydroxypiperidin-1-yl]-*N,N*-dimethyl-2,2-diphenyl butanamid hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{29}H_{33}ClN_2O_2.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột trắng hoặc gần như trắng, đa hình. Khó tan trong nước, dễ tan trong methanol và ethanol 96 %.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của loperamid hydroclorid chuẩn.
Nếu phổ đo được của chế phẩm và chuẩn khác nhau thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và chất chuẩn trong một lượng tối thiểu *methylen clorid (TT)*, bốc hơi các dung dịch tới khô, ghi phổ mới của các cắn thu được.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Dung dịch tetrabutylamoni hydrosulfat 1,7 %.
Pha động B: Acetonitril (TT).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10,0 mg loperamid hydroclorid chuẩn để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 1,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 20,0 ml bằng *methanol (TT)*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml bằng *methanol (TT)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *base-deactivated octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (3 µm).
Nhiệt độ cột: 35 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 15	90 → 30	10 → 70
15 - 17	30	70

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1):
Tỷ số đỉnh - hõm (H_p/H_v) ít nhất là 1,5; trong đó H_p là chiều cao đỉnh pic tạp chất G so với đường nền và H_v là chiều cao của đáy hõm phân tách pic tạp chất G và pic tạp chất H so với đường nền.
Tỷ số đỉnh - hõm (H_p/H_v) ít nhất là 1,5; trong đó H_p là chiều cao đỉnh pic tạp chất E so với đường nền và H_v là chiều cao của đáy hõm phân tách pic tạp chất E và pic tạp chất A so với đường nền.
Sắc ký đồ thu được phải phù hợp với sắc ký đồ cung cấp kèm theo loperamid hydroclorid chuẩn để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng nhân diện tích pic của tạp chất A với 1,3; tạp chất D với 1,7.

Tạp chất A, B, C, D, E, F, G, H: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu cần, không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,25 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 4-[4-(4'-clorobiphenyl-4-yl)-4-hydroxypiperidin-1-yl]-*N,N*-dimethyl-2,2-diphenylbutanamid.
Tạp chất B: 4-(4-clorophenyl)-1,1-bis[4-(dimethylamino)-4-oxo-3,3-diphenylbutyl]-4-hydroxypiperidinium.
Tạp chất C: 4-(4-clorophenyl)piperidin-4-ol.
Tạp chất D: 4-(4-hydroxy-4-phenylpiperidin-1-yl)-*N,N*-dimethyl-2,2-diphenylbutanamid.
Tạp chất E: 4-(4-clorophenyl)-1-[4-[4-(4-clorophenyl)-4-hydroxypiperidin-1-yl]-2,2-diphenylbutanoyl]piperidin-4-ol.
Tạp chất F: 4-[*trans*-4-(4-clorophenyl)-4-hydroxy-1-oxidopiperidin-1-yl]-*N,N*-dimethyl-2,2-diphenylbutanamid (loperamid oxid).
Tạp chất G: 4-[*cis*-4-(4-clorophenyl)-4-hydroxy-1-oxidopiperidin-1-yl]-*N,N*-dimethyl-2,2-diphenylbutanamid.
Tạp chất H: 4-[4-(4-clorophenyl)-3,6-dihydropyridin-1(2*H*)-yl]-*N,N*-dimethyl-2,2-diphenylbutanamid.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C, 4 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong 50 ml *ethanol 96 % (TT)*, thêm 5,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Đọc thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* thêm vào giữa hai điểm uốn.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 51,35 mg $C_{29}H_{34}Cl_2N_2O_2$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống ỉa chảy.

Chế phẩm
Thuốc nang, viên nén.

NANG LOPERAMID
Capsulae Loperamidi

Là nang cứng chứa loperamid hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng loperamid hydroclorid, $C_{29}H_{33}ClN_2O_2.HCl$, từ 90,0 % đến 110,0% so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic chính loperamid hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - acid formic (85 : 10 : 5).
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột thuốc có chứa khoảng 10 mg loperamid hydroclorid với 10 ml *methanol (TT)* trong 5 min và lọc.
Dung dịch đối chiếu: Chứa loperamid hydroclorid chuẩn với nồng độ khoảng 10 mg/ml pha trong *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm 10 µl dung dịch thử và 1 µl dung dịch chuẩn lên bản mỏng. Sau khi triển khai sắc ký, để khô bản mỏng ngoài không khí, sau đó cho vào bình hơi iod đến khi hiện vết và quan sát. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng vị trí với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 500 ml dung dịch đệm acetat pH 4,7.
Cách pha dung dịch đệm acetat pH 4,7: Thêm 200 ml *dung dịch acid acetic 1 M (TT)* vào 600 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 4,70 ± 0,05 bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, pha loãng tới 1000 ml bằng *nước*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành: Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, điều kiện sắc ký và *cách tiến hành* thực hiện theo chỉ dẫn trong phần Định lượng.
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch loperamid hydroclorid chuẩn có nồng độ tương đương dung dịch thử, pha trong môi trường hòa tan.
Yêu cầu: Không được ít hơn 80 % (Q) lượng loperamid hydroclorid, $C_{29}H_{33}ClN_2O_2.HCl$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Độ đồng đều hàm lượng
Phải đáp ứng yêu cầu về phép thử Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2).

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, dung dịch chuẩn và *điều kiện sắc ký* theo chỉ dẫn trong phần Định lượng.
Dung dịch thử: Cho lượng thuốc trong 1 nang vào bình định mức 10 ml, thêm 3,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,5 M (TT)*, lắc siêu âm 15 min. Thêm 3,5 ml *acetonitril (TT)* rồi lắc siêu âm thêm 15 min nữa. Sau đó thêm hỗn hợp đồng thể tích *acetonitrtil (TT)* và *dung dịch acid hydrocloric 0,5 M (TT)* đến định mức, trộn đều và lọc. Lấy chính xác 5,0 ml dịch lọc, pha loãng bằng hỗn hợp đồng thể tích *acetonitril (TT)* và *nước* tới thể tích 100,0 ml, trộn đều và lọc.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Lấy 500 ml *acetonitril (TT)* pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*, thêm 20 giọt *acid phosphoric (TT)*, lắc đều. Điều chỉnh nếu cần.
Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột chế phẩm tương ứng với khoảng 20 mg loperamid hydroclorid vào bình định mức 100 ml, thêm 35 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,5 M (TT)*, lắc siêu âm 15 min. Thêm 35 ml *acetonitril (TT)* và lắc siêu âm thêm 15 min nữa. Sau đó pha loãng bằng hỗn hợp đồng thể tích *acetonitril* và *dung dịch acid hydrocloric 0,5 M (TT)* đến định mức. Trộn đều và lọc. Lấy chính xác 5,0 ml dịch lọc pha loãng bằng hỗn hợp đồng thể tích *acetonitril (TT)* và *nước* thành 100,0 ml, trộn đều.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg loperamid hydroclorid chuẩn, hòa tan trong hỗn hợp đồng thể tích *acetonitril (TT)* và *dung dịch acid hydrocloric 0,5 M (TT)* vừa đủ 250 ml. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml bằng hỗn hợp đồng thể tích *acetonitril (TT)* và *nước*, trộn đều (dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 10 µg/ml).
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh *nitril silica gel dùng cho sắc ký* (10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, số đĩa lý thuyết của cột phải không nhỏ hơn 1900; hệ số dung lượng không nhỏ hơn 3,5 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic loperamid hydroclorid trong 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng loperamid hydroclorid, $C_{29}H_{33}ClN_2O_2$.HCl, trong một nang dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{29}H_{33}ClN_2O_2$.HCl trong loperamid hydroclorid chuẩn.

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

Loại thuốc
Thuốc trị tiêu chảy.

Hàm lượng thường dùng
2 mg (tính theo loperamid hydroclorid).

VIÊN NÉN LOPERAMID
Tabellae Loperamidi

Là viên nén chứa loperamid hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng loperamid hydroclorid, $C_{29}H_{33}ClN_2O_2$.HCl, từ 90,0 % đến 110,0% so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic loperamid hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
B. Lấy một lượng bột viên tương ứng khoảng 10 mg loperamid hydroclorid cho vào ống nghiệm, thêm 20 ml *isopropanol (TT)*. Lắc trong 1 min. Để lắng, lấy 9,0 ml dung dịch phía trên, thêm 1,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, trộn đều. Đo phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch này trong khoảng bước sóng 250 nm đến 300 nm, phổ hấp thụ tử ngoại phải có cực đại và cực tiểu giống như phổ hấp thụ tử ngoại của dung dịch loperamid hydroclorid chuẩn được tiến hành tương tự.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4).
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*.
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành: Xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động và *điều kiện sắc ký* thực hiện theo chỉ dẫn trong phần Định lượng.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, bỏ dịch lọc đầu.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch loperamid hydroclorid chuẩn có nồng độ tương tự như dung dịch thử, pha trong môi trường hòa tan.
Yêu cầu: Không được ít hơn 80 % (Q) lượng loperamid hydroclorid, $C_{29}H_{33}ClN_2O_2$.HCl, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Độ đồng đều hàm lượng
Phải đáp ứng yêu cầu về phép thử Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2).
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, dung dịch chuẩn và *điều kiện sắc ký* và *cách tiến hành* thực hiện theo chỉ dẫn trong phần Định lượng.
Dung dịch thử: Cho 1 viên thuốc vào bình định mức 200 ml, thêm 4 ml *dung dịch acid phosphoric 5 % (TT)* và 20 ml *methanol (TT)*, lắc cho tan rồi thêm *nước* đến định mức, trộn đều, lọc.

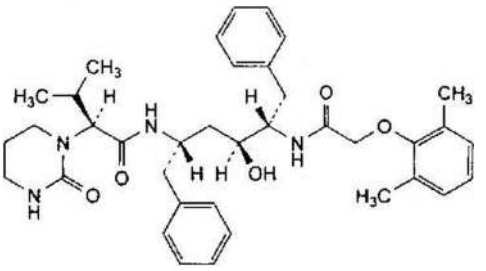
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Acetonitril - dung dịch đệm* (45 : 55). Có thể điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.
Dung dịch đệm: Hòa tan 3,0 g *triethylamin hydroclorid (TT)* và 1 ml *acid phosphoric (TT)* trong 550 ml *nước*.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 8 mg loperamid hydroclorid vào bình định mức 1000 ml, thêm 20 ml *dung dịch acid phosphoric 5 % (TT)* và 100 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm trong 30 min. Pha loãng bằng *nước* vừa đủ thể tích.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg loperamid hydroclorid chuẩn hòa tan trong *nước* vừa đủ 250,0 ml. Lấy chính xác 10,0 ml dung dịch này cho vào bình định mức 250 ml, thêm 5 ml *dung dịch acid phosphoric 5 % (TT)*, 25 ml *methanol (TT)* và thêm *nước* đến định mức, trộn đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (8 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại, đặt ở bước sóng 214 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng của pic loperamid hydroclorid phải không lớn hơn 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.
Tính hàm lượng loperamid hydroclorid, $C_{29}H_{33}ClN_2O_2.HCl$, trong một viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{29}H_{33}ClN_2O_2.HCl$ trong loperamid hydroclorid chuẩn.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng, ở nhiệt độ không quá 30 °C.

Loại thuốc
Thuốc trị tiêu chảy.

Hàm lượng thường dùng
2 mg, tính theo loperamid hydroclorid.

LOPINAVIR
Lopinavirum



$C_{37}H_{48}N_4O_5$ P.t.l: 629

Lopinavir là (2*S*)-*N*-[(1*S*,3*S*,4*S*)-1-benzyl-4-[[2-(2,6-dimethyl phenoxy)acetyl]amino]-3-hydroxy-5-phenylpentyl]-3-methyl-2-[2-oxotetrahydropyrimidin-1(2*H*)-yl]butanamid, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{37}H_{48}N_4O_5$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột màu trắng hoặc trắng ngà, hút ẩm nhẹ. Đa hình.
Thực tế không tan trong nước, rất dễ tan trong methanol và methylen clorid.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của lopinavir chuẩn. Nếu phổ của chế phẩm ở trạng thái rắn khác với phổ của chất chuẩn, hòa tan riêng rẽ chế phẩm và chuẩn trong *methanol (TT)*, bốc hơi đến cắn và ghi phổ của cắn mới thu được.
B. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Góc quay cực riêng.

Góc quay cực riêng
Từ -27,0° đến -22,0°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
A. Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Acetonitril (TT_1) - dung dịch đệm phosphat (45 : 55).
Pha động B: Acetonitril (TT_1) - dung dịch đệm phosphat (75 : 25).
Dung dịch đệm phosphat: Hòa tan 0,9 g *dikali hydrophosphat (TT)* và 2,7 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 900 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 6,0 bằng *acid phosphoric (TT)*, và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*.
Dung môi pha mẫu: Hỗn hợp đồng thể tích của *acetonitril (TT_1)* và *nước*.
Dung dịch thử (1): Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử (1) thành 100,0 ml bằng dung môi pha mẫu.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50,0 mg lopinavir chuẩn

trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng dung môi pha mẫu.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử (2) thành 250,0 ml bằng dung môi pha mẫu.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 2,5 mg lopinavir chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký (chứa các tạp chất A, B, C, F, G, I, N, Q, R, S và T) trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 2,5 mg lopinavir chuẩn dùng để định tính pic (chứa tạp chất D và tạp chất O) trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi *end-capped octadecylsilyl silica gel* dùng cho sắc ký (4 µm).

Nhiệt độ cột: 50 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 60	100	0
60 - 61	100 → 0	0 → 100
61 - 81	0	100

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (2), (3), (4).

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo lopinavir chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của tạp chất A, B, C, F, G, I và N. Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo lopinavir chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của tạp chất D.

Thời gian lưu tương đối của các pic tạp chất so với pic lopinavir (thời gian lưu khoảng 37 min) như sau: Tạp chất A khoảng 0,03; tạp chất B khoảng 0,07; tạp chất C khoảng 0,10; tạp chất D khoảng 0,13; tạp chất F khoảng 0,59; tạp chất G khoảng 0,62; tạp chất I khoảng 1,1; tạp chất N khoảng 1,4.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa hai pic tạp chất F và tạp chất G ít nhất là 1,5.

Giới hạn:

Để tính hàm lượng phần trăm của các tạp chất, dựa vào diện tích pic, nồng độ lopinavir của dung dịch đối chiếu (2) và nhân diện tích của pic tạp chất trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) với hệ số hiệu chỉnh tương ứng sau: Tạp chất A: 1,6; tạp chất B: 1,3; tạp chất C: 1,5; tạp chất D: 1,3.

Tạp chất B, I: Với mỗi tạp chất, không được quá 0,2 %.

Tạp chất A, C, D, F, G: Với mỗi tạp chất, không được quá 0,15 %.

Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, không được quá 0,10 %.

Bỏ qua các tạp chất được rửa giải ra sau tạp chất N và các tạp chất có hàm lượng nhỏ hơn 0,05 %.

B. Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) như mô tả trong mục A với các thay đổi như sau:

Pha động: Pha động A - *pha động* B (30 : 70).

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 8,5 lần thời gian lưu của lopinavir.

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo lopinavir chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của tạp chất Q, R, S và T. Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo lopinavir chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của tạp chất O.

Thời gian lưu tương đối của các pic tạp chất so với pic lopinavir (thời gian lưu khoảng 6 min) như sau: Tạp chất N khoảng 1,4; tạp chất O khoảng 1,5; tạp chất Q khoảng 4,4; tạp chất R khoảng 6,0; tạp chất S khoảng 7,1; tạp chất T khoảng 8,5.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa hai pic tạp chất S và tạp chất T ít nhất là 3,0.

Tiến hành sắc ký lần lượt với mẫu trắng, dung dịch đối chiếu (2) và dung dịch thử (1).

Để tính hàm lượng phần trăm của các tạp chất, dựa vào diện tích pic, nồng độ lopinavir của dung dịch đối chiếu (2) và nhân diện tích của pic tạp chất trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) với hệ số hiệu chỉnh tương ứng sau: Tạp chất O: 1,3; tạp chất Q: 0,7.

Giới hạn:

Tạp chất O, Q, R, T: Với mỗi tạp chất, không được quá 0,15 %.

Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, không được quá 0,10 %.

Bỏ qua các tạp chất rửa giải trước tạp chất N, tạp chất N và các tạp chất có hàm lượng nhỏ hơn 0,05 %.

Tổng các tạp chất rửa giải ra trước tạp chất N bao gồm cả tạp chất N trong phép thử ở mục A và các tạp chất rửa giải ra sau tạp chất N trong phép thử ở mục B không được quá 0,7 %.

Ghi chú:

Tạp chất A: (2*S*)-*N*-[(1*S*,3*S*,4*S*)-1-benzyl-4-amino-3-hydroxy-5-phenylpentyl]-3-methyl-2-[2-oxotetrahydropyrimidin-1(2*H*)-yl] butanamid.

Tạp chất B: (2*S*)-*N*-[(1*S*,3*S*,4*S*)-1-benzyl-4-(formylamino)-3-hydroxy-5-phenylpentyl]-3-methyl-2-[2-oxotetrahydropyrimidin-1(2*H*)-yl]butanamid.

Tạp chất C: (2*R*)-*N*-[(1*S*,2*S*,4*S*)-1-benzyl-2-hydroxy-4-[[(2*S*)-3-methyl-2-[2-oxotetrahydropyrimidin-1(2*H*)-yl]butanoyl]amino]-5-phenylpentyl]-3-methyl-2-[2- oxotetrahydropyrimidin-1(2*H*)-yl] butanamid.

Tạp chất D: (1*R*,3*R*)-1-[(1*R*)-1-[[2-(2,6-dimethylphenoxy) acetyl]amino]-2-phenylethyl]-3-[[(2*R*)-3-methyl-2-[2-

oxotetrahydropyrimidin-1(2*H*)-yl]butanoyl]amino]-4-phenyl butyl hydro sulfat.
Tạp chất E: *N*-[(1*S*,2*S*,4*S*)-4-amino-1-benzyl-2-hydroxy-5-phenylpentyl]-2-(2,6- dimethylphenoxy)acetamid.
Tạp chất F: *N*-[(1*S*,2*S*,4*S*)-1-benzyl-4-(formylamino)-2-hydroxy-5-phenylpentyl]-2-(2,6- dimethylphenoxy)acetamid.
Tạp chất G: *N*-[(1*S*,2*S*,4*S*)-(4-acetylamino)-1-benzyl-2-hydroxy-5-phenylpentyl]-2-(2,6- dimethylphenoxy)acetamid.
Tạp chất H: *N*-[(1*S*)-1-[(4*S*,6*S*)-4-benzyl-2-oxo-1,3-oxazinan-6-yl]-2-phenylethyl]-2-(2,6- dimethylphenoxy)acetamid.
Tạp chất I: (2*S*)-*N*-[(1*S*,2*S*,4*S*)-1-benzyl-4-[[2-(2,6-dimethylphenoxy)acetyl]amino]-2-hydroxy-5-phenylpentyl]-3-methyl-2-[2-oxotetrahydropyrimidin-1(2*H*)- yl]butanamid.
Tạp chất J: (2*S*)-*N*-[(1*S*,3*S*,4*S*)-1-benzyl-4-[[2-(2,4-dimethylphenoxy)acetyl]amino]-3- hydroxy-5-phenylpentyl]-3-methyl-2-[2-oxotetrahydropyrimidin-1(2*H*)- yl]butanamid.
Tạp chất K: (2*R*)-*N*-[(1*S*,3*S*,4*S*)-1-benzyl-4-[[2-(2,6-dimethylphenoxy)acetyl]amino]-3- hydroxy-5-phenylpentyl]-3-methyl-2-[2-oxotetrahydropyrimidin-1(2*H*)- yl]butanamid.
Tạp chất L: *N*,*N*'-(*Z*)-ethen-1,2-diylbis[2-(2,6-dimethylphenoxy) acetamid].
Tạp chất M: (2*S*)-*N*-[(1*R*,3*R*,4*S*)-1-benzyl-4-[[2-(2,6-dimethylphenoxy)acetyl]amino]-3- hydroxy-5-phenylpentyl]-3-methyl-2-[2-oxotetrahydropyrimidin-1(2*H*)- yl]butanamid.
Tạp chất N: (2*S*)-*N*-[(1*S*,3*R*,4*S*)-1-benzyl-4-[[2-(2,6-dimethylphenoxy)acetyl]amino]-3- hydroxy-5-phenylpentyl]-3-methyl-2-[2-oxotetrahydropyrimidin-1(2*H*)- yl]butanamid.
Tạp chất O: (1*S*,3*S*)-1-[(1*S*)-1-[[2-(2,6-dimethylphenoxy)acetyl] amino]-2-phenylethyl]-3-[[(2*S*)-3-methyl-2-[2-oxotetrahydropyrimidin-1(2*H*)-yl]butanoyl]amino]-4-phenylbutyl (2*S*)-3-methyl-2-[2-oxotetrahydropyrimidin-1(2*H*)-yl]butanoat.
Tạp chất P: (2*S*)-*N*-[(1*R*,3*S*,4*S*)-1-benzyl-4-[[2-(2,6-dimethylphenoxy) acetyl]amino]-3- hydroxy-5-phenylpentyl]-3-methyl-2-[2-oxotetrahydropyrimidin-1(2*H*)- yl]butanamid.
Tạp chất Q: *N*-[(1*S*,2*S*,4*S*)-1-benzyl-4-[[2-(2,6-dimethylphenoxy) acetyl]amino]-2-hydroxy-5-phenylpentyl]-2-(2,6-dimethylphenoxy) acetamid.
Tạp chất R: (2*S*)-*N*-[(1*S*,3*S*,4*S*)-1-benzyl-4-[[2-(2,6-dimethylphenoxy)acetyl]amino]-3-hydroxy-5-phenylpentyl]-2-[3-[2-(2,6-dimethylphenoxy)acetyl]-2-oxotetrahydropyrimidin-1(2*H*)-yl]-3-methylbutanamid.
Tạp chất S: (1*S*,3*S*)-1-[(1*S*)-1-[[2-(2,6-dimethylphenoxy)acetyl] amino]-2-phenylethyl]-3-[[(2*S*)-3-methyl-2-[2-oxotetrahydropyrimidin-1(2*H*)-yl]butanoyl]amino]-4-phenyl-butyl 2-(2,6-dimethylphenoxy)acetat.
Tạp chất T: *N*,*N*'-bis[(1*S*,3*S*,4*S*)-1-benzyl-4-[[2-(2,6-dimethylphenoxy) acetyl]amino]-3-hydroxy-5-phenylpentyl]ure.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8, phương pháp 8).
Dùng 0,25 g chế phẩm để thử.
Dung môi pha mẫu: *Nước - ethanol 96 %* (5 : 95)
Dùng 0,25 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Không được quá 4,4 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,250 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

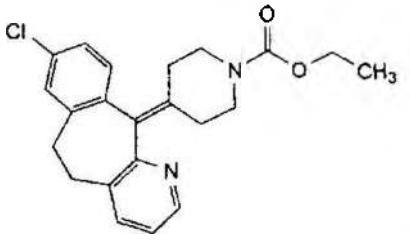
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Điều kiện sắc ký được mô tả ở trong mục A của phần Tạp chất liên quan với thay đổi như sau:
Pha động: Pha động A.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (1).
Tiến hành sắc ký với thời gian sắc ký gấp 1,6 lần thời gian lưu của lopinavir.
Tính hàm lượng phần trăm lopinavir, $C_{37}H_{48}N_4O_5$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng của $C_{37}H_{48}N_4O_5$ trong lopinavir chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Thuốc kháng HIV.

Chế phẩm
Phối hợp với ritonavir: Thuốc nang và dung dịch uống.

LORATADIN
Loratadinum



$C_{22}H_{23}ClN_2O_2$ P.t.l: 382,9

Loratadin là ethyl 4-(8-cloro-5,6-dihydro-11*H*-benzo [5,6] cyclohepta [1,2-*b*] pyridin-11-yliden) piperidin-1-carboxylat, phải chứa từ 98,5 % đến 101,5 % $C_{22}H_{23}ClN_2O_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng, có tính chất đa hình.
Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong aceton và methanol.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại của chế phẩm (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của loratadin chuẩn.

Nếu so sánh phổ có sự khác nhau thì hòa tan mẫu thử và mẫu đối chiếu riêng biệt trong *aceton (TT)*, bay hơi đến khô và dùng cắn để đo phổ mới.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không có màu đậm hơn dung dịch màu đối chiếu VN_5 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất H

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan 25,0 mg *isoamyl benzoat (TT)* trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml với *methylen clorid (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25,0 mg tạp chất H chuẩn của loratadin trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml với *methylen clorid (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (2): Lấy 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thêm 1,0 ml của dung dịch chuẩn nội và pha loãng thành 5,0 ml với *methylen clorid (TT)*.

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong *methylen clorid (TT)*, thêm 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) và 1,0 ml dung dịch chuẩn nội và pha loãng thành 5,0 ml với *methylen clorid (TT)*.

Điều kiện sắc ký:

Cột silica nung chảy, chiều dài 25 m, đường kính trong 0,32 mm, pha tĩnh *poly(dimethyl) siloxan* (phim có độ dày 0,52 µm).

Khí mang: Khí heli dùng cho sắc ký khí.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Tỷ lệ chia dòng: 1 : 30.

Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 1	80
	1 - 23	80 → 300
	23 - 33	300
Buồng tiêm		260
Detector		300

Detector: Ion hóa ngọn lửa.

Thể tích tiêm: 1,0 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2). Thời gian lưu tương đối so với loratadin (thời gian lưu khoảng 32 min) của tạp chất H khoảng 0,33; của isoamyl benzoat khoảng 0,37.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) độ phân giải giữa pic của tạp chất H và isoamyl benzoat tối thiểu là 2,0; tỷ số tín hiệu trên nhiễu không được nhỏ hơn 10 đối với pic tạp chất H.

Giới hạn: Tính tỷ lệ (R) của diện tích pic của tạp chất H so với diện tích pic của isoamyl benzoat từ sắc đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2); từ sắc đồ thu được với dung dịch thử, tính tỷ lệ diện tích pic của tạp chất H so với diện tích pic của isoamyl benzoat, tỷ lệ này không được lớn hơn hai lần giá trị R (0,1 %).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Methanol - dung dịch kali dihydrophosphat 0,68 % được chỉnh pH đến 2,80 ± 0,05 bằng acid phosphoric - acetonitril (30 : 35 : 40).

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 25,0 ml với pha động.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5,0 mg tạp chất F chuẩn của loratadin trong pha động và pha loãng thành 25,0 ml với pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 10,0 ml với pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5,0 mg loratadin chuẩn dùng để đánh giá tính phù hợp của hệ thống (có chứa tạp chất A và E) trong pha động, thêm 0,5 ml dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 5,0 ml với pha động.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 10,0 ml với pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi *end-capped octadecylsilyl silicagel* hình cầu (5 µm) với hoạt độ silanol rất thấp.

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 220 nm.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (2) và dung dịch đối chiếu (3), thời gian chạy sắc ký bằng 5 lần thời gian lưu của loratadin.

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc đồ đối chiếu đi kèm với loratadin chuẩn dùng để đánh giá tính phù hợp của hệ thống và sắc đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) để xác định các pic tạp chất A và E.

Thời gian lưu tương đối so với loratadin (thời gian lưu khoảng 12 min): của tạp chất D khoảng 0,2; tạp chất B khoảng 0,4; tạp chất F khoảng 0,9; tạp chất E khoảng 1,1; tạp chất A khoảng 2,4; tạp chất C khoảng 2,7.

Tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), tỷ số đỉnh-hõm H_p/H_v tối thiểu là 2,5 trong đó H_p là chiều cao so với đường nền của pic tạp chất E và H_v là chiều cao so với đường nền của đáy hõm tách pic tạp chất E và pic loratadin.

Giới hạn:

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với các hệ số hiệu chỉnh tương ứng: tạp chất A là 1,7; tạp chất E là 1,9; tạp chất F là 1,6;

Tạp chất F: Không quá hai lần diện tích pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,2 %);

Tạp chất A, B, C, D, E: Đối với mỗi tạp chất, không lớn hơn diện tích pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %);

Tạp chất chưa định danh: Đối với mỗi tạp chất, không lớn hơn diện tích pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %);
Tổng lượng tạp chất: Không được quá 5 lần diện tích pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,5 %);
Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Ethyl 4-[(11*RS*)-8-cloro-11-hydroxy-6,11-dihydro-5*H*-benzo[5,6]cyclohepta [1,2-*b*] pyridin-11-yl]piperidin-1-carboxylat.
Tạp chất F: Ethyl 4-[(11*RS*)-8-cloro-11-fluoro-6,11-di-hydro-5*H*-benzo[5,6]cyclohepta[1,2-*b*]pyridin-11-yl]piperidin-1-carboxylat.
Tạp chất B: 8-cloro-5,6-dihydro-11*H*-benzo[5,6]cyclohepta[1,2-b] pyridin-11-on.
Tạp chất C: Ethyl 4-(4,8-dicloro-5,6-dihydro-11*H*-benzo- [5,6] cyclohepta [1,2-*b*] pyridin-11-yliden) piperidin-1-carboxylat.
Tạp chất D: 8-chloro-11-(piperidin-4-yliden)-6,11-dihydro-5*H*-benzo[5,6]cyclohepta [1,2-*b*] pyridin.
Tạp chất G: 8-cloro-11-(1-methylpiperidin-4-yliden)-6,11-dihydro -5*H*-benzo [5,6]cyclohepta[1,2-*b*]pyridin.
Tạp chất E: Ethyl 4-[(11*RS*)-8-cloro-6,11-dihydro-5*H*-benzo [5,6]cyclohepta[1,2-*b*]pyridin-11-yl]-3,6-dihydropyridin-1(2*H*)-carboxylat.
Tạp chất H: Ethyl 4-oxopiperidin-1-carboxylat.

Sulfat
Không được quá 150 phần triệu (Phụ lục 9.4.14).
Nung 1,33 g chế phẩm ở 800 ± 25 °C và hòa cắn với 20 ml *nước cất*. Lọc nếu cần bằng giấy lọc không chứa sulfat. Lọc lại qua giấy lọc mới cho đến khi dịch lọc không còn đục, được dung dịch thử.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong 50 ml *acid acetic băng (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 38,29 mg $C_{22}H_{23}ClN_2O_2$.

Bảo quản
Đựng trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng, nhiệt độ không quá 30 °C.

Loại thuốc
Kháng histamin.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN LORATADIN
Tabellae Loratadini

Là viên nén hoặc viên nén bao phim chứa loratadin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng loratadin, $C_{22}H_{23}ClN_2O_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Ether - diethylamin (40 : 1).
Dung dịch thử: Lắc kỹ một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 20 mg loratadin với 5 ml hỗn hợp *cloroform - methanol* (1 : 1) trong 30 min và ly tâm.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20 mg loratadin chuẩn trong 5 ml hỗn hợp *cloroform - methanol* (1 : 1).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên và để khô vết. Triển khai sắc ký đến khi dung môi di chuyển được khoảng 3/4 chiều dài bản mỏng (khoảng 15 cm). Sau khi triển khai sắc ký, để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Trong mục Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 60 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Lấy một phần môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc thu được tới nồng độ thích hợp với môi trường hòa tan (nếu cần).
Dung dịch chuẩn: Dung dịch loratadin chuẩn trong môi trường hòa tan có nồng độ tương đương nồng độ loratadin trong dung dịch thử.
Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của các dung dịch trên ở bước sóng cực đại khoảng 280 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. Tính hàm lượng loratadin, $C_{22}H_{23}ClN_2O_2$, hòa tan trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{22}H_{23}ClN_2O_2$ của loratadin chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng loratadin, $C_{22}H_{23}ClN_2O_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch dikali hydrophosphat 0,01 M, dung dịch dikali hydrophosphat 0,6 M, pha động, dung môi pha loãng, điều kiện sắc ký: Chuẩn bị như mục Định lượng, với thể tích tiêm là 50 µl.
Dung dịch chuẩn gốc: Sử dụng dung dịch chuẩn trong mục Định lượng.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng dung dịch chuẩn gốc bằng *dung môi pha loãng* để thu được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,8 µg trong 1 ml. Lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Dung dịch thử: Sử dụng dung dịch thử trong mục Định lượng.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký:
Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu và ghi lại sắc ký đồ. Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic loratadin không quá 4,0 %.
Tiến hành sắc ký đối với dung dịch thử và ghi lại sắc ký đồ: Trên sắc ký đồ thu được, thời gian lưu tương đối khoảng 0,79 đối với 4-(8-cloro-11-fluoro-6,11-dihydro-5*H* benzo[5,6]cyclohepta[1,2-*b*]pyridin-11-yl)-1-piperidin-carboxylat ethyl và 1,0 đối với loratadin.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. Căn cứ vào diện tích các pic tạp thu được từ dung dịch thử, diện tích pic loratadin thu được từ dung dịch đối chiếu và hàm lượng của loratadin chuẩn, tính hàm lượng các tạp chất, so với lượng loratadin ghi trên nhãn.
Giới hạn:
4-(8-cloro-11-fluoro-6,11-dihydro-5*H*-benzo[5,6]cyclo-hepta[1,2-*b*]pyridin-11-yl)-1-piperidincarboxylat ethyl: Không được quá 0,2 %;
Từng tạp chất khác: Không được quá 0,1 %;
Tổng các tạp chất trừ 4-(8-cloro-11-fluoro-6,11-dihydro-5*H*-benzo[5,6]cyclohepta[1,2-*b*]pyridin-11-yl)-1-piperidin-carboxylat ethyl: Không được quá 0,1 %.

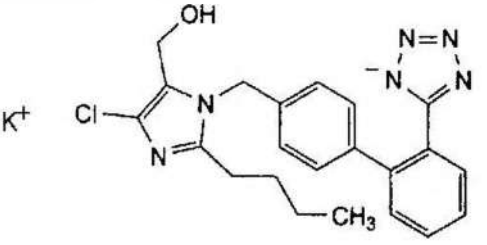
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch dikali hydrophosphat 0,01 M: Hòa tan 1,74 g *dikali hydrophosphat khan (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml và trộn đều.
Dung dịch dikali hydrophosphat 0,6 M: Hòa tan 105 g *dikali hydrophosphat khan (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml và trộn đều.
Pha động: Dung dịch dikali hydrophosphat 0,01 M - methanol - acetonitril (7 : 6 : 6), điều chỉnh pH hỗn hợp về 7,2 ± 0,1 bằng *dung dịch acid phosphoric 10 % (TT)*.
Dung môi pha loãng: Chuyển 400 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,05 M (TT)* và 80 ml *dung dịch dikali hydrophosphat 0,6 M* vào bình định mức 1000 ml và pha loãng bằng hỗn hợp *methanol - acetonitril* (1 : 1) vừa đủ đến vạch, trộn đều.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng loratadin chuẩn trong dung môi pha loãng để thu được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,4 mg trong 1 ml.
Dung dịch thử: Cân 20 viên (loại bỏ vỏ bao, nếu cần), tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 40 mg loratadin vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml dung môi pha loãng và lắc siêu âm 15 min, thêm dung môi pha loãng vừa đủ đến vạch, trộn đều và lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Nhiệt độ cột: Từ 25 °C đến 35 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn và ghi lại sắc ký đồ. Phép thử chỉ có giá trị khi thừa số dung lượng, k', không nhỏ hơn 3,5; hệ số đối xứng của pic loratadin không lớn hơn 1,7; và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic loratadin không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Căn cứ vào diện tích pic loratadin thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{22}H_{23}ClN_2O_2$ của loratadin chuẩn, tính hàm lượng loratadin, $C_{22}H_{23}ClN_2O_2$, có trong một đơn vị chế phẩm.

Bảo quản
Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống dị ứng (kháng histamin).

Hàm lượng thường dùng
5 mg và 10 mg.

LOSARTAN KALI
Losartanum Kalium



$C_{22}H_{22}ClKN_6O$ P.t.l: 461,0

Losartan kali là kali 5-[4'-[[2-butyl-4-cloro-5-(hydroxymethyl)-1*H*-imidazol-1-yl]methyl]biphenyl-2-yl]tetrazol-1-id, phải chứa từ 98,5 % đến 101,5 % $C_{22}H_{22}ClKN_6O$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng, đa hình và hút ẩm. Dễ tan trong nước và methanol, khó tan trong acetonitril.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của losartan kali chuẩn. Nếu phổ thu được ở dạng rắn của chế phẩm và chất chuẩn khác nhau thì hòa tan riêng rẽ chế phẩm và losartan kali chuẩn trong *methanol (TT)*, bay hơi dung môi đến khô và ghi phổ mới của các cắn thu được.

B. Hòa tan 25 mg chế phẩm trong 3 ml *nước*. Dung dịch phải cho phản ứng (A) của kali (Phụ lục 8.1).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Pha các dung dịch ngay trước khi dùng.

Pha động A: Pha loãng 1,0 ml *acid phosphoric (TT)* thành 1000 ml với *nước*.

Pha động B: Acetonitril (TT_1).

Dung dịch thử: Hòa tan 30,0 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với *methanol (TT)*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml với *methanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 6 mg *triphenylmethanol (TT)* (tạp chất G) trong 100,0 ml *methanol (TT)*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với *methanol (TT)*. Dùng 1,0 ml dung dịch này để hòa tan 1 lọ losartan chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa tạp chất J, K, L và M) và siêu âm trong 5 min.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 3,0 mg tạp chất D chuẩn của losartan trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng cùng dung môi. Pha loãng 1,5 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với *methanol (TT)*.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel loại dùng cho sắc ký* (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.

Nhiệt độ cột: 35 °C.

Tốc độ dòng: 1,3 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 5	75	25
5 - 30	75 → 10	25 → 90
30 - 40	10	90

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo losartan chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để định tính các pic của các tạp chất G, J, K, L và M. Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để định tính pic của tạp chất D. Thời gian lưu tương đối so với losartan (thời gian lưu khoảng 14 min): Tạp chất D khoảng 0,9; tạp chất J khoảng 1,4; tạp chất K khoảng 1,5; tạp chất L khoảng 1,6; tạp chất M khoảng 1,75; tạp chất G khoảng 1,8.

Tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (2): Tỷ số đỉnh - hõm (H_p/H_v) ít nhất là 2,0; trong đó, H_p là chiều cao của đỉnh pic tạp chất M và H_v là chiều cao của đáy hõm tách hai pic tạp chất M và tạp chất G.

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

Tạp chất D: Diện tích pic tạp chất D không được lớn hơn diện tích của pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,15 %).

Tạp chất J, K, L và M: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 1,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,15 %).

Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 3 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).

Bỏ qua các pic có diện tích không lớn hơn 0,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất D: 2-butyl-4-cloro-1*H*-imidazol-5-carbaldehyd,

Tạp chất G: Triphenylmethanol,

Tạp chất J: [2-butyl-4-cloro-1-[[2'-(1*H*-tetrazol-5-yl)biphenyl-4-yl]methyl]-1*H*-imidazol-5-yl]methyl acetat,

Tạp chất K: 2-butyl-4-cloro-1-[[2'-(1*H*-tetrazol-5-yl)biphenyl-4-yl]methyl]-1*H*-imidazol-5-carbaldehyd,

Tạp chất L: [2-butyl-1-[[2'-[1-[[2-butyl-4-cloro-1-[[2'-(1*H*-tetrazol-5-yl)biphenyl-4-yl]methyl]-1*H*-imidazol-5-yl]methyl]-1*H*-tetrazol-5-yl]biphenyl-4-yl]methyl]-4-cloro-1*H*-imidazol-5-yl]methanol,

Tạp chất M: [2-butyl-1-[[2'-[2-[[2-butyl-4-cloro-1-[[2'-(1*H*-tetrazol-5-yl)biphenyl-4-yl]methyl]-1*H*-imidazol-5-yl]methyl]-2*H*-tetrazol-5-yl]biphenyl-4-yl]methyl]-4-cloro-1*H*-imidazol-5-yl]methanol.

Kim loại nặng

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

Dung dịch thử: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 20 ml hỗn hợp đồng thể tích của *nước* và *ethanol 96 % (TT)*.

Ống thử: 12 ml dung dịch thử.

Ống mẫu: Lắc đều 1,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* với 2,0 ml dung dịch thử và 9 ml *nước*.

Ống trắng: Lắc đều 2,0 ml dung dịch thử và 10 ml *nước*.

Thêm vào mỗi ống 2 ml *dung dịch đệm acetat pH 3,5 (TT)*. Lắc đều. Tủa tạo thành. Pha loãng mỗi dung dịch thành 40 ml với *ethanol 96 %* (TT). Tủa tan hoàn toàn. Lắc đều và thêm 1,2 ml *dung dịch thioacetamid (TT)*. Lắc đều ngay. Lọc các dung dịch này qua màng lọc (kích thước lỗ lọc 0,45 µm). So sánh vết trên màng lọc của các dung dịch. Phép thử chỉ có giá trị khi vết của ống mẫu có màu nâu đen khi so sánh với vết của ống trắng. Vết màu nâu đen của ống thử không được đậm hơn màu của ống mẫu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Định lượng
Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 75 ml *acid acetic khan (TT)* và siêu âm trong 10 min. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 23,05 mg $C_{22}H_{22}ClKN_6O$.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Đối kháng thụ thể angiotensin II (AT_1), điều trị tăng huyết áp.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN LOSARTAN KALI
Tabellae Kalii Losartanas

Là viên nén chứa losartan kali.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng losartan kali, $C_{22}H_{22}ClKN_6O$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

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

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A, pha động B, chương trình dung môi, điều kiện sắc ký, dung dịch thử tính phù hợp của hệ thống, dung dịch thử: như mô tả ở phần Định lượng.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với pha động A.
Dung dịch thử độ nhạy: Pha loãng 1 ml dung dịch đối chiếu với pha động A vừa đủ 10 ml.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký dung dịch thử độ nhạy. Trên sắc ký đồ thu được, tỷ số tín hiệu trên nhiễu (S/N) của pic chính trong lần tiêm đầu tiên không được nhỏ hơn 10. Nếu không đạt, tỷ số tín hiệu trên nhiễu (S/N) của pic chính phải lớn hơn 3 với độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic từ 3 lần tiêm lặp lại phải nhỏ hơn 25 %.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử tính phù hợp của hệ thống, hệ số phân giải giữa hai pic tương ứng với 1H-dimer và 2H-dimer trên sắc ký đồ không nhỏ hơn 2,0; hệ số đối xứng của các pic tương ứng với losartan, 1H-dimer và 2H-dimer không lớn hơn 2,0.
Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu, số đĩa lý thuyết của cột không nhỏ hơn 3000; hệ số đối xứng của pic losartan không lớn hơn 2,0; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 5,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch đối chiếu và dung dịch thử.
Yêu cầu: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, pic tương ứng với 1H-dimer và 2H-dimer nếu có không được có diện tích lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %). Tổng diện tích các pic tạp chất, bao gồm cả pic 1H-dimer và 2H-dimer và các tạp chất chưa xác định không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,1 %).
Ghi chú:
1H-dimer: [2-butyl-1-[[2'-[1-[[2-butyl-4-cloro-1-[[2'-(1*H*-tetrazol-5-yl)biphenyl-4-yl]methyl]-1*H*-imidazol-5-yl]methyl]-1*H*-tetrazol-5-yl]biphenyl-4-yl]methyl]-4-cloro-1*H*-imidazol-5-yl]methanol (Tạp chất L).
2H-dimer: [2-butyl-1-[[2'-[2-[[2-butyl-4-cloro-1-[[2'-(1*H*-tetrazol-5-yl)biphenyl-4-yl]methyl]-1*H*-imidazol-5-yl]methyl]-2*H*-tetrazol-5-yl]biphenyl-4-yl]methyl}-4-cloro-1*H*-imidazol-5-yl]methanol (Tạp chất M).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước* đã được đuổi khí.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan và lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc (nếu cần) với *nước* để thu được dung dịch có nồng độ losartan kali khoảng 0,025 mg/ml.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch losartan kali chuẩn trong *nước* có nồng độ khoảng 0,025 mg/ml.
Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của các dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 256 nm, trong cốc đo dày 1 cm, dùng *nước* làm mẫu trắng.
Tính hàm lượng losartan kali, $C_{22}H_{22}ClKN_6O$, đã hòa tan trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{22}H_{22}ClKN_6O$ trong losartan kali chuẩn.
Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng losartan kali, $C_{22}H_{22}ClKN_6O$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm: Hòa tan 1,25 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 1,5 g *dinatri hydrophosphat khan (TT)* trong vừa đủ 1000 ml *nước*. Dung dịch thu được có pH khoảng 7,0.

Pha động A: Acetonitril - dung dịch đệm (15 : 85)
Pha động B: Acetonitril.
Dung dịch thử tính phù hợp của hệ thống: Hòa tan 12 mg losartan kali chuẩn trong bình định mức 50 ml. Thêm 5 ml *nước* và 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, lắc nóng bình ở nhiệt độ 105 °C trong 1 h đến 2 h. Để nguội đến nhiệt độ phòng. Thêm tiếp 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ thể tích. Điều chỉnh pH của dung dịch thu được đến 6,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* hoặc *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Dung dịch thu được có chứa 1H-dimer và 2H-dimer, dung dịch này có thể hơi đục. Thêm 3 ml *acetonitril (TT)* vào 7 ml dung dịch trên, trộn đều, thu được dung dịch trong, dùng để thử tính phù hợp của hệ thống.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch có nồng độ losartan kali chuẩn khoảng 0,25 mg/ml trong pha động A.
Dung dịch thử gốc: Chuyển 10 viên vào bình định mức 500 ml, thêm 250 ml pha động A, lắc siêu âm khoảng 15 min, thỉnh thoảng lắc tay trong thời gian siêu âm. Tiếp tục lắc siêu âm thêm 10 min. Để nguội đến nhiệt độ phòng, thêm pha động A vừa đủ thể tích, lắc đều, lọc.
Dung dịch thử: Pha loãng dung dịch thử gốc với pha động A để thu được dung dịch có nồng độ losartan kali khoảng 0,25 mg/ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 3,9 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 250 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành chạy sắc ký với chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt))	Pha động B (% tt/tt)
0	80	20
10	40	60
11	80	20
15	80	20

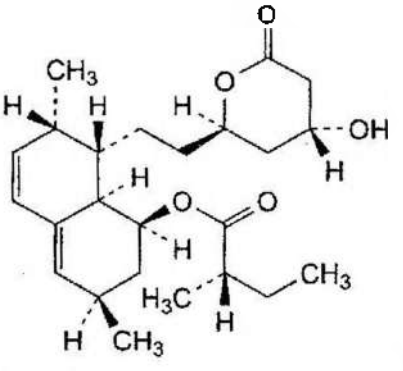
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống:
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử tính phù hợp của hệ thống, hệ số phân giải giữa hai pic tương ứng với 1H-dimer và 2H-dimer trên sắc ký đồ không nhỏ hơn 2,0; hệ số đối xứng của các pic tương ứng với losartan, 1H-dimer và 2H-dimer không lớn hơn 2,0.
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, số đĩa lý thuyết của cột không nhỏ hơn 3000; hệ số đối xứng của pic losartan không lớn hơn 2,0; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng losartan kali, $C_{22}H_{22}ClKN_6O$, trong mỗi viên dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{22}H_{22}ClKN_6O$ trong losartan kali chuẩn.

Bảo quản
Để nơi mát, trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Đối kháng thụ thể angiotensin II (AT_1), điều trị tăng huyết áp.

Hàm lượng thường dùng
25 mg, 50 mg, 100mg.

LOVASTATIN
Lovastatinum



$C_{24}H_{36}O_5$ P.t.l: 404,5

Lovastatin là (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8a*R*)-8-[2-[(2*R*,4*R*)-4-hydroxy-6-oxotetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]ethyl]-3,7-dimethyl-1,2,3,7,8,8a-hexahydronaphthalen-1-yl(2*S*)-2-methylbutanoat, phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % $C_{24}H_{36}O_5$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng.
Thực tế không tan trong nước, tan trong aceton, hơi tan trong ethanol khan.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của lovastatin chuẩn.
B. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Góc quay cực riêng.

Góc quay cực riêng
Từ +325° đến +340°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,125 g chế phẩm trong *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất E
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril (TT_1) - dung dịch acid phosphoric 1,1 g/l (13 : 7).
Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong *acetonitril (TT_1)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với *acetonitril (TT_1)*. Pha loãng tiếp 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với *acetonitril (TT_1)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 4 mg lovastatin chuẩn dùng để định tính pic (chứa tạp chất A, B, C, D, E và F)

trong *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Nhiệt độ cột 40 °C.
Detector quang phổ tử ngoại tại bước sóng 200 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của pic lovastatin.
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo lovastatin chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic tạp chất E.
Thời gian lưu tương đối so với pic lovastatin (thời gian lưu khoảng 5 min) của pic tạp chất E khoảng 1,3.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của lovastatin và pic của tạp chất E ít nhất phải bằng 5,0.
Giới hạn:
Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất E với 1,6.
Diện tích pic của tạp chất E không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Ghi chú:
Tạp chất E: (1*S*,3*S*,4a*R*,7*S*,8*S*,8a*S*)-8-[2-[(2*R*,4*R*)-4-hydroxy-6-oxo-tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]ethyl]-3,7-dimethyl-1,2,3,4,4a,7,8,8a-octahydronaphthalen-1-yl(2*S*)-2-methylbutanoat (4,4a-dihydrolovastatin).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Dung dịch acid phosphoric (TT) 0,1 % (tt/tt).
Pha động B: Acetonitril.
Dung dịch thử: Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20,0 mg lovastatin chuẩn trong *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với *acetonitril (TT)*. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với *acetonitril (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 4 mg lovastatin chuẩn dùng để định tính pic (chứa tạp chất A, B, C, D, E và F) trong *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại tại bước sóng 238 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 7	40	60
7 - 9	40 → 35	60 → 65
9 - 15	35 → 10	65 → 90
15 - 20	10	90

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo lovastatin chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (3) để xác định các pic tạp chất A, B, C, D và F.
Thời gian lưu tương đối so với pic lovastatin (thời gian lưu khoảng 7 min): Tạp chất B khoảng 0,6; tạp chất A khoảng 0,8; tạp chất F khoảng 0,9; tạp chất C khoảng 1,6; tạp chất D khoảng 2,3.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), tỷ lệ đỉnh - hõm tối thiểu là 3,0; trong đó Hp là chiều cao của đỉnh pic tạp chất F và Hv là chiều cao của đáy hõm phân tách pic tạp chất F và pic lovastatin.
Giới hạn:
Tạp chất A, B, C, D: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,6 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %).
Tạp chất F: Diện tích pic của tạp chất F không được lớn hơn 0,3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,15 %).
Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn 0,2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).
Tổng các tạp chất: Tổng diện tích của tất cả các pic tạp chất không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %).
Bỏ qua tất cả các pic có diện tích không lớn hơn 0,1 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: (1*S*,7*S*,8*S*,8a*R*)-8-[2-[(2*R*,4*R*)-4-hydroxy-6-oxo-tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]ethyl]-7-methyl-1,2,3,7,8,8a-hexahydronaphthalen-1-yl (2*S*)-2-methylbutanoat (mevastatin).
Tạp chất B: (3*R*,5*R*)-7-[(1*S*,2*S*,6*R*,8*S*,8a*R*)-2,6-dimethyl-8-[[(2*S*)-2-methylbutanoyl]oxy]-1,2,6,7,8,8a-hexahydronaphthalen-1-yl]-3,5-dihydroxyheptanoic acid (hydroxyacid lovastatin).
Tạp chất C: (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8a*R*)-3,7-dimethyl-8-[2-[(2*R*)-6-oxo-3,6-dihydro-2*H*-pyran-2-yl]ethyl]-1,2,3,7,8,8a-hexahydronaphthalen-1-yl (2*S*)-2-methylbutanoate (dehydrolovastatin).
Tạp chất D: (2*R*,4*R*)-2-[2-[(1*S*,2*S*,6*R*,8*S*,8a*R*)-2,6-dimethyl-8-[[(2*S*)-2-methylbutanoyl]oxy]-1,2,6,7,8,8a-hexahydronaphthalen-1-yl] ethyl]-6-oxotetrahydro-2*H*-pyran-4-yl (3*R*,5*R*)-7-[(1*S*,2*S*,6*R*,8S,8a*R*)-2,6-dimethyl-8-[[(2*S*)-2-methylbutanoyl]oxy]-1,2,6,7,8,8a-hexahydronaphthalen-1-yl]-3,5-dihydroxyheptanoat (đồng phân đối quang của lovastatin).
Tạp chất F: (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8a*R*)-8-[2-[(2*R*,4*R*)-4-hydroxy-6-oxo-tetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]ethyl]-3,7-dimethyl-1,2,3,7,8,8a-hexahydronaphthalen-1-yl (2*Z*)-2-methylbut-2-enoat.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm và tiến hành thử theo phương pháp 6. Lấy 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; chân không; 60 °C; 3 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tiến hành như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1). Tính hàm lượng phần trăm lovastatin, $C_{24}H_{36}O_5$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic lovastatin trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng $C_{24}H_{36}O_5$ trong lovastatin chuẩn.

Bảo quản
Trong khí nitrogen, ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C.

Loại thuốc
Ức chế HMG CoA reductase; thuốc chống tăng lipid máu.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN LOVASTATIN
Tabellae Lovastatini

Là viên nén hoặc viên nén bao phim chứa lovastatin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng lovastatin, $C_{24}H_{36}O_5$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Cyclohexan - cloroform - isopropanol (5 : 2 : 1).
Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng 10 mg lovastatin vào ống nghiệm, thêm 0,4 ml *nước* và 1,6 ml *acetonitril (TT)*, lắc mạnh, siêu âm 4 min, ly tâm 4 min, lấy lớp dịch trong.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 5 mg lovastatin chuẩn trong 1 ml *acetonitril (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký trong bình đã bão hòa dung môi đến khi dung môi di chuyển được 3/4 chiều dài bản mỏng, để khô ngoài không khí, quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết tương ứng về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic lovastatin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch đệm pH 7,0.
Dung dịch đệm pH 7,0: Hòa tan 1,56 g *natri dihydrophosphat (TT)*, 20 g *natri laurylsulfat (TT)* trong 900 ml *nước*. Điều chỉnh đến pH 7,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, pha loãng với *nước* vừa đủ 1000 ml, khuấy đều.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 44 mg lovastatin chuẩn cho vào bình định mức 500 ml, hòa tan với không quá 20 ml *methanol (TT)*. Pha loãng với môi trường hòa tan vừa đủ 500 ml. Lắc đều. Pha loãng dung dịch thu được với môi trường hòa tan để được dung dịch có nồng độ tương đương với nồng độ lovastatin của dung dịch thử.
Định lượng dược chất hòa tan bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với pha động và điều kiện sắc ký như trong phần Định lượng.
Tiến hành sắc ký lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính lượng lovastatin, $C_{24}H_{36}O_5$, trong mỗi viên đã hòa tan dựa vào vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{24}H_{36}O_5$ trong lovastatin chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng lovastatin, $C_{24}H_{36}O_5$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với *hỗn hợp dung môi, pha động, dung dịch chuẩn, điều kiện sắc ký, cách tiến hành* tương tự phần Định lượng.
Dung dịch thử: Cho một viên vào bình định mức dung tích thích hợp từ 50, 100 ml, ... (tương ứng với với viên có hàm lượng 10 mg, 20 mg,...), thêm một lượng thích hợp hỗn hợp dung môi để hòa tan, lắc siêu âm 10 min, để nguội và pha loãng tới vạch bằng cùng hỗn hợp dung môi, trộn đều và lọc. Pha loãng dịch lọc bằng hỗn hợp dung môi để được dung dịch có nồng độ lovastatin khoảng 40 µg/ml.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - dung dịch đệm - methanol (5 : 3 : 1). Điều chỉnh tỉ lệ nếu cần.
Dung dịch đệm: Hòa tan 3,9 g *natri dihydrophosphat (TT)* trong 900 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 4,0 bằng *acid phosphoric (TT)*, pha loãng với *nước* vừa đủ 1000 ml, lắc đều.
Hỗn hợp dung môi: Thêm 3,0 ml *acid acetic băng (TT)* vào 900 ml *nước* đựng trong cốc dung tích 1 lít, điều chỉnh đến pH 4,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd 20 % (TT)*,

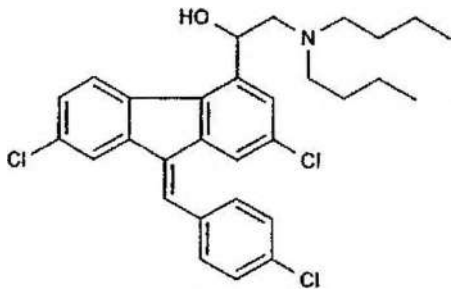
trộn đều. Chuyển vào bình định mức, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml. Trộn 20 thể tích dung dịch thu được với 80 thể tích *acetonitril (TT)*.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan lovastatin chuẩn trong hỗn hợp dung môi để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 40 µg/ml.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng 40 mg lovastatin cho vào bình định mức 200 ml. Thêm 150 ml hỗn hợp hỗn hợp dung môi, lắc, siêu âm trong 20 min, để nguội đến nhiệt độ phòng và để yên 30 min, thêm hỗn hợp dung môi vừa đủ 200 ml, lắc đều. Lấy một phần dung dịch thu được, ly tâm, lấy 5,0 ml dịch trong cho vào bình định mức 25 ml, thêm hỗn hợp dung môi vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột: 45 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi hiệu lực cột phải lớn hơn 3000 số đĩa lí thuyết, hệ số đối xứng nhỏ hơn 2,0, độ lệch chuẩn tương đối của pic lovastatin không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng lovastatin, $C_{24}H_{36}O_5$, trong chế phẩm dựa vào vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{24}H_{36}O_5$ trong lovastatin chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng, để nơi khô mát hoặc nhiệt độ phòng.

Loại thuốc
Chống tăng lipid máu.

Hàm lượng thường dùng
10 mg, 20 mg, 40 mg.

LUMEFANTRIN
Lumefantrinum



và đồng phân đối quang

$C_{30}H_{32}Cl_3NO$ P.t.l: 528,9

Lumefantrin là (1*RS*)-2-(dibutylamino)-1-{(9Z)-2,7-dicloro-9-[(4-clorophenyl)methyliden]-9*H*-fluoren-4-yl}-ethanol, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{30}H_{32}Cl_3NO$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu vàng. Thực tế không tan trong nước, tan trong dicloromethan, khó tan trong methanol.
Chảy ở nhiệt độ từ 128 °C đến 132 °C.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của lumefantrin chuẩn.
B. Phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1). Cân chính xác khoảng 20 mg chế phẩm, hòa tan trong 200 ml *methanol (TT)* bằng cách lắc siêu âm trong vòng 15 min. Để nguội dung dịch tới nhiệt độ phòng, pha loãng dung dịch trên 5 lần bằng *methanol (TT)*. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 275 nm đến 325 nm cho một hấp thụ cực đại ở bước sóng 302 nm và có độ hấp thụ riêng (A 1 %, 1 cm) nằm trong khoảng từ 314 đến 348.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa (khoảng sôi 40 °C - 60 °C) - ethyl acetat - acid acetic băng (40 : 6 : 10).
Dung dịch thử: Dung dịch chế phẩm trong *ethyl acetat (TT)* có nồng độ 10 mg/ml.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch lumefantrin chuẩn trong *ethyl acetat (TT)* có nồng độ 10 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô hoàn toàn ngoài không khí hoặc làm khô bằng luồng không khí mát. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.
Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, hình dạng và độ lớn.

Tạp chất liên quan
Có thể chọn phương pháp A hoặc B.
A. Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch tạo cặp ion: Hòa tan 5,65 g *natri 1-hexansulfonat (TT)* và 2,75 g *natri dihydrophosphat (TT)* trong khoảng 900 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 2,3 bằng *acid phosphoric (TT)*, pha loãng với *nước* để tạo thành 1000 ml dung dịch, lọc qua màng lọc 0,5 µm.
Pha động A: Dung dịch tạo cặp ion - nước - acetonitril - 1-propanol (20 : 50 : 25 : 5).
Pha động B: Dung dịch tạo cặp ion - nước - acetonitril - 1-propanol (20 : 10 : 65 : 5).
Pha động C: Nước - acetonitril - 1-propanol (10 : 10 : 40).
Dung dịch thử: Dung dịch chế phẩm trong *acetonitril (TT)* có nồng độ 0,3 mg/ml.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng dung dịch thử bằng *acetonitril (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ lumefantrin 0,3 µg/ml.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 3 mg lumefantrin chuẩn dùng để kiểm tra tính thích hợp của hệ thống (hỗn hợp có chứa lumefantrin, tạp chất A, B, C của lumefantrin) trong 10 ml *acetonitril (TT)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (12,5 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 265 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Pha động C (% tt/tt)	Ghi chú
0 - 14	25	75	0	Đẳng dòng
14 - 19	25 → 0	75 → 100	0	Gradient tuyến tính
19 - 20	0	100 → 80	0 → 20	Gradient tuyến tính
20 - 26	0	80	20	Đẳng dòng
26 - 27	0	80 → 30	20 → 70	Gradient tuyến tính
27 - 50	0	30	70	Đẳng dòng
50 - 51	0 → 25	30 → 75	70 → 0	Quay lại tỷ lệ ban đầu
51 - 56	25	75		Cân bằng cột

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), thời gian lưu tương đối so với lumefantrin (thời gian lưu khoảng 10 min): tạp chất A khoảng 0,9; tạp chất B khoảng 4,3 và tạp chất C khoảng 4,6. Phép thử chỉ có giá trị khi tỷ số đỉnh-hõm (H_p/H_v) không được nhỏ hơn 2,0, trong đó H_p là chiều cao của pic tạp chất A so với đường nền ngoại suy, H_v là chiều cao của đáy hõm tách hai pic tạp chất A và lumefantrin. Nếu cần có thể điều chỉnh tỷ lệ acetonitril trong pha động A hoặc điều chỉnh chương trình dung môi.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của các pic tạp chất tương ứng với pic tạp chất B hoặc tạp chất C không được lớn hơn ba lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).
Diện tích của bất kỳ tạp chất nào khác với tạp chất B và tạp chất C không được lớn hơn diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).
Tổng diện tích của tất cả các pic khác với pic chính không được lớn hơn 5 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Bỏ qua các pic tạp chất có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %) và các pic tương ứng với pic thu được trên sắc ký đồ của mẫu trắng.
Ghi chú:
Tạp chất A: (2*RS*)-2-(dibutylamino)-2-{(9*Z*)-2,7-dicloro-9-[(4-clorophenyl)methyliden]-9*H*-fluoren-4-yl}ethanol.
Tạp chất B: 1,4-bis{2,7-dicloro-9-[(4-clorophenyl)methyliden]-9*H*-fluoren-4-yl}-3,6-dioxabicyclo[3.1.0]hexan.
Tạp chất C: 2,3'-bis{2,7-dicloro-9-[(4-clorophenyl)methyliden]-9*H*-fluoren-4-yl}-2,2'-bioxiranyl.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa (khoảng sôi 40 °C - 60 °C) - ethyl acetat - acid acetic băng (40 : 6 : 10).
Dung dịch thử: Dung dịch chế phẩm trong *ethyl acetat (TT)* có nồng độ 10 mg/ml.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng *ethyl acetat (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 3,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100 ml bằng *ethyl acetat (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 2,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20,0 ml bằng *ethyl acetat (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí hoặc làm khô bằng luồng không khí mát. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, bất kỳ vết phụ nào không được đậm hơn vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %) và không có quá 2 vết như vậy đậm hơn vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %).

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm, tiến hành thử theo phương pháp 3.
Dùng 1,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, 105 °C, 3 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 1).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Cân chính xác khoảng 0,45 g chế phẩm, hòa tan trong 50 ml *acid acetic băng (TT)* bằng cách khuấy trong vòng 15 min, chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 52,89 mg $C_{30}H_{32}Cl_3NO$.

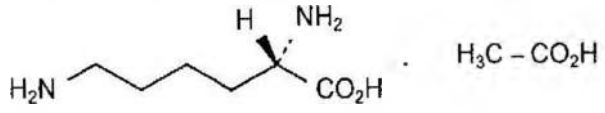
Bảo quản
Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc
Thuốc điều trị sốt rét.

Chế phẩm
Viên nén kết hợp với artemether.

LYSIN ACETAT

Lysini acetas



$C_6H_{14}N_2O_2.C_2H_4O_2$ P.t.l: 206,2

Lysin acetat là acid (2*S*)-2,6-diaminohexanoic acetat, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_6H_{14}N_2O_2.C_2H_4O_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng hay tinh thể không màu. Dễ tan trong nước, rất khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, C, E.
Nhóm II: B, C, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của lysin acetat chuẩn. Nếu phổ của chế phẩm và lysin acetat chuẩn ở trạng thái rắn khác nhau thì hòa tan riêng rẽ chế phẩm và chuẩn trong một thể tích *nước* tối thiểu, bay hơi ở 60 °C và ghi phổ của cắn mới thu được.
B. Trong phần Các chất dương tính với ninhydrin, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải tương tự về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
C. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Góc quay cực riêng.
D. Lấy 0,1 ml dung dịch S (xem Độ trong và màu sắc của dung dịch), thêm 2 ml *nước* và 1 ml *dung dịch acid phosphomolybdic 5 % (TT)*. Tủa trắng hơi vàng tạo thành.
E. Chế phẩm cho phản ứng của acetat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong *nước cất* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực riêng

Từ +8,5° đến +10,0°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Dùng dung dịch S để đo.

Các chất dương tính với ninhydrin

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel.
Dung môi khai triển: Amoniac - 2-propanol (30 : 70).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 50 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg lysin acetat chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5 ml dung dịch thử (2) thành 20 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10 mg lysin acetat chuẩn và 10 mg arginin chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành:
Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Để khô bản mỏng ngoài không khí. Triển khai bản mỏng đến khi dung môi đi được 2/3 bản mỏng. Sấy bản mỏng ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C đến khi amoniac bay hơi hết. Phun *dung dịch ninhydrin 0,2 % (TT)* và sấy bản mỏng ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C trong 15 min. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), bất kỳ vết phụ nào ngoài vết chính không được có màu đậm hơn vết chính của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) cho hai vết tách nhau hoàn toàn.

Clorid

Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.5).
Pha loãng 2,5 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* để thử.

Sulfat

Không được quá 0,03 % (Phụ lục 9.4.14).
Pha loãng 5 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước cất* để thử.

Amoni

Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.1).
Lấy 50 mg chế phẩm tiến hành theo phương pháp B. Dùng 0,1 ml *dung dịch amoni mẫu 100 phần triệu NH_4 (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt

Không được quá 30 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).
Hòa tan 0,33 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* trong một bình gạn. Chiết 3 lần, mỗi lần với 10 ml *methyl isobutyl keton (TT_1)* và lắc trong 3 min. Tập trung dịch chiết hữu cơ, thêm 10 ml *nước*, lắc trong 3 min. Lấy lớp nước và tiến hành thử.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 12 ml dung dịch S tiến hành theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 60 °C; 3 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 80,0 mg chế phẩm trong 3 ml *acid formic khan (TT)*. Thêm 50 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm kết

thức bằng phương pháp chuẩn độ điện thế (Phụ lục 10.2). Song song tiến hành một mẫu trắng.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 10,31 mg $C_8H_{18}N_2O_4$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Acid amin.

Chế phẩm
Viên nén, nang, thuốc tiêm.

CÁC MACROGOL
Macrogola

Hỗn hợp các polymer có công thức chung $H-(OCH_2-CH_2)_n-OH$ trong đó n là số lượng trung bình các nhóm oxyethylen. Các macrogol được phân loại theo phân tử lượng trung bình. Trong chế phẩm có thể có chứa chất bảo quản.

Tính chất

Loại	Hình thức	Độ tan
300 400 600	Chất lỏng hút ẩm, trong suốt, nhớt, không màu hoặc gần như không màu.	Trộn lẫn với nước, rất dễ tan trong aceton, ethanol 96 %, methylen clorid, thực tế không tan trong dầu béo, dầu khoáng.
1000	Chất rắn dạng sáp hoặc giống như parafin, hút ẩm, trắng hay gần như trắng.	Rất dễ tan trong nước, dễ tan trong methylen clorid, ethanol 96 % thực tế không tan trong dầu béo, dầu khoáng.
1500	Chất rắn dạng sáp hoặc giống như parafin, trắng hay gần như trắng.	Rất dễ tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %, methylen clorid, thực tế không tan trong dầu béo, dầu khoáng.
3000 3350	Chất rắn dạng sáp hoặc giống như parafin, trắng hay gần như trắng.	Rất dễ tan trong nước, methylen clorid, hơi tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong dầu béo, dầu khoáng.
4000 6000 8000	Chất rắn dạng sáp hoặc giống như parafin, trắng hay gần như trắng.	Rất dễ tan trong nước, methylen clorid, thực tế không tan trong ethanol 96 %, dầu béo, dầu khoáng.
20 000 35 000	Chất rắn dạng sáp hoặc giống như parafin, trắng hay gần như trắng.	Rất dễ tan trong nước, tan trong methylen clorid, thực tế không tan trong ethanol 96 %, dầu béo, dầu khoáng.

Định tính
A. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Độ nhớt (Phụ lục 6.3).
B. Thêm 0,5 ml *acid sulfuric (TT)* vào ống nghiệm có chứa 1 g chế phẩm. Đậy ống nghiệm bằng nút có gắn ống dẫn khí, đun nóng cho đến khi có khói trắng tạo thành. Dẫn khói vào 1 ml *dung dịch thủy ngân clorid (TT)*. Xuất hiện tủa kết tinh màu trắng.
C. Thêm 0,1 g *kali thiocyanat (TT)* và 0,1 g *cobalt nitrat (TT)* vào 0,1 g chế phẩm, dùng đũa thủy tinh trộn đều. Thêm 5 ml *methylen clorid (TT)* và lắc. Pha lỏng trở nên màu xanh.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 12,5 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50 ml bằng *nước*. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn màu mẫu VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 50 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* và thêm 0,15 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)*, dung dịch có màu vàng hay xanh lá. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* được dùng để làm chuyển màu chỉ thị sang xanh dương không quá 0,1 ml.

Độ nhớt (Phụ lục 6.3)
Độ nhớt được tính dựa trên tỷ trọng theo bảng dưới đây:

Loại macrogol	Độ nhớt động học ($mm^2 \cdot s^{-1}$)	Độ nhớt động lực học (mPa·s)	Tỷ trọng* (g/ml)
300	71 - 94	80 - 105	1,120
400	94 - 116	105 - 130	1,120
600	13,9 - 18,5	15 - 20	1,080
1000	20,4 - 27,7	22 - 30	1,080
1500	31 - 46	34 - 50	1,080
3000	69 - 93	75 - 100	1,080
3350	76 - 110	83 - 120	1,080
4000	102 - 158	110 - 170	1,080
6000	185 - 250	200 - 270	1,080
8000	240 - 472	260 - 510	1,080
20 000	2500 - 3200	2700 - 3500	1,080
35 000	10 000 - 13 000	11 000 - 14 000	1,080

** Tỷ trọng của các macrogol 300 và 400 xác định trực tiếp trên chế phẩm. Với các macrogol khác: Tỷ trọng của dung dịch chế phẩm 50 % (kl/kl).*
Với các macrogol có khối lượng phân tử trung bình lớn hơn 400 xác định độ nhớt trên dung dịch chế phẩm 50 % (kl/kl).

thúc bằng phương pháp chuẩn độ điện thế (Phụ lục 10.2). Song song tiến hành một mẫu trắng.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 10,31 mg $C_8H_{18}N_2O_4$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Acid amin.

Chế phẩm
Viên nén, nang, thuốc tiêm.

CÁC MACROGOL
Macrogola

Hỗn hợp các polymer có công thức chung $H-(OCH_2-CH_2)_n-OH$ trong đó n là số lượng trung bình các nhóm oxyethylen. Các macrogol được phân loại theo phân tử lượng trung bình. Trong chế phẩm có thể có chứa chất bảo quản.

Tính chất

Loại	Hình thức	Độ tan
300 400 600	Chất lỏng hút ẩm, trong suốt, nhớt, không màu hoặc gần như không màu.	Trộn lẫn với nước, rất dễ tan trong aceton, ethanol 96 %, methylen clorid, thực tế không tan trong dầu béo, dầu khoáng.
1000	Chất rắn dạng sáp hoặc giống như parafin, hút ẩm, trắng hay gần như trắng.	Rất dễ tan trong nước, dễ tan trong methylen clorid, ethanol 96 % thực tế không tan trong dầu béo, dầu khoáng.
1500	Chất rắn dạng sáp hoặc giống như parafin, trắng hay gần như trắng.	Rất dễ tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %, methylen clorid, thực tế không tan trong dầu béo, dầu khoáng.
3000 3350	Chất rắn dạng sáp hoặc giống như parafin, trắng hay gần như trắng.	Rất dễ tan trong nước, methylen clorid, hơi tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong dầu béo, dầu khoáng.
4000 6000 8000	Chất rắn dạng sáp hoặc giống như parafin, trắng hay gần như trắng.	Rất dễ tan trong nước, methylen clorid, thực tế không tan trong ethanol 96 %, dầu béo, dầu khoáng.
20 000 35 000	Chất rắn dạng sáp hoặc giống như parafin, trắng hay gần như trắng.	Rất dễ tan trong nước, tan trong methylen clorid, thực tế không tan trong ethanol 96 %, dầu béo, dầu khoáng.

Định tính
A. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Độ nhớt (Phụ lục 6.3).
B. Thêm 0,5 ml *acid sulfuric (TT)* vào ống nghiệm có chứa 1 g chế phẩm. Đậy ống nghiệm bằng nút có gắn ống dẫn khí, đun nóng cho đến khi có khói trắng tạo thành. Dẫn khói vào 1 ml *dung dịch thủy ngân clorid (TT)*. Xuất hiện tủa kết tinh màu trắng.
C. Thêm 0,1 g *kali thiocyanat (TT)* và 0,1 g *cobalt nitrat (TT)* vào 0,1 g chế phẩm, dùng đũa thủy tinh trộn đều. Thêm 5 ml *methylen clorid (TT)* và lắc. Pha lỏng trở nên màu xanh.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 12,5 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50 ml bằng *nước*. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn màu mẫu VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 50 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* và thêm 0,15 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)*, dung dịch có màu vàng hay xanh lá. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* được dùng để làm chuyển màu chỉ thị sang xanh dương không quá 0,1 ml.

Độ nhớt (Phụ lục 6.3)
Độ nhớt được tính dựa trên tỷ trọng theo bảng dưới đây:

Loại macrogol	Độ nhớt động học ($mm^2 \cdot s^{-1}$)	Độ nhớt động lực học (mPa·s)	Tỷ trọng* (g/ml)
300	71 - 94	80 - 105	1,120
400	94 - 116	105 - 130	1,120
600	13,9 - 18,5	15 - 20	1,080
1000	20.4 - 27,7	22 - 30	1,080
1500	31 - 46	34 - 50	1,080
3000	69 - 93	75 - 100	1,080
3350	76 - 110	83 - 120	1,080
4000	102 - 158	110 - 170	1,080
6000	185 - 250	200 - 270	1,080
8000	240 - 472	260 - 510	1,080
20 000	2500 - 3200	2700 - 3500	1,080
35 000	10 000 - 13 000	11 000 - 14 000	1,080

** Tỷ trọng của các macrogol 300 và 400 xác định trực tiếp trên chế phẩm. Với các macrogol khác: Tỷ trọng của dung dịch chế phẩm 50 % (kl/kl).*

Với các macrogol có khối lượng phân tử trung bình lớn hơn 400 xác định độ nhớt trên dung dịch chế phẩm 50 % (kl/kl).

Nhiệt độ đông đặc (Phụ lục 6.6)

Loại macrogol	Nhiệt độ đông đặc (°C)
600	15 - 25
1000	35 - 40
1500	42 - 48
3000	50 - 56
3350	53 - 57
4000	53 - 59
6000	55 - 61
8000	55 - 62
20 000	Tối thiểu 57
35 000	Tối thiểu 57

Chỉ số hydroxyl

Cho m (g) chế phẩm (ghi ở bảng dưới) vào bình nón khô có gắn ống sinh hàn hồi lưu. Thêm 25,0 ml *dung dịch anhydrid phtalic (TT)*, lắc nhẹ để hòa tan, sau đó đun hồi lưu trong 60 min. Để nguội. Rửa sinh hàn bằng 25 ml *pyridin (TT)* và 25 ml *nước cất*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M (CĐ)*, chỉ thị là 1,5 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* đến khi xuất hiện màu hồng (n_1 ml). Tiến hành song song mẫu trắng (n_2 ml). Chỉ số hydroxyl của chế phẩm được tính bằng công thức:

$$56,1 \times (n_2 - n_1) / m$$

Loại macrogol	Chỉ số hydroxyl	m (g)
300	340 - 394	1,5
400	264 - 300	1,9
600	178 - 197	3,5
1000	107 - 118	5,0
1500	70 - 80	7,0
3000	34 - 42	12,0
3350	30 - 38	12,0
4000	25 - 32	14,0
6000	16 - 22	18,0
8000	12 - 16	24,0
20 000	-	-
35 000	-	-

Với các macrogol có khối lượng phân tử trên 1000, nếu lượng nước nhiều hơn 0,5 % thì phải sấy chế phẩm ở 100 °C đến 105 °C trong 2 h và xác định chỉ số hydroxyl trên chế phẩm đã làm khô.

Chất khử

Hòa tan 1 g chế phẩm trong 1 ml *dung dịch resorcinol 1 %*, làm ấm nhẹ nếu cần. Thêm 2 ml *acid hydrocloric (TT)*. Sau 5 min, dung dịch không được đậm màu hơn màu mẫu $Đ_3$ (Phụ lục 9.3, phương pháp 1).

Formaldehyd

Không được quá 30 phần triệu.

Dung dịch thử: Thêm 0,25 ml *dung dịch muối natri của acid cromotropic (TT)* vào 1,00 g chế phẩm. Làm lạnh trong nước đá và thêm 5 ml *acid sulfuric (TT)*. Để yên 15 min, thêm *nước* từ từ vừa đủ 10 ml.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 0,860 g *dung dịch formaldehyd (TT)* thành 100 ml bằng *nước*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100 ml bằng *nước*. Trong bình định mức 10 ml, trộn 1.00 ml dung dịch này với 0,25 ml *dung dịch muối natri của acid cromotropic (TT)*, làm lạnh trong nước đá và thêm 5 ml *acid sulfuric (TT)*. Để yên 15 min và thêm *nước* từ từ vừa đủ 10 ml.

Mẫu trắng: Trong bình định mức 10 ml trộn 1 ml *nước* với 0,25 ml *dung dịch muối natri của acid cromotropic (TT)* làm lạnh trong nước đá và thêm 5,0 ml *acid sulfuric (TT)*. Thêm *nước* từ từ vừa đủ 10 ml.

Đo độ hấp thụ của dung dịch thử ở bước sóng 567 nm. Độ hấp thụ này không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch đối chiếu.

Việc dùng các macrogol có lượng formaldehyd cao có thể gây ra tác dụng phụ nên nhà quản lý có thể qui định không vượt quá 15 phần triệu.

Ethylen glycol và diethylen glycol

Chỉ tiến hành với các macrogol có khối lượng phân tử dưới 1000.

Không được quá 0,4 %, tính trên tổng lượng ethylen glycol và diethylen glycol.

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch thử: Hòa tan 5,00 g chế phẩm trong *aceton (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,10 g *ethylen glycol (TT)* và 0,50 g *diethylen glycol (TT)* trong *aceton (TT)*, pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Lấy 1,0 ml dung dịch pha loãng thành 10,0 ml bằng *aceton (TT)*.

Điều kiện sắc ký:

Cột thủy tinh (1,8 m × 2 mm) được nhồi *diatomit được silan hóa dùng cho sắc ký khí* và được tẩm 5 % (kl/kl) *macrogol 20 000 (TT)*.

Khí mang: Nitrogen dùng cho sắc ký.

Tốc độ dòng: 30 ml/min.

Nhiệt độ: Cột: Cân bằng cột, nếu cần, ở 200 °C trong 15 h; điều chỉnh nhiệt độ ban đầu của cột để thời gian lưu của diethylen glycol là 14 min đến 16 min; sau đó tăng nhiệt độ cột lên khoảng 30 °C với tốc độ 2 °C/min nhưng không vượt quá 170 °C. Buồng tiêm và detector: 250 °C.

Detector: Ion hóa ngọn lửa.

Thể tích tiêm: 2 µl

Tiến hành 5 lần tiêm mẫu để kiểm tra độ lặp lại.

Ethylen oxyd và dioxan

Không được quá 1 phần triệu ethylen oxyd và không được quá 10 phần triệu dioxan (Phụ lục 10.15).

Kim loại nặng

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

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Lấy 12 ml dung dịch thu được và tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Không được quá 2,0 % với các macrogol có khối lượng phân tử không lớn hơn 1000 và không được quá 1,0 % với các macrogol có khối lượng phân tử lớn hơn 1000.
Dùng 2,00 g chế phẩm (Phụ lục 10.3).

Tro sulfat
Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Bảo quản
Trong bình kín, tránh ánh sáng.

Nhãn
Ghi rõ loại macrogol, nồng độ chất bảo quản, lượng formaldehyd.

Loại thuốc
Tá dược.

MAGNESI CARBONAT NẶNG
Magnesii subcarbonas ponderosus

Magnesi carbonat nặng là magnesi carbonat hydrat base, phải chứa từ 40,0 % đến 45,0 % MgO.

Tính chất
Bột trắng. Thực tế không tan trong nước, tan trong acid loãng đồng thời sủi bọt mạnh.

Định tính
A. Chế phẩm có khối lượng riêng thô (Phụ lục 6.13) không nhỏ hơn 0,25 g/ml.
B. Chế phẩm phải cho phản ứng của carbonat (Phụ lục 8.1).
C. Hòa tan khoảng 15 mg chế phẩm trong 2 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* và trung hòa bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*. Dung dịch thu được phải cho phản ứng của ion magnesi (Phụ lục 8.1).

Màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong *dung dịch acid acetic 2 M (TT)*, khi hết sủi bọt đun sôi 2 min, để nguội và pha loãng thành 100 ml bằng *dung dịch acid acetic 2 M (TT)*. Lọc qua phễu sứ có lỗ xốp thích hợp đã nung đến khối lượng không đổi ở 600 °C và xác định bì trước để được dung dịch trong. Cắn để thử chất không tan trong acid acetic.
Dung dịch S không được có màu đậm hơn màu mẫu N_4 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Chất tan trong nước
Không được quá 1,0 %.
Trộn 2,00 g chế phẩm với 100 ml *nước*, đun sôi 5 min, lọc khi còn nóng qua phễu thủy tinh xốp (số độ xốp 40) để nguội, pha loãng dịch lọc với *nước* thành 100 ml. Bốc hơi 50 ml dịch lọc đến khô, cắn thu được sấy ở 100 °C đến 105 °C đến khối lượng không đổi. Lượng cắn còn lại không được quá 10 mg.

Chất không tan trong acid acetic
Không được quá 0,05 %.
Cắn thu được trong quá trình chuẩn bị dung dịch S, sau khi rửa, sấy và nung ở 600 °C đến khối lượng không đổi không được quá 2,5 mg.

Clorid
Không được quá 0,07 % (Phụ lục 9.4.5).
Pha loãng 1,5 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Sulfat
Không được quá 0,6 % (Phụ lục 9.4.14).
Pha loãng 0,5 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Arsen
Không được quá 2 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).
Lấy 10 ml dung dịch S rồi tiến hành thử theo phương pháp A.

Calci
Không được quá 0,75% (Phụ lục 9.4.3).
Pha loãng 2,6 ml dung dịch S thành 150 ml bằng *nước*. Lấy 15 ml dung dịch thu được để thử.

Sắt
Không được quá 400 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).
Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 3 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*, pha loãng thành 10 ml bằng *nước*. Pha loãng 2,5 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng *nước* để tiến hành thử.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Thêm 15 ml *dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT)* vào 20 ml dung dịch S và lắc với 25 ml *methyl isobutyl keton (TT)* trong 2 min. Để tách lớp, lấy lớp nước bốc hơi đến khô trên cách thủy. Hòa tan cắn trong 1 ml *dung dịch acid acetic 5 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 20 ml. Lấy 12 ml dung dịch thu được để thử theo phương pháp 1.
Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Định lượng
Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 20 ml *nước* và 2 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* theo Phương pháp chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).
1 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 4,030 mg MgO.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc
Kháng acid, nhuận tràng.

MAGNESI CARBONAT NHẸ
Magnesii subcarbonas levis

Magnesi carbonat nhẹ là magnesi carbonat hydrat base phải chứa từ 40,0 % đến 45,0 % MgO.

Tính chất
Bột trắng. Thực tế không tan trong nước, tan trong acid loãng đồng thời sủi bọt mạnh.

Định tính
A. Chế phẩm có khối lượng riêng thô (Phụ lục 6.13) không lớn hơn 0,15 g/ml.
B. Chế phẩm phải cho phản ứng của carbonat (Phụ lục 8.1).
C. Hòa tan khoảng 15 mg chế phẩm trong 2 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* và trung hòa bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*. Dung dịch thu được phải cho phản ứng của ion magnesi (Phụ lục 8.1).

Màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong *dung dịch acid acetic 2 M (TT)*, khi hết sủi bọt đun sôi 2 min, để nguội và pha loãng thành 100 ml bằng *dung dịch acid acetic 2 M (TT)*. Lọc qua phễu sứ có lỗ xốp thích hợp đã nung đến khối lượng không đổi ở 600 °C và xác định bì trước để được dung dịch trong. Cắn để thử chất không tan trong acid acetic.
Dung dịch S không được có màu đậm hơn màu mẫu N_4 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Chất tan trong nước
Không được quá 1,0 %.
Trộn 2,00 g chế phẩm với 100 ml *nước*, đun sôi 5 min, lọc khi còn nóng qua phễu thủy tinh xốp (số độ xốp 40) để nguội, pha loãng dịch lọc với *nước* thành 100 ml. Bốc hơi 50 ml dịch lọc đến khô, cắn thu được sấy ở 100 °C đến 105 °C đến khối lượng không đổi. Lượng cắn còn lại không được quá 10 mg.

Chất không tan trong acid acetic
Không được quá 0,05 %.
Cắn thu được trong quá trình chuẩn bị dung dịch S, sau khi rửa, sấy và nung ở 600 °C đến khối lượng không đổi không được quá 2,5 mg.

Clorid
Không được quá 0,07 % (Phụ lục 9.4.5).
Pha loãng 1,5 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Arsen
Không được quá 2 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).
Lấy 10 ml dung dịch S rồi tiến hành thử theo phương pháp A.

Calci
Không được quá 0,75% (Phụ lục 9.4.3).
Pha loãng 2,6 ml dung dịch S thành 150 ml bằng *nước*. Lấy 15 ml dung dịch thu được để thử.

Sắt
Không được quá 400 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).
Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 3 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*, pha loãng thành 10 ml bằng *nước*. Pha loãng 2,5 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng *nước* để thử.

Sulfat
Không được quá 0,3 % (Phụ lục 9.4.14).
Pha loãng 1,0 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Thêm 15 ml *dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT)* vào 20 ml dung dịch S và lắc với 25 ml *methyl isobutyl keton (TT)* trong 2 min. Để tách lớp, lấy lớp nước bốc hơi đến khô trên cách thủy. Hòa tan cắn trong 1 ml *dung dịch acid acetic 5 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 20 ml. Lấy 12 ml dung dịch thu được để thử theo phương pháp 1.
Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Định lượng
Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 20 ml *nước* và 2 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* theo Phương pháp chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).
1 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 4,030 mg MgO.

Bảo quản
Trong chai lọ nút kín.

Loại thuốc
Kháng acid, nhuận tràng.

MAGNESI CLORID
Magnesii chloridum
Magnesi clorid hexahydrat

$MgCl_2.6H_2O$ P.t.l: 203,3

Magnesi clorid hexahydrat phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $MgCl_2.6H_2O$.

Tính chất
Tinh thể không màu, dễ hút ẩm. Rất dễ tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %.

Định tính
A. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu phép thử Nước.
B. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của ion clorid và cho phản ứng của ion magnesi (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 10,0 g chế phẩm trong *nước không*

có carbon dioxyd (TT) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Thêm 0,05 ml *dung dịch đỏ phenol (TT)* vào 5 ml dung dịch S. Không quá 0,3 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (CĐ)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (CĐ)* được dùng để làm thay đổi màu của chỉ thị.

Bromid
Không được quá 0,05 %.
Pha loãng 2,0 ml dung dịch S thành 10,0 ml bằng *nước*. Thêm 4,0 ml *nước*, 2,0 ml *dung dịch đỏ phenol (TT)* và 1,0 ml *dung dịch cloramin T 0,02 % (TT)* vào 1,0 ml dung dịch trên, trộn đều ngay. Sau đúng 2 min, thêm 0,30 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 M*, trộn đều và pha loãng thành 10,0 ml bằng *nước*. Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch trên được đo ở bước sóng 590 nm, dùng *nước* làm mẫu trắng, không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch đối chiếu, được chuẩn bị trong cùng thời gian và cùng một phương pháp, dùng 5,0 ml dung dịch kali bromid 0,0003 %.

Sulfat
Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.4.14).
Lấy 15 ml dung dịch S và tiến hành thử.

Arsen
Không được quá 2 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).
Lấy 0,5 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp A.

Calci
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.4.3).
Pha loãng 1,0 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 12 ml dung dịch S tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).
Lấy 10 ml dung dịch S và tiến hành thử.

Nhôm
Nếu chế phẩm được dự định dùng để sản xuất dung dịch thẩm tách màng bụng, dung dịch thẩm tách máu hoặc dung dịch lọc máu thì phải đáp ứng yêu cầu thử giới hạn nhôm.
Không được quá 1 phần triệu (Phụ lục 9.4.9).
Dung dịch thử: Hòa tan 4 g chế phẩm trong 100 ml *nước* và thêm 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0 (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Hỗn hợp gồm 2,0 ml *dung dịch nhôm mẫu 2 phần triệu Al (TT)*, 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0 (TT)* và 98 ml *nước*.
Dung dịch mẫu trắng: Hỗn hợp gồm 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0 (TT)* và 100 ml *nước*.

Kali
Nếu chế phẩm được dự định dùng để sản xuất thuốc tiêm thì phải đáp ứng yêu cầu thử giới hạn kali.
Không được quá 0,05 %.
Phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Hòa tan 1,00 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml bằng cùng dung môi.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan trong *nước* 1,144 g *kali clorid (TT)* đã được sấy khô trước ở 100 °C đến 105 °C trong 3 h và pha loãng thành 1000,0 ml bằng cùng dung môi (600 µg K/ml).
Pha loãng theo yêu cầu.
Đo cường độ phát xạ của các dung dịch ở bước sóng 766,5 nm.

Nước
Từ 51,0 % đến 55,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 50,0 mg chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong 50 ml *nước*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* theo Phương pháp chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).
1 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 20,33 mg $MgCl_2.6H_2O$.

Bảo quản
Trong lọ kín.

Nhãn
Trên nhãn phải ghi rõ mục đích sử dụng của chế phẩm dùng trong sản xuất dung dịch thẩm tách màng bụng, dung dịch thẩm tách máu, dung dịch lọc máu hoặc dùng trong sản xuất thuốc tiêm.

Loại thuốc
Dùng để điều trị tình trạng thiếu chất điện giải và trong các dung dịch thẩm tách.

MAGNESI HYDROXYD
Magnesii hydroxydum

$Mg(OH)_2$ P.t.l: 58,32

Magnesi hydroxyd phải chứa từ 95,0 % đến 100,5 % $Mg(OH)_2$.

Tính chất
Bột vô định hình, mịn và trắng.
Thực tế không tan trong nước, tan trong các acid loãng.

Định tính
A. Hòa tan khoảng 15 mg chế phẩm trong 2 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* và trung hòa dung dịch bằng *dung*

dịch natri hydroxyd 2 M (TT). Dung dịch này phải cho phản ứng của ion magnesi (Phụ lục 8.1).
B. Chế phẩm phải đạt yêu cầu của phép thử Mất khối lượng do nung.

Màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 50 ml *acid acetic (TT)* và 50 ml *nước*, chỉ được sủi bọt nhẹ. Đun sôi 2 min, để nguội và pha loãng thành 100 ml bằng *dung dịch acid acetic 2 M (TT)*. Lọc (nếu cần) qua phễu lọc sứ hay silica có đường kính lỗ lọc thích hợp đã được nung và xác định bì trước, để được dung dịch trong.
Dung dịch S không được có màu đậm hơn màu mẫu N_7 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Chất tan trong nước
Không được quá 2,0 %.
Trộn 2,00 g chế phẩm với 100 ml *nước* và đun sôi 5 min. Lọc nóng qua phễu thủy tinh xốp (số độ xốp là 40), để nguội và pha loãng thành 100 ml bằng *nước*. Bốc hơi 50 ml dung dịch này đến khô và sấy ở 100 °C đến 105 °C đến khối lượng không đổi. Lượng cắn không được quá 20 mg.

Chất không tan trong acid acetic
Không được quá 0,1 %.
Lượng cắn còn lại trong quá trình chuẩn bị dung dịch S đã được rửa, sấy khô và nung ở 600 °C đến khối lượng không đổi không được quá 5 mg.

Clorid
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.4.5).
Pha loãng 1 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Sulfat
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.4.14)
Pha loãng 0,6 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Arsen
Không được quá 4 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).
Lấy 5 ml dung dịch S để thử theo phương pháp A.

Calci
Không được quá 1,5 % (Phụ lục 9.4.3).
Pha loãng 1,3 ml dung dịch S thành 150 ml bằng *nước*. Lấy 15 ml dung dịch thu được để thử.

Kim loại nặng
Không được quá 30 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong 20 ml *dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT)* và lắc với 25 ml *methyl isobutyl keton (TT)* 2 min. Để tách lớp, lấy lớp nước và bốc hơi đến khô. Hòa tan cắn trong 30 ml *nước*.
Lấy 12 ml dung dịch thu được thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt
Không được quá 0,07 % (Phụ lục 9.4.13).
Hòa tan 0,15 g chế phẩm trong 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và pha loãng thành 10 ml bằng *nước*. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng *nước* để thử.

Mất khối lượng do nung
Từ 29,0 % đến 32,5 %.
Nung 0,5 g chế phẩm bằng cách nâng nhiệt độ lên từ từ đến 900 °C và nung đến khối lượng không đổi.

Định lượng
Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 20 ml *nước* và 2 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* theo Phương pháp chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).
1 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 5,832 mg $Mg(OH)_2$.

Bảo quản
Trong lọ kín.

Loại thuốc
Kháng acid; nhuận tràng.

Chế phẩm
Viên nén, hỗn dịch.

VIÊN NÉN MAGNESI - NHÔM HYDROXYD
Tabellae Aluminii hydroxydi - Magnesii hydroxydi

Là viên nén chứa nhôm hydroxyd và magnesi hydroxyd. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20). Là viên nhai hoặc ngậm nên không phải thử độ tan rã.

Hàm lượng của nhôm hydroxyd, $Al(OH)_3$, và **magnesi hydroxyd,** $Mg(OH)_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.
Nếu dùng nhôm hydroxyd gel khô thì 1 mg gel khô tương ứng với 0,765 mg $Al(OH)_3$.

Định tính
A. Cân 0,7 g bột viên đã nghiền mịn, thêm 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 3 M (TT)* và 5 giọt *dung dịch đỏ methyl (TT)*, đun nóng đến sôi, thêm *dung dịch amoniac 6 M (TT)* đến khi có màu vàng đậm. Tiếp tục đun sôi trong 2 min, lọc, dịch lọc phải có phản ứng của ion magnesi (Phụ lục 8.1).
B. Rửa tủa thu được trong phần Định tính A với *dung dịch amoni clorid 2 %* nóng, hòa tan tủa trong *acid hydrocloric (TT)*, dung dịch phải có phản ứng của ion nhôm (Phụ lục 8.1).

Khả năng trung hòa (Độ hấp thụ acid)
Chú ý: Đảm bảo nhiệt độ bình thử ở 37 ± 3 °C trong suốt quá trình thử.

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng một viên và chuyển vào bình nón dung tích 250 ml. Nếu cần có thể làm ẩm toàn bộ lượng mẫu định lượng bằng 5 ml *ethanol 96% (TT)* (đã được chỉnh đến pH 3,5). Thêm 70 ml *nước* và khuấy bằng máy khuấy từ trong 1 min. Hút chính xác 30,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 N (CĐ)* vào bình nón [nếu khả năng trung hòa acid của mẫu vượt quá 25 mEq thì phải dùng 60,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 N (CĐ)*]. Tiếp tục khuấy bằng máy khuấy từ thêm đúng 15 min nữa. Ngay lập tức, chuẩn độ acid hydrocloric thừa bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,5 N (CĐ)* đến pH 3,5 (bền vững trong 10 s đến 15 s), thời gian chuẩn độ không vượt quá 5 min.

Song song tiến hành một mẫu trắng. Hiệu số thể tích dung dịch natri hydroxyd 0,5 N dùng trong mẫu trắng và dùng trong mẫu thử biểu thị lượng acid hydrocloric hấp thụ.

Lượng acid hydrocloric hấp thụ tính cho 1 viên theo khối lượng trung bình viên không được ít hơn số mEq tính bằng công thức:

$$0{,}55(0{,}0385\ A) + 0{,}8(0{,}0343\ M)$$

Trong đó:

0,0385 và 0,0343 theo thứ tự là khả năng trung hòa acid lý thuyết tính bằng mEq của $Al(OH)_3$ và $Mg(OH)_2$;

A và M lần lượt là số miligam $Al(OH)_3$ và $Mg(OH)_2$ có trong 1 viên, được tính dựa theo hàm lượng ghi trên nhãn.

1 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 N (CĐ)* tương đương 1 mEq acid hấp thụ.

Định lượng

Cân chính xác một lượng bột ở phần thử khả năng trung hòa acid tương ứng với 1200 mg nhôm hydroxyd cho vào cốc có mỏ 150 ml, thêm 20 ml *nước*, khuấy đều, thêm từ từ 30 ml *acid hydrocloric 3 M (TT)*. Đun nóng nhẹ (nếu cần) cho dễ tan. Để nguội, lọc vào bình định mức 200 ml, rửa phễu lọc bằng *nước*, gộp dịch rửa vào bình và thêm *nước* đến định mức. Trộn đều, được dung dịch A để tiến hành định lượng.

Nhôm hydroxyd: Lấy 10,0 ml dung dịch A, cho vào bình nón dung tích 250 ml rồi thêm theo thứ tự như sau: 20 ml *nước*, 25,0 ml *dung dịch Trilon B 0,05 M (CĐ)* (cho từng giọt, vừa cho vừa lắc kỹ), 20 ml *dung dịch đệm acid acetic - amoni acetat (TT)*. Đun nóng đến nhiệt độ gần sôi trong 5 min. Để nguội. Thêm 50 ml *ethanol (TT)*, 2 ml *dung dịch dithizon (TT)*. Trộn đều. Chuẩn độ lượng Trilon B thừa bằng *dung dịch kẽm sulfat 0,05 M (CĐ)* đến khi màu chuyển từ lục tím sang hồng. Song song tiến hành một mẫu trắng, thay 10 ml dung dịch A bằng 10 ml *nước*.

1 ml *dung dịch Trilon B 0,05 M (CĐ)* (dinatri edetat 0,05 M) tương đương với 3,9 mg $Al(OH)_3$.

Magnesi hydroxyd: Lấy 5,0 ml dung dịch A, cho vào bình nón dung tích 300 ml. Thêm 100 ml *nước cất (TT)*, 20 ml *triethanolamin (TT)*. Lắc đều. Thêm 10 ml *đệm amoniac-amoni clorid (TT)* và 3 giọt *dung dịch đen eriocrom T (TT)* [hòa tan 200 mg *đen eriocrom T (TT)* trong hỗn hợp 15 ml *triethanolamin (TT)* và 5 ml *ethanol (TT)*]. Làm lạnh đến 3 °C đến 4 °C. Lấy ra và chuẩn độ bằng *dung dịch Trilon B 0,05 M (CĐ)* đến khi có màu xanh lam. Song song tiến hành một mẫu trắng, thay 5 ml dung dịch A bằng 5 ml *nước*.

1 ml *dung dịch Trilon B 0,05 M (CĐ)* tương đương với 2,916 mg $Mg(OH)_2$.

Bảo quản

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

Loại thuốc

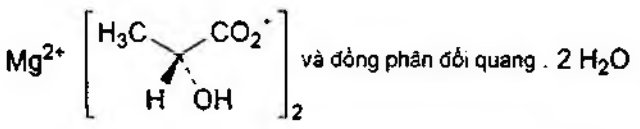
Phối hợp trong điều trị loét dạ dày - tá tràng.

Hàm lượng thường dùng

400 mg nhôm hydroxyd và 400 mg magnesi hydroxyd.

MAGNESI LACTAT DIHYDRAT

Magnesii lactas dihydricus



$C_6H_{10}MgO_6.2H_2O$ P.t.l: 238,5

Magnesi lactat dihydrat là magnesi bis(2-hydroxypropanoat) hay hỗn hợp magnesi (2*R*)-, (2*S*)- và (2*RS*)-2-hydroxypropanoat dihydrat, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_6H_{10}MgO_6$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh hoặc dạng hạt, màu trắng hay gần như trắng. Khó tan trong nước, tan trong nước sôi, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Định tính

A. Chế phẩm phải cho phản ứng của lactat (Phụ lục 8.1).

B. Chế phẩm phải cho phản ứng của ion magnesi (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hoà tan 5,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* bằng cách đun nóng, làm nguội và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn dung dịch màu đối chiếu VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Dung dịch S có pH từ 6,5 đến 8,5 (Phụ lục 6.2).

Clorid

Không được quá 200 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).

Lấy 5 ml dung dịch S pha loãng với *nước* thành 15 ml để thử.

Sulfat

Không được quá 400 phần triệu (Phụ lục 9.4.14).

Lấy 7,5 ml dung dịch S pha loãng với *nước cất (TT)* thành 15 ml để thử.

Sắt
Không được quá 50 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).
Lấy 4 ml dung dịch S pha loãng với *nước* thành 10 ml để thử.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 12 ml dung dịch S và tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Từ 14,0 % đến 17,0 % (Phụ lục 9.6).
(0,500 g; 125 °C).

Định lượng
Hòa tan 0,180 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 300 ml với cùng dung môi. Tiến hành chuẩn độ bằng *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* theo phương pháp chuẩn độ complexon cho magnesi (Phụ lục 10.5).
1 ml dung *dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 20,25 mg $C_6H_{10}MgO_6$.

Bảo quản
Trong chai lọ nút kín.

Loại thuốc
Cung cấp khoáng chất, bổ sung magnesi khi thiếu hụt.

VIÊN NÉN MAGNESI - B6
Tabellae Magnesii - Pyridoxini hydrochloridi

Là viên nén bao chứa magnesi lactat dihydrat và pyridoxin hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" mục "Viên bao" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng magnesi lactat dihydrat, $C_6H_{10}MgO_6.2H_2O$, từ 90,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng pyridoxin hydroclorid, $C_8H_{11}NO_3.HCl$, từ 90,0 % đến 115,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lấy một lượng bột viên tương đương khoảng 40 mg magnesi, thêm 5 ml *nước*, đun nóng và khuấy để hòa tan. Để nguội, lọc. Dịch lọc phải cho phản ứng của ion magnesi (Phụ lục 8.1).
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Isopropanol - nước - amoniac đậm đặc (85 : 20 : 1).
Dung môi hòa tan: Dung dịch acid hydrocloric 0,01 M - methanol (70 : 30).
Dung dịch thử: Hòa tan một lượng bột viên tương đương khoảng 0,2 g magnesi lactat dihydrat trong dung môi hòa tan ở nhiệt độ 70 °C đến 80 °C, làm nguội và thêm dung môi hòa tan vừa đủ 10 ml. Lọc.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,2 g magnesi lactat dihydrat chuẩn trong dung môi hòa tan ở nhiệt độ 70 °C đến 80 °C, làm nguội và thêm dung môi hòa tan vừa đủ 10 ml. Lọc.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, phun *dung dịch kali permanganat 1 %* và quan sát bằng mắt thường.
Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
C. Trong phần Định lượng pyridoxin hydroclorid, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic pyridoxin hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Định lượng
Cân 20 viên đã loại bỏ vỏ bao, tính khối lượng trung bình viên nhân và nghiền thành bột mịn.
Định lượng magnesi lactat dihydrat
Cân chính xác một lượng bột viên tương đương khoảng 0,25 g magnesi lactat dihydrat vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 80 ml *nước*, lắc siêu âm 15 min. Làm nguội và thêm *nước* tới định mức, lắc đều, lọc, bỏ 10 ml dịch lọc đầu. Lấy chính xác 50,0 ml dịch lọc thêm 5 ml *đệm amoniac pH 10 (TT)* và 50 mg *hỗn hợp đen eriocrom T (TT)*. Đun nóng khoảng 40 °C và chuẩn độ bằng *dung dịch Trilon B 0,05 M (CĐ)* đến khi chuyển sang màu xanh. Tiến hành song song với một mẫu trắng trong cùng điều kiện.
1 ml *dung dịch Trilon B 0,05 M (CĐ)* tương đương với 11,92 mg $C_6H_{10}MgO_6.2H_2O$.
Định lượng pyridoxin hydroclorid
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch A: Hỗn hợp gồm 75 thể tích *dung dịch kali dihydrophosphat 1,36 %* và 25 thể tích *methanol (TT)*, điều chỉnh đến pH 3,0 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Pha động: Dung dịch natri heptansulfonat 0,22 % trong dung dịch A.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch pyridoxin hydroclorid chuẩn 0,005 %.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương đương khoảng 5 mg pyridoxin hydroclorid vào bình định mức 100 ml, thêm 50 ml *nước*, lắc kỹ và siêu âm 10 min để hòa tan, thêm *nước* đến định mức, lắc đều, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (30 cm × 3,9 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 291 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic

pyridoxin hydroclorid giữa các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Tính hàm lượng pyridoxin hydroclorid, $C_8H_{11}NO_3.HCl$, dựa vào diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_8H_{11}NO_3.HCl$ trong pyridoxin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Điều trị thiếu magnesi, yếu cơ.

Hàm lượng thường dùng
470 mg magnesi lactat dihydrat, 5 mg pyridoxin hydroclorid.

MAGNESI OXYD NẶNG
Magnesii oxydum ponderosus

MgO P.t.l: 40,3

Magnesi oxyd phải chứa từ 98,0 % đến 100,5 % MgO, tính theo chế phẩm đã nung.

Tính chất
Bột trắng mịn. Thực tế không tan trong nước, tan trong dung dịch acid loãng và sủi bọt nhẹ.

Định tính
A. Chế phẩm có khối lượng riêng thô (Phụ lục 6.13) không nhỏ hơn 0,25 g/ml.
B. Hòa tan khoảng 15 mg chế phẩm trong 2 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* và trung hòa bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*. Dung dịch phải có phản ứng của ion magnesi (Phụ lục 8.1).
C. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Mất khối lượng do nung.

Màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 30 ml *nước* và 70 ml *acid acetic (TT)*. Đun sôi 2 min. Làm nguội và pha loãng với *dung dịch acid acetic 2 M (TT)* thành 100 ml. Lọc qua phễu sứ hoặc phễu silica có độ xốp thích hợp (đã nung và cân bì) để được dung dịch trong.
Dung dịch S không được có màu đậm hơn màu mẫu N_3 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Chất tan trong nước
Không được quá 2,0 %.
Trộn 2,00 g chế phẩm với 100 ml *nước* và đun sôi trong 5 min. Lọc nóng qua phễu thủy tinh xốp (số độ xốp 40), để nguội, thêm *nước* thành 100 ml. Lấy 50 ml dịch lọc bay hơi đến khô và sấy ở 100 °C đến 105 °C đến khối lượng không đổi. Cắn thu được không được quá 20 mg.

Chất không tan trong acid acetic
Không được quá 0,1 %.
Cắn thu được sau khi lọc ở phần chuẩn bị dung dịch S được rửa và nung ở 600 °C đến khối lượng không đổi, không được quá 5 mg.

Clorid
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.4.5).
Pha loãng 1,0 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Sulfat
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.4.14).
Pha loãng 0,3 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Arsen
Không được quá 4 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).
Lấy 5 ml dung dịch S, tiến hành thử theo phương pháp A.

Calci
Không được quá 1,5 % (Phụ lục 9.4.3).
Pha loãng 1,3 ml dung dịch S thành 150 ml bằng *nước*.
Lấy 15 ml dung dịch thu được để thử.

Sắt
Không được quá 0,07 % (Phụ lục 9.4.13).
Hòa tan 0,15 g chế phẩm trong 5 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*, pha loãng với *nước* thành 10 ml. Lấy 1,0 ml dung dịch thu được pha loãng thành 10 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Kim loại nặng
Không được quá 30 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 20 ml dung dịch S cho vào bình gạn, thêm 15 ml *dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT)* và lắc với 25 ml *methyl isobutyl keton (TT)* trong 2 min. Để tách lớp. Lấy lớp nước bốc hơi đến khô, cắn còn lại hòa tan trong 1 ml *acid acetic (TT)* và pha loãng thành 30 ml bằng *nước*. Lấy chính xác 12 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do nung
Không được quá 8,0 %.
Nung 1,00 g chế phẩm ở 900 °C đến khối lượng không đổi.

Định lượng
Hòa tan 0,320 g chế phẩm trong 20 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và pha loãng với *nước* thành 100,0 ml. Lấy 20,0 ml dung dịch này chuẩn độ bằng *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* theo Phương pháp chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).
1 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 4,030 mg MgO.

Bảo quản
Trong chai, lọ kín.

Loại thuốc
Kháng acid, nhuận tràng.

MAGNESI OXYD NHẸ
Magnesii oxydum levis

MgO P.t.l: 40,3

Magnesi oxyd phải chứa từ 98,0 % đến 100,5 % MgO, tính theo chế phẩm đã nung.

Tính chất
Bột trắng mịn, vô định hình.
Thực tế không tan trong nước, tan trong dung dịch acid loãng và sủi bọt nhẹ.

Định tính
A. Chế phẩm có khối lượng riêng thô (Phụ lục 6.13) không lớn hơn 0,15 g/ml.
B. Hòa tan khoảng 15 mg chế phẩm trong 2 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* và trung hòa bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*. Dung dịch phải có phản ứng của ion magnesi (Phụ lục 8.1).
C. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Mất khối lượng do nung.

Màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 30 ml *nước* và 70 ml *acid acetic (TT)*. Đun sôi 2 min. Làm nguội và pha loãng với *dung dịch acid acetic 2 M (TT)* thành 100 ml. Lọc qua phễu sứ hoặc phễu silica có độ xốp thích hợp (đã nung và cân bì) để được dung dịch trong.
Dung dịch S không được có màu đậm hơn màu mẫu N_2 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Chất tan trong nước
Không được quá 2,0 %.
Trộn 2,00 g chế phẩm với 100 ml *nước* và đun sôi trong 5 min. Lọc nóng qua phễu thủy tinh xốp (số độ xốp 40), để nguội, thêm *nước* thành 100 ml. Lấy 50 ml dịch lọc bay hơi đến khô và sấy ở 100 °C đến 105 °C đến khối lượng không đổi. Cắn thu được không được quá 20 mg.

Chất không tan trong acid acetic
Không được quá 0,1 %.
Cắn thu được sau khi lọc ở phần chuẩn bị dung dịch S được rửa và nung ở 600 °C đến khối lượng không đổi, không được quá 5 mg.

Sulfat
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.4.14).
Pha loãng 0,3 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Arsen
Không được quá 4 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).
Lấy 5 ml dung dịch S, tiến hành thử theo phương pháp A.

Calci
Không được quá 1,5 % (Phụ lục 9.4.3).
Pha loãng 1,3 ml dung dịch S thành 150 ml bằng *nước*. Lấy 15 ml dung dịch thu được để thử.

Clorid
Không được quá 0,15 % (Phụ lục 9.4.5).
Pha loãng 0,7 ml dung dịch S thành 15,0 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Sắt
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.4.13).
Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 5 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và pha loãng với *nước* thành 10 ml. Pha loãng 2 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Kim loại nặng
Không được quá 30 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 20 ml dung dịch S cho vào bình gạn, thêm 15 ml *dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT)* và lắc với 25 ml *methyl isobutyl keton (TT)* trong 2 min. Để tách lớp. Lấy lớp nước bốc hơi đến khô, cắn còn lại hòa tan trong 1,5 ml *acid acetic (TT)* và pha loãng thành 30 ml với *nước*. Lấy chính xác 12 ml dung dịch này tiến hành thử theo phương pháp 1.
Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do nung
Không được quá 8,0 %.
Nung 1,00 g chế phẩm ở 900 °C đến khối lượng không đổi.

Định lượng
Hòa tan 0,320 g chế phẩm trong 20 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và pha loãng với *nước* thành 100,0 ml. Lấy 20,0 ml dung dịch này chuẩn độ bằng *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* theo Phương pháp chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).
1 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 4,030 mg MgO.

Bảo quản
Trong chai, lọ kín.

Loại thuốc
Kháng acid, nhuận tràng.

MAGNESI STEARAT
Magnessii stearas

Magnesi stearat là hỗn hợp các muối của magnesi với các acid béo, có thể chứa những tỷ lệ thay đổi của magnesi palmitat [$(C_{15}H_{31}COO)_2$ Mg; P.t.l: 535,1] và magnesi stearat [$(C_{17}H_{35}COO)_2$Mg; P.t.l: 591,3], phải chứa từ 4,0 % đến 5,0 % magnesi (Mg), tính theo chế phẩm đã làm khô. Acid béo chứa không ít hơn 40,0 % acid stearic và tổng lượng acid stearic và acid palmitic không ít hơn 90,0 %.

Tính chất
Bột trắng mịn, nhẹ, sờ trơn tay. Thực tế không tan trong nước và ethanol.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: C, D.
Nhóm II: A, B, D.
Dung dịch S: Cho 50 ml *ether không có peroxid (TT)* vào 5,0 g chế phẩm, sau đó thêm 20 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* và 20 ml *nước*. Đun nóng dưới ống sinh hàn hồi lưu đến khi hòa tan hoàn toàn. Để nguội, tách riêng lớp nước; lắc lớp *ether* 2 lần, mỗi lần với 4 ml *nước*. Gộp tất cả các lớp nước và rửa với 15 ml *ether không có peroxid (TT)*. Pha loãng lớp nước thành 50 ml bằng *nước*.
A. Bốc hơi lớp ether của quá trình chuẩn bị dung dịch S đến khô và sấy cắn ở 100 °C đến 105 °C. Điểm đông đặc của cắn không được thấp hơn 53 °C (Phụ lục 6.6).
B. Lấy 0,200 g cắn thu được từ mục A, hòa tan trong 25 ml dung môi qui định. Chỉ số acid của các acid béo phải từ 195 đến 210 (Phụ lục 7.2).
C. Trong phần Thành phần acid béo, thời gian lưu của các pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với các pic của dung dịch phân giải.
D. 1 ml dung dịch S phải cho phản ứng định tính của ion magnesi (Phụ lục 8.1).

Giới hạn acid - kiềm
Hòa 1,0 g chế phẩm trong 20 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* và đun sôi trong 1 min (vừa đun vừa lắc liên tục), để nguội, lọc. Thêm 0,05 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)* vào 10 ml dịch lọc. Dung dịch phải chuyển màu khi thêm không quá 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)*.

Clorid
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.4.5).
Pha loãng 0,5 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Sulfat
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.4.14).
Pha loãng 0,3 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Cadmi
Không được quá 3 phần triệu.
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 2).
Dung dịch thử: Cân 50,0 mg chế phẩm và cho vào dụng cụ phá mẫu bằng polytetrafluoroethylen, thêm 0,5 ml hỗn hợp *acid hydrocloric - acid nitric không có chì và cadmi* (1 : 5). Phá mẫu ở 170 °C trong 5 h. Để nguội, hòa tan cắn bằng *nước* và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị các dung dịch chuẩn bằng cách dùng *dung dịch cadmi chuẩn 10 phần triệu Cd (TT)*, và pha loãng khi cần thiết bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 % (TT)*.
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 228,8 nm, dùng đèn cathod rỗng cadmi làm nguồn bức xạ và lò graphit.

Chì
Không được quá 10 phần triệu.
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 2).
Dung dịch thử: Chuẩn bị dung dịch thử như ở phần thử cadmi.
Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị các dung dịch chuẩn bằng cách dùng *dung dịch chì chuẩn 10 phần triệu Pb (TT)* và pha loãng bằng *nước* khi cần thiết.
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 283,3 nm, dùng đèn cathod rỗng chì làm nguồn bức xạ và lò graphit. Tùy thuộc thiết bị có thể dùng vạch phát xạ ở 217,0 nm.

Nickel
Không được quá 5 phần triệu.
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 2).
Dung dịch thử: Chuẩn bị dung dịch thử như ở phần thử cadmi.
Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị các dung dịch chuẩn bằng cách dùng *dung dịch nickel chuẩn 10 phần triệu Ni (TT)* và pha loãng bằng *nước* khi cần thiết.
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 232,0 nm, dùng đèn cathod rỗng nickel làm nguồn bức xạ và lò graphit.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 6,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Giới hạn nhiễm khuẩn
Tổng số vi khuẩn hiếu khí: Không được quá 10^3 CFU/g.
Tổng số nấm: Không được quá 10^3 CFU/g.
Xác định bằng phương pháp đĩa thạch (Phụ lục 13.6).
Chế phẩm không được có *E. coli* và *Salmonella* (Phụ lục 13.6).

Định lượng
Magnesi: Cân 0,500 g chế phẩm vào một bình nón dung tích 250 ml, thêm vào 50 ml hỗn hợp đồng thể tích *n-butanol (TT)* và *ethanol (TT)*, 5 ml *amoniac đậm đặc (TT)*, 3 ml *dung dịch đệm amoni clorid pH 10,0 (TT)*, 30,0 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* và 15 mg *hỗn hợp đen eriocrom T (TT)*, đun nóng ở 45 °C đến 50 °C đến khi dung dịch trong và chuẩn độ bằng *dung dịch kẽm sulfat 0,1 M (CĐ)* đến khi màu chuyển từ xanh lam sang tím. Song song làm mẫu trắng.
1 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 2,431 mg magnesi (Mg).
Thành phần acid béo
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).
Dung dịch thử: Hòa 0,10 g chế phẩm trong 5 ml *dung dịch boron trifluorid trong methanol (TT)* vào bình nón có lắp ống sinh hàn hồi lưu. Đun sôi hồi lưu trong 10 min. Thêm 4 ml *heptan (TT)* qua ống sinh hàn và đun sôi tiếp 10 min. Để nguội, thêm 20 ml *dung dịch natri clorid bão hòa (TT)*. Lắc và để tách lớp. Lấy khoảng 2 ml lớp dung môi hữu cơ và làm khô qua 0,2 g *natri sulfat khan (TT)*. Lấy 1,0 ml pha loãng với *heptan (TT)* thành 10,0 ml.

Dung dịch phân giải: Chuẩn bị như dung dịch thử, dùng 50,0 mg acid palmitic chuẩn và 50,0 mg acid stearic chuẩn thay cho chế phẩm.
Điều kiện sắc ký:
Cột silica nung chảy (30 m × 0,32 mm) được phủ *macrogol 20 000* (độ dày lớp phim 0,5 µm).
Khí mang: Heli dùng cho sắc ký, lưu lượng 2,4 ml/min.
Detector ion hóa ngọn lửa.
Thể tích tiêm: 1 µl.
Nhiệt độ: Duy trì nhiệt độ buồng tiêm ở 220 °C, nhiệt độ của detector ở 260 °C và nhiệt độ của cột theo chương trình sau:

Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)	Tốc độ tăng nhiệt độ (°C/min)	Ghi chú
0 - 2	70	-	Đẳng nhiệt
2 - 36	70 → 240	5	Tăng tuyến tính
36 - 41	240	-	Đẳng nhiệt

Cách tiến hành:
Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, thời gian lưu tương đối của methyl palmitat so với methyl stearat là 0,88; phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải của methyl palmitat và methyl stearat ít nhất là 5,0.
Tiến hành sắc ký dung dịch thử. Tính hàm lượng (%) của acid stearic và acid palmitic dựa trên diện tích pic của methyl palmitat và methyl stearat trong dung dịch thử theo phương pháp chuẩn hóa, bỏ qua các pic của dung môi.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Tá dược.

MAGNESI SULFAT
Magnesii sulfas

$MgSO_4.7H_2O$ P.t.l: 246,5

Magnesi sulfat phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % $MgSO_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hay tinh thể không màu, bóng.
Dễ tan trong nước, rất dễ tan trong nước sôi, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong 10 ml *nước*. Dung dịch phải cho phản ứng định tính của ion magnesi và ion sulfat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Thêm 0,05 ml *dung dịch đỏ phenol (TT)* vào 10 ml dung dịch S. Dung dịch phải chuyển màu khi thêm không quá 0,2 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)*.

Clorid
Không được quá 300 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).
Pha loãng 1,7 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Arsen
Không được quá 2 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).
Lấy 0,5 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp A.

Sắt
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).
Pha loãng 5 ml dung dịch S thành 10 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 12 ml dung dịch S và tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Từ 48,0 % đến 52,0 % (Phụ lục 9.6).
(0,500 g; 110 °C đến 120 °C; 1 h; sau đó 400 °C đến khối lượng không đổi).

Định lượng
Hòa tan 0,450 g chế phẩm trong 100 ml *nước* và tiến hành chuẩn độ theo Phương pháp chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).
1 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 12,04 mg $MgSO_4$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Nhuận tràng, điều trị thiếu hụt chất điện giải.

MAGNESI TRISILICAT
Magnesii trisilicas

Magnesi trisilicat là magnesi silicat hydrat, có thành phần thay đổi gần đúng với công thức $Mg_2Si_3O_8.xH_2O$, phải chứa không dưới 29,0 % magnesi oxyd [MgO; P.t.l: 40,30] và không dưới 65,0 % silic dioxyd [SiO_2; P.t.l: 60,1], cả hai đều tính theo chế phẩm đã nung.

Tính chất
Bột trắng. Thực tế không tan trong nước và ethanol 96 %.

Định tính
Dung dịch S: Thêm vào 2,0 g chế phẩm một hỗn hợp gồm 4 ml *acid nitric (TT)* và 4 ml *nước*, rồi đun sôi, vừa đun vừa lắc liên tục. Thêm 12 ml *nước*, để nguội, lọc hoặc ly tâm để lấy dung dịch trong và pha loãng dịch lọc này thành 20 ml với *nước*.
A. 1 ml dung dịch S, sau khi trung hòa với *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, phải cho phản ứng định tính của ion magnesi (Phụ lục 8.1).
B. Cân 0,25 g chế phẩm vào một chén chì hoặc bạch kim. Thêm vào chén 10 mg *natri fluorid (TT)* và 0,2 ml *acid sulfuric (TT)*. Dùng dây đồng để trộn đều hỗn hợp trên và dàn thành lớp mỏng. Đậy chén bằng một đĩa plastic mỏng trong suốt đã được nhỏ một giọt nước ở mặt dưới và làm nóng nhẹ nhàng, cẩn thận. Một vòng tròn màu trắng sẽ nhanh chóng xuất hiện xung quanh giọt nước.

Giới hạn kiềm
Đun nóng trên cách thủy 10,0 g chế phẩm với 100,0 g *nước* trong bình nón dung tích 200 ml (đã cân bì trước) trong 30 min, để nguội và thêm *nước* để hoàn lại khối lượng ban đầu. Để lắng, lọc hoặc ly tâm cho đến khi thu được một dịch lọc trong (Dung dịch A).
Thêm vào 10 ml dung dịch A 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)*, dung dịch phải chuyển màu khi thêm không quá 1,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)*.

Muối tan trong nước
Không được quá 1,5 %.
Lấy chính xác 20,0 ml dung dịch A cho vào chén bạch kim đã cân bì trước, bốc hơi trên cách thủy đến khô. Cắn còn lại đem nung ở 900 °C đến khối lượng không đổi. Khối lượng của cắn không được quá 30 mg.

Arsen
Không được quá 4 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).
Lấy 2,5 ml dung dịch S, tiến hành thử theo Phương pháp A.

Kim loại nặng
Không được quá 40 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Trung hòa 10 ml dung dịch S bằng *dung dịch amoniac 6 M (TT)*, dùng *dung dịch vàng metanil (TT)* làm chỉ thị ngoại sau đó pha loãng thành 20 ml bằng *nước* và lọc nếu cần.
Lấy 12 ml dung dịch thu được thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Clorid
Không được quá 500 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).
Pha loãng 0,5 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử. Mẫu đối chiếu là hỗn hợp của 5 ml *dung dịch clorid 5 phần triệu Cl (TT)* và 10 ml *nước*.

Sulfat
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.4.14).
Pha loãng 0,3 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Khả năng hấp thụ acid
1 g chế phẩm không được hấp thụ ít hơn 100,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)*.
Phân tán 0,25 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)*. Đặt trong cách thủy 2 h ở 37 °C ± 5 °C và lắc thường xuyên. Sau đó để nguội. Thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromophenol (TT)* vào 20,0 ml chất lỏng ở trên và chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* đến khi xuất hiện màu xanh lam.

Mất khối lượng sau khi nung
Từ 17 % đến 34 %.
Nung 0,5 g chế phẩm ở 900 °C đến khối lượng không đổi trong chén bạch kim.

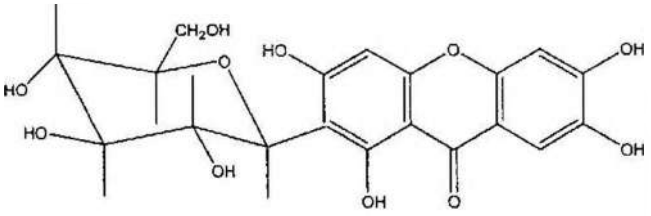
Định lượng
***Magnesi oxyd*:** Cân chính xác khoảng 1,000 g chế phẩm vào một bình nón dung tích 200 ml, thêm 35 ml *acid hydrocloric (TT)* và 60 ml *nước*, đun nóng trong cách thủy 15 min. Để nguội, lọc, rửa cắn và bình nón với *nước*, pha loãng dịch lọc và *nước* rửa thành 250,0 ml bằng *nước*. Lấy chính xác 50,0 ml dung dịch trên cho vào bình nón dung tích 500 ml, trung hòa bằng *dung dịch natri hydroxyd 10 M* (khoảng 8 ml) và pha loãng với *nước* thành 300 ml, thêm 10 ml *đệm amoniac pH 10,0 (TT)* và 50 mg *hỗn hợp đen eriocrom T (TT)*. Đun nóng đến 40 °C và chuẩn độ bằng *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* tới khi màu chuyển từ tím sang xanh.
1 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 4,030 mg MgO.
***Silic dioxyd*:** Cân chính xác khoảng 0,700 g chế phẩm cho vào cốc có mỏ, thêm 10 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* và 10 ml *nước*, đun nóng trên cách thủy trong 90 min, lắc thường xuyên và bổ sung lượng nước đã bốc hơi. Để nguội, gạn qua giấy lọc không tro, có đường kính 7 cm, rửa cắn bằng cách gạn 3 lần, mỗi lần với 5 ml *nước* nóng, chuyển toàn bộ cắn vào giấy lọc và rửa cắn với nước nóng đến khi 1 ml dung dịch lọc vẫn trong khi thêm 0,05 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và 2 ml *dung dịch bari clorid 0,25 M (TT)*. Nung giấy lọc và cắn trong chén bạch kim đã cân bì trước ở 900 °C đến khối lượng không đổi.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Kháng acid.

MANGIFERIN

Mangiferinum



$C_{19}H_{18}O_{11}$ P.t.l: 422,2

Mangiferin là 2-C-β-D-glucopyranozido-1,3,6,7-tetra-hydroxyxanthon, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{19}H_{18}O_{11}$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh mịn, màu vàng ánh lục, gần như không mùi. Hơi tan trong hỗn hợp aceton - nước (1 : 1), thực tế không tan trong nước, ethanol 96 % và cloroform.

Định tính

A. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch chế phẩm 0,001 % trong *methanol (TT)*, trong khoảng bước sóng 220 nm đến 400 nm, phải có hấp thụ cực đại ở các bước sóng 241 nm ± 2 nm, 258 nm ± 2 nm, 316 nm ± 2 nm và 366 nm ± 3 nm.

B. Hòa tan khoảng 0,01 g chế phẩm trong 10 ml hỗn hợp *aceton - nước* (1 : 1), thêm 0,01 g *magnesi (TT)* và 1 ml *acid hydrocloric (TT)*, sau 10 min sẽ xuất hiện màu vàng cam.

C. Trong phần Tạp chất liên quan, vết chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (2) phải phù hợp với vết chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí, màu sắc và kích thước.

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: *Celulose dùng cho sắc ký.*

Dung môi khai triển: Dung dịch acid acetic 15 % (tt/tt).

Dung môi pha mẫu: *Aceton - nước* (1 : 1).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong 40 ml dung môi pha mẫu và pha loãng thành 50,0 ml với dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 5,0 ml bằng dung môi pha mẫu.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50,0 mg mangiferin chuẩn trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml bằng dung môi pha mẫu.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20,0 ml bằng dung môi pha mẫu.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 10,0 ml với dung môi pha mẫu.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên, riêng dung dịch thử (1) chấm 50 µl. Làm khô các vết chấm bằng luồng không khí mát. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản sắc ký ra và để khô ngoài không khí. Quan sát sắc ký đồ dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm.

Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (1): Không một vết phụ nào được đậm màu hơn vết chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) (4 %), không quá 1 vết phụ đậm màu hơn vết trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (1 %) và không quá 2 vết phụ đậm màu hơn vết trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3) (0,5 %). Bỏ qua vết (nếu có) tại điểm xuất phát.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 1,0 g chế phẩm và tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 1,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 1).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Cân chính xác khoảng 40 mg chế phẩm vào bình định mức 50 ml, thêm 40 ml hỗn hợp *aceton - dung dịch acid hydrocloric 1 %* (1 : 1), lắc siêu âm cho đến khi tan hoàn toàn, thêm hỗn hợp *aceton - dung dịch acid hydrocloric 1 %* (1 : 1) vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc, nếu cần. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được (hay dịch lọc) thành 100,0 ml bằng hỗn hợp *aceton - dung dịch acid hydrocloric 1 %* (1 : 1). Tiến hành pha dung dịch chuẩn tương tự như dung dịch thử, dùng mangiferin chuẩn thay cho chế phẩm. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch chuẩn và dung dịch thử ở bước sóng cực đại khoảng 368 nm trong cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là hỗn hợp *aceton - dung dịch acid hydrocloric 1 %* (1 : 1).

Dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ $C_{19}H_{18}O_{11}$ của dung dịch chuẩn, tính hàm lượng mangiferin, $C_{19}H_{18}O_{11}$, trong chế phẩm.

Bảo quản

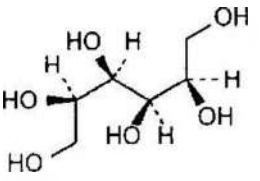
Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng virus.

MANITOL

Mannitolum



$C_6H_{14}O_6$ P.t.l: 182,2

Manitol là D-manitol, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_6H_{14}O_6$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh đa hình hoặc hạt nhỏ, màu trắng hay gần như trắng. Dễ tan trong nước, rất khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của manitol chuẩn. Chuẩn bị các mẫu đo dưới dạng đĩa nén.
Nếu phổ của chế phẩm và chuẩn khác nhau thì hòa tan riêng rẽ 25 mg chế phẩm và 25 mg chất chuẩn trong 0,25 ml *nước cất*, không đun nóng, dung dịch thu được trong, bốc hơi tới khô trong lò vi sóng có công suất từ 1000 W đến 1300 W trong 15 min đến 30 min hoặc trong chân không ở 100 °C. Thu được bột màu trắng hoặc hơi vàng, không dính. Ghi lại phổ hồng ngoại của cắn thu được.
B. Điểm chảy từ 165 °C đến 170 °C (Phụ lục 6.7).
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G.*
Dung môi khai triển: *Propanol - ethyl acetat - nước* (70 : 20 : 10).
Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg manitol chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 25 mg manitol chuẩn và 25 mg sorbitol chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai bản mỏng trong bình dung môi đến khi dung môi chạy được khoảng 2/3 chiều dài bản mỏng. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và phun *dung dịch acid 4-aminobenzoic (TT)*. Để khô bản mỏng trong luồng khí lạnh đến khi aceton bay hết. Sấy bản mỏng ở 100 °C trong 15 min. Để nguội và phun *dung dịch natri periodat 0,2 % (TT)*. Để khô bản mỏng trong luồng khí lạnh. Sấy bản mỏng ở 100 °C trong 15 min.
Trên sắc ký đồ, vết chính của dung dịch thử phải có vị trí, màu sắc và kích thước giống với vết chính của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách nhau rõ ràng rộng hơn.
D. Góc quay cực riêng (Phụ lục 6.4) từ +23° đến +25°, tính theo chế phẩm khan.
Hòa tan 2,00 g chế phẩm và 2,6 g *natri tetraborat (TT)* trong khoảng 20 ml *nước* ở 30 °C; lắc liên tục trong 15 min đến 30 min không làm nóng để được dung dịch trong, thêm *nước* thành 25,0 ml để đo.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Độ dẫn điện
Không quá 20 $\mu S \cdot cm^{-1}$.
Hòa tan 20,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* bằng cách đun nóng ở 40 °C đến 50 °C và pha loãng thành 100,0 ml bằng cùng dung môi. Để nguội và đo độ dẫn điện (Phụ lục 6.10) của dung dịch, khuấy nhẹ bằng que khuấy từ.

Đường khử
Không được quá 0,2 % (tính theo glucose).
Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 25 ml *nước* bằng cách đun nóng nhẹ. Để nguội và thêm 20 ml *dung dịch đồng citrat (TT)* và vài viên bi thủy tinh. Đun nóng sao cho sau 4 min thì sôi và đun sôi tiếp 3 min. Làm nguội nhanh, thêm 100 ml *dung dịch acid acetic băng 2,4 % (tt/tt)* và 20,0 ml *dung dịch iod 0,05 N (CĐ)*. Vừa lắc vừa thêm 25 ml hỗn hợp *acid hydrocloric - nước* (6 : 94). Khi tủa tan hết, chuẩn độ iod thừa bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,05 N (CĐ)* với chỉ thị là *dung dịch hồ tinh bột (TT)* cho vào cuối phép chuẩn độ. Lượng *dung dịch natri thiosulfat 0,05 N (CĐ)* tiêu thụ không được ít hơn 12,8 ml.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Nước* đã được đuổi khí.
Dung dịch thử: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 25 ml *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,50 g manitol chuẩn trong 2,5 ml *nước* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 0,5 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 20,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 0,5 g *manitol (TT)* và 0,5 g *sorbitol (TT)* (tạp chất A) trong 5 ml *nước* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (5): Hòa tan 0,1 g *maltitol (TT)* (tạp chất B) và 0,1 g *isomalt (TT)* (tạp chất C) trong 5 ml *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (30 cm × 7,8 mm) được nhồi pha tĩnh là nhựa trao đổi cation mạnh (dạng calci) (9 µm).
Nhiệt độ cột: 85 °C ± 1 °C.
Detector khúc xạ duy trì ở nhiệt độ không đổi.
Tốc độ dòng: 0,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của manitol.
Thời gian lưu tương đối so với manitol (thời gian lưu khoảng 22 min): Tạp chất C (rửa giải ra 2 pic) khoảng 0,7; tạp chất B khoảng 0,8; tạp chất A khoảng 1,2.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4), độ phân giải giữa pic của manitol và pic của tạp chất A ít nhất là 2.

Giới hạn:
Tạp chất A, B: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (2,0 %).
Tạp chất C: Tổng diện tích 2 pic của tạp chất C không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (2,0 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (2,0 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: D-glucitol (D-sorbitol).
Tạp chất B: 4-*O*-α-D-glucopyranosyl-D-glucitol (D-maltitol).
Tạp chất C: Hỗn hợp của 6-*O*-α-D-glucopyranosyl-D-glucitol và 1-*O*-α-D-glucopyranosyl-D-manitol (isomalt).

Chì
Không được quá 0,5 phần triệu (Phụ lục 9.4.4).
Hòa tan 20,0 g chế phẩm trong 150,0 ml *dung dịch acid acetic 1 M (TT)* và tiến hành thử.

Nickel
Không được quá 1 phần triệu (Phụ lục 9.4.10).
Hòa tan 20,0 g chế phẩm trong 150,0 ml *dung dịch acid acetic 1 M (TT)* và tiến hành thử.

Nước
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 1,00 g chế phẩm. Dung môi là 40 ml hỗn hợp đồng thể tích *methanol khan (TT)* và *formamid (TT)* ở khoảng 50 °C.

Giới hạn nhiễm khuẩn (Phụ lục 13.6)
Nếu chế phẩm dự định để sản xuất thuốc tiêm: Tổng số vi sinh vật hiếu khí: Không được quá 10^2 CFU/g.
Nếu chế phẩm không dùng để sản xuất thuốc tiêm: Tổng số vi sinh vật hiếu khí: Không được quá 10^3 CFU/g. Tổng số nấm: Không được quá 10^2 CFU/g. Chế phẩm không được có *Escherichia coli* và *Salmonella*.

Nội độc tố vi khuẩn
Không quá 4 EU/g đối với thuốc tiêm có chứa 100 g manitol trong 1 L hoặc ít hơn và không quá 2,5 EU/g đối với thuốc tiêm có chứa nhiều hơn 100 g manitol trong 1 L (Phụ lục 13.2), nếu chế phẩm dự định để sản xuất thuốc tiêm mà không có phương pháp hữu hiệu nào khác để loại nội độc tố vi khuẩn.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1). Tính hàm lượng của $C_6H_{14}O_6$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng của $C_6H_{14}O_6$ trong manitol chuẩn.

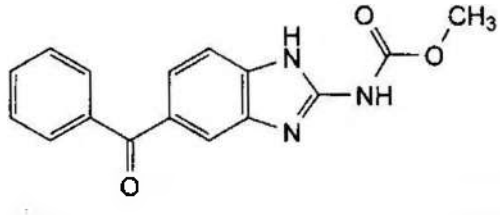
Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Thuốc lợi tiểu.

Chế phẩm
Dịch truyền.

Nhãn
Nếu cần, phải ghi nồng độ tối đa nội độc tố vi khuẩn và chế phẩm có đạt yêu cầu để sản xuất thuốc tiêm hay không.

MEBENDAZOL
Mebendazolum



$C_{16}H_{13}N_3O_3$ P.t.l: 295,3

Mebendazol là methyl (5-benzoyl-1*H*-benzimidazol-2-yl) carbamat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{16}H_{13}N_3O_3$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột màu trắng hoặc gần như trắng, đa hình.
Thực tế không tan trong nước, methylen clorid và ethanol 96 %.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của mebendazol chuẩn.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Dung dịch amoni acetat 0,75 % (TT).
Pha động B: Acetonitril (TT).
Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong *dimethylformamid (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5,0 mg mebendazol chuẩn để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống trong *dimethylformamid (TT)* và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *dimethylformamid (TT)*. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng *dimethylformamid (TT)*.

Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *base-deactivated octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (3 µm).
Nhiệt độ cột: 40 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 250 nm.
Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 15	80 → 70	20 → 30
15 - 20	70 → 10	30 → 90
20 - 25	10	90

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) phải giống với sắc ký đồ cung cấp kèm theo mebendazol chuẩn để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic tạp chất G với 1,4.
Tạp chất G: Diện tích pic tạp chất G đã hiệu chỉnh không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,25 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 4 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: (2-amino-1*H*-benzimidazol-5-yl)phenylmethanon.
Tạp chất B: (2-hydroxy-1*H*-benzimidazol-5-yl)phenylmethanon.
Tạp chất C: (2-amino-1-methyl-1*H*-benzimidazol-5-yl)phenylmethanon.
Tạp chất D: Methyl (5-benzoyl-1-methyl-1*H*-benzimidazol-2-yl)carbamat.
Tạp chất E: Ethyl (5-benzoyl-1*H*-benzimidazol-2-yl)carbamat.
Tạp chất F: Methyl [5-(4-methylbenzoyl)-1*H*-benzimidazol-2-yl]carbamat.
Tạp chất G: *N,N'*-bis(5-benzoyl-1*H*-benzimidazol-2-yl)ure.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C; 4 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 3 ml *acid formic khan (TT)* và thêm 50 ml hỗn hợp *acid acetic khan - butan-2-on* (1 : 7). Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 29,53 mg $C_{16}H_{13}N_3O_3$.

Bảo quản
Trong bao bì kín và tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Trị giun sán.

Chế phẩm
Viên nén, hỗn dịch uống.

VIÊN NÉN MEBENDAZOL
Tabellae Mebendazoli

Là viên nén chứa mebendazol.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng mebendazol, $C_{16}H_{13}N_3O_3$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - acid formic 96 % (90 : 5 : 5).
Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên tương ứng với 200 mg mebendazol, lắc kỹ với 20 ml hỗn hợp *cloroform - acid formic* 96 % (19 : 1). Làm ấm hỗn dịch này trong nồi cách thủy vài phút, để nguội, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50 mg mebendazol đối chiếu trong 5 ml hỗn hợp *cloroform - acid formic* 96 % (19 : 1).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên, làm khô vết chấm. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi chuyển được 3/4 bản mỏng, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho giá trị R_f tương ứng với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* chứa *natri laurylsulfat 1% (TT).*
Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 120 min.
Cách tiến hành:
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm: Hòa tan 8 g *natri hydroxyd (TT)* trong 2 L *nước*, thêm 3 g *natri laurylsulfat (TT)*, trộn, sau đó thêm

20 ml *acid phosphoric (TT)* và chỉnh đến pH 2,5 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Pha động: *Acetonitril - dung dịch đệm* (3 : 7). Lọc và đuổi khí pha động, điều chỉnh tỉ lệ pha động nếu cần.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác 25 mg mebendazol chuẩn cho vào bình định mức 50 ml, thêm 10 ml *acid formic (TT)*, lắc để hòa tan và thêm đến định mức bằng *methanol (TT)*. Pha loãng dung dịch thu được bằng môi trường hòa tan để được dung dịch có nồng độ tương tự như nồng độ của dung dịch thử.
Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan chế phẩm, lọc, bỏ dịch lọc đầu.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic mebendazol trong 6 lần tiêm nhắc lại phải không lớn hơn 2 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính lượng mebendazol, $C_{16}H_{13}N_3O_3$, hòa tan trong viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{16}H_{13}N_3O_3$ trong mebendazol chuẩn.
Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng mebendazol so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 120 min.

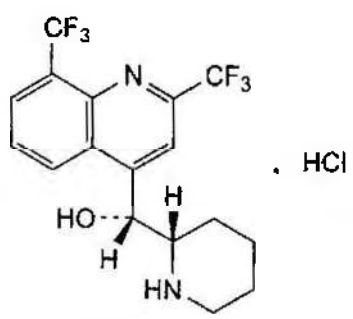
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - dung dịch kali dihydrophosphat 0,05M (60 : 40). Điều chỉnh pH của hỗn hợp đến 5,5 bằng *acid phosphoric 0,1 M (TT)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, lọc. Điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác 25 mg mebendazol chuẩn cho vào bình định mức 100 ml, thêm 10 ml *acid formic* (TT), đun trong cách thủy ở 50 °C trong 15 min, lắc bằng máy lắc trong 5 min, thêm 90 ml *methanol (TT)*, để nguội và thêm *methanol (TT)* tới định mức, lắc đều. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 25,0 ml với pha động.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 500 mg mebendazol cho vào bình định mức 100 ml, thêm 50 ml *acid formic (TT)*, đun trong cách thủy ở 50 °C trong 15 min. Lắc bằng máy lắc trong 1 h, pha loãng với *nước* đến định mức, lắc, lọc. Loại bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Hút chính xác 5 ml dịch lọc cho vào bình định mức 100 ml, pha loãng với hỗn hợp dung dịch *acid formic - methanol* (1 : 9) đến định mức, trộn đều. Hút chính xác 5,0 ml dung dịch này cho vào bình định mức 25 ml, pha loãng với pha động đến định mức.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Nhiệt độ cột: 30 °C.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng phải không lớn hơn 2, hiệu lực cột được xác định từ pic chính có số đĩa lý thuyết không dưới 2500 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic chính trong 6 lần tiêm nhắc lại không lớn hơn 1 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính lượng mebendazol, $C_{16}H_{13}N_3O_3$, trong viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{16}H_{13}N_3O_3$ trong mebendazol chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc trị giun sán.

Hàm lượng thường dùng
500 mg.

MEFLOQUIN HYDROCLORID
Mefloquini hydrochloridum



và đồng phân đối quang

$C_{17}H_{16}F_6N_2O.HCl$ P.t.l: 414,8

Mefloquin hydroclorid là (*RS*)-[2,8-bis(trifluoromethyl)-quinolin-4-yl][(2*SR*)-piperidin-2-yl]methanol hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{17}H_{16}F_6N_2O.HCl$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc vàng nhạt, đa hình. Rất khó tan trong nước, dễ tan trong methanol, tan trong ethanol 96 %. Chảy ở khoảng 260 °C kèm theo phân hủy.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, E.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của mefloquin hydroclorid chuẩn. Nếu có sự khác biệt giữa hai phổ, hòa tan riêng biệt chế phẩm và chất chuẩn trong *methanol (TT)*, bay hơi đến khô và đo phổ hồng ngoại của các cắn thu được.

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254} đã được triển khai bằng hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (20 : 80), sấy khô ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C trong 15 min trước khi sử dụng.

Dung môi khai triển: Acid acetic khan - methanol - methylen clorid (10 : 10 : 80).

Dung dịch thử: Hòa tan 8 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 8 mg mefloquin hydroclorid chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2,5 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng *methanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (3): Thêm 1 ml dung dịch quinidin sulfat chuẩn 0,0016 % vào 1 ml dung dịch đối chiếu (2).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl các dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (3). Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được 10 cm. Làm khô bản mỏng bằng một luồng không khí ấm trong 15 min, kiểm tra dưới ánh sáng đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Phun nhẹ bằng hỗn hợp *acid sulfuric - thuốc thử iodoplatinat* (1 : 40) được pha ngay trước khi sử dụng. Sau đó phun bản mỏng với *dung dịch hydrogen peroxyd đậm đặc (TT)*. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) cho hai vết tách ra rõ ràng.

C. Trộn khoảng 10 mg chế phẩm với 45 mg *magnesi oxyd nặng (TT)* trong chén nung, nung cho đến khi thu được cắn màu trắng. Để nguội, thêm 2 ml *nước* và 0,05 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)*, thêm khoảng 1 ml *acid hydrocloric loãng (TT)* để tạo dung dịch không màu. Lọc, thêm vào dịch lọc 0,1 ml *dung dịch alizarin S (TT)* mới pha và 0,1 ml *dung dịch zirconyl nitrat (TT)*. Trộn đều, để yên 5 min và so sánh màu của dung dịch thử với màu của mẫu trắng được chuẩn bị tương tự nhưng không có chế phẩm. Dung dịch thử có màu vàng, mẫu trắng có màu đỏ.

D. Thêm vào khoảng 20 mg chế phẩm 0,2 ml *acid sulfuric (TT)*, xuất hiện huỳnh quang màu xanh lam khi nhìn dưới đèn tử ngoại 365 nm.

E. Chế phẩm phải cho phản ứng (B) của ion clorid (Phụ lục 8.1)

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu VN_7 (Phụ lục 9.3, phương pháp 1).

Góc quay cực

Từ -0,2° đến +0,2° (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 1 g *tetraheptylamoni bromid (TT)* trong hỗn hợp gồm 200 ml *methanol (TT)*, 400 ml *dung dịch natri hydrosulfat 0,15 %* và 400 ml *acetonitril (TT)*.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 8 mg mefloquin hydroclorid chuẩn và 8 mg quinidin sulfat chuẩn trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4 mm) và tiền cột kích thước (2,5 cm × 4 mm) đều được nhồi pha tĩnh là *end-capped octadecylsilyl silica gel* (5 µm).

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

Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Ổn định cột bằng cách cho pha động chạy qua cột với tốc độ 2 ml/min, trong khoảng 30 min.

Tiêm dung dịch đối chiếu (1), điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao của pic chính trên sắc ký đồ không được dưới 50 % của thang đo.

Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), thời gian lưu của quinidin khoảng 2 min, mefloquin khoảng 4 min, tạp chất B khoảng 15 min và tạp chất A khoảng 36 min.

Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa quinidin và mefloquin ít nhất là 8,5.

Tiến hành sắc ký dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1) với thời gian gấp 10 lần thời gian lưu của pic chính.

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

Diện tích của pic có thời gian lưu tương đối bằng khoảng 0,7 so với mefloquin không được lớn hơn 2 lần diện tích của pic chính của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).

Diện tích của bất kỳ pic phụ khác không được lớn hơn diện tích của pic chính của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).

Tổng diện tích của các pic phụ này không được lớn hơn 5 lần diện tích của pic chính của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).

Loại bỏ những pic có diện tích nhỏ hơn 0,2 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (1).

Ghi chú:

Tạp chất A: [2,8-bis(trifluoromethyl)quinolin-4-yl]-(pyridin-2-yl)methanon.

Tạp chất B: (*RS*)-[2,8-bis(trifluoromethyl)quinolin-4-yl](pyridin-2-yl)methanol.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Không được quá 3,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp chuẩn độ trong môi trường khan (Phụ lục 10.6).
Cân chính xác khoảng 0,350 g chế phẩm, hòa tan trong 15 ml *acid formic khan (TT)*, thêm 40 ml *anhydrid acetic (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 41,48 mg $C_{17}H_{17}ClF_6N_2O$.

Bảo quản
Trong đồ bao gói kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng ký sinh trùng sốt rét.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN MEFLOQUIN
Tabellae Mefloquini

Là viên nén chứa mefloquin hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng mefloquin hydroclorid, $C_{17}H_{16}F_6N_2O.HCl$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254} đã được triển khai bằng hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (20 : 80), sấy khô ở 100 °C đến 105 °C trong 15 min trước khi sử dụng.
Dung môi khai triển: *Acid acetic khan - methanol - methylen clorid* (10 : 10 : 80).
Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên tương ứng với khoảng 16 mg mefloquin hydroclorid, thêm 10 ml *methanol (TT)*, lắc kỹ và lọc.
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch mefloquin hydroclorid chuẩn có nồng độ 1,6 mg/ml trong *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2,5 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (3): Thêm 1 ml dung dịch quinidin sulfat chuẩn 0,016 mg/ml vào 1 ml dung dịch đối chiếu (2).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm. Lấy bản mỏng ra khỏi bình sắc ký, để bản mỏng khô ngoài không khí khoảng 15 min. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Phun nhẹ bằng hỗn hợp được pha ngay trước khi sử dụng gồm 1 thể tích *acid sulfuric (TT)* và 40 thể tích *thuốc thử iodoplatinat (TT)*. Sau đó phun lên bản mỏng *dung dịch hydrogen peroxyd đậm đặc (TT)*.
Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về giá trị R_f, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) cho hai vết tách ra rõ ràng.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic mefloquin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
C. Lắc một lượng bột viên tương đương 0,2 g mefloquin hydroclorid với 20 ml *nước*, lọc, dịch lọc cho phản ứng A đặc trưng của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ hòa tan
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 50 r/min
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành :
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, hút dịch hòa tan, lọc. Pha loãng dịch lọc nếu cần với môi trường hòa tan để có nồng độ tương tự như dung dịch chuẩn.
Dung dịch chuẩn: Pha dung dịch mefloquin hydroclorid chuẩn trong môi trường hòa tan có nồng độ chính xác khoảng 0,2 mg/ml [có thể sử dụng *methanol (TT)* với lượng không vượt quá 5 % thể tích cuối cùng để hòa tan hoàn toàn mefloquin]. Tiếp tục pha loãng với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ mefloquin hydroclorid khoảng 0,04 mg/ml.
Đo độ hấp thụ của dung dịch thử và chuẩn ở bước sóng 285 nm (Phụ lục 4.1), sử dụng cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan.
Yêu cầu: Không được ít hơn 80 % (Q) lượng mefloquin hydroclorid, $C_{17}H_{16}F_6N_2O.HCl$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 1 g *tetraheptylamoni bromid (TT)* trong hỗn hợp gồm 200 ml *methanol (TT)*, 400 ml dung dịch có chứa 1,5 g/l *natri hydrosulfat (TT)* và 400 ml *acetonitril (TT)*.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng mefloquin hydroclorid chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,1 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 20 mg mefloquin hydroclorid vào bình định mức 200 ml, thêm 100 ml pha động và lắc siêu âm 15 min. Pha loãng bằng pha động vừa đủ đến định mức, lắc đều. Lọc.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 8 mg mefloquin hydroclorid chuẩn và 8 mg quinidin sulfat chuẩn trong vừa đủ 50,0 ml pha động. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (25 cm × 4 mm) và tiền cột (2,5 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

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

Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch phân giải, độ phân giải giữa hai pic mefloquin và quinidin không nhỏ hơn 8,5. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic mefloquin trong 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.

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

Tính hàm lượng mefloquin hydroclorid, $C_{17}H_{16}F_6N_2O.HCl$, có trong viên dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{17}H_{16}F_6N_2O.HCl$ của mefloquin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

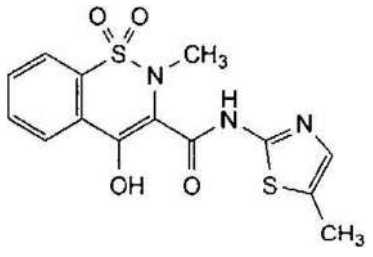
Kháng ký sinh trùng sốt rét.

Hàm lượng thường dùng

250 mg (tính theo dạng hydroclorid).

MELOXICAM

Meloxicamum



$C_{14}H_{13}N_3O_4S_2$ P.t.l: 351,4

Meloxicam là 4-hydroxy-2-methyl-*N*-(5-methylthiazol-2-yl)-2*H*-1,2-benzothiazin-3-carboxamid 1,1-dioxyd, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{14}H_{13}N_3O_4S_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột màu vàng nhạt, đa hình. Thực tế không tan trong nước, tan trong dimethylformamid, rất khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của meloxicam chuẩn. Nếu phổ hấp thụ hồng ngoại ở trạng thái rắn của mẫu thử và meloxicam chuẩn khác nhau thì hòa tan riêng rẽ chế phẩm và meloxicam chuẩn trong *aceton (TT)*, bay hơi tới cắn rồi tiến hành ghi lại phổ mới của cắn.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Dung dịch kali dihydrophosphat 0,1 % được điều chỉnh đến pH 6,0 *bằng dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT).*

Pha động B: Methanol (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 40 mg chế phẩm trong hỗn hợp gồm 5 ml *methanol (TT)* và 0,3 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml bằng *methanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 2,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *methanol (TT)*. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *methanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 2 mg chế phẩm, 2 mg tạp chất A chuẩn của meloxicam, 2 mg tạp chất B chuẩn của meloxicam, 2 mg tạp chất C chuẩn của meloxicam và 2 mg tạp chất D chuẩn của meloxicam trong hỗn hợp gồm 5 ml *methanol (TT)* và 0,3 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* và pha loãng thành 25 ml bằng *methanol (TT)*.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).

Nhiệt độ cột: 45 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 260 nm và 350 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 2	60	40
2 - 10	60 → 30	40 → 70
10 - 15	30	70

Thời gian lưu tương đối so với meloxicam (thời gian lưu khoảng 7 min): Tạp chất B khoảng 0,5; tạp chất A khoảng 1,4; tạp chất C khoảng 1,7; tạp chất D khoảng 1,9.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của meloxicam và pic của tạp chất A ít nhất là 3,0 ở 350 nm; độ phân giải giữa pic của tạp chất B và pic của meloxicam ít nhất là 3,0 ở 260 nm.

Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất A với 2,0.
Tạp chất A ở bước sóng 350 nm: Diện tích pic tạp chất A đã hiệu chỉnh không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) ở bước sóng 350 nm (0,1 %).
Tạp chất B ở bước sóng 260 nm: Diện tích pic tạp chất B không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) ở bước sóng 350 nm (0,1 %).
Tạp chất C, D ở bước sóng 350 nm: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) ở bước sóng 350 nm (0,05 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, ở bước sóng cho đáp ứng của tạp lớn hơn, diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) ở bước sóng tương ứng (0,10 %).
Tổng các tạp chất: Không được quá 0,3 %.
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) ở bước sóng tương ứng (0,03 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Ethyl 4-hydroxy-2-methyl-2*H*-1,2-benzothiazin-3-carboxylat 1,1-dioxyd.
Tạp chất B: 5-methylthiazol-2-amin.
Tạp chất C: *N*-[(2*Z*)-3,5-dimethylthiazol-2(3*H*)-yliden]-4-hydroxy-2-methyl-2*H*-1,2-benzothiazin-3-carboxamid 1,1-dioxyd.
Tạp chất D: *N*-[(2*Z*)-3-ethyl-5-methylthiazol-2(3*H*)-yliden]-4-hydroxy-2-methyl-2*H*-1,2-benzothiazin-3-carboxamid 1,1-dioxyd.
Tạp chất E: Methyl 4-hydroxy-2-methyl-2*H*-1,2-benzothiazin-3-carboxylat 1,1-dioxyd.
Tạp chất F: Isopropyl 4-hydroxy-2-methyl-2*H*-1,2-benzothiazin-3-carboxylat 1,1-dioxyd.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 6. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C, 4 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Để tránh quá nóng trong suốt quá trình chuẩn độ, trộn đều liên tục và dừng chuẩn độ ngay lập tức sau khi đạt đến điểm kết thúc.
Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 5 ml *acid formic khan (TT)* và 50 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 35,14 mg $C_{14}H_{13}N_3O_4S_2$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Giảm đau và chống viêm không steroid.

Chế phẩm
Viên nén, thuốc tiêm.

VIÊN NÉN MELOXICAM
Tabellae Meloxicami

Là viên nén chứa meloxicam.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng meloxicam, $C_{14}H_{13}N_3O_4S_2$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel F_{254}.
Dung môi khai triển: Amoniac 13,5 M - methanol - dicloromethan (1 : 20 : 80)
Dung dịch thử: Cân một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 50 mg meloxicam, thêm 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M trong methanol* và 20 ml *methanol (TT)*, lắc trong 15 min và lọc.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50 mg meloxicam trong 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M trong methanol*, pha loãng dung dịch thu được thành 25 ml bằng *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Quan sát dưới sáng từ ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về hình dạng, màu sắc và R_f với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Trong mục Định lượng, sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic meloxicam trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch đệm.
Chuẩn bị dung dịch đệm: Hòa tan 13,61 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 800 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 7,5 với *dung dịch natri hydroxyd 0,5 M* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành:
Dung dịch chuẩn: Hòa tan 30 mg meloxicam chuẩn trong 5 ml *methanol (TT)*, thêm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* và thêm môi trường hòa tan tới vừa đủ 200,0 ml. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml với môi trường hòa tan (dung dịch thu được có hàm lượng meloxicam khoảng 0,00075 %).
Dung dịch thử: Lọc dung dịch môi trường sau khi hòa tan chế phẩm, bỏ 20 ml dịch lọc đầu, pha loãng với môi trường hòa tan để có nồng độ tương đương với dung dịch chuẩn (nếu cần).
Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch chuẩn và dung dịch thử ở bước sóng 362 nm, mẫu trắng là môi trường hòa tan.
Tính hàm lượng meloxicam đã hòa tan trong một viên từ độ hấp thụ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng của $C_{14}H_{13}N_3O_4S_2$ trong meloxicam chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng meloxicam, $C_{14}H_{13}N_3O_4S_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Trộn đều 630 ml dung môi A và 370 ml dung môi B.
Dung môi A: Dung dịch *diamoni hydrophosphat 0,20 %*, điều chỉnh tới pH 7 bằng *dung dịch acid phosphoric 2 M*.
Dung môi B: Trộn 650 ml *methanol (TT)* với 100 ml *2-propanol (TT)*, trộn đều.
Dung dịch (1): Cân một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 30 mg meloxicam, thêm 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, trộn đều để làm ẩm, thêm 40 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm trong 5 min. Thêm tiếp 40 ml *methanol (TT)*, lắc bằng khuấy từ trong 3 h và sau đó lắc siêu âm trong 5 min. Để nguội, thêm *methanol (TT)* vừa đủ 100,0 ml và lọc.
Dung dịch (2): Pha loãng 2,0 ml dung dịch (1) thành 100,0 ml với *methanol (TT)*; pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml với *methanol (TT)*.
Dung dịch (3): Hòa tan 4,5 mg 5-methylthiazol-2-ylamin trong 20 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* và 20 ml *methanol (TT)*, để nguội và thêm *methanol (TT)* vừa đủ 200,0 ml. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml với *methanol (TT)*.
Dung dịch (4): Hỗn hợp đồng thể tích dung dịch (1) và dung dịch (3).
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm).
Nhiệt độ cột: 40 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Phép thử chỉ có giá trị nếu trên sắc ký đồ của dung dịch (4), hệ số phân giải giữa hai pic chính ít nhất bằng 4.
Trên sắc ký đồ của dung dịch (1), diện tích của pic tương ứng với 5-methylthiazol-2-ylamin không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch (3) (0,15 %); diện tích của bất kỳ pic phụ nào khác không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch (2) (0,2 %) và tổng diện tích của các pic phụ không được lớn hơn 2,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch (2) (0,5 %).

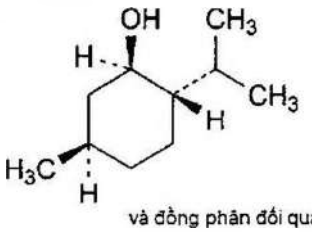
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, điều kiện sắc ký thực hiện như mục Tạp chất liên quan.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 30 mg meloxicam, thêm 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, thêm 40 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm trong 5 min. Thêm tiếp 40 ml *methanol (TT)*, lắc bằng khuấy từ trong 3 h và sau đó lắc siêu âm trong 5 min. Để nguội, thêm *methanol (TT)* vừa đủ 100,0 ml và lọc.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan 30 mg meloxicam chuẩn trong 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, thêm 40 ml *methanol (TT)*, để nguội và thêm *methanol (TT)* vừa đủ 100,0 ml.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng meloxicam, $C_{14}H_{13}N_3O_4S_2$, trong viên dựa vào diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{14}H_{13}N_3O_4S_2$ trong meloxicam chuẩn.

Bảo quản
Bảo quản ở nơi khô, nhiệt độ từ 15 °C đến 30 °C (tốt nhất là 25 °C).

Loại thuốc
Thuốc chống viêm không steroid.

Hàm lượng thường dùng
7,5 mg, 15 mg.

MENTHOL RACEMIC
Mentholum racemicum



và đồng phân đối quang

$C_{10}H_{20}O$ P.t.l: 156,3

Menthol racemic là hỗn hợp đồng lượng của (1*RS*,2*SR*,5*RS*)-5-methyl-2-(1-methylethyl)cyclohexanol.

Tính chất
Bột kết tinh trơn chảy tốt hay kết tụ hoặc tinh thể hình lăng trụ hay hình kim, không màu, bóng.
Thực tế không tan trong nước, rất dễ tan trong ethanol 96 % và ether dầu hỏa có nhiệt độ sôi từ 40 °C đến 60 °C. Dễ tan trong dầu béo và parafin lỏng, rất khó tan trong glycerin. Chảy ở khoảng 34 °C.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: B, C.
Nhóm II: A, D.
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G.*
Dung môi khai triển: *Ethyl acetat - toluen* (5: 95).
Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 25 mg menthol chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên và triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để bản mỏng ngoài không khí đến khi dung môi bay hết và phun *dung dịch anisaldehyd (TT)*. Sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 5 min đến 10 min. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử Góc quay cực riêng.
C. Trong phần Tạp chất liên quan: Pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải tương tự về vị trí và xấp xỉ về kích thước với pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3).
D. Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong 0,5 ml *pyridin khan (TT)*, thêm 3 ml *dung dịch dinitrobenzoyl clorid 15 % trong pyridin khan*. Đun nóng trên cách thủy 10 min. Vừa khuấy vừa thêm từng lượng nhỏ 7,0 ml *nước* và để trong nước đá 30 min. Tủa được tạo thành. Để lắng và gạn lấy tủa. Rửa tủa hai lần, mỗi lần 5 ml *nước* đã được làm lạnh trước trong nước đá. Kết tinh lại trong 10 ml *aceton (TT)* và rửa với *aceton (TT)* đã được làm lạnh trong nước đá, sấy khô ở 75 °C và ở áp suất không quá 2,7 kPa trong 30 min. Tinh thể có điểm chảy từ 130 °C đến 131 °C (Phụ lục 6.7).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong 10 ml *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* làm chỉ thị. Dung dịch phải không màu và phải chuyển sang màu hồng khi thêm không quá 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)*.

Góc quay cực riêng
Từ -0,2° đến +0,2° (Phụ lục 6.4).
Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 10,0 ml bằng *methylen clorid (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 40,0 mg chế phẩm và 40,0 mg *isomenthol (TT)* trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 0,10 ml dung dịch thử (1) thành 100,0 ml bằng *methylen clorid (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 40,0 mg menthol chuẩn trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột thủy tinh (2,0 m × 2 mm) được nhồi *diatomit dùng cho sắc ký khí* và được tẩm 15 % (kl/kl) *macrogol 1500 (TT)*.
Khí mang là *nitrogen dùng cho sắc ký khí*, lưu lượng 30 ml/min.
Detector ion hóa ngọn lửa.
Nhiệt độ cột 120 °C, buồng tiêm 150 °C và detector 200 °C.
Thể tích tiêm: 1 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký gấp 2 lần thời gian lưu của menthol.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic menthol và pic isomenthol ít nhất là 1,4. Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), tỷ số tín hiệu trên nhiễu của pic chính ít nhất là 5.
Giới hạn:
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), tổng diện tích các pic phụ không được lớn hơn 1,0 % diện tích pic chính. Bỏ qua bất kỳ các pic của dung môi và các pic phụ có diện tích nhỏ hơn 0,05 % diện tích pic chính.

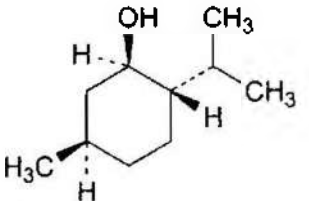
Cắn sau khi bay hơi
Không được quá 0,05 %.
Bốc hơi 2,00 g chế phẩm trên cách thủy cho đến khi bay hơi hết và sấy cắn ở 100 °C đến 105 °C trong 1 h. Cắn còn lại không được quá 1,0 mg.

Bảo quản
Trong bao bì kín, ở nơi mát.

Tương kỵ
Cloral hydrat, phenol, long não, resorcin, thymol.

MENTHOL TẢ TUYỀN

Mentholum



$C_{10}H_{20}O$ P.t.l: 156,3

Menthol tả tuyền là (*1R,2S,5R*)-5-methyl-2-(1-methylethyl) cyclohexanol.

Tính chất

Tinh thể hình lăng trụ hay hình kim, không màu, sáng bóng. Thực tế không tan trong nước, rất dễ tan trong ethanol 96 % và ether dầu hỏa có nhiệt độ sôi từ 40 °C đến 60 °C. Dễ tan trong dầu béo và parafin lỏng, rất khó tan trong glycerin.

Nóng chảy ở khoảng 43 °C.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: B, C.

Nhóm II: A, D.

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

Bản mỏng: *Silica gel G.*

Dung môi khai triển: *Ethyl acetat - toluen* (5 : 95).

Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 25 mg menthol chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên và triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để bản mỏng ngoài không khí đến khi dung môi bay hết và phun *dung dịch anisaldehyd (TT)*. Sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 5 min đến 10 min. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử Góc quay cực riêng.

C. Trong phần Tạp chất liên quan: Pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải tương tự về vị trí và xấp xỉ về kích thước với pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3).

D. Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong 0,5 ml *pyridin khan (TT)*, thêm 3 ml *dung dịch dinitrobenzoyl clorid 15 % trong pyridin khan*. Đun nóng trên cách thủy 10 min. Vừa khuấy vừa thêm từng lượng nhỏ 7,0 ml *nước* và để trong nước đá 30 min. Tủa được tạo thành. Để lắng và gạn lấy tủa. Rửa tủa hai lần, mỗi lần 5 ml *nước* đã được làm lạnh trước trong nước đá. Kết tinh lại trong 10 ml *aceton (TT)* và rửa với *aceton (TT)* đã được làm lạnh trong nước đá, sấy khô ở 75 °C và ở áp suất không quá 2,7 kPa trong 30 min. Tinh thể có điểm chảy từ 154 °C đến 157 °C (Phụ lục 6.7).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong 10 ml *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* làm chỉ thị. Dung dịch phải không màu và phải chuyển sang màu hồng khi thêm không quá 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)*.

Góc quay cực riêng

Từ -48° đến -51° (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 10,0 ml bằng *methylen clorid (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 40,0 mg chế phẩm và 40,0 mg *isomenthol (TT)* trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 0,10 ml dung dịch thử (1) thành 100,0 ml bằng *methylen clorid (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 40,0 mg menthol chuẩn trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột thủy tinh (2,0 m × 2 mm) được nhồi *diatomit dùng cho sắc ký khí* tẩm 15 % (kl/kl) *macrogol 1500 (TT)*.

Khí mang là *nitrogen dùng cho sắc ký khí*, lưu lượng 30 ml/min.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Nhiệt độ cột 120 °C, buồng tiêm 150 °C và detector 200 °C.

Thể tích tiêm: 1 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký gấp 2 lần thời gian lưu của menthol.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic menthol và pic isomenthol ít nhất là 1,4. Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), tỷ số tín hiệu trên nhiễu của pic chính ít nhất là 5.

Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), tổng diện tích các pic phụ không được lớn hơn 1,0 % diện tích pic chính. Bỏ qua các pic của dung môi và các pic phụ có diện tích nhỏ hơn 0,05 % diện tích pic chính.

Cắn sau khi bay hơi

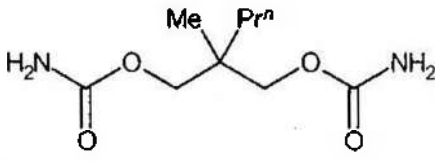
Không được quá 0,05 %.

Bốc hơi 2,00 g chế phẩm trên cách thủy cho đến khi bay hơi hết và sấy cắn ở 100 °C đến 105 °C trong 1 h. Cắn còn lại không được quá 1,0 mg.

Bảo quản
Trong bao bì kín, ở chỗ mát.

Tương kỵ
Cloral hydrat, phenol, long não, resorcin, thymol.

MEPROBAMAT
Meprobamatum



$C_9H_{18}N_2O_4$ P.t.l: 218,3

Meprobamat là 2-methyl-2-propylpropan-1,3-diyl dicarbamat, phải chứa từ 97,0 % đến 101,0 % $C_9H_{18}N_2O_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh hay vô định hình, màu trắng hay gần như trắng. Khó tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của meprobamat chuẩn.
B. Điểm chảy của chế phẩm phải từ 104 °C đến 108 °C (Phụ lục 6.7).
C. Thêm 1 ml *anhydrid acetic (TT)* và 0,05 ml *acid sulfuric (TT)* vào 0,5 g chế phẩm, trộn đều và để 30 min, lắc liên tục. Đổ từng giọt dung dịch này vào 50 ml *nước*, trộn đều. Cọ thành ống nghiệm bằng đũa thủy tinh để tạo tủa kết tinh. Lọc, rửa và sấy tủa ở 60 °C. Điểm chảy của tủa phải từ 124 °C đến 128 °C (Phụ lục 6.7).
D. Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong 15 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 M trong ethanol (TT)* và đun sôi dưới sinh hàn ngược 15 min. Thêm 0,5 ml *acid acetic băng (TT)* và 1 ml *dung dịch cobalt nitrat 5 % trong ethanol*, màu xanh lam đậm xuất hiện.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 20 ml *ethanol (TT)*. Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan
Không được quá 1,0 %.
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Pyridin - aceton - hexan* (10 : 30 : 70).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 0,1 ml dung dịch thử thành 10,0 ml bằng *ethanol 96 % (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Sấy bản mỏng ở 120 °C trong 30 min, để nguội và phun dung dịch gồm 0,25 g *vanilin (TT)* trong hỗn hợp của 10 ml *ethanol 96 % (TT)* và 40 ml *acid sulfuric (TT)* đã làm nguội. Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 30 min. Trên sắc ký đồ, bất kỳ vết phụ nào của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết của dung dịch đối chiếu.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong hỗn hợp *nước - aceton* (15 : 85) và pha loãng thành 20 ml với cùng hỗn hợp dung môi. Lấy 12 ml dung dịch thu được và tiến hành theo phương pháp 2.
Dùng dung dịch chì mẫu 1 phần triệu được chuẩn bị bằng cách pha loãng *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb (TT)* bằng hỗn hợp *nước - aceton* (15 : 85) để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; áp suất giảm; 60 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,1000 g chế phẩm trong 15 ml *dung dịch acid sulfuric 25 % (tt/tt)* và đun sôi dưới sinh hàn ngược trong 3 h. Làm nguội, hòa tan bằng cách thêm cẩn thận 30 ml *nước*, làm nguội tiếp và chuyển vào bộ cất kéo hơi nước. Thêm 40 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)* và cất. Hứng dịch cất vào bình có chứa sẵn 40 ml *dung dịch acid boric 4 %*. Cất đến khi thu được khoảng 200 ml. Thêm 0,25 ml *dung dịch hỗn hợp đỏ methyl (TT)* làm chỉ thị. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* đến khi màu chuyển từ xanh lục sang tím. Song song làm mẫu trắng.
1 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 10,91 mg $C_9H_{18}N_2O_4$.

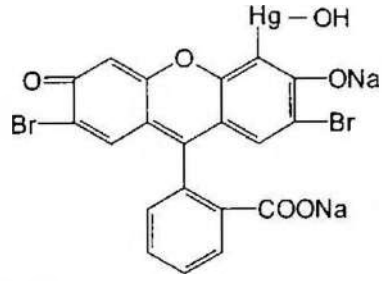
Bảo quản
Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc
Thuốc an thần.

MERCUROCROM

Mercuresceinum natricum

Thuốc đỏ



$C_{20}H_8Br_2HgNa_2O_6$ P.t.l: 750,7

Mercurocrom là muối dinatri của acid [2,7dibromo-9-(2-carboxyphenyl)-6-hydroxy-3-oxo-3*H*-xanthen-5-yl]-hydroxymercury, phải chứa từ 22,4 % đến 26,7 % Hg và 18,0 % đến 22,4 % Br, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Vảy hay hạt màu nâu đỏ ánh xanh, không mùi. Dễ tan trong nước nhưng đôi khi để lại một lượng nhỏ các tiểu phân không tan được, thực tế không tan trong ether và ethanol.

Định tính

A. Dung dịch chế phẩm 0,05 % có màu đỏ và cho huỳnh quang xanh vàng.

B. Thêm 3 giọt *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* vào 5 ml dung dịch chế phẩm 0,4 %, có tủa da cam ánh đỏ xuất hiện.

C. Đun nóng 0,1 g chế phẩm với vài tinh thể *iod (TT)* trong một ống nghiệm, có tinh thể màu đỏ thăng hoa bám trên thành ống nghiệm. Nếu tinh thể màu vàng tạo thành, cọ bằng đũa thủy tinh, màu của tinh thể sẽ chuyển sang màu đỏ.

D. Cho 0,1 g chế phẩm vào chén nung bằng sứ, thêm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 17 %*, lắc đều, bốc hơi đến khô và nung. Hòa tan cắn trong 5 ml *nước*, acid hóa bằng *acid hydrocloric (TT)*. Thêm 3 giọt *nước clor (TT)* và 2 ml *cloroform (TT)*, lắc, lớp cloroform có màu nâu vàng.

Phẩm màu

Hòa tan 0,40 g chế phẩm trong 20 ml *nước*, thêm 3 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* và lọc. Dịch lọc không được có màu đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu gồm 0,4 ml *dung dịch gốc màu đỏ*, 2,4 ml *dung dịch gốc màu vàng*, 0,4 ml *dung dịch gốc màu xanh* và 16,8 ml *nước* (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Halogenid hòa tan được

Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 80 ml *nước*, thêm 10 ml *dung dịch acid nitric 10 % (TT)* và *nước* vừa đủ 100 ml, lắc đều, lọc. Lấy 40 ml dịch lọc vào ống Nessler, thêm 6 ml *dung dịch acid nitric 10 % (TT)* và *nước* vừa đủ 50 ml, thêm 1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 M (TT)*. Lắc kỹ, để yên 5 min tránh ánh sáng. Dung dịch không được đục hoặc nếu đục thì không được đục hơn dung dịch đục mẫu được chuẩn bị như sau: Lấy 0,25 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*, thêm 6 ml *dung dịch acid nitric 10 % (TT)* và *nước* vừa đủ 50 ml, thêm 1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 M (TT)* và tiến hành như mẫu thử.

Muối thủy ngân tan

Dung dịch thử: Lấy 5 ml dịch lọc thu được ở phần Phẩm màu, thêm 5 ml *nước*.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,040 g *thủy ngân (II) clorid* (cân chính xác) trong *nước* và pha loãng thành 1000 ml với cùng dung môi. Lấy 20 ml dung dịch thu được, thêm 3 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*. Lấy 5 ml dung dịch thu được, thêm 5 ml *nước*.

Thêm 1 giọt *dung dịch natri sulfid* vào dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Dung dịch thử không được có màu đậm hơn dung dịch đối chiếu.

Hợp chất thủy ngân không tan

Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong 50 ml *nước*, để yên 24 h, ly tâm và rửa cắn với từng lượng nhỏ *nước* cho đến khi nước rửa không màu. Chuyển cắn vào bình nón nút mài, thêm đúng 5 ml *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)*, để 1 h, lắc thường xuyên. Vừa lắc vừa thêm từng giọt một 4,3 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* và thêm 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)*, màu xanh xuất hiện.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 105 °C, 5 h).

Định lượng

Thủy ngân: Cân chính xác khoảng 0,6 g chế phẩm đã tán nhỏ và sấy khô vào bình nón nút mài màu nâu. Hòa tan trong 50 ml *nước*, thêm 8 ml *acid acetic (TT)*, 20 ml *cloroform (TT)* và đúng 30,0 ml *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)*, đậy nút bình. Để 1 h, lắc mạnh thường xuyên. Chuẩn độ iod thừa bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* với chỉ thị là 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)*. Song song làm mẫu trắng.

1 ml *dung dịch iod 0,1 N (TT)* tương đương với 10,03 mg Hg.

Brom: Cân chính xác khoảng 0,5 g chế phẩm đã tán nhỏ và sấy khô vào chén nung bằng sứ, thêm 2 g *kali nitrat (TT)*, 3 g *kali carbonat (TT)* và 3 g *natri carbonat khan (TT)*, trộn đều. Phủ lên bề mặt hỗn hợp 3 g hỗn hợp đồng lượng *kali carbonat (TT)* và *natri carbonat khan (TT)*, nung đến khi chảy hết. Để nguội, hòa tan hỗn hợp đã nung chảy trong 80 ml *nước* ấm, acid hóa bằng *acid nitric (TT)*. Thêm đúng 25,0 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)*. Lắc kỹ và chuẩn độ bạc thừa bằng *dung dịch amoni sulfocyanid 0,1 N (CĐ)* với chỉ thị là 2 ml *dung dịch sắt (III) amoni sulfat 10 % (TT)*. Song song làm một mẫu trắng.

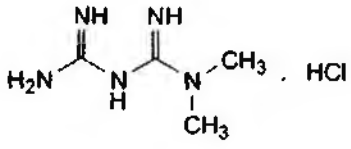
1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 7,99 mg Br.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc sát trùng ngoài da và vết thương.

METFORMIN HYDROCLORID

Metformini hydrocloridum



$C_4H_{11}N_5.HCl$ P.t.l: 165,6

Metformin hydroclorid là 1,1-dimethylbiguanid hydroclorid phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_4H_{11}N_5.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Tinh thể màu trắng, dễ tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong aceton và methylen clorid.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, E.
Nhóm II: B, C, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của metformin hydroclorid chuẩn.
B. Điểm chảy: Từ 222 °C đến 226 °C (Phụ lục 6.7).
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Acid acetic băng - butanol - nước (10 : 40 : 50).
Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong 5 ml *nước*.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20 mg metformin hydroclorid chuẩn trong 5 ml *nước*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được hơn 15 cm. Sấy bản mỏng ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C trong 15 min. Phun lên bản mỏng hỗn hợp đồng thể tích của *dung dịch natri nitroprusiat 10 %, dung dịch kali fericyanid 10 %* và *dung dịch natri hydroxyd 10 %* (chuẩn bị trước khi sử dụng 20 min).
Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.
D. Hòa tan 5 mg chế phẩm trong 100 ml *nước*. Thêm vào 2 ml dung dịch này 0,25 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)* và 0,1 ml *dung dịch 1-naphtol (TT)*. Trộn lẫn, để yên trong nước đá 15 min, sau đó thêm vào 0,5 ml *dung dịch natri hypobromid (TT)* và trộn đều. Màu hồng xuất hiện.
E. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 17 g *amoni dihydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*. Điều chỉnh đến pH 3,0 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20,0 mg cyanoguanidin trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 200,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng pha động.
Dung dịch phân giải: Hòa tan 10,0 mg *melamin (TT)* trong khoảng 90 ml *nước*, thêm 5,0 ml dung dịch thử và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là *silica gel được liên kết với acid benzensulfonic* (10 µm) hoặc cột kích thước (11 cm × 4,7 mm) được nhồi pha tĩnh là *silica gel được liên kết với acid benzensulfonic* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 218 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký dung dịch thử với thời gian gấp đôi thời gian lưu của pic metformin hydroclorid.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa pic melamin và pic metformin hydroclorid ít nhất là 10.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:
Diện tích của pic cyanoguanidin không được lớn hơn diện tích của pic cyanoguanidin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,02 %).
Diện tích của bất kỳ pic tạp nào khác không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 12 ml dung dịch S tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 5 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 4 ml *acid formic khan (TT)*, thêm 80 ml *acetonitril (TT)*. Chuẩn độ ngay lập tức bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 16,56 mg $C_4H_{12}ClN_5$.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc
Chống đái tháo đường.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN METFORMIN
Tabellae Metformini

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

Hàm lượng metformin hydroclorid, $C_4H_{11}N_5.HCl$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Lắc một lượng bột viên tương ứng với khoảng 20 mg metformin hydroclorid với 20 ml *ethanol (TT)*. Lọc, bốc hơi dịch lọc trên cách thủy đến khô, sấy cắn ở 105 °C trong 1 h. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của metformin hydroclorid.

Tạp chất liên quan (1-cyanoguanidin)
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Dung dịch amoni dihydrophosphat 1,7 %* được chỉnh đến pH 3,0 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng 0,5 g metformin hydroclorid với pha động và thêm pha động vừa đủ 100,0 ml, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20 mg 1-cyanoguanidin trong *nước* và thêm *nước* vừa đủ 100,0 ml. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 200,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (12,5 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là những tiểu phân silica gel xốp, bề mặt được liên kết với acid benzensulfonic (5 µm) (cột Partisphere 5 µ SCX là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 218 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu, điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao của pic chính trên sắc ký đồ thu được bằng nửa thang đo.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic nào tương ứng với pic 1-cyanoguanidin cũng không được lớn hơn diện tích của pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,02 %).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,68 %* được chỉnh đến pH 6,8 bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc thu được tới nồng độ thích hợp với môi trường hòa tan. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 233 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. Tính hàm lượng metformin hydroclorid đã hòa tan theo A (1 %, 1 cm). Lấy 806 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng cực đại 233 nm.
Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng metformin hydroclorid, $C_4H_{11}N_5.HCl$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng
Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,1 g metformin hydroclorid, lắc với 70 ml *nước* trong 15 min, thêm *nước* vừa đủ 100,0 ml và trộn đều. Lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng 10,0 ml dịch lọc này thành 100,0 ml bằng *nước*, trộn đều. Tiếp tục pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *nước*. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch ở bước sóng có cực đại 232 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *nước*. Tính hàm lượng metformin hydroclorid theo A (1 %, 1 cm). Lấy 798 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng cực đại 232 nm.

Bảo quản
Ở nhiệt độ 15 °C đến 30 °C.

Loại thuốc
Chống đái tháo đường.

Hàm lượng thường dùng
500 mg, 850 mg.

METHADON HYDROCLORID

Methadoni hydrochloridum



và đồng phân đối quang . HCl

$C_{21}H_{27}NO.HCl$ P.t.l: 345,9

Methadon hydroclorid là (6*RS*)-6-(dimethylamino)-4,4-diphenylheptan-3-on hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{21}H_{27}NO.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng.

Tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, C, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của methadon hydroclorid.

B. Điểm chảy: Từ 233 °C đến 236 °C (Phụ lục 6.7).

C. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Góc quay cực.

D. Pha loãng 1 ml dung dịch S (xem cách pha ở dưới) thành 5 ml với *nước* và thêm 1 ml *dung dịch amoniac loãng (TT)*. Lắc đều, để yên trong 5 min và lọc. Dịch lọc phải cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Pha loãng 10 ml dung dịch S thành 25 ml với *nước không có carbon dioxyd (TT)*. Thêm vào 10 ml dung dịch thu được 0,2 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)* và 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)*, dung dịch phải có màu vàng. Thêm 0,4 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*, dung dịch phải chuyển sang màu đỏ.

Góc quay cực

Từ -0,05° đến +0,05° (Phụ lục 6.4).

Xác định trên dung dịch S, dùng ống đo dài 2 dm.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 10,0 ml bằng *methanol (TT)*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *methanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg imipramin hydroclorid chuẩn và 5 mg cyclobenzaprin hydroclorid chuẩn trong 100 ml *methanol (TT)*.

Điều kiện sắc ký:

Cột sắc ký: Cột mao quản bằng silica nung chảy, dài 50 m, đường kính trong 0,32 mm, phủ pha tĩnh *poly(dimethyl) (diphenyl)siloxan (TT)* (phim dày 1,05 µm).

Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký khí.*

Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.

Tỷ lệ chia dòng là 1 : 100.

Liner buồng tiêm: Được nhồi bông thủy tinh trơ để làm sạch đầu kim tiêm.

Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 4	150 → 250
	4 - 35	250
Buồng tiêm		200
Detector		250

Detector: Ion hóa ngọn lửa.

Thể tích tiêm: 2 µl.

Cách tiến hành:

Thời gian tiến hành sắc ký gấp 1,5 lần thời gian lưu của methadon.

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

Thời gian lưu tương đối của các pic so với methadon (thời gian lưu khoảng 25 min) như sau: Tạp chất E khoảng 0,44; tạp chất C khoảng 0,81; tạp chất B khoảng 0,89; tạp chất D khoảng 0,98; tạp chất A khoảng 1,14; imipramin khoảng 1,19 và cyclobenzaprin khoảng 1,24.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của imipramin và pic của cyclobenzaprin không được nhỏ hơn 3,0.

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

Các tạp chất A, B, C, D, E: Diện tích của mỗi pic tạp chất A, B, C, D và E không được lớn hơn diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).

Các tạp chất khác: Mỗi tạp bất kỳ khác không được có diện tích lớn hơn diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).

Tổng tất cả các tạp chất: Tổng diện tích của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 3 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn hoặc bằng 0,5 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Ghi chú:
Tạp chất A: (2*RS*)-4-imino-*N*,*N*,2-trimethyl-3,3-diphenylhexan-1-amin (isomethadon ketimin).
Tạp chất B: (4*RS*)-4-(dimethylamino)-2,2-diphenylpentanenitril (didiavalo).
Tạp chất C: (3*RS*)-4-(dimethylamino)-3-methyl-2,2-diphenylbutanenitril (isodidiavalo).
Tạp chất D: (5*RS*)-6-(dimethylamino)-5-methyl-4,4-diphenylhexan-3-on (isomethadon).
Tạp chất E: Diphenylacetonitril.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* và 50 ml *ethanol khan (TT)*. Tiến hành phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2), dùng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Đọc thể tích giữa hai điểm uốn của đường chuẩn độ.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 34,59 mg $C_{21}H_{28}ClNO$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc giảm đau chủ vận opioid.

Chế phẩm
Dung dịch uống.

DUNG DỊCH METHADON HYDROCLORID ĐẬM ĐẶC

Solutio Methadoni hydrochloridi Concentrata peroralum

Là dung dịch thuốc uống chứa methadon hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Dung dịch thuốc" (Phụ lục 1.3) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng methadon hydroclorid, $C_{21}H_{27}NO.HCl$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Ethanol 96 % - acid acetic băng - nước (5 : 3 : 2).
Dung dịch thử. Lắc một lượng dung dịch chế phẩm tương đương với khoảng 5 mg methadon hydroclorid với 5 ml *dung dịch natri carbonat 10,6 %*. Chiết bằng 5 ml *cloroform (TT)*, sử dụng dịch chiết cloroform.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch *methadon hydroclorid chuẩn* 1 mg/ml pha trong *cloroform (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở 254 nm. Sau đó phun dung dịch *thuốc thử kali iodobismuthat loãng (TT)*, quan sát dưới ánh sáng thường. Sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải cho vết tương ứng về vị trí, hình dạng và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu khi quan sát bằng cả hai cách.
B. Chế phẩm phải cho phản ứng A của clorid (Phụ lục 8.1).

pH
Từ 1,0 đến 6,0 (Phụ lục 6.2).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch kali dihydrophosphat 0,033 M - acetonitril (60 : 40), điều chỉnh đến pH 4,0 bằng *acid phosphoric (TT)*, lọc, lắc siêu âm để đuổi khí. Điều chỉnh tỷ lệ pha động nếu cần.
Dung dịch thử: Chuyển chính xác một lượng chế phẩm tương đương với 50 mg methadon hydroclorid vào bình định mức 50 ml, pha loãng bằng pha động đến vừa đủ, lắc đều. Hút chính xác 10,0 ml này vào bình định mức 25 ml, pha loãng bằng pha động đến vừa đủ, lắc đều. Lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác và hòa tan một lượng chất chuẩn methadon hydroclorid trong pha động để thu được dung dịch chuẩn có nồng độ khoảng 0,4 mg/ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C6-Phenyl (5 µm) (Cột Gimini - Phenomenex C6-Phenyl 110A là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,3 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn, số đĩa lý thuyết của cột không nhỏ hơn 1500, hệ số đối xứng không quá 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic methadon hydroclorid trong 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng methadon hydroclorid, $C_{21}H_{27}NO.HCl$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{21}H_{27}NO.HCl$ của methadon hydroclorid chuẩn.

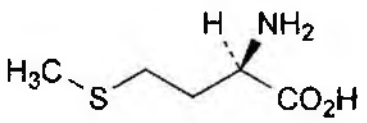
Bảo quản
Thuốc gây nghiện. Bảo quản trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chủ vận opioid, giảm đau.

Hàm lượng thường dùng
10 mg/ml.

Nhãn
Cần ghi rõ dung dịch phải pha loãng trước khi dùng.

DL-METHIONIN
DL-Methioninum



và đồng phân đối quang

$C_5H_{11}NO_2S$ P.t.l:149,2

DL-Methionin là acid (2*RS*)-2-amino-4-(methylsulfanyl) butanoic, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_5H_{11}NO_2S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hay vảy trắng. Hơi tan trong nước, rất khó tan trong ethanol 96 %. Tan trong các dung dịch acid và hydroxyd kiềm loãng.
Chảy ở khoảng 270 °C (Phụ lục 6.7, phương pháp 3).

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, C.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của DL-methionin chuẩn, sấy ở 105 °C trước khi thử.
B. Trong phần Tạp chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải có vị trí, màu sắc và kích thước tương đương với vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1).
C. Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng cùng dung môi. Dung dịch thu được phải có góc quay cực từ -0,05° đến +0,05° (Phụ lục 6.4).
D. Hòa tan 0,1 g chế phẩm và 0,1 g *glycin (TT)* trong 4,5 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*. Thêm 1 ml *dung dịch natri nitroprusiat 2,5 %*. Đun nóng tới 40 °C trong 10 min. Để nguội, thêm 2 ml hỗn hợp *acid phosphoric - acid hydrocloric* (1 : 9), xuất hiện màu đỏ đậm.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
pH của dung dịch S phải từ 5,4 đến 6,1 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan
Không được quá 0,2 %.
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Acid acetic băng - nước - butanol* (20 : 20 : 60).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 50 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,02 g DL-methionin chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 10 ml với *nước*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 10 cm, lấy bản mỏng ra. Để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch ninhydrin 0,2 % (TT)*. Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 15 min.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), ngoài vết chính, không được có vết nào đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Clorid
Không được quá 0,02 %.
Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong 35 ml *nước*. Thêm 5 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* và 10 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 M (TT)*. Để yên tránh ánh sáng 5 min. Dung dịch này không được đục hơn dung dịch đối chiếu được chuẩn bị cùng lúc và cùng điều kiện với hỗn hợp gồm 10 ml *dung dịch clorid mẫu 5 phần triệu Cl (TT)* và 25 ml *nước*. Quan sát trên nền đen.

Sulfat
Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.14).
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 20,0 ml *nước*, đun nóng tới 60 °C. Làm lạnh xuống 10 °C, lọc. Lấy 15 ml dịch lọc đem thử.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 4. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,140 g chế phẩm trong 3 ml *acid formic khan (TT)*, thêm 30 ml *acid acetic khan (TT)*. Ngay sau khi hòa tan, chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*.

Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 14,92 mg $C_5H_{11}NO_2S$.

Bảo quản
Trong lọ nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc giải độc paracetamol.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN METHIONIN
Tabellae Methionini

Là viên nén chứa DL-methionin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng methionin, $C_5H_{11}NO_2S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Acid acetic băng - nước - butanol (20 : 20 : 60).
Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên tương ứng với khoảng 20 mg DL-methionin, thêm 50 ml *nước*. Lắc kỹ để hòa tan. Lọc.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20 mg DL-methionin đối chiếu trong *nước* vừa đủ 50 ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl các dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch ninhydrin 1 % trong ethanol*. Sấy bản mỏng ở 110 °C đến khi xuất hiện vết. Vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải có vị trí và màu sắc tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu.
B. Hòa tan một lượng bột viên tương ứng với 0,1 g DL-methionin và 0,1 g *glycin* trong 4,5 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*, lọc. Thêm vào dịch lọc 1 ml *dung dịch natri nitroprusiat 2,5 % (TT)* mới pha rồi đun ở 40 °C trong 10 min. Làm lạnh bằng nước đá rồi thêm 2 ml hỗn hợp *acid phosphoric - acid hydrocloric* (1 : 9), lắc, hỗn hợp chuyển thành màu đỏ thẫm.

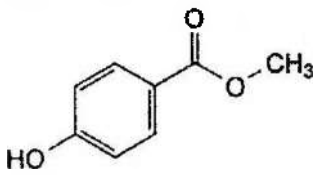
Định lượng
Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,5 g DL-methionin cho vào bình định mức 100 ml. Thêm khoảng 75 ml *nước*, lắc, để yên 30 min, thỉnh thoảng lắc nhẹ, thêm *nước* tới định mức. Lọc qua giấy lọc khô và hứng dịch lọc vào bình khô. Bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Lấy chính xác 25 ml dịch lọc cho vào bình nón nút mài và thêm 1,25 g *dikali hydrophosphat (TT)*, 0,5 g *kali dihydrophosphat (TT)*, 1 g *kali iodid (TT)* và lắc cho tan hoàn toàn. Thêm chính xác 25 ml *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)*, đậy nút bình, lắc mạnh và để yên 30 min tránh ánh sáng. Chuẩn độ iod thừa bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* với chỉ thị là *dung dịch hồ tinh bột (TT)*. Song song tiến hành một mẫu trắng trong cùng điều kiện.
1 ml *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)* tương đương với 7,461 mg $C_5H_{11}NO_2S$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc giải độc paracetamol.

Hàm lượng thường dùng
250 mg.

METHYL PARAHYDROXYBENZOAT
Methylis parahydroxybenzoas
Methylparaben, Nipagin M



$C_8H_8O_3$ P.t.l: 152,1

Methyl parahydroxybenzoat là methyl 4-hydroxybenzoat, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_8H_8O_3$.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng hay tinh thể không màu. Rất khó tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 % và trong methanol.

Định tính
Chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, C.
Nhóm II: B, C.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của methyl parahydroxybenzoat chuẩn.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Octadecylsiyl silica gel F_{254} dùng cho sắc ký lớp mỏng.
Dung môi khai triển: Acid acetic băng - nước - methanol (1 : 30 : 70).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *aceton (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng *aceton (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg methyl para hydroxybenzoat chuẩn trong *aceton (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg ethyl para-hydroxybenzoat chuẩn trong 1 ml dung dịch thử (1) và pha loãng thành 10 ml bằng *aceton (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (1) và (2). Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 2/3 chiều dài bản mỏng. Để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải tương tự với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí và kích thước. Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách rõ rệt.
C. Điểm chảy từ 125 °C đến 128 °C (Phụ lục 6.7).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu của dung dịch màu mẫu VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid
Lấy 2 ml dung dịch S, thêm 3 ml *ethanol 96 % (TT)*, 5 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* và 0,1 ml *dung dịch lục bromocresol (TT_1)*. Dung dịch này phải chuyển sang màu xanh lam khi thêm không quá 0,1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch kali dihydrophosphat 0,68 % - methanol (35 : 65).
Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong 2,5 ml *methanol (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng pha động. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg *acid 4-hydroxybenzoic (TT)* (tạp chất A) và 5 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 50,0 mg methyl parahydroxybenzoat chuẩn trong 2,5 ml *methanol (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng pha động. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 20,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 272 nm.
Tốc độ dòng: 1,3 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và (3).
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 5 lần thời gian lưu của methyl parahydroxybenzoat.
Thời gian lưu tương đối so với methyl parahydroxybenzoat (thời gian lưu khoảng 2,3 min): Tạp chất A khoảng 0,6.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất A với pic của methyl parahydroxybenzoat ít nhất là 2,0.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất A với 1,4.
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A đã hiệu chỉnh không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,5 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0, 5 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1,0 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid 4-hydroxybenzoic.
Tạp chất B: Ethyl 4-hydroxybenzoat (ethyl parahydroxybenzoat).
Tạp chất C: Propyl 4-hydroxybenzoat (propyl parahydroxybenzoat).
Tạp chất D: Butyl 4-hydroxybenzoat (butyl parahydroxybenzoat).

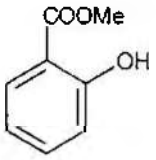
Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (2).
Tính hàm lượng của $C_8H_8O_3$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (2) và hàm lượng của $C_8H_8O_3$ trong methyl parahydroxybenzoat chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Chất bảo quản kháng khuẩn.

METHYL SALICYLAT
Methylis salicylas



$C_8H_8O_3$ P.t.l: 152,1

Methyl salicylat là methyl 2-hydroxybenzoat, phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % (kl/kl) $C_8H_8O_3$.

Tính chất
Chất lỏng không màu hay màu vàng nhạt.
Rất khó tan trong nước, trộn lẫn được với ethanol 96 %, dầu béo và tinh dầu.

Định tính
A. Đun nóng 0,25 ml chế phẩm với 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)* trên cách thủy trong 5 min. Thêm 3 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*. Tủa tinh thể được tạo thành. Lọc, rửa tủa bằng *nước* rồi sấy khô ở 100 °C đến 105 °C. Tủa này phải có điểm chảy từ 156 °C đến 161 °C (Phụ lục 6.7).
B. Thêm 0,05 ml *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)* vào 10 ml dung dịch bão hòa chế phẩm, dung dịch sẽ hiện màu tím.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Thêm 10 ml *ethanol 96 % (TT)* vào 2 ml chế phẩm, dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn dung dịch màu mẫu V_7 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid
Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 0,2 ml *dung dịch lục bromocresol (TT_1)* và 50 ml *ethanol 96 % (TT)* đã được trung hòa trước đến màu xanh lam bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* dùng để giữ màu xanh lam không được quá 0,4 ml.

Chỉ số khúc xạ
Phải từ 1,535 đến 1,538 (Phụ lục 6.1).

Tỷ trọng tương đối
Phải từ 1,180 đến 1,186 (Phụ lục 6.5).

Định lượng
Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong 25 ml *ethanol 96 % (TT)*. Thêm 0,05 ml *dung dịch đỏ phenol (TT)* và trung hòa bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Thêm 50,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* vào dung dịch đã trung hòa, đun nóng dưới sinh hàn hồi lưu trên cách thủy trong 30 min. Để nguội, chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)*. Tính lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* đã dùng để xà phòng hóa. Song song tiến hành một mẫu trắng.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 15,21 mg $C_8H_8O_3$.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc giảm đau dùng ngoài.

METHYLCELULOSE
Methylcellulosum

Methylcelulose là celulose được *O*-methyl hóa một phần, phải chứa từ 26,0 % đến 33,0 % nhóm methoxy ($-OCH_3$), tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Hạt hay bột màu trắng, trắng ngà hay trắng xám. Dễ hút ẩm sau khi sấy khô. Tan trong nước lạnh tạo dung dịch keo, thực tế không tan trong nước nóng, aceton, ethanol và toluen.

Định tính
A. Lấy 100 ml *nước* vào cốc thủy tinh, rắc đều 1,0 g chế phẩm lên mặt nước, vỗ nhẹ vào miệng cốc nếu cần thiết để tạo được lớp đồng nhất trên bề mặt. Để yên 1 min đến 2 min, một lớp bột kết dính tạo thành trên bề mặt.
B. Phân tán đều 1,0 g chế phẩm trong 100 ml *nước* sôi, khuấy hỗn hợp bằng khuấy từ với que khuấy dài 25 mm, huyền phù tạo thành và các tiểu phân không hòa tan được. Để lạnh huyền phù đến 5 °C và khuấy bằng khuấy từ, dung dịch trong hay hơi đục tạo thành với độ sánh tùy thuộc vào độ nhớt.
C. Lấy 0,1 ml dung dịch thu được ở phép thử B, thêm 9 ml *dung dịch acid sulfuric 90 % (tt/tt)*, lắc đều, đun nóng trên cách thủy đúng 3 min, lập tức làm lạnh trong nước đá, thêm cẩn thận 0,6 ml *dung dịch ninhydrin 2 % (TT)*, lắc đều và để yên ở 25 °C, màu đỏ tạo thành và không được chuyển sang màu đỏ tía trong vòng 100 min.
D. Lấy 2 ml đến 3 ml dung dịch thu được ở phép thử B trải lên phiến kính thủy tinh thành lớp mỏng và để nước bay hơi, lớp phim trong tạo thành trên phiến kính.
E. Thêm chính xác 50 ml dung dịch thu được ở phép thử B vào 50,0 ml *nước* đựng trong cốc thủy tinh. Nhúng nhiệt kế vào dung dịch. Đặt cốc lên tấm đốt, khuấy dung dịch bằng khuấy từ và bắt đầu đun nóng, nâng nhiệt độ với tốc độ từ 2 °C đến 5 °C trong 1 min. Ghi lại nhiệt độ tại thời điểm độ đục của dung dịch bắt đầu tăng lên và coi đó là nhiệt độ tạo tủa. Nhiệt độ tạo tủa phải lớn hơn 50 °C.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Vừa khuấy vừa cho một lượng tương đương 1,0 g chế phẩm đã làm khô vào 50 ml *nước không có*

carbon dioxyd (TT) đã được đun nóng đến 90 °C. Để nguội, thêm *nước không có carbon dioxyd (TT)* đến 100 g và khuấy đến khi chế phẩm hòa tan hoàn toàn. Để ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C trong 1 h trước khi thử.
Dung dịch S không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu III (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn dung dịch màu mẫu V_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
pH của dung dịch được chuẩn bị ở phép thử Độ nhớt biểu kiến phải từ 5,0 đến 8,0 (Phụ lục 6.2). Đọc kết quả sau khi nhúng điện cực vào dung dịch 5 min ± 0,5 min.

Độ nhớt biểu kiến
80 % đến 120 % giá trị ghi trên nhãn đối với chế phẩm có độ nhớt ghi trên nhãn nhỏ hơn 600 mPa·s và 75 % đến 140,0 % giá trị ghi trên nhãn đối với chế phẩm có độ nhớt ghi trên nhãn bằng hoặc lớn hơn 600 mPa·s (Phụ lục 6.3).
Phương pháp 1 (Áp dụng với chế phẩm có độ nhớt nhỏ hơn 600 mPa·s)
Cân chính xác một lượng chế phẩm tương đương với 4,000 g chế phẩm đã làm khô vào bình miệng rộng, thêm *nước* để được 200,0 g. Đậy bình, lắc cơ học với tốc độ 400 ± 50 r/min trong 10 min đến 20 min đến khi các tiểu phân được phân tán và thấm nước hoàn toàn. Cạo chất bám vào thành bình xuống bằng đũa dẹt nếu cần thiết để bảo đảm không có chế phẩm bám vào thành bình, đặt bình vào nước lạnh dưới 5 °C và tiếp tục khuấy thêm từ 20 min đến 40 min. Hiệu chỉnh khối lượng dung dịch để vẫn được 200,0 g bằng *nước* lạnh. Ly tâm dung dịch nếu cần để đuổi bọt khí. Dùng đũa dẹt để loại bỏ bọt nếu có. Xác định độ nhớt của dung dịch bằng phương pháp nhớt kế mao quản để thu được độ nhớt động học (ν), xác định tỉ trọng (ρ) của dung dịch và tính độ nhớt động lực (η) bằng công thức η = ρν.
Phương pháp 2 (Áp dụng với chế phẩm có độ nhớt bằng hoặc lớn hơn 600 mPa·s)
Cân chính xác một lượng chế phẩm tương đương với 10,00 g chế phẩm đã làm khô vào bình miệng rộng, thêm *nước* để được 500,0 g. Đậy bình, lắc cơ học với tốc độ (400 ± 50) r/min trong 10 min đến 20 min đến khi các tiểu phân được phân tán và thấm nước hoàn toàn. Cạo chất bám vào thành bình xuống bằng đũa dẹt nếu cần thiết để bảo đảm không có chế phẩm bám vào thành bình, đặt bình vào nước lạnh dưới 5 °C và tiếp tục khuấy thêm từ 20 min đến 40 min. Hiệu chỉnh khối lượng dung dịch để vẫn được 500,0 g bằng *nước* lạnh. Ly tâm dung dịch nếu cần để đuổi bọt khí. Dùng đũa dẹt để loại bỏ bọt nếu có. Xác định độ nhớt của dung dịch ở nhiệt độ (20 ± 0,1) °C bằng phương pháp nhớt kế quay.
Thiết bị: Nhớt kế quay loại trục đơn.
Số rotor, vòng quay và *hệ số nhân khi tính*: Theo Bảng 1 dưới đây.

Bảng 1 - Số rotor, vòng quay và hệ số nhân khi tính độ nhớt biểu kiến

Độ nhớt ghi trên nhãn (mPa·s)*	Số rotor	Vòng quay (r/min)	Hệ số nhân khi tính
600 đến nhỏ hơn 1400	3	60	20
1400 đến nhỏ hơn 3500	3	12	100
3500 đến nhỏ hơn 9500	4	60	100
9500 đến nhỏ hơn 99 500	4	6	1000
99 500 hoặc lớn hơn	4	3	2000

*Độ nhớt danh định dựa trên tiêu chuẩn của nhà sản xuất
Để trục quay 2 min trước khi đo. Để thời gian nghỉ giữa các lần đo là 2 min. Đo 3 lần và lấy giá trị trung bình.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm thử theo phương pháp 6.
Dùng 2,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, 105 °C, 1 h).

Tro sulfat
Không được quá 1,5 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).
Thiết bị:
Lọ phản ứng: Lọ phản ứng chịu áp suất dung tích 5 ml, cao 50 mm, miệng lọ có đường kính ngoài 20 mm và đường kính trong 13 mm, nắp màng cao su butyl chịu áp suất được bao bằng polytetrafluoroethylen và bọc bằng chụp nhôm hoặc hệ đóng khác bảo đảm độ kín thích hợp.
Buồng đốt: Là khối nhôm hình vuông có lỗ với đường kính 20 mm và sâu 32 mm đặt vừa lọ phản ứng. Để trộn được đều hỗn hợp trong lọ phản ứng dùng khuấy từ được lắp trong buồng đốt hay dùng máy lắc xoáy với tốc độ khoảng 100 r/min.
Dung dịch chuẩn nội: Dung dịch *octan (TT)* 3,0 % trong *xylen (TT)*.
Dung dịch thử: Cân 65,0 mg chế phẩm vào lọ phản ứng, thêm 0,06 g đến 0,10 g *acid adipic (TT)*, 2,0 ml dung dịch chuẩn nội và 2,0 ml *acid hydriodic (TT)*, đậy chặt ngay nắp lọ, cân chính xác khối lượng lọ. Dùng khuấy từ trộn hỗn hợp trong lọ phản ứng liên tục 60 min trong khi đun nóng buồng đốt để nhiệt độ của hỗn hợp được duy trì ở (130 ± 2) °C. Nếu không có máy lắc xoáy hay máy khuấy từ, lắc kỹ bằng tay theo chu kỳ mỗi 5 min trong 30 min đầu của quá trình đun nóng. Để nguội và cân lại khối lượng. Nếu khối lượng giảm ít hơn 0,5 % khối lượng hỗn hợp thì coi như lọ không bị hở. Sử dụng lớp trên.

Dung dịch chuẩn: Cân 0,06 g đến 0,10 g *acid adipic (TT)* vào lọ phản ứng, thêm 2,0 ml dung dịch chuẩn nội và 2,0 ml *acid hydriodic (TT)*, đậy chặt ngay nắp lọ. Tiêm 45 µl *methyl iodid (TT)* vào lọ qua septum, cân lại lọ và tính khối lượng của methyl iodid đã tiêm vào. Lắc kỹ và để cho tách lớp. Sử dụng lớp trên.

Điều kiện sắc ký:

Cột có chiều dài từ 1,8 m đến 3 m, đường kính trong từ 3 mm đến 4 mm, được nhồi *diatomit dùng cho sắc ký khí (TT)* tẩm 10 % đến 20 % *poly(dimethyl)(75)(diphenyl)(25) siloxan (TT)* (độ dày phim 125 µm đến 150 µm).

Nhiệt độ cột: 100 °C.

Khí mang:

Heli dùng cho sắc ký (detector dẫn nhiệt).

Heli dùng cho sắc ký hay nitrogen dùng cho sắc ký (detector ion hóa ngọn lửa).

Tốc độ dòng: Điều chỉnh sao cho thời gian lưu của chuẩn nội khoảng 10 min.

Detector: Ion hóa ngọn lửa hay dẫn nhiệt.

Thể tích tiêm: 1 µl đến 2 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị nếu độ phân giải giữa pic của methyl iodid (pic đầu tiên) và octan (pic thứ hai) ít nhất là 2,0.

Tiêm riêng biệt dung dịch thử và dung dịch chuẩn.

Hàm lượng phần trăm của nhóm methoxy được tính bằng công thức sau:

$$\frac{Q \times m_1}{Q_1 \times m} \times 21{,}864$$

Trong đó:

Q là tỷ lệ giữa diện tích pic methyl iodid và diện tích pic octan trên sắc ký đồ của dung dịch thử;

Q_1 là tỷ lệ giữa diện tích pic methyl iodid và diện tích pic octan trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn;

m là lượng cân của mẫu thử (tính theo chế phẩm đã làm khô) (mg);

m_1 là lượng cân của methyl iodid trong dung dịch chuẩn (mg).

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

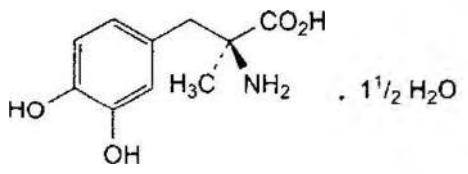
Tá dược.

Nhãn

Trên nhãn quy định độ nhớt biểu kiến tính theo milipascal giây.

METHYLDOPA

Methyldopum



$C_{10}H_{13}NO_4.1½H_2O$ P.t.l: 238,2

Methyldopa là acid (2*S*)-2-amino-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-methylpropanoic ngậm 1,5 phân tử nước (L-methyldopa sesquihydrat), phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{10}H_{13}NO_4$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc trắng ngà hay tinh thể không màu hoặc gần như không màu. Khó tan trong nước, rất khó tan trong ethanol 96 %, dễ tan trong các dung dịch acid vô cơ loãng.

Định tính

Chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: A, C.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của methyldopa chuẩn.

B. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Tạp chất đồng phân đối quang.

C. Hòa tan một lượng tương đương với 2,20 g chế phẩm khan trong *dung dịch nhôm clorid (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Góc quay cực riêng của dung dịch thu được phải từ -28,0° đến -25,0° (Phụ lục 6.4).

Màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Dung dịch không được có màu đậm màu hơn màu của dung dịch màu mẫu VN_6 hoặc N_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 100 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* bằng cách đun nóng. Thêm 0,1 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)*. Dung dịch phải chuyển sang màu vàng khi thêm không quá 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*.

Độ hấp thụ ánh sáng

Hòa tan 40,0 mg chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng 230 nm đến 350 nm có một hấp thụ cực đại ở bước sóng 280 nm. Giá trị A (1 %, 1 cm) ở 280 nm phải từ 122 đến 137, tính theo chế phẩm khan.

Tạp chất đồng phân đối quang

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan riêng biệt 0,200 g *đồng acetat (TT)* và 0,387 g *N,N-dimethyl-L-phenylalanin (TT)* trong *nước*; trộn 2 dung dịch thu được và ngay lập tức điều chỉnh đến pH 4,3 bằng *acid acetic (TT)*; thêm 50 ml *methanol (TT)* và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*, trộn đều và lọc.

Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử thành 20,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 2 mg methyldopa racemic chuẩn trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 3,9 mm) được nhồi pha tĩnh là các hạt hình cầu *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cân bằng cột bằng pha động trong khoảng 2 h. Nếu cần giảm nồng độ của *methanol (TT)* để pic của D-methyldopa tách hoàn toàn khỏi pic âm xuất hiện khoảng 6 min.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của L-methyldopa.
Thời gian lưu tương đối so với L-methyldopa (thời gian lưu khoảng 14 min): D-methyldopa khoảng 0,7.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của D-methyldopa và pic của L-methyldopa ít nhất là 5,0.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:
D-methyldopa (tạp chất D): Diện tích pic tạp chất D không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Ghi chú:
Tạp chất D: Acid (2*R*)-2-amino-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-methylpropanoic (D-methyldopa).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Methanol - Dung dịch đệm phosphat 0,1 M pH 3,0* (15 : 85).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan methyldopa chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa tạp chất A, B và C) có trong 1 lọ chuẩn trong 1,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là *di-isobutyl octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm) hình cầu có kích thước lỗ xốp 8 nm.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 6 lần thời gian lưu của methyldopa.
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo methyldopa chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic tạp chất A, B và C.
Thời gian lưu tương đối so với methyldopa (thời gian lưu khoảng 5 min): Tạp chất A khoảng 1,9; tạp chất B khoảng 4,3; tạp chất C khoảng 4,9.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic tạp chất B và pic tạp chất C ít nhất là 2,0.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất B với 2,6; nhân diện tích pic của tạp chất C với 1,3.
Tạp chất A, B, C: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu cần, không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,15 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,03 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid (2*S*)-2-amino-3-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-2-methylpropanoic (3-methoxymethyldopa).
Tạp chất B: Acid (2*S*)-2-amino-3-(4-methoxyphenyl)-2-methylpropanoic.
Tạp chất C: Acid (2*S*)-2-amino-3-(3,4-dimethoxyphenyl)-2-methylpropanoic.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Dùng 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 6. Dùng 1 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Từ 10,0 % đến 13,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0.20 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,180 g chế phẩm trong 50 ml *acid acetic băng (TT)*, đun nóng nếu cần. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 21,12 mg $C_{10}H_{13}NO_4$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống tăng huyết áp.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN METHYLDOPA
Tabellae Methyldopi

Là viên nén chứa methyldopa.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng methyldopa, $C_{10}H_{13}NO_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Độ hòa tan, phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử trong khoảng 230 nm đến 350 nm có hấp thụ cực đại ở khoảng 280 nm.
B. Cân một lượng bột viên tương ứng với 10 mg methyldopa, thêm vài giọt *dung dịch ninhydrin 2 % trong ethanol 96 %*, đun nóng, dần dần xuất hiện màu đỏ tía sẫm.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,05 mg methyldopa/ml. Pha dung dịch methyldopa chuẩn trong môi trường hòa tan có nồng độ chính xác khoảng 0,05 mg/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của các dung dịch ở bước sóng 280 nm, trong cốc đo dày 1 cm, dùng môi trường hòa tan làm mẫu trắng.
Tính hàm lượng methyldopa, $C_{10}H_{13}NO_4$, đã hòa tan trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ $C_{10}H_{13}NO_4$ của dung dịch chuẩn.
Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % (Q) lượng methyldopa so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

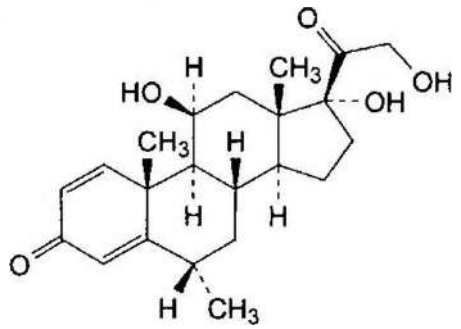
Định lượng
Dung dịch sắt (II) tartrat: Hòa tan 1 g *sắt (II) sulfat (TT)*, 2 g *natri kali tartrat (TT)* và 100 mg *natri metabisulfit (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml. Pha trước khi dùng.
Dung dịch đệm: Hòa tan 50 g *amoni acetat (TT)* trong 1000 ml *ethanol 20 % (TT)*. Điều chỉnh tới pH 8,5 với *dung dịch amoniac 6 M (TT)*.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 100 mg methyldopa vào bình định mức 100 ml, thêm 50 ml *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (TT)*, lắc trong 15 min, thêm *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (TT)* đến định mức. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch methyldopa chuẩn trong *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (TT)* có nồng độ chính xác khoảng 1 mg/ml.
Cách tiến hành: Lấy 5,0 ml dung dịch thử cho vào bình định mức 100 ml, thêm 5 ml *dung dịch sắt (II) tartrat*, pha loãng với dung dịch đệm đến định mức, lắc đều. Tiến hành tương tự với 5,0 ml dung dịch chuẩn. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của các dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 520 nm, trong cốc đo dày 1 cm, so với mẫu trắng là hỗn hợp 5 ml *nước* và 5 ml *dung dịch sắt (II) tartrat*, pha loãng với dung dịch đệm vừa đủ 100,0 ml.
Tính hàm lượng methyldopa, $C_{10}H_{13}NO_4$, trong viên dựa vào các độ hấp thụ thu được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ $C_{10}H_{13}NO_4$ của dung dịch chuẩn.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống tăng huyết áp.

Hàm lượng thường dùng
125 mg và 250 mg.

METHYLPREDNISOLON
Methylprednisolonum



$C_{22}H_{30}O_5$ P.t.l: 374,5

Methylprednisolon là 11,17,21-trihydroxy-6α-methyl-pregna-1,4-dien-3,20-dion, phải chứa từ 97,0 % đến 103,0 % $C_{22}H_{30}O_5$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh đa hình trắng hoặc gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, hơi tan trong ethanol 96 %, ít tan trong aceton và dicloromethan.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.
Nhóm II: C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của methylprednisolon chuẩn. Nếu hai phổ không phù hợp thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và chất chuẩn trong một lượng nhỏ nhất *aceton (TT)*, bốc hơi trên cách thủy đến khô và lấy các cắn ghi phổ mới.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel F_{254}.
Dung môi khai triển:
Dung môi I: *Dicloromethan - ether - methanol - nước* (77 : 15 : 8 : 1,2).
Dung môi II: *Ether - toluen - butanol đã bão hòa nước* (80 : 15 : 5).
Dung môi pha mẫu: Dicloromethan - methanol (9 : 1).
Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg methyl prednisolon chuẩn trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg hydrocortison chuẩn trong dung dịch đối chiếu (1) và thêm dung dịch đối chiếu (1) vừa đủ 10 ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký lần lượt trong dung môi I, dung môi II cho đến khi mỗi dung môi đi được 15 cm. Sau khi để khô bản mỏng ngoài không khí, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí và kích thước. Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT)*, sấy ở nhiệt độ 120 °C trong 10 min hoặc đến khi hiện vết. Để nguội, quan sát dưới ánh sáng ban ngày và dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về màu dưới ánh sáng ban ngày và huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại, vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách rõ rệt.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel F_{254}.
Dung môi khai triển: Ether - toluen - butanol đã bão hòa nước (85 : 10 : 5).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 25 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi (dung dịch A). Pha loãng 2 ml dung dịch này thành 10 ml bằng *dicloromethan (TT)*.
Dung dịch thử (2): Lấy 0,4 ml dung dịch A vào một ống nghiệm dài 100 mm, đường kính 20 mm có nút mài hoặc có nắp bằng polytetrafluoroethylen. Bốc hơi dung môi bằng cách đun nóng nhẹ dưới một luồng khí nitơ. Thêm 2 ml *dung dịch acid acetic băng 15 %* (tt/tt) và 50 mg *natri bismuthat (TT)*. Đậy nắp ống nghiệm và lắc hỗn dịch trong 1 h (tránh ánh sáng). Thêm tiếp 2 ml *dung dịch acid acetic băng 15 %* (tt/tt) và lọc vào một bình gạn dung tích 50 ml, rửa phễu lọc 2 lần, mỗi lần 5 ml *nước*. Lắc dịch lọc với 10 ml *dicloromethan (TT)*. Rửa lớp dicloromethan với 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, sau đó bằng *nước* 2 lần, mỗi lần với 5 ml. Loại nước bằng *natri sulfat khan (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg methyl prednisolon chuẩn trong *methanol (TT)* và thêm *methanol (TT)* vừa đủ 5 ml (dung dịch B). Pha loãng 2 ml dung dịch này thành 10 ml bằng *dicloromethan (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Tiến hành như với dung dịch thử (2) nhưng thay 0,4 ml dung dịch A bằng 0,4 ml dung dịch B.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1); 10 µl dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (2). Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, để khô bản mỏng ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Các vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) và (2) phải phù hợp về vị trí và kích thước với các vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và (2) tương ứng. Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT)*, sấy ở nhiệt độ 120 °C trong 15 min. Để nguội, quan sát dưới ánh sáng ban ngày và dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Các vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) và (2) phải phù hợp về màu dưới ánh sáng ban ngày và huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại ở 365 nm, vị trí và kích thước với các vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và (2) tương ứng. Các vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (2) có giá trị R_f cao hơn hẳn giá trị R_f của các vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (1).
D. Thêm khoảng 2 mg chế phẩm vào 2 ml *acid sulfuric (TT)* và lắc để hòa tan. Quan sát trong 5 min, xuất hiện màu đỏ đậm. Khi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm có huỳnh quang màu đỏ nâu. Đổ dung dịch thu được vào 10 ml *nước* và lắc đều, màu nhạt dần và có huỳnh quang màu vàng chanh dưới ánh sáng tử ngoại ở 365 nm.

Góc quay cực riêng
Từ +79,0° đến +86,0°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *dioxan (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Lấy 250 ml *acetonitril (TT)* vào một bình định mức 1000 ml, thêm 700 ml *nước*, trộn đều và để yên đến khi dung dịch cân bằng và thêm *nước* đến vạch, trộn đều.
Pha động B: *Acetonitril (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong hỗn hợp đồng thể tích *acetonitril - methanol* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động A.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 2 mg methylprednisolon chuẩn và 2 mg betamethason chuẩn trong pha động A và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Nhiệt độ cột: 45 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 2,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành chạy sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Tiến hành
0	100	0	Đẳng dòng
15	100	0	Bắt đầu gradient tuyến tính
40	0	100	Kết thúc sắc ký, quay về 100 % pha động A
41	100	0	Bắt đầu cân bằng với pha động A
46 = 0	100	0	Kết thúc cân bằng, bắt đầu quá trình chạy sắc ký tiếp theo

Cân bằng cột bằng pha động B ít nhất trong 30 min, sau đó với pha động A trong 5 min. Với các lần chạy sắc ký tiếp theo, cân bằng như mô tả trong bảng từ phút thứ 40 đến phút thứ 46. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu bằng ít nhất 50 % của thang đo.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, thời gian lưu của methylprednisolon vào khoảng 11,5 min và của betamethason vào khoảng 12,5 min; phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa các pic tương ứng với methylprednisolon và betamethason ít nhất là 1,5; điều chỉnh nồng độ acetonitril trong pha động A nếu cần.

Tiến hành sắc ký hỗn hợp đồng thể tích acetonitril - methanol là mẫu trắng, dung dịch đối chiếu và dung dịch thử.

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

Bất kỳ pic nào ngoài pic chính không được có diện tích lớn hơn 0,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %).

Tổng diện tích của các pic, trừ pic chính, không được lớn hơn hai lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2 %).

Bỏ qua các pic của mẫu trắng và các pic có diện tích pic nhỏ hơn 0,05 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(0,500 g; 100 °C đến 105 °C).

Định lượng

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và thêm *ethanol 96 % (TT)* thành 100,0 ml. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *ethanol 96 % (TT)*. Đo độ hấp thụ của dung dịch thu được (Phụ lục 4.1) ở bước sóng cực đại 243 nm, dùng mẫu trắng là *ethanol 96 % (TT)*.

Tính hàm lượng $C_{22}H_{30}O_5$ theo A (1 %, 1 cm), lấy 395 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 243 nm.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Corticosteroid.

Chế phẩm

Thuốc tiêm, viên nén.

VIÊN NÉN METHYLPREDNISOLON

Tabellae Methylprednisoloni

Là viên nén chứa methylprednisolon.

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

Hàm lượng methylprednisolon, $C_{22}H_{30}O_5$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

Lấy một lượng bột viên tương ứng với 50 mg methylprednisolon, chiết bằng 100 ml *cloroform (TT)*, lọc lấy dịch chiết và bay hơi đến khô. Cắn thu được làm các phép thử sau:

A. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của methylprednisolon.

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

Bản mỏng: Silica gel F_{254}.

Dung môi khai triển:

Dung môi I: *Dicloromethan - ether - methanol - nước* (77 : 15 : 8 : 1,2).

Dung môi II: *Ether - toluen - butanol đã bão hòa nước* (80 : 15 : 5).

Dung môi hòa mẫu: Dicloromethan - methanol (9 : 1).

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg cắn trong dung môi hòa mẫu và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg methylprednisolon chuẩn trong dung môi hòa mẫu và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg hydrocortison chuẩn trong dung dịch đối chiếu (1) và thêm dung dịch đối chiếu (1) vừa đủ 10 ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký lần lượt trong dung môi I, dung môi II, mỗi dung môi chạy 15 cm. Sau khi để khô

bản mỏng ngoài không khí, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí và kích thước. Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT)*, sấy ở nhiệt độ 120 °C trong 10 min hoặc cho đến khi các vết xuất hiện. Để nguội, quan sát dưới ánh sáng ban ngày và dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm.
Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về màu dưới ánh sáng ban ngày và huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại (365 nm), về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách rõ rệt.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Dicloromethan - ether - methanol - nước (77 : 15 : 8 : 1,2).
Dung môi hòa mẫu: Cloroform - methanol (9 : 1).
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với 20 mg methylprednisolon với 2 ml dung môi hòa mẫu trong 15 min. Ly tâm và lấy dịch trong.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng một thể tích dung dịch thử thành 50 thể tích bằng dung môi hòa mẫu.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 thể tích dung dịch đối chiếu (1) thành 4 thể tích bằng dung môi hòa mẫu.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 1 mg hydrocortison trong hỗn hợp gồm 0,1 ml dung dịch thử và 0,9 ml *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra và để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử cũng không được đậm hơn vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (2 %) và không có quá một vết như vậy đậm hơn vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) có 2 vết chính gần nhau nhưng tách rời nhau.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc thu được tới nồng độ thích hợp với môi trường hòa tan (nếu cần). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 256 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. Tính hàm lượng methylprednisolon, $C_{22}H_{30}O_5$, đã hòa tan theo A (1 %, 1 cm). Lấy 400 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng cực đại 256 nm.
Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng methylprednisolon so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

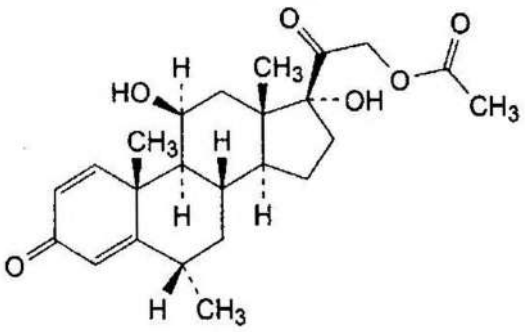
Định lượng
Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 10 mg methylprednisolon, lắc với 10 ml *nước* và chiết bằng *cloroform (TT)* với các lượng 100 ml, 50 ml, 50 ml, 40 ml. Rửa mỗi dịch chiết với cùng một lượng 10 ml *nước*. Gộp các dịch chiết, lọc và pha loãng thành 250 ml bằng *cloroform (TT)*. Hút chính xác 25 ml dung dịch thu được và bay hơi đến khô. Hòa tan cắn trong *ethanol không có aldehyd (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 390 µg đến 410 µg trong 10 ml. Tiến hành định lượng bằng phương pháp Định lượng các steroid bằng tetrazolium (Phụ lục 10.8).

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Corticosteroid.

Hàm lượng thường dùng
2 mg, 4 mg, 8 mg, 16 mg, 24 mg, 32 mg.

METHYLPREDNISOLON ACETAT
Methylprednisoloni acetas



$C_{24}H_{32}O_6$ P.t.l: 416,5

Methylprednisolon acetat là 11β,17-dihydroxy-6α-methyl-3,20-dioxopregna-1,4-dien-21-yl acetat, phải chứa từ 97,0 đến 103,0 % $C_{24}H_{32}O_6$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hay gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, hơi tan trong aceton và ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B.
Nhóm II: C, D, E.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của methylprednisolon acetat chuẩn. Nếu hai phổ có sự khác nhau thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và chất chuẩn trong thể tích tối thiểu *aceton (TT)*, bốc hơi đến khô trên cách thủy, lấy các cắn ghi phổ lại.

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Butanol - toluen - ether (5 : 10 : 85).

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (1 : 9) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg methylprednisolon acetat chuẩn trong hỗn hợp gồm *methanol - methylen clorid* (1 : 9) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg prednisolon acetat chuẩn và 10 mg methylprednisolon acetat chuẩn trong hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (1 : 9) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT)*, sấy ở nhiệt độ 120 °C trong 10 min hay đến khi xuất hiện vết, để nguội và quan sát dưới ánh sáng thường và tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về màu sắc dưới ánh sáng thường và huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại, vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (2) cho hai vết có thể không tách hoàn toàn khi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm.

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Nước - methanol - ether - methylen clorid (1,2 : 8 : 15 : 77).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 25 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi (dung dịch A). Pha loãng 2 ml dung dịch A thành 10 ml bằng *methylen clorid (TT)*.

Dung dịch thử (2): Lấy 2 ml dung dịch A cho vào một ống thủy tinh dung tích 15 ml, có nút mài hay có nắp polytetrafluoroethylen. Thêm 10 ml dung dịch *kali hydrocarbonat bão hòa trong methanol (TT)* và ngay lập tức cho luồng khí nitrogen đi qua dung dịch khoảng 5 min, đậy nắp. Đun nóng trong cách thủy ở nhiệt độ 45 °C, tránh ánh sáng, trong 1 h. Để nguội.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg methylprednisolon acetat chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml bằng cùng dung môi (dung dịch B). Pha loãng 2 ml dung dịch B thành 10 ml bằng *methylen clorid (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (2): Chuẩn bị giống dung dịch thử (2) nhưng thay 2 ml dung dịch A bằng 2 ml dung dịch B.

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của các dung dịch thử phải giống về vị trí và kích thước với vết trên sắc ký đồ của các dung dịch đối chiếu tương ứng.

Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT)*, sấy ở nhiệt độ 120 °C trong 10 min hay đến khi xuất hiện vết, để nguội và quan sát dưới ánh sáng thường và ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của các dung dịch thử phải giống về màu sắc dưới ánh sáng thường và huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại, vị trí và kích thước với vết trên sắc ký đồ của các dung dịch đối chiếu tương ứng. Các vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (2) có R_f thấp hơn hẳn R_f của các vết trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (1).

D. Cho khoảng 2 mg chế phẩm vào 2 ml *acid sulfuric (TT)* và lắc để hòa tan. Trong vòng 5 min, màu đỏ đậm xuất hiện. Khi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm dung dịch có huỳnh quang nâu đỏ. Đổ dung dịch này vào 10 ml *nước* và lắc đều, màu bị nhạt đi và có huỳnh quang vàng xanh khi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại 365 nm.

E. 10 mg chế phẩm cho phản ứng định tính của nhóm acetyl (Phụ lục 8.1).

Góc quay cực riêng

Từ + 97° đến + 105°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *dioxan (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi để đo.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Trong bình định mức 1000 ml, trộn 260 ml *tetrahydrofuran (TT)* với 700 ml *nước*, để yên cho cân bằng, thêm *nước* đến vạch và lắc đều.

Dung dịch thử: Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong 5 ml *tetrahydrofuran (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml bằng pha động.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 4 mg methylprednisolon acetat chuẩn và 4 mg dexamethason acetat chuẩn trong pha động và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:
Cân bằng cột khoảng 45 min với pha động. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu không dưới 50 % thang đo.
Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, thời gian lưu của pic methylprednisolon acetat khoảng 43 min và của pic dexamethason acetat khoảng 57 min. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic methylprednisolon acetat và pic dexamethason acetat ít nhất là 6,5. Nếu cần điều chỉnh nồng độ nước trong pha động.
Tiến hành sắc ký dung dịch thử với thời gian gấp 1,5 lần thời gian lưu của pic chính.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:
Tổng diện tích của các pic phụ không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (1,0 %).
Bỏ qua các pic tương ứng với pic của dung môi và pic có diện tích nhỏ hơn 0,025 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Định lượng
Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *ethanol 96 % (TT)*. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 243 nm. Tính hàm lượng $C_{24}H_{32}O_6$ theo A (1 %, 1 cm), lấy 355 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở 243 nm.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Corticosteroid.

Chế phẩm
Thuốc tiêm

THUỐC TIÊM METHYLPREDNISOLON ACETAT
Injectio Methylprednisoloni acetas

Là hỗn dịch vô khuẩn của methylprednisolon acetat trong nước để pha thuốc tiêm. Chế phẩm được pha chế vô khuẩn. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng methylprednisolon acetat, $C_{24}H_{32}O_6$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Hỗn dịch màu trắng, lắng xuống khi để yên nhưng phân tán dễ dàng khi lắc. Khi kiểm tra dưới kính hiển vi, các tiểu phân có dạng tinh thể và hiếm có tiểu phân có kích thước lớn hơn 20 µm.

Định tính
Pha loãng một thể tích chế phẩm tương ứng với khoảng 0,1 g methylprednisolon acetat thành 5 ml với *nước*. Ly tâm và bỏ lớp nước phía trên. Rửa cắn 5 lần, mỗi lần với 5 ml *nước* bằng cách phân tán cắn trong *nước*, ly tâm và bỏ dịch rửa. Cắn thu được, sau khi sấy ở 105 °C trong 3 h, làm các phép thử sau:
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ đối chiếu của methylprednisolon acetat.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Kieselguhr G. Thấm bản mỏng bằng cách đặt bản mỏng vào trong một bình sắc ký có chứa một lớp mỏng hỗn hợp dung môi *aceton - formamid* (9 : 1), để dung môi thấm lên hết bản mỏng, lấy bản mỏng ra để bay hơi dung môi và dùng trong vòng 2 h.
Dung môi khai triển: Cloroform.
Dung môi hòa mẫu: Cloroform - methanol (9 : 1).
Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg cắn trong 10 ml dung môi hòa mẫu.
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch methylprednisolon acetat chuẩn 0,25 % trong dung môi hòa mẫu.
Dung dịch đối chiếu (2): Hỗn hợp đồng thể tích dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1)
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên sao cho chiều triển khai sắc ký cùng chiều với chiều thấm bản mỏng. Sau khi lấy bản mỏng ra, để bay hơi dung môi ngoài không khí, sấy ở 120 °C trong 15 min và phun lên bản mỏng còn nóng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT)*. Sấy ở 120 °C trong 10 min hoặc cho đến khi các vết xuất hiện. Để nguội rồi quan sát bản mỏng dưới ánh sáng ban ngày và ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm.
Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về vị trí, kích thước và màu dưới ánh sáng ban ngày và huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại (365 nm), với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) là một vết đơn.

pH
Từ 3,5 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: n-Clorobutan - n-clorobutan bão hòa nước - tetrahydrofuran - methanol - acid acetic băng (475 : 475 : 70 : 35 : 30).
Dung dịch chuẩn nội: Cân 0,12 g prednison chuẩn vào bình định mức 20 ml, thêm 0,6 ml *acid acetic băng (TT)*, trộn đều. Thêm chậm *cloroform (TT)*, vừa thêm vừa lắc siêu âm đến khi hòa tan và thêm *cloroform (TT)* đến định mức.
Dung dịch thử: Lắc hỗn dịch chế phẩm cho đồng nhất, hút một lượng tương đương với 40 mg methylprednisolon

acetat vào bình định mức 25 ml. Thêm 10,0 ml dung dịch chuẩn nội, thêm *cloroform (TT)* đến định mức, lắc 15 min hoặc đến khi lớp nước trong. Hút 4,0 ml lớp cloroform, thêm 30 ml *cloroform (TT)* và 0,4 g *natri sulfat khan (TT)*, lắc 5 min và dùng dịch trong.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 20 mg methylprednisolon acetat chuẩn vào một bình định mức 100 ml, thêm 5,0 ml dung dịch chuẩn nội, thêm *cloroform (TT)* vừa đủ đến vạch.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh A (5 µm đến 10 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn, thời gian lưu tương đối là khoảng 1,3 với prednison và 1,0 với methylprednisolon acetat. Độ phân giải giữa hai pic không nhỏ hơn 2,5 và độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic thu được giữa các lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không quá 2,0 %.

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

Tính hàm lượng methylprednisolon acetat, $C_{24}H_{32}O_6$, có trong chế phẩm dựa vào tỉ số giữa chiều cao (hoặc diện tích) pic methylprednisolon acetat so với chiều cao (hoặc diện tích) pic prednison thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{24}H_{32}O_6$ trong methylprednisolon acetat chuẩn.

Bảo quản

Tránh ánh sáng, ở nhiệt độ dưới 30 °C. Không được để đông lạnh.

Loại thuốc

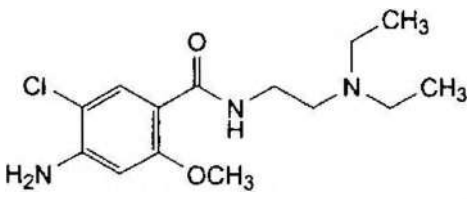
Corticosteroid.

Hàm lượng thường dùng

20 mg/ml, 40 mg/ml, 80 mg/ml.

METOCLOPRAMID

Metoclopramidum



$C_{14}H_{22}ClN_3O_2$ P.t.l: 299,8

Metoclopramid là 4-amino-5-cloro-N-[2-(diethylamino) ethyl]-2-methoxybenzamid, phải chứa từ 99,0 % đến 101 % $C_{14}H_{22}ClN_3O_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột mịn, đa hình, màu trắng hoặc gần như trắng.

Thực tế không tan trong nước, hơi tan trong dicloromethan, hơi tan đến khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: B, C.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của metoclopramid chuẩn.

B. Điểm chảy của chế phẩm phải từ 145 °C đến 149 °C (Phụ lục 6.7).

C. Trong phần Tạp chất liên quan, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm, trước khi phun dung dịch dimethylaminobenzaldehyd, vết chính trên sắc đồ của dung dịch thử (1) phải giống về vị trí, kích thước với vết chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong 25 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*. Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không đậm hơn màu mẫu V_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Amoniac đậm đặc - dioxan - methanol - dicloromethan (2 : 10 : 14 : 90).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 40 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 0,160 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg metoclopramid chuẩn và 10 mg sulpirid chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 20 mg *N,N-diethyl-ethan-1,2-diamin (TT)* trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2 ml dung dịch thu được thành 25 ml bằng *methanol (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai bản mỏng đến khi dung môi đi được 12 cm. Để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm (phép thử định tính C). Phun *dung dịch dimethylaminobenzaldehyd (TT_1)*. Để khô ngoài không khí. Bất cứ vết phụ nào trên sắc đồ của dung dịch thử (2) đều không được đậm màu hơn vết chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc đồ của dung dịch đối chiếu (1) cho hai vết tách rõ ràng.

B. Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 700 ml *nước*. Thêm 0,2 ml *N,N-dimethyloctylamin (TT)* và điều chỉnh pH về 4,0 bằng *dung dịch acid phosphoric*

loãng (TT), pha loãng với *nước* thành 1000 ml, thêm 250 ml *acetonitril (TT)* và trộn đều.
Dung dịch thử: Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 0,2 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg tạp chất chuẩn A của metoclopramid trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Trộn 1,0 ml dung dịch thu được với 0,1 ml dung dịch thử và pha loãng thành 10,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 240 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký dung dịch đối chiếu (2), điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của các pic chính bằng ít nhất 50 % chiều cao của thang đo. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (2) độ phân giải giữa hai pic chính ít nhất là 2,0.
Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch thử. Ghi sắc đồ của dung dịch thử trong khoảng thời gian bằng 8 lần thời gian lưu của metoclopramid.
Giới hạn: Trên sắc đồ của dung dịch thử:
Diện tích của bất cứ pic phụ nào ngoài pic chính đều không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %) và tổng diện tích của các pic phụ đó không được lớn hơn 3 lần diện tích của pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,6 %).
Bỏ qua các pic với diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích của pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (1).
Ghi chú:
Tạp chất A: 4-(acetylamino)-5-cloro-*N*-[2-(diethylamino)ethyl]-2-methoxybenzamid.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

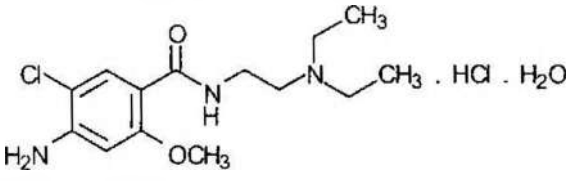
Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 50 ml *acid acetic khan (TT)*, thêm 5 ml *anhydrid acetic (TT)*. Định lượng bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 29,98 mg $C_{14}H_{22}ClN_3O_2$.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc
Phòng và chống nôn.

METOCLOPRAMID HYDROCLORID
Metoclopramidi hydrochloridum



$C_{14}H_{22}ClN_3O_2.HCl.H_2O$ P.t.l: 354,3

Metoclopramid hydroclorid là 4-amino-5-cloro-*N*-[2-(diethylamino)ethyl]-2-methoxybenzamid hydroclorid monohydrat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{14}H_{22}ClN_3O_2.HCl$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh hoặc tinh thể trắng hoặc gần như trắng. Rất tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %, hơi tan trong diclorometan. Nhiệt độ nóng chảy khoảng 183 °C, kèm theo phân hủy.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B, D.
Nhóm II: B, C, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại của chế phẩm (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của metoclopramid hydroclorid chuẩn. Chuẩn bị mẫu đo dạng viên nén (đĩa halid), dùng *kali clorid (TT)*.
B. pH của dung dịch S (xem mục Độ trong và màu sắc của dung dịch) từ 4,5 đến 6,0 (Phụ lục 6.2).
C. Ở phần Tạp chất liên quan, quan sát sắc ký đồ dưới ánh sáng tử ngoại trước khi phun *dung dịch dimethyl aminobenzaldehyd (TT_1)*, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải giống về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
D. Pha loãng 1 ml dung dịch S thành 2 ml với *nước*. Dung dịch phải cho phản ứng định tính (A) của clorid (Phụ lục 8.1).
E. Hòa tan khoảng 2 mg chế phẩm trong 2 ml *nước*. Dung dịch phải cho phản ứng định tính của amin thơm bậc nhất (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel HF_{254}.
Dung môi khai triển: Amoniac đậm đặc - dioxan - methanol - dicloromethan (2 : 10 : 14 : 90).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,40 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml với *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg metoclopramid hydroclorid chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5 ml dung dịch thử (1) thành 100 ml với *methanol (TT)*. Pha loãng 1 ml dung dịch này thành 10 ml với *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10 mg *N,N-diethylethylendiamin (TT)* trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 12 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %). Phun *dung dịch p-dimethylaminobenzaldehyd (TT_1)*. Để khô bản mỏng ngoài không khí. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) mà không quan sát thấy dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,5 %).

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8)
Lấy 12 ml dung dịch S, tiến hành theo phương pháp 1.
Dùng *dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Từ 4,5 % đến 5,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,500 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong hỗn hợp 5,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* và 50 ml *ethanol 96 % (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Tiến hành phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Đọc thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tiêu thụ giữa hai điểm uốn của đường chuẩn độ.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 33,63 mg $C_{14}H_{22}ClN_3O_2.HCl$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Phòng và chống nôn.

Chế phẩm
Viên nén, thuốc tiêm.

THUỐC TIÊM METOCLOPRAMID
Injectio Metoclopramidi

Là dung dịch vô khuẩn của metoclopramid hydroclorid trong nước để pha tiêm. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng metoclopramid, $C_{14}H_{22}ClN_3O_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu.

Định tính
A. Trong mục Định lượng, sắc ký đồ của dung dịch thử phải có pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic metoclopramid thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
B. Lấy một thể tích thuốc tiêm tương ứng với 50 mg metoclopramid, thêm 5 ml *nước* và 5 ml *dung dịch 4-dimethylaminobenzaldehyd 1 % trong acid hydrocloric 1 M* xuất hiện màu cam vàng.

pH
Từ 2,5 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2)
Không được quá 2,5 EU trong 1 mg metoclopramid.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 2,7 g *natri acetat (TT)* trong 500 ml *nước*, thêm 500 ml *acetonitril (TT)*, 2 ml *dung dịch tetramethylamoni hydroxyd 25 %*, điều chỉnh tới pH 6,5 bằng *acid acetic băng (TT)*, lắc đều, lọc.
Dung dịch thử: Lấy chính xác một thể tích thuốc tiêm tương đương với 40 mg metoclopramid vào bình định mức 100 ml, thêm *dung dịch acid phosphoric 0,01 M* đến định mức, lắc đều, lọc. Pha loãng 10,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml với *dung dịch acid phosphoric 0,01 M*.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 45 mg metoclopramid hydroclorid chuẩn vào một bình định mức 100 ml, hòa tan bằng *dung dịch acid phosphoric 0,01 M* và pha loãng đến định mức với cùng dung môi, lắc đều. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với *dung dịch acid phosphoric 0,01 M*.

Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm đến 10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 305 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng của pic metoclopramid không được lớn hơn 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng $C_{14}H_{22}ClN_3O_2$ trong thuốc tiêm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{14}H_{22}ClN_3O_2.HCl$ của metoclopramid hydroclorid chuẩn.

Bảo quản
Nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống nôn.

Hàm lượng thường dùng
Ống 10 mg/2 ml. Hàm lượng tính theo metoclopramid.

VIÊN NÉN METOCLOPRAMID
Tabellae Metoclopramidi

Là viên nén chứa metoclopramid hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng metoclopramid, $C_{14}H_{22}ClN_3O_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong mục Định lượng, sắc ký đồ của dung dịch thử phải có pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic metoclopramid thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
B. Lấy một lượng bột viên có chứa khoảng 50 mg metoclopramid, thêm 5 ml *nước*, lắc kỹ, lọc, thêm vào dịch lọc 5 ml *dung dịch 4-dimethylaminobenzaldehyd 1 % trong acid hydrocloric 1 M*, màu cam vàng tạo thành.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Lấy một phần môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc thu được tới nồng độ thích hợp với *nước*, nếu cần.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch metoclopramid hydroclorid chuẩn trong *nước* có nồng độ metoclopramid tương đương với nồng độ của dung dịch thử.
Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại khoảng 309 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *nước*. Tính hàm lượng metoclopramid, $C_{14}H_{22}ClN_3O_2$, đã hòa tan dựa vào độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{14}H_{22}ClN_3O_2.HCl$ của metoclopramid hydroclorid chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng metoclopramid, $C_{14}H_{22}ClN_3O_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 2,7 g *natri acetat (TT)* trong 500 ml *nước*, thêm 500 ml *acetonitril (TT)*, 2 ml *dung dịch tetramethylamoni hydroxyd 25 %*, điều chỉnh tới pH 6,5 bằng *acid acetic băng (TT)*, lắc đều, lọc.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 40 mg metoclopramid vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml *dung dịch acid phosphoric 0,01 M*, lắc siêu âm trong 5 min, để nguội, thêm *dung dịch acid phosphoric 0,01 M* đến định mức, lắc đều, lọc. Pha loãng 10,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml với *dung dịch acid phosphoric 0,01 M*.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 45 mg metoclopramid hydroclorid chuẩn vào một bình định mức 100 ml, hòa tan bằng *dung dịch acid phosphoric 0,01 M* và pha loãng đến định mức với cùng dung môi, lắc đều. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với *dung dịch acid phosphoric 0,01 M*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 305 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng của pic metoclopramid không được lớn hơn 2,0 và độ lệch chuẩn của diện tích pic từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng metoclopramid, $C_{14}H_{22}ClN_3O_2$, trong viên dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{14}H_{22}ClN_3O_2.HCl$ của metoclopramid hydroclorid chuẩn.

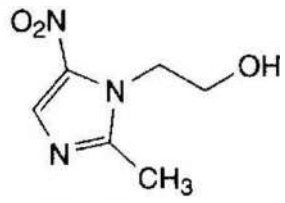
Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Phòng và chống nôn.

Hàm lượng thường dùng
5 mg, 10 mg. Hàm lượng tính theo metoclopramid.

METRONIDAZOL

Metronidazolum



$C_6H_9N_3O_3$ P.t.l: 171,2

Metronidazol là 2-(2-methyl-5-nitro-1*H*-imidazol-1-yl)-ethanol; phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_6H_9N_3O_3$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc hơi vàng. Khó tan trong nước, trong aceton, ethanol 96 % và trong methylen clorid.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của metronidazol chuẩn.

B. Nhiệt độ nóng chảy: 159 °C đến 163 °C (Phụ lục 6.7).

C. Hòa tan 40,0 mg chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Phổ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thu được trong khoảng từ bước sóng 230 nm đến 350 nm (Phụ lục 4.1) có một cực đại hấp thụ tại 277 nm và một cực tiểu tại 240 nm. Độ hấp thụ riêng tại cực đại hấp thụ từ 365 đến 395.

D. Lấy khoảng 10 mg chế phẩm, thêm 10 mg *bột kẽm (TT)*, 1 ml *nước* và 0,25 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*. Đun nóng trên cách thủy trong 5 min. Để nguội. Dung dịch thu được cho phản ứng của amin thơm bậc nhất (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu số II (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu VL_6 (Phụ lục 9.3; phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch trong điều kiện tránh ánh sáng.

Pha động: Methanol - dung dịch kali dihydrophosphat 0,01 M (30 : 70).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,05 g chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 5,0 mg tạp chất chuẩn A của metronidazol (2-methyl-4-nitroimidazol) trong pha động, thêm 10,0 ml dung dịch thử và pha loãng thành 100,0 ml với pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 315 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Thời gian lưu tương đối so với metronidazol (thời gian lưu khoảng 7 min): Tạp chất A khoảng 0,7.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa pic metronidazol và pic tạp chất A ít nhất là 2,0.

Tiến hành sắc ký dung dịch thử với thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của pic metronidazol.

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

Diện tích bất kỳ pic phụ nào không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (0,1 %).

Tổng diện tích các pic phụ không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (0,2 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn hoặc bằng 0,1 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (0,01 %).

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 3 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong 50 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 17,12 mg $C_6H_9N_3O_3$.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng khuẩn.

Chế phẩm

Viên nén, thuốc tiêm truyền.

THUỐC TIÊM TRUYỀN METRONIDAZOL
Infusio Metronidazoli

Là dung dịch vô khuẩn của metronidazol trong nước để pha thuốc tiêm.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng metronidazol, $C_6H_9N_3O_3$, từ 95,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu đến màu vàng nhạt.

Định tính
Lắc một thể tích thuốc tiêm tương ứng 0,1 g metronidazol với 9 g *natri clorid (TT)* trong 5 min, rồi thêm 20 ml *aceton (TT)* và lắc 5 min. Để yên cho tách lớp, lấy lớp dưới đem cách thủy đến khô. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn phải phù hợp với phổ hồng ngoại của metronidazol chuẩn hoặc phổ hồng ngoại đối chiếu của metronidazol.

pH
4,5 đến 6,0 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - dung dịch kali dihydrophosphat 0,01 M (30 : 70).
Dung dịch thử: Lấy chính xác một lượng thể tích chế phẩm và pha loãng bằng pha động để được dung dịch có nồng độ metronidazol 0,1 %.
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch chứa 0,0005 % 2-methyl-5-nitroimidazol chuẩn trong pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Chứa 0,00050 % 2-methyl-5-nitroimidazol chuẩn trong dung dịch thử.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (20 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm) (cột Spherisorb ODS là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 315 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký dung dịch thử trong khoảng thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của pic metronidazol.
Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu (2), điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao của pic 2-methyl-5-nitroimidazol bằng khoảng 50 % thang đo. Đo chiều cao (a) của pic 2-methyl-5-nitroimidazol và chiều cao (b) là phần thấp nhất của đường cong giữa pic 2-methyl-5-nitroimidazol và pic metronidazol. Phép thử chỉ có giá trị khi a lớn hơn 10b.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào ngoài pic chính không được lớn hơn diện tích của pic 2-methyl-5-nitroimidazol trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).

Nitrit
Dung dịch thử: Lấy một thể tích thuốc tiêm tương ứng với 2,5 mg metronidazol, thêm 40 ml *nước*, 2 ml *dung dịch acid sulfanilic (TT)*, 2 ml *dung dịch acid aminonaphtalensulfonic (TT)* và thêm *nước* đến 50 ml. Để yên ở nhiệt độ phòng trong 1 h.
Dung dịch đối chiếu: Thay thể tích thuốc tiêm bằng 1 ml *dung dịch nitrit chuẩn 20 phần triệu (TT)* rồi tiến hành như phần dung dịch thử.
Dung dịch mẫu trắng: Thay thể tích thuốc tiêm bằng 1 ml *nước* và tiến hành như phần dung dịch thử.
Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch đối chiếu và dung dịch thử ở bước sóng cực đại 524 nm. Độ hấp thụ của dung dịch thử không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch đối chiếu.

Nội độc tố vi khuẩn
Pha loãng một thể tích chế phẩm (nếu cần) trong *nước BET* để thu được dung dịch có nồng độ 5 mg/ml (dung dịch A). Nồng độ nội độc tố giới hạn của dung dịch A là 3,5 IU/ml. Tiến hành thử nghiệm sử dụng giá trị pha loãng cực đại của dung dịch A được tính từ độ nhạy của thuốc thử lysat sử dụng trong thử nghiệm (Phụ lục 13.2).

Định lượng
Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương ứng với khoảng 50 mg metronidazol vào bình định mức 100 ml, pha loãng đến 100 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Pha loãng 10,0 ml dung dịch này thành 250,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 277 nm, cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng metronidazol, $C_6H_9N_3O_3$, theo A (1 %, 1 cm), lấy 375 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở cực đại 277 nm.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng khuẩn, thuốc chống động vật nguyên sinh.

Hàm lượng thường dùng
500 mg/100 ml.

VIÊN NÉN METRONIDAZOL
Tabellae Metronidazoli

Là viên nén chứa metronidazol.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng metronidazol, $C_6H_9N_3O_3$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Cân một lượng bột chế phẩm tương ứng với khoảng 0,3 g metronidazol cho vào một bình nón, thêm 20 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, lắc vài phút, lọc. Tiến hành pha loãng dịch lọc trong *dung dịch acid sulfuric 0,5 % trong methanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ 20 µg/ml. Đo phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 200 đến 400 nm. So sánh với dung dịch chuẩn có nồng độ tương đương, được chuẩn bị trong cùng điều kiện. Phổ hấp thụ của dung dịch chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ của dung dịch metronidazol chuẩn.
B. Trong phần Định lượng, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic metronidazol thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 60 min.
Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* (nếu cần). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 278 nm trong cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng. So sánh với dung dịch metronidazol chuẩn có nồng độ tương đương, pha trong cùng dung môi.
Yêu cầu: Không được ít hơn 85 % (Q) lượng metronidazol, $C_6H_9N_3O_3$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Nước - methanol (80 : 20). Có thể điều chỉnh tỉ lệ nếu cần.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng metronidazol chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,5 mg/ml.
Dung dịch thử: Cho 10 viên thuốc được nghiền thành bột mịn vào một bình định mức có dung tích phù hợp, thêm vào một lượng *methanol (TT)* để hòa tan, lắc siêu âm khoảng 30 min, pha loãng bằng *methanol (TT)* vừa đủ để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 10 mg/ml. Để yên dung dịch cho tá dược lắng xuống. Hút 5,0 ml lớp dung dịch trong ở trên cho vào bình định mức 100 ml, pha loãng bằng pha động vừa đủ đến vạch, trộn đều và lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Hệ số đối xứng thu được từ pic chính metronidazol không được lớn hơn 2 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic trong 6 lần tiêm nhắc lại không được quá 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng, $C_6H_9N_3O_3$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic của metronidazol trong dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_6H_9N_3O_3$ trong metronidazol chuẩn.

Bảo quản
Đựng trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng khuẩn.

Hàm lượng thường dùng
200 mg, 400 mg.

VIÊN NÉN METRONIDAZOL VÀ NYSTATIN
Tabellae Metronidazoli et Nystatini

Là viên nén đặt âm đạo chứa metronidazol và nystatin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc đặt" (Phụ lục 1.10) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng metronidazol, $C_6H_9N_3O_3$, từ 95,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng nystatin, từ 90,0 % đến 130,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - amoniac đậm đặc - nước (70 : 28 : 2 : 4).
Dung dịch thử: Lắc kỹ một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 20 mg metronidazol với 10 ml *ethanol (TT)*, lọc và sử dụng dịch lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch của metronidazol chuẩn có nồng độ 2 mg/ml trong *ethanol (TT).*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.
Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.
B. Trong phần Định lượng metronidazol, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic metronidazol trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi khai triển: *Methanol - toluen - aceton - amoniac đậm đặc* (10 : 5 : 1 : 1).
Dung dịch thử: Lắc kỹ một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 100 000 IU nystatin với 10 ml *methanol (TT)*, lọc và sử dụng dịch lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch nystatin chuẩn có nồng độ 10 000 IU/ml trong *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).
Dùng 100 mg bột thuốc, sấy trong chân không ở 60 °C trong 3 h.

Định lượng
Định lượng metronidazol
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Methanol - nước* (20 : 80). Có thể điều chỉnh tỉ lệ, nếu cần.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng metronidazol chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,25 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 25 mg metronidazol vào bình định mức 100 ml, thêm 60 ml pha động và lắc siêu âm để hòa tan. Pha loãng bằng pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm đến 10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số đối xứng của pic metronidazol không lớn hơn 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic metronidazol trong các lần tiêm lặp lại nhỏ hơn 2,0 % .
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng metronidazol, $C_6H_9N_3O_3$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_6H_9N_3O_3$ của metronidazol chuẩn.

Định lượng nystatin
Chú ý tránh ánh sáng trong quá trình định lượng.
Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 200 000 IU nystatin vào bình định mức 50 ml, thêm *dimethylformamid (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc mạnh trong 1 h. Ly tâm lấy dịch trong. Pha loãng dung dịch thu được bằng dung dịch đệm số 19 để thu được các dung dịch làm việc.
Tiến hành định lượng theo chuyên luận "Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật" (Phụ lục 13.9).

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

Loại thuốc
Chống nấm.

Hàm lượng thường dùng
Metronidazol 500mg.
Nystatin 100 000 IU.

VIÊN NÉN METRONIDAZOL VÀ SPIRAMYCIN
Tabellae Metronidazoli et Spiramycini

Là viên nén hoặc viên nén bao phim chứa metronidazol và spiramycin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu chung trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng metronidazol, $C_6H_9N_3O_3$, từ 95,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng spiramycin, từ 90,0 % đến 120,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong mục Định lượng metronidazol, pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn metronidazol.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silicagel* GF_{254}, hoạt hóa ở 110 °C trong 30 min.
Dung môi khai triển: *Ether - methanol - diethylamin* (97 : 1 : 2).
Dung dịch đối chiếu metronidazol: Dung dịch metronidazol chuẩn trong *methanol (TT)* có nồng độ khoảng 4 mg/ml.
Dung dịch đối chiếu spiramycin: Dung dịch spiramycin chuẩn trong *methanol (TT)* có nồng độ tương đương nồng độ spiramycin trong dung dịch thử.
Dung dịch thử: Cân một lượng bột viên (bỏ lớp bao nếu cần) tương đương với 40 mg metronidazol, thêm 10 ml *methanol (TT)*, lắc kỹ trong 5 min. Lọc, sử dụng dịch lọc.
Cách tiến hành:
Chấm riêng rẽ lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch *đối chiếu* và dung dịch thử. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi

được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ thu được, dung dịch thử cho 2 vết chính có vị trí, hình dạng và kích thước tương ứng với các vết chính thu được từ dung dịch đối chiếu metronidazol và spiramycin.

C. Cân một lượng bột viên (bỏ lớp bao nếu cần) tương đương với 2 000 000 IU spiramycin, thêm 10 ml *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (TT)* và 25 ml *nước*, lắc đều, lọc. Điều chỉnh dịch lọc đến pH 8 bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 50 ml, lắc đều. Lấy 5 ml dung dịch này, thêm 2 ml hỗn hợp *nước - acid sulfuric* (1 : 2), xuất hiện màu nâu.

Độ hòa tan metronidazol (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giỏ quay.

Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 60 min.

Cách tiến hành:

Dung dịch thử: Lấy một phần dịch hòa tan sau thời gian hòa tan qui định, lọc.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng metronidazol chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* để được dung dịch có nồng độ tương đương nồng độ metronidazol trong dung dịch thử.

Định lượng metronidazol hòa tan bằng phương pháp sắc ký lỏng với pha động và điều kiện sắc ký như mô tả trong mục định lượng metronidazol.

Từ diện tích các pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_6H_9N_3O_3$ trong metronidazol chuẩn, tính lượng metronidazol trong viên hòa tan so với lượng ghi trên nhãn.

Yêu cầu: Không ít hơn 85 % (Q) lượng metronidazol, $C_6H_9N_3O_3$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 min.

Định lượng

Metronidazol

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Nước - methanol (80 : 20). Điều chỉnh tỉ lệ nếu cần.

Dung dịch chuẩn: Pha dung dịch của metronidazol chuẩn trong pha động có nồng độ chính xác khoảng 0,5 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân 20 viên (bỏ lớp bao nếu cần), tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 250 mg metronidazol vào bình định mức dung tích 50 ml. Thêm khoảng 35 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm để hòa tan. Thêm *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch. Trộn đều. Lọc. Pha loãng 10,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml với pha động.

Điều kiện sắc ký:

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

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Trên sắc ký đồ thu được, hệ số đối xứng của pic metronidazol không lớn hơn 2,0. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic của các lần tiêm lặp lại không quá 2,0 %.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử. Tính hàm lượng metronidazol, $C_6H_9N_3O_3$, trong viên dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_6H_9N_3O_3$ trong metronidazol chuẩn.

Spiramycin

Cân 20 viên (bỏ lớp bao nếu cần), tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 400 000 IU spiramycin vào bình định mức dung tích 100 ml, thêm 70 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm 15 min để hòa tan. Thêm *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch, trộn đều. Lọc hoặc ly tâm lấy dịch trong, thu được dung dịch thử gốc spiramycin. Tiến hành thử theo Phụ lục 13.9. Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật.

Bảo quản

Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

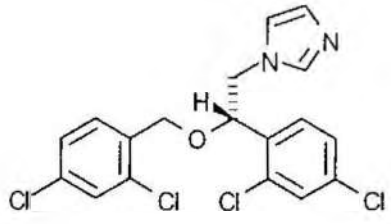
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

125 mg metronidazol và 750 000 IU spiramycin,
250 mg metronidazol và 750 000 IU spiramycin,
Hoặc 250 mg metronidazol và 1 500 000 IU spiramycin.

MICONAZOL

Miconazolum



và đồng phân đối quang

$C_{18}H_{14}Cl_4N_2O$ P.t.l: 416,1

Miconazol là 1-[(2*RS*)-2-[(2,4-diclorobenzyl)oxy]-2-(2,4-diclorophenyl)ethyl]-1*H*-imidazol, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{18}H_{14}Cl_4N_2O$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột màu trắng hoặc gần như trắng, đa hình. Rất khó tan trong nước, dễ tan trong methanol, tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của miconazol chuẩn.
B. Điểm chảy: 83 °C đến 87 °C (Phụ lục 6.7).
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký lớp mỏng.
Dung môi khai triển: Methanol - dioxan - dung dịch amoni acetat (40 : 40 : 20).
Dung dịch thử: Hòa tan 30 mg chế phẩm trong dung môi khai triển và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 30 mg miconazol chuẩn trong dung môi khai triển, pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 30 mg miconazol chuẩn và 30 mg econazol nitrat chuẩn trong dung môi khai triển, pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được ít nhất 15 cm. Làm khô bản mỏng bằng một luồng không khí ấm trong 15 min. Để bản mỏng vào bình bão hòa hơi iod cho đến khi xuất hiện các vết. Kiểm tra dưới ánh sáng ban ngày, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) phải cho hai vết tách ra rõ ràng.
D. Trộn khoảng 30 mg chế phẩm với 300 mg *natri carbonat khan (TT)* trong chén nung, đốt trên ngọn lửa khoảng 10 min. Để nguội, thêm 5 ml *acid nitric loãng (TT)*, lắc kỹ và lọc. Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 ml *nước*, dung dịch thu được phải cho phản ứng (A) của phép thử định tính ion clorid (Phụ lục 8.1)

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu V_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực
Từ -0,10° đến +0,10° (Phụ lục 6.4).
Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 6,0 g *amoni acetat (TT)* trong hỗn hợp gồm 320 ml *methanol (TT)*, 380 ml *nước* và 300 ml *acetonitril (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng pha động.
Dung dịch phân giải: Hòa tan 2,5 mg miconazol chuẩn và 2,5 mg econazol nitrat chuẩn trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 µm).
Detector quang phổ tử ngoại tại bước sóng 235 nm.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành: Ổn định cột bằng pha động trong khoảng 30 min.
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 1,2 lần thời gian lưu của pic chính.
Tiến hành sắc ký dung dịch đối chiếu, điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao của pic chính trên sắc ký đồ không được dưới 50 % của thang đo.
Thời gian lưu của econazol nitrat khoảng 10 min, miconazol khoảng 20 min.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa econazol nitrat và miconazol ít nhất là 10. Điều chỉnh tỷ lệ pha động nếu cần.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:
Diện tích của bất kỳ pic phụ nào không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,25 %).
Tổng diện tích của các pic phụ này không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %).
Bỏ qua pic của dung môi và các pic phụ có diện tích nhỏ hơn 0,2 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 60 °C; trong chân không; 4 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp chuẩn độ trong môi trường khan (Phụ lục 10.6).
Cân chính xác khoảng 0,300 g chế phẩm, hòa tan trong 50 ml hỗn hợp gồm 1 thể tích *acid acetic khan (TT)* và 7 thể tích *methyl ethyl keton (TT)*, thêm 0,2 ml *dung dịch naphtholbenzein (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* cho đến khi màu của dung dịch chuyển từ màu vàng da cam sang màu xanh lá.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 41,61 mg $C_{18}H_{14}Cl_4N_2O$.

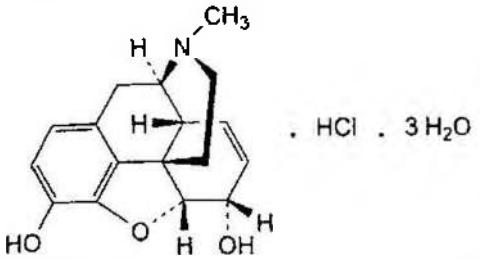
Bảo quản
Trong đồ bao gói kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống nấm.

Chế phẩm
Kem, gel.

MORPHIN HYDROCLORID

Morphini hydrochloridum



$C_{17}H_{19}NO_3.HCl.3H_2O$ P.t.l: 375,8

Morphin hydroclorid là 7,8-didehydro-4,5α-epoxy-17-methylmorphinan-3,6α-diol hydroclorid trihydrat, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{17}H_{19}NO_3.HCl$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng hoặc hình kim không màu hoặc khối vuông không màu, lên hoa ngoài không khí khô.

Tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong toluen.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, E.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của morphin hydroclorid trihydrat chuẩn.

B. Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi (dung dịch A). Pha loãng 10,0 ml dung dịch A thành 100,0 ml bằng *nước*. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 250 nm đến 350 nm. Dung dịch phải cho một cực đại hấp thụ ở bước sóng 285 nm và A (1 %, 1 cm) ở 285 nm khoảng từ 37 đến 43.

Pha loãng 10,0 ml dung dịch A thành 100,0 ml bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng từ bước sóng 250 nm đến 350 nm. Dung dịch phải cho một cực đại hấp thụ ở bước sóng 298 nm và A (1 %, 1 cm) ở 298 nm từ 64 đến 72.

C. Thêm 0,5 ml *dung dịch formaldehyd trong acid sulfuric (TT)* vào khoảng 1 mg chế phẩm đã được nghiền trong đĩa sứ. Màu đỏ tía sẽ xuất hiện và biến thành màu tím.

D. Chế phẩm phải cho phản ứng của alcaloid (Phụ lục 8.1).

E. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn dung dịch màu mẫu V_6 hoặc VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 0,05 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)* vào 10 ml dung dịch S. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)* hoặc *dung dịch acid hydrocloric 0,02 N (CĐ)* cần dùng để làm dung dịch chuyển màu không quá 0,2 ml.

Góc quay cực riêng

Từ -110° đến -115°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4). Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Dung dịch *natri heptansulfonat (TT)* 1,01 g/l được điều chỉnh đến pH 2,6 bằng *dung dịch acid phosphoric* 50 % (tt/tt).

Pha động B: Methanol (TT).

Dung môi pha loãng: Pha loãng 1 thể tích *acid acetic (TT)* thành 100 thể tích bằng *nước*.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,125 g chế phẩm trong dung môi pha loãng và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

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

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg morphin chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa các tạp chất B, C, E và F) trong dung môi pha loãng và pha loãng thành 2,0ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).

Nhiệt độ cột: 35 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 2	85	15
2 - 35	85 → 50	15 → 50
35 - 40	50	50

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo morphin chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất B, C, E và F.

Thời gian lưu tương đối so với morphin (thời gian lưu khoảng 12,5 min): Tạp chất F khoảng 0,95; tạp chất E khoảng 1,1; tạp chất C khoảng 1,6; tạp chất B khoảng 1,9.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của

dung dịch đối chiếu (2), tỷ số đỉnh - hõm (H_p/H_v) ít nhất là 2; trong đó H_p là chiều cao đỉnh pic tạp chất F so với đường nền và H_v là chiều cao tính từ đường nền lên đến đáy hõm giữa pic tạp chất F và pic morphin.

Giới hạn:

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng: Tạp chất B là 0,25; tạp chất C là 0,4; tạp chất E là 0,5.

Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B đã hiệu chỉnh không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,4 %).

Tạp chất C, E: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).

Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,25 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: 7,8-didehydro-4,5α-epoxy-3-methoxy-17-methylmorphinan-6α-ol (codein).

Tạp chất B: 7,7',8,8'-tetradehydro-4,5α:4',5'α-diepoxy-17,17'-dimethyl-2,2'-bimorphinanyl-3,3',6α,6'α-tetrol(2,2'-bimorphin).

Tạp chất C: 6,7,8,14-tetradehydro-4,5α-epoxy-6-methoxy-17-methylmorphinan-3-ol (oripavin).

Tạp chất D: 7,8-didehydro-4,5α-epoxy-17-methylmorphinan-3,6α,10α-triol (10*S*-hydroxymorphin).

Tạp chất E: 7,8-didehydro-4,5α-epoxy-3-hydroxy-17-methylmorphinan-6-on (morphinon).

Tạp chất F: (17*S*)-7,8-didehydro-4,5α-epoxy-17-methylmorphinan-3,6α-diol 17-oxid (morphin *N*-oxid).

Nước

Từ 12,5 % đến 15,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,10 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* và 30 ml *ethanol 96 % (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

Đọc thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tiêu thụ giữa 2 điểm uốn.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 32,18 mg $C_{17}H_{19}NO_3.HCl$

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc giảm đau, gây nghiện.

Chế phẩm

Viên nén, thuốc tiêm.

THUỐC TIÊM MORPHIN HYDROCLORID

Injectio Morphini hydrochloridi

Là dung dịch vô khuẩn của morphin hydroclorid trong nước để pha thuốc tiêm.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng morphin hydroclorid, $C_{17}H_{19}NO_3.HCl.3H_2O$ từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu.

Định tính

A. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic morphin hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Bay hơi đến khô một thể tích chế phẩm tương đương với 5 mg morphin hydroclorid trên cách thủy. Hòa tan cặn bằng 5 ml *nước*, thêm một giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, phải xuất hiện ngay màu chàm.

C. Dung dịch chế phẩm phải cho các phản ứng của ion clorid (Phụ lục 8.1).

pH

2,5 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch *dioctyl natri sulfosuccinat* 0,22 % *và natri acetat 0,14 %* trong *methanol 60 % (TT)*, điều chỉnh đến pH 5,5 bằng *acid acetic băng (TT)*.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 30 mg morphin hydroclorid chuẩn vào bình định mức 100 ml, thêm 20 ml *dung dịch dikali hydrophosphat 0,3 M (TT)* pha loãng với *nước* vừa đủ tới vạch. Lắc kỹ để hòa tan, lọc.

Dung dịch thử: Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương đương với 30 mg morphin hydroclorid vào bình định mức 100 ml, thêm 20 ml *dung dịch dikali hydrophosphat 0,3 M (TT)* pha loãng với *nước* vừa đủ tới vạch. Lắc kỹ để hòa tan.

Dung dịch phân giải: Dung dịch có chứa morphin hydroclorid chuẩn 0,03 % và codein phosphat chuẩn 0,04 % trong pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (cột Nucleosil C18 là thích hợp).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 285 nm.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa hai pic morphin và codein trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải không nhỏ hơn 2,0.
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn và dung dịch thử, tính hàm lượng của morphin hydroclorid, $C_{17}H_{19}NO_3.HCl.3H_2O$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{17}H_{19}NO_3.HCl.3H_2O$ trong morphin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản
Thuốc gây nghiện. Bảo quản trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

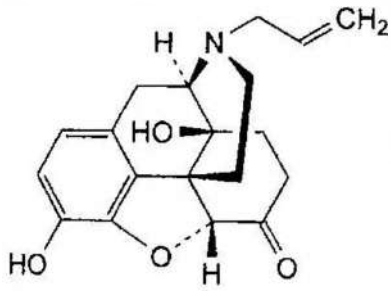
Loại thuốc
Thuốc giảm đau opioid.

Hàm lượng thường dùng
2 mg/ml, 4 mg/ml, 10 mg/ml.

NALOXON HYDROCLORID

Naloxoni hydrochloridum

Naloxon hydroclorid dihydrat



. HCl . $2H_2O$

$C_{19}H_{21}NO_4.HCl.2H_2O$ P.t.l: 399,9

Naloxon hydroclorid là 4,5α-epoxy-3,14-dihydroxy-17-(prop-2-enyl)morphinan-6-on hydroclorid dihydrat phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{19}H_{21}NO_4.HCl$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, hút ẩm.
Dễ tan trong nước, tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong toluen.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, C.
Nhóm II: B, C.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của naloxon hydroclorid chuẩn.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Methanol - lớp trên của hỗn hợp gồm 60 ml dung dịch amoniac 2 M và 100 ml butanol (5 : 95).
Dung dịch thử: Hòa tan 8 mg chế phẩm trong 0,5 ml *nước* và pha loãng thành 1 ml bằng *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 8 mg naloxon hydroclorid chuẩn trong 0,5 ml *nước* và pha loãng thành 1 ml bằng *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl của mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 2/3 bản mỏng. Để bản mỏng khô ngoài không khí. Phun lên bản mỏng dung dịch mới pha *kali fericyanid (TT)* 0,5 % trong *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
C. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Thêm 0,05 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)* vào 10,0 ml dung dịch S. Dung dịch phải chuyển màu khi thêm không quá 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)* hoặc *dung dịch acid hydrocloric 0,02 N (CĐ)*.

Góc quay cực riêng
Từ -181° đến -170°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).
Xác định trên dung dịch S.

Tạp chất D
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch A: Hòa tan 1,58 g *amoni hydrocarbonat (TT)* trong 950 ml *nước*, điều chỉnh pH dung dịch đến 9,0 bằng *amoniac (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Pha động A: Acetonitril (TT_1) - dung dịch A (20 : 80).
Pha động B: Acetonitril (TT_1) - dung dịch A (40 : 60).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10,0 mg tạp chất D chuẩn của naloxon trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (3): Thêm 2,0 ml dung dịch đối chiếu (1) vào 4,0 ml dung dịch thử và pha loãng thành 20,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 285 nm.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa hai pic morphin và codein trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải không nhỏ hơn 2,0.
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn và dung dịch thử, tính hàm lượng của morphin hydroclorid, $C_{17}H_{19}NO_3.HCl.3H_2O$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{17}H_{19}NO_3.HCl.3H_2O$ trong morphin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản
Thuốc gây nghiện. Bảo quản trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

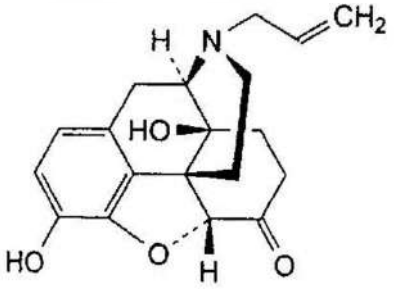
Loại thuốc
Thuốc giảm đau opioid.

Hàm lượng thường dùng
2 mg/ml, 4 mg/ml, 10 mg/ml.

NALOXON HYDROCLORID

Naloxoni hydrochloridum

Naloxon hydroclorid dihydrat



. HCl . $2H_2O$

$C_{19}H_{21}NO_4.HCl.2H_2O$ P.t.l: 399,9

Naloxon hydroclorid là 4,5α-epoxy-3,14-dihydroxy-17-(prop-2-enyl)morphinan-6-on hydroclorid dihydrat phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{19}H_{21}NO_4.HCl$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, hút ẩm.
Dễ tan trong nước, tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong toluen.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, C.
Nhóm II: B, C.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của naloxon hydroclorid chuẩn.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Methanol - lớp trên của hỗn hợp gồm 60 ml dung dịch amoniac 2 M và 100 ml butanol (5 : 95).
Dung dịch thử: Hòa tan 8 mg chế phẩm trong 0,5 ml *nước* và pha loãng thành 1 ml bằng *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 8 mg naloxon hydroclorid chuẩn trong 0,5 ml *nước* và pha loãng thành 1 ml bằng *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl của mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 2/3 bản mỏng. Để bản mỏng khô ngoài không khí. Phun lên bản mỏng dung dịch mới pha *kali fericyanid (TT)* 0,5 % trong *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
C. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Thêm 0,05 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)* vào 10,0 ml dung dịch S. Dung dịch phải chuyển màu khi thêm không quá 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)* hoặc *dung dịch acid hydrocloric 0,02 N (CĐ)*.

Góc quay cực riêng
Từ -181° đến -170°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).
Xác định trên dung dịch S.

Tạp chất D
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch A: Hòa tan 1,58 g *amoni hydrocarbonat (TT)* trong 950 ml *nước*, điều chỉnh pH dung dịch đến 9,0 bằng *amoniac (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Pha động A: Acetonitril (TT_1) - dung dịch A (20 : 80).
Pha động B: Acetonitril (TT_1) - dung dịch A (40 : 60).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10,0 mg tạp chất D chuẩn của naloxon trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (3): Thêm 2,0 ml dung dịch đối chiếu (1) vào 4,0 ml dung dịch thử và pha loãng thành 20,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.

Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Nhiệt độ cột: 40 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký các dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (2) và (3) theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 50	100	0
50 - 51	100 → 0	0 → 100
51 - 60	0	100

Thời gian lưu tương đối của tạp chất D so với naloxon (thời gian lưu khoảng 50 min) khoảng 0,8.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), hệ số đối xứng của pic tạp chất D không được lớn hơn 1,8.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, pic tương ứng với tạp chất D không được có diện tích lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (75 ppm).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch A: Hòa tan 1,10 g *natri octansulfonat (TT)* trong 950 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 2,0 bằng *dung dịch acid phosphoric 50 % (tt/tt)*, lọc và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Pha động A: *Acetonitril - tetrahydrofuran - dung dịch A* (20 : 40 : 940).
Pha động B: *Tetrahydrofuran - acetonitril - dung dịch A* (40 : 170 : 790).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,125 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg naloxon chuẩn dùng để định tính pic (có chứa các tạp chất A, B, C, D, E và F) trong 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 20,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (12,5 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Nhiệt độ cột: 40 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 40	100 → 0	0 → 100
40 - 50	0	100

Thời gian lưu tương đối của các pic so với naloxon (thời gian lưu khoảng 11 min) như sau: Tạp chất C khoảng 0,6; tạp chất A khoảng 0,8; tạp chất F khoảng 0,9; tạp chất D khoảng 1,1; tạp chất E khoảng 3,0; tạp chất B khoảng 3,2.
Xác định các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo naloxon chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) để xác định pic của các tạp chất A, B, C, D, E và F.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1), tỷ số đỉnh - hõm (H_p/H_v) tối thiểu phải bằng 2,0, trong đó H_p là chiều cao của pic tạp chất D và H_v là chiều cao của đáy hõm phân tách pic tạp chất D và pic naloxon.
Giới hạn:
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính toán, nhân diện tích pic của tạp chất E với 0,5.
Các tạp chất A, B, C, E, F: Diện tích pic của mỗi tạp chất A, B, C, E và F không được lớn hơn diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).
Các tạp chưa xác định: Mỗi tạp chất không được có diện tích lớn hơn 0,5 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).
Tổng tất cả các tạp chất: Tổng diện tích của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 4 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,8 %).
Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn hoặc bằng 0,25 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 4,5α-epoxy-3,14-dihydroxymorphinan-6-on (noroxymorphon).
Tạp chất B: 4,5α-epoxy-14-hydroxy-17-(prop-2-enyl)-3-(prop-2-enyloxy)morphinan-6-on(3-*O*-allyl naloxon).
Tạp chất C: 4,5α-epoxy-3,10α,14-trihydroxy-17-(prop-2-enyl) morphinan-6-on (10α-hydroxynaloxon).
Tạp chất D: 7,8-didehydro-4,5α-epoxy-3,14-dihydroxy-17-(prop-2-enyl)morphinan-6-on (7,8-didehydro naloxon).
Tạp chất E: 4,5α:4',5'α-diepoxy-3,3',14,14'-tetrahydroxy-17,17'-bis(prop-2-enyl)-2,2'-bimorphinanyl-6,6'-dion (2,2'-binaloxon).
Tạp chất F: 4,5α-epoxy-3,10β,14-trihydroxy-17-(prop-2-enyl)morphinan-6-on (10β-hydroxynaloxon).
Tạp chất G: 4,5α-epoxy-14-hydroxy-3-methoxy-17-(prop-2-enyl) morphinan-6-on (3-*O*-methylnaloxon).

Nước
Từ 7,5 % đến 11,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,200 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 0,50 g chế phẩm.

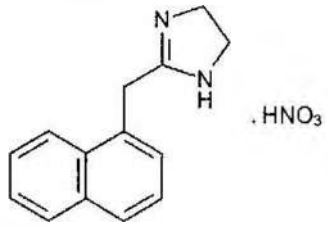
Định lượng
Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong 50 ml *ethanol 96 % (TT)*, thêm 5,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* và tiến hành phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2), dùng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N trong ethanol (CĐ)* làm dung dịch chuẩn độ. Đọc thể tích giữa hai điểm uốn của đường chuẩn độ.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N trong ethanol (CĐ)* tương đương với 36,38 mg $C_{19}H_{22}ClNO_4$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc đối kháng opioid, thuốc giải độc opioid.

Chế phẩm
Thuốc tiêm.

NAPHAZOLIN NITRAT
Naphazolini nitras



$C_{14}H_{14}N_2.HNO_3$ P.t.l: 273,3

Naphazolin nitrat là 2-(1-naphthylmethyl)-2-imidazolin nitrat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{14}H_{14}N_2.HNO_3$, tính theo chế phẩm làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hay gần như trắng. Hơi tan trong nước, tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của naphazolin nitrat chuẩn.
B. Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* và pha loãng thành 250,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 25,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng từ bước sóng 230 nm đến 350 nm cho 4 cực đại hấp thụ ở bước sóng 270 nm, 280 nm, 287 nm và 291 nm. Tỷ số giữa độ hấp thụ đo được ở các bước sóng cực đại 270 nm, 287 nm và 291 nm so với độ hấp thụ đo được ở bước sóng cực đại 280 nm phải lần lượt đạt từ 0,82 đến 0,86; từ 0,67 đến 0,70 và từ 0,65 đến 0,69.
C. Điểm chảy: Từ 167 °C đến 170 °C (Phụ lục 6.7).
D. Hòa tan 45 mg chế phẩm trong 2 ml *nước*. Thêm 1 ml *acid sulfuric (TT)*. Lắc cẩn thận và để nguội. Thêm từng giọt, dọc theo thành ống nghiệm 1 ml *dung dịch sắt (II) sulfat (TT_2)*. Ở phần tiếp giáp giữa 2 lớp chất lỏng xuất hiện một vòng màu nâu.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* bằng cách đun nóng nhẹ và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Dung dịch S có pH từ 5,0 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 1,1 g *natri octansulfonat (TT)* trong một hỗn hợp gồm 5 ml *acid acetic băng (TT)*, 300 ml *acetonitril (TT)* và 700 ml *nước*.
Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch phân giải: Hòa tan 5 mg *acid 1-naphthylacetic (TT)* (tạp chất B) trong pha động, thêm 5 ml dung dịch thử và pha loãng thành 100 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5,0 mg naphthylacetylethylendiamin chuẩn (tạp chất A) trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2,0 ml dung dịch thử thành 10,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh *octylsilyl silica gel đã được khóa các nhóm silanol* (4 µm) với kích thước lỗ xốp là 6 nm.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của pic naphazolin.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa pic tương ứng với naphazolin và tạp chất B ít nhất là 5,0. Thời gian lưu của naphazolin khoảng 14 min.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử:
Diện tích pic tương ứng với tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Diện tích của bất kỳ pic phụ nào khác không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).

Tổng diện tích của tất cả các pic phụ không được lớn hơn 5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %).
Bỏ qua tất cả các pic có diện tích nhỏ hơn 0,25 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %) và bất kỳ pic nào tương ứng với ion nitrat.

Clorid
Không được quá 0,033 % (Phụ lục 9.4.5).
Dùng 15 ml dung dịch S để thử.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

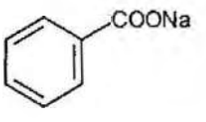
Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 30 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 27,33 mg $C_{14}H_{14}N_2.HNO_3$.

Bảo quản
Trong chai lọ kín và tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kích thích thần kinh giao cảm.

NATRI BENZOAT
Natrii benzoas



$C_7H_5NaO_2$ P.t.l: 144,1

Natri benzoat là natri benzencarboxylat, phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % $C_7H_5NaO_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh hay hạt hoặc mảnh màu trắng, hơi hút ẩm. Dễ tan trong nước, hơi tan trong ethanol 90 % (tt/tt).

Định tính
A. Chế phẩm phải cho phản ứng định tính (B) và (C) của ion benzoat (Phụ lục 8.1).
B. Chế phẩm phải cho phản ứng định tính (A) của ion natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 10,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu V_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Thêm 10 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* và 0,2 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* vào 10 ml dung dịch S. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* hoặc *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* cần dùng để làm dung dịch chuyển màu không quá 0,2 ml.

Hợp chất halogen
Tất cả các dụng cụ thủy tinh được dùng phải không có clorid và phải được chuẩn bị bằng cách ngâm qua đêm trong *dung dịch acid nitric 35 % (TT)*, được rửa sạch và ngâm trong nước. Phải có chỉ dẫn rằng dụng cụ thủy tinh được dùng riêng cho phép thử này.
Dung dịch thử: Lấy 20,0 ml dung dịch S, thêm 5 ml *nước*, pha loãng thành 50,0 ml bằng *ethanol 96 % (TT)*.
Xác định clor đã bị ion hóa
Không được quá 0,02 %.
Trong 3 bình định mức 25 ml, chuẩn bị các dung dịch sau:
Dung dịch (1): Thêm vào 4,0 ml dung dịch thử, 3 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* và 3 ml *ethanol 96 % (TT)*. Dung dịch này được dùng để chuẩn bị dung dịch A.
Dung dịch (2): Thêm vào 3 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*, 2 ml *nước* và 5 ml *ethanol 96 % (TT)*. Dung dịch này được dùng để chuẩn bị dung dịch B.
Dung dịch (3): Thêm vào 4,0 ml *dung dịch clorid mẫu 8 phần triệu Cl (TT)*, 6,0 ml *nước*. Dung dịch này dùng để chuẩn bị dung dịch C.
Thêm riêng rẽ vào 4 bình định mức 25 ml, (ký hiệu A, B, C, D) lần lượt 10 ml dung dịch (1), 10 ml dung dịch (2), 10 ml dung dịch (3) và 10,0 ml *nước*. Thêm vào mỗi bình 5 ml *dung dịch sắt (III) amoni sulfat (TT)*, trộn đều và thêm từng giọt, vừa thêm vừa lắc, 2 ml *acid nitric (TT) và 5 ml dung dịch thủy ngân (II) thiocyanat (TT)*. Lắc. Pha loãng dung dịch trong mỗi bình thành 25,0 ml bằng *nước* và để các bình trong chậu nước ở 20 °C trong 15 min. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 460 nm trong cốc đo 2 cm của dung dịch A, lấy dung dịch B làm mẫu trắng và của dung dịch C, lấy dung dịch D làm mẫu trắng. Độ hấp thụ của dung dịch A không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch C.
Xác định clor toàn phần
Không được quá 0,03 %.
Dung dịch (1): Thêm 7,5 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* và 0,125 g *hợp kim nhôm nickel (TT)* vào 10 ml dung dịch thử. Đun nóng trên nồi cách thủy 10 min. Để nguội đến nhiệt độ phòng, lọc vào bình định mức có dung tích 25 ml và rửa phễu lọc 3 lần, mỗi lần với 2 ml *ethanol 96 % (TT)* (tủa nhẹ có thể hình thành rồi biến mất khi acid hóa). Pha loãng dịch lọc và nước rửa thành 25,0 ml bằng *nước*. Dung dịch này được dùng để chuẩn bị dung dịch A.

Dung dịch (2): Chuẩn bị như dung dịch (1), nhưng thay 10,0 ml dung dịch thử bằng 10,0 ml hỗn hợp đồng thể tích *ethanol 96 % (TT)* và *nước*. Dung dịch này dùng để chuẩn bị dung dịch B.
Dung dịch (3): Thêm 4,0 ml *nước* vào 6,0 ml *dung dịch clorid mẫu 8 phần triệu Cl (TT)*. Dung dịch này dùng để chuẩn bị dung dịch C.
Thêm riêng rẽ vào 4 bình định mức 25 ml (ký hiệu A, B, C, D), lần lượt 10 ml dung dịch (1), 10 ml dung dịch (2), 10 ml dung dịch (3) và 10 ml *nước*.
Thêm vào mỗi bình 5 ml *dung dịch sắt (III) amoni sulfat (TT)*, trộn đều và thêm từng giọt, vừa thêm vừa lắc 2 ml *acid nitric (TT)* và 5 ml *dung dịch thủy ngân (II) thiocyanat (TT)*, lắc. Pha loãng dung dịch trong mỗi bình thành 25,0 ml bằng *nước* và để các bình trong chậu nước ở 20 °C trong 15 min. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 460 nm, trong cốc đo 2 cm của dung dịch A, dùng dung dịch B làm mẫu trắng và của dung dịch C, dùng dung dịch D làm mẫu trắng. Độ hấp thụ của dung dịch A không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch C.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 2,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 2,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 20 ml *acid acetic khan (TT)*, làm nóng đến 50 °C nếu cần thiết. Để nguội, dùng 0,05 ml *dung dịch naphtholbenzein (TT)* làm chỉ thị. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* đến khi màu xanh lục xuất hiện.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 14,41 mg $C_7H_5NaO_2$.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc
Chất bảo quản.

NATRI BROMID
Natrii bromidum

NaBr P.t.l: 102,9

Natri bromid phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % NaBr, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột cốm màu trắng hay gần như trắng hoặc tinh thể nhỏ mờ đục hay trong suốt không màu, hơi hút ẩm.
Dễ tan trong nước, tan trong ethanol 96 %.

Định tính
A. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của bromid (Phụ lục 8.1).
B. Dung dịch S (xem Độ trong và màu sắc của dung dịch) phải cho phản ứng của natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 10,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)* vào 10 ml dung dịch S. Lượng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)* cần dùng để làm dung dịch chuyển màu không quá 0,5 ml.

Bromat
Thêm 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)*, 0,1 ml *dung dịch kali iodid 10 % (TT)* và 0,25 ml *dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT)* vào 10 ml dung dịch S. Để yên ở chỗ tối trong 5 min. Không được có màu xanh hoặc tím xuất hiện.

Clorid và sulfat
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 0,600 g *kali hydroxyd (TT)* trong *nước dùng cho sắc ký* và pha loãng thành 1000,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong 50 ml *nước dùng cho sắc ký* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 25,0 ml dung dịch thử (1) thành 50,0 ml bằng *nước dùng cho sắc ký*.
Dung dịch đối chiếu (1): Thêm 1,0 ml *dung dịch sulfat chuẩn 10 phần triệu SO_4 (TT)* và 12,0 ml *dung dịch clorid chuẩn 50 phần triệu Cl (TT)* vào 25,0 ml dung dịch thử (1) và pha loãng thành 50,0 ml bằng *nước dùng cho sắc ký*.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 10,0 ml dung dịch thử (1) thành 100,0 ml bằng *nước dùng cho sắc ký*. Lấy 2,0 ml dung dịch thu được, thêm 8,0 ml *dung dịch clorid chuẩn 50 phần triệu Cl (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml bằng *nước dùng cho sắc ký*.
Mẫu trắng: *Nước dùng cho sắc ký*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 2 mm) được nhồi pha tĩnh là *hạt trao đổi anion có tính kiềm mạnh loại dùng cho sắc ký* (13 µm).
Detector điện dẫn với bộ khử ion phù hợp.
Tốc độ dòng: 0,4 ml/min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (1), (2) và mẫu trắng.
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2,5 lần thời gian lưu của bromid.
Thời gian lưu của clorid khoảng 5 min, của bromid khoảng 8 min, của sulfat khoảng 16 min.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của clorid và pic của bromid ít nhất là 8,0.
Giới hạn:
Dùng sắc ký đồ của mẫu trắng để hiệu chỉnh diện tích pic thu được từ dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (1).
Clorid: Diện tích pic clorid trên sắc ký đồ dung dịch thử (2) không được lớn hơn chênh lệch giữa diện tích pic clorid trên sắc ký đồ dung dịch thử (2) và diện tích pic clorid trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,6 %).
Sulfat: Diện tích pic sulfat trên sắc ký đồ dung dịch thử (2) không được lớn hơn chênh lệch giữa diện tích pic sulfat trên sắc ký đồ dung dịch thử (2) và diện tích pic sulfat trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (100 phần triệu).

Iodid
Thêm 0,15 ml *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)* và 2 ml *methylen clorid (TT)* vào 5 ml dung dịch S. Lắc và để tách lớp. Lớp dưới không được có màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 1).

Sắt
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).
Lấy 5 ml dung dịch S pha loãng thành 10 ml bằng *nước* để thử.

Magnesi và các kim loại kiềm thổ
Không được quá 0,02 % tính theo Ca (Phụ lục 9.4.16).
Lấy 10,0 g chế phẩm tiến hành thử. Thể tích của *dung dịch natri edetat 0,01 M (CĐ)* đã dùng không được quá 5,0 ml.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 12 ml dung dịch S thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* làm mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 3,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C; 3 h).

Định lượng
Hòa tan 85,0 mg chế phẩm trong *nước*, thêm 5 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng *nước*. Chuẩn độ bằng *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 10,29 mg NaBr.
Tính hàm lượng phần trăm của NaBr theo công thức sau:

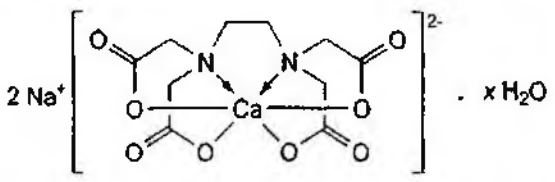
$$a - 2{,}902b$$

Trong đó:
a là hàm lượng phần trăm của NaBr và NaCl trong phần định lượng tính theo NaBr.
b là hàm lượng phần trăm của Cl trong phép thử Clorid và sulfat.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

NATRI CALCI EDETAT

Natrii calcii edetas



$C_{10}H_{12}CaN_2Na_2O_8 . xH_2O$ P.t.l: 374,3 (khan)

Natri calci edetat là dinatri [(ethylendinitrilo) tetraacetato] calciat (2-) có chứa một lượng không xác định nước kết tinh, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{10}H_{12}CaN_2Na_2O_8$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột trắng hoặc gần như trắng, hút ẩm. Dễ tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, C, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của natri calci edetat chuẩn. Chuẩn bị mẫu đo dưới dạng đĩa nén.
B. Hòa tan 2 g chế phẩm trong 10 ml *nước*, thêm 6 ml *dung dịch chì nitrat (TT)*, lắc và thêm 3 ml *dung dịch kali iodid 16,6 % (TT)*, không được có tủa màu vàng xuất hiện. Kiềm hóa dung dịch trên bằng cách thêm *dung dịch amoniac 2 M (TT)* dùng *giấy quỳ đỏ* làm chỉ thị và thêm 3 ml *dung dịch amoni oxalat 4 % (TT)*, tủa trắng tạo thành.
C. Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 10 ml *nước*, thêm 10 ml *dung dịch kali pyroantimonat (TT)*, tinh thể trắng được tạo thành. Dùng đũa thủy tinh cọ vào thành ống để tăng tốc độ tạo thành tủa.
D. Nung chế phẩm, cắn sau nung cho phản ứng (B) của calci (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. pH của dung dịch thu được từ 6,5 đến 8,0 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất A
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Pha động: Hòa tan 50,0 mg *sắt sulfat pentahydrat (TT)* trong 50 ml *dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT)*, thêm 750 ml *nước* và điều chỉnh đến pH 1,5 bằng *dung dịch*

acid sulfuric 0,5 M (TT) hoặc *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, thêm 20 ml *ethylen glycol (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Hỗn hợp dung môi: Hòa tan 10,0 g *sắt sulfat pentahydrat (TT)* trong 20 ml *dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT)*, thêm 780 ml *nước* và điều chỉnh đến pH 2,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 40,0 mg *acid nitrilotriacetic (TT)* trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Thêm vào 1,0 ml dung dịch thu được 0,1 ml dung dịch thử và pha loãng thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *carbon graphiti hình cầu dùng cho sắc ký* (5 µm) với diện tích bề mặt riêng 120 m^2/g và kích thước lỗ xốp 25 nm.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 273 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Lọc và tiêm các dung dịch ngay lập tức.
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 4 lần thời gian lưu của phức hợp sắt của tạp chất A.
Thời gian lưu của phức hợp sắt của tạp chất A khoảng 5 min, của phức hợp sắt của acid edetic khoảng 10 min.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu, độ phân giải giữa pic của phức hợp sắt của tạp chất A và pic của phức hợp sắt của acid edetic ít nhất là 7; tỉ số tín hiệu trên nhiễu ít nhất là 50 đối với pic tạp chất A.
Giới hạn:
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,1 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid nitrilotriacetic.

Dinatri edetat
Không được quá 1,0 %.
Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 250 ml *nước*. Thêm 10 ml *dung dịch đệm amoniac pH 10,0 (TT)* và khoảng 50 mg *hỗn hợp đen eriocrom T (TT)*. Chỉ thị phải chuyển màu tím khi thêm không quá 1,5 ml *dung dịch magnesi clorid 0,1 M (CĐ)*.

Clorid
Không được quá 0,1 %.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,7 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Thêm 30 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)* vào dung dịch thu được và để yên 30 min, sau đó lọc. Pha loãng 10 ml dịch lọc thành 50 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,40 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*, thêm 6 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)* và pha loãng thành 50 ml bằng *nước*.
Lọc dung dịch thử và dung dịch đối chiếu nếu cần. Thêm 1 ml *dung dịch bạc nitrat 1,7 % (TT)* vào hai dung dịch, trộn đều. Để yên 5 min tránh ánh sáng.
Dung dịch thử không được đục hơn dung dịch đối chiếu.

Sắt
Không được quá 80 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).
Pha loãng 2,5 ml dung dịch S thành 10,0 ml bằng *nước* và tiến hành thử. Thêm 0,25 g *calci clorid (TT)* vào dung dịch thử và chuẩn trước khi thêm *acid mercaptoacetic (TT)*.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 6. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Từ 5,0 đến 13,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,200 g chế phẩm.

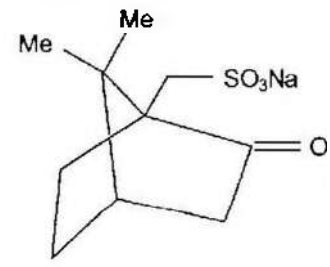
Định lượng
Hòa tan khoảng 0,500 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 200 ml với cùng dung môi. Lấy 20,0 ml dung dịch thu được, thêm 80 ml *nước* và điều chỉnh đến pH 2 bằng *dung dịch acid nitric loãng (TT)*. Thêm 0,1 ml *dung dịch da cam xylenol (TT)* làm chỉ thị và chuẩn độ bằng *dung dịch bismuth nitrat 0,01 M (CĐ)* đến khi màu dung dịch chuyển từ vàng sang đỏ.
1ml *dung dịch bismuth nitrat 0,01 M (CĐ)* tương đương với 3,74 mg $C_{10}H_{12}CaN_2Na_2O_8$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Làm chất tạo phức điều trị ngộ độc chì.

Chế phẩm
Dung dịch tiêm truyền.

NATRI CAMPHOSULFONAT
Natrii camphosulfonas



$C_{10}H_{15}O_4SNa$ P.t.l: 254,3

Natri camphosulfonat là muối natri của acid 10-camphosulfonic (acid 7,7-dimethyl-2-oxobicyclo-[2.2.1]heptan-1-methansulfonic), thu được bằng cách điều chế từ camphor (thiên nhiên hay tổng hợp) với acid sulfuric đậm đặc và anhydrid acetic.

Tính chất
Bột kết tinh trắng, có mùi long não nhẹ, vị hơi đắng. Dễ bị hút ẩm, vón cục, đổi màu vàng.
Rất dễ tan trong nước; tan trong ethanol; ít tan trong ether, benzen, cyclohexan; không tan trong carbon tetraclorid.

Định tính
A. Điểm chảy: 283 °C đến 286 °C (Phụ lục 6.7).
B. Góc quay cực riêng:
+17,25° đến +19,25° (đối với natri camphosulfonat điều chế từ camphor thiên nhiên).
-1,5° đến +1,5° (đối với natri camphosulfonat điều chế từ camphor tổng hợp, racemic).
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước*, pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi và tiến hành đo (Phụ lục 6.4).
C. Đun nóng khoảng 1 g chế phẩm với vài viên *natri hydroxyd (TT)*, sẽ bốc mùi đặc trưng của camphor.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 2 g chế phẩm trong 10 ml *nước*. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu của *dung dịch iod 0,00005 N*.

pH
Hòa tan 1 g chế phẩm trong 10 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*. pH của dung dịch thu được phải từ 6,0 đến 8,0 (Phụ lục 6.2).

Bari
Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 5 ml *nước*, thêm 2 giọt *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)* và 2,5 ml *dung dịch bão hòa calci sulfat (TT)*. Dung dịch thu được phải trong.

Clorid
Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.4.5).
Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 15 ml *nước* và tiến hành thử.

Sulfat
Không được quá 0,05 % (Phụ lục 9.4.14).
Hòa tan 0,3 g chế phẩm trong 15 ml *nước* và tiến hành thử.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Lấy 12 ml dung dịch này thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

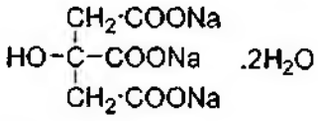
Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 2,7 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 2 h).

Bảo quản
Trong chai lọ nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kích thích thần kinh trung ương (ưu tiên hành não). Dùng kích thích hô hấp và trợ tim.

Chế phẩm
Dung dịch tiêm; dung dịch uống nhỏ giọt.

NATRI CITRAT
Natrii citras



$C_6H_5Na_3O_7.2H_2O$ P.t.l: 294,1

Natri citrat là trinatri 2-hydroxypropan-1,2,3-tricarboxylat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_6H_5Na_3O_7$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc tinh thể dạng hạt trắng, hút ẩm nhẹ trong không khí ẩm. Dễ tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Dung dịch S: Hòa tan 10,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
A. Thêm 4 ml *nước* vào 1 ml dung dịch S, dung dịch thu được phải cho phản ứng của ion citrat (Phụ lục 8.1).
B. 1 ml dung dịch S phải cho phản ứng A của ion natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* vào 10 ml dung dịch S. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* hoặc *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* cần dùng để làm dung dịch chuyển màu không quá 0,2 ml.

Chất dễ carbon hóa
Thêm 10 ml *acid sulfuric (TT)* vào 0,20 g chế phẩm đã được nghiền nhỏ và làm nóng trong cách thủy ở 90 ± 1 °C trong 60 min. Làm lạnh nhanh. Dung dịch có màu không được đậm hơn màu mẫu V_2 hoặc VL_2 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Clorid
Không được quá 50 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).
Pha loãng 10 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Oxalat
Không được quá 0,03 %.
Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong 4 ml *nước*. Thêm 3 ml *acid hydrocloric (TT)* và 1 g *kẽm hạt (TT)* vào dung dịch trên, đun nóng trên cách thủy trong 1 min. Để yên 2 min, gạn

lớp chất lỏng vào ống nghiệm có chứa 0,25 ml *dung dịch phenylhydrazin hydroclorid 1,0 %* và đun đến sôi. Làm nguội nhanh, chuyển vào ống nghiệm có chia vạch, thêm một lượng thể tích tương đương *acid hydrocloric (TT)* và 0,25 ml *dung dịch kali fericyanid 5 % (TT)*. Lắc và để yên 30 min. Màu hồng của dung dịch không được đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu được chuẩn bị tương tự trong cùng thời gian nhưng dùng 4 ml *dung dịch acid oxalic* 0,005 % thay cho 0,50 g chế phẩm hòa tan trong 4 ml *nước*.

Sulfat
Không được quá 0,015 % (Phụ lục 9.4.14).
Thêm 2 ml *dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT)* vào 10 ml dung dịch S, thêm *nước* vừa đủ 15 ml và tiến hành thử.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 12 ml dung dịch S tiến hành theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Từ 11,0 % đến 13,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,300 g chế phẩm. Sau khi thêm chế phẩm, khuấy trong 15 min trước khi chuẩn độ.

Chất gây sốt
Nếu chế phẩm được dự định dùng để sản xuất dung dịch tiêm với thể tích lớn thì phải đạt phép thử này.
Tiêm cho 1 kg thỏ 10 ml dung dịch vừa mới pha trong *nước cất pha tiêm (TT)* có chứa 10,0 mg chế phẩm và 7,5 mg *calci clorid (TT)* không có chất gây sốt trong 1 ml (Phụ lục 13.4).

Định lượng
Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong 20 ml *acid acetic khan (TT)*, làm nóng đến khoảng 50 °C. Để nguội. Dùng 0,25 ml *dung dịch naphtholbenzein (TT)* làm chỉ thị và chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* đến khi có màu xanh lục.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 8,602 mg $C_6H_5Na_3O_7$.

Bảo quản
Trong lọ kín.

Loại thuốc
Thuốc kiềm hóa.

NATRI CLORID
Natrii chloridum

NaCl P.t.l: 58,44

Natri clorid phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % NaCl, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng hay tinh thể không màu hay hạt trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol khan.

Định tính
A. Chế phẩm phải cho phản ứng của clorid (Phụ lục 8.1).
B. Chế phẩm phải cho phản ứng của natri (Phụ lục 8.1).
Nếu chế phẩm dạng hạt thì nghiền nhỏ trước khi tiến hành các phép thử.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 20,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)* vào 20 ml dung dịch S. Lượng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)* cần dùng để làm dung dịch chuyển màu không quá 0,5 ml.

Bromid
Không được quá 100 phần triệu.
Thêm 4,0 ml *nước*, 2,0 ml *dung dịch đỏ phenol (TT_2)* và 1,0 ml *dung dịch cloramin T 0,01 %* vào 0,5 ml dung dịch S, trộn đều ngay. Sau đúng 2 min, thêm 0,15 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 M (TT)*, trộn đều và pha loãng thành 10,0 ml bằng *nước*.
Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 590 nm, dùng *nước* làm mẫu trắng. Độ hấp thụ của dung dịch trên không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch đối chiếu được chuẩn bị trong cùng một thời gian, cùng cách tiến hành, dùng 5,0 ml *dung dịch kali bromid 3,0 mg/l*.

Ferocyanid
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong 6 ml *nước*. Thêm 0,5 ml hỗn hợp gồm 5 ml *dung dịch sắt (III) amoni sulfat 1 %* trong *dung dịch acid sulfuric 0,25 %* và 95 ml *dung dịch sắt (II) sulfat 1,0 %*. Màu xanh không được xuất hiện trong vòng 10 min.

Iodid
Làm ẩm 5 g chế phẩm bằng cách thêm từng giọt hỗn hợp vừa mới pha gồm 0,15 ml *dung dịch natri nitrit 10 % (TT)*, 2 ml *dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT)*, 25 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* và 25 ml *nước*. Sau 5 min, quan sát dưới ánh sáng ban ngày, hỗn hợp chất thử không được có màu xanh.

Nitrit
Thêm 10 ml *nước* vào 10 ml dung dịch S. Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 354 nm không được lớn hơn 0,01.

Phosphat
Không được quá 25 phần triệu (Phụ lục 9.4.12).

Pha loãng 2,0 ml dung dịch S thành 100 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Sulfat
Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.14).
Pha loãng 7,5 ml dung dịch S thành 30 ml bằng *nước cất* và tiến hành thử.

Nhôm
Không được quá 0,2 phần triệu (Phụ lục 9.4.9).
Nếu chế phẩm được dự định dùng để sản xuất các dung dịch thẩm tách màng bụng, thẩm tách máu hoặc lọc máu, thì phải đáp ứng yêu cầu phép thử này.
Dung dịch thử: Hòa tan 20,0 g chế phẩm trong 100 ml *nước* và thêm 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0 (TT)* .
Dung dịch đối chiếu: Trộn đều 2 ml *dung dịch nhôm mẫu 2 phần triệu Al (TT),* 98 ml *nước* và 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0 (TT).*
Dung dịch mẫu trắng: Trộn đều 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0 (TT)* và 100 ml *nước.*

Arsen
Không được quá 1 phần triệu (Phụ lục 9.4.2, phương pháp A).
Dùng 5 ml dung dịch S để đo.

Bari
Thêm 5 ml *nước cất* và 2 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* vào 5 ml dung dịch S. Sau 2 h, dung dịch không được đục hơn hỗn hợp gồm 5 ml dung dịch S và 7 ml *nước cất.*

Sắt
Không được quá 2 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).
Lấy 10 ml dung dịch S và tiến hành thử. Dùng hỗn hợp gồm 4 ml *dung dịch sắt mẫu 1 phần triệu Fe (TT)* và 6 ml *nước* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Magnesi và các kim loại kiềm thổ
Không được quá 0,01 % tính theo Ca (Phụ lục 9.4.16).
Dùng 10,0 g chế phẩm và 150 mg *hỗn hợp đen eriocrom T (TT).* Thể tích của *dung dịch natri edetat 0,01 M (CĐ)* đã dùng không được quá 2,5 ml.

Kali
Không được quá 0,05 %.
Nếu chế phẩm được dự định để sản xuất thuốc tiêm, hoặc các dung dịch thẩm tách máu, lọc máu, thẩm tách màng bụng, thì chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu phép thử này.
Phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử (Phụ lục 4.4, Phương pháp 1).
Dung dịch thử: Hòa tan 1,00 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dãy dung dịch chuẩn: Hòa tan 1,144 g *kali clorid (TT)* đã được sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 3 h trong *nước* và pha loãng thành 1000,0 ml với cùng dung môi (dung dịch chứa 600 µg K/ml). Tiếp tục pha dãy dung dịch chuẩn theo yêu cầu.
Đo cường độ phát xạ ở bước sóng 766,5 nm.

Kim loại nặng
Không được quá 5 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 12 ml dung dịch S và tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C; 2 h).

Nội độc tố vi khuẩn
Phải ít hơn 5 EU/g (Phụ lục 13.2).
Nếu chế phẩm được dự định để sản xuất các dạng thuốc tiêm mà không có phương pháp hữu hiệu nào khác để loại nội độc tố thì phải tiến hành phép thử này.

Định lượng
Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Chuẩn độ bằng *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ).* Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 5,844 mg NaCl.

Nhãn
Nhãn cần ghi rõ nếu chế phẩm phù hợp dùng để sản xuất các dạng thuốc tiêm hoặc dùng để sản xuất các dung dịch thẩm tách màng bụng, thẩm tách máu hoặc lọc máu.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Cung cấp chất điện giải.

Chế phẩm
Thuốc tiêm truyền, thuốc nhỏ mắt.

THUỐC NHỎ MẮT NATRI CLORID 0,9 %
Collyrium Natrii chloridi

Thuốc nhỏ mắt natri clorid là dung dịch vô khuẩn của natri clorid trong nước.
Chế phẩm phải đạt các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nhỏ mắt" (Phụ lục 1.14) và các yêu sau đây:

Hàm lượng natri clorid, NaCl, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong suốt, không màu.

Định tính
Dung dịch chế phẩm cho các phản ứng của ion clorid và ion natri (Phụ lục 8.1).

pH
Từ 6,0 đến 8,0 (Phụ lục 6.2).

Định lượng
Lấy chính xác 10 ml chế phẩm, cho vào bình nón 100 ml, thêm 3 giọt *dung dịch kali cromat (TT)* làm chỉ thị. Định lượng bằng *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* đến khi có tủa hồng.
1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 5,844 mg NaCl.

Bảo quản
Ở nhiệt độ không quá 25 °C.

Loại thuốc
Rửa mắt.

Hàm lượng thường dùng
0,9 %.

THUỐC TIÊM NATRI CLORID
Injectio Natrii chloridi

Là dung dịch vô khuẩn của natri clorid trong nước để pha thuốc tiêm. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng natri clorid, NaCl, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu.

Định tính
Chế phẩm phải có phản ứng của ion natri và ion clorid (Phụ lục 8.1).

pH
Từ 4,5 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Định lượng
Lấy chính xác 10,0 ml chế phẩm, cho vào một bình nón có dung tích 100 ml, thêm 3 giọt *dung dịch kali cromat (TT)* làm chỉ thị. Chuẩn độ bằng *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* đến khi có tủa hồng.
1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 5,844 mg NaCl.

Bảo quản
Chế phẩm được đóng trong ống thủy tinh 5 ml hàn kín. Để ở nơi nhiệt độ không quá 25 °C.

Loại thuốc
Cung cấp chất điện giải.

Hàm lượng thường dùng
0,9 %.

THUỐC TIÊM TRUYỀN NATRI CLORID ĐẲNG TRƯƠNG
Infusio Natrii chloridi isotonica

Là dung dịch vô khuẩn của natri clorid trong nước để pha thuốc tiêm. Chế phẩm không được có các chất bảo quản. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" mục "Thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng natri clorid, NaCl, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu.

Định tính
Chế phẩm phải có phản ứng của ion natri và ion clorid (Phụ lục 8.1).

pH
Từ 4,5 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Giới hạn tiểu phân
Khi chế phẩm được đóng ở thể tích 100 ml trở lên, tiến hành xác định giới hạn tiểu phân (Phụ lục 11.8). Chế phẩm phải đạt yêu cầu của phép thử A. Xác định giới hạn tiểu phân không nhìn thấy bằng mắt thường.

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 0,5 EU/ml.
Tiến hành thử theo chuyên luận " Phép thử nội độc tố vi khuẩn" (Phụ lục 13.2).

Định lượng
Lấy chính xác 10,0 ml chế phẩm, cho vào một bình nón có dung tích 100 ml, thêm 3 giọt *dung dịch kali cromat (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* đến khi có tủa hồng.
1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 5,844 mg NaCl.

Bảo quản
Chế phẩm được đóng trong chai thủy tinh trung tính hoặc chai lọ bằng chất dẻo 300 ml, 500 ml, nút kín. Để ở nơi không quá 25 °C.

Loại thuốc
Cung cấp chất điện giải.

Hàm lượng thường dùng
0,9 %.

NATRI HYDROCARBONAT
Natrii hydrocarbonas
Natri bicarbonat

$NaHCO_3$ P.t.l: 84,01

Natri hydrocarbonat phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $NaHCO_3$.

Tính chất
Bột kết tinh trắng. Tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %. Khi đun nóng ở trạng thái khô hoặc ở trong dung dịch, sẽ chuyển dần thành natri carbonat.

Định tính
Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 90 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
A. Thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* vào 5 ml dung dịch S, màu hồng nhạt xuất hiện. Đun nóng, khí bay lên và dung dịch có màu đỏ.
B. Dung dịch S phải cho phản ứng của carbonat và hydrocarbonat (Phụ lục 8.1).
C. Dung dịch S phải cho phản ứng (A) của ion natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Carbonat
pH của dung dịch S vừa mới pha không được lớn hơn 8,6 (Phụ lục 6.2).

Clorid
Không được quá 0,015 % (Phụ lục 9.4.5).
Thêm 2 ml *acid nitric (TT)* vào 7 ml dung dịch S và pha loãng thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Sulfat
Không được quá 0,015 % (Phụ lục 9.4.14).
Thêm *acid hydrocloric (TT)* vào hỗn dịch chứa 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *nước* đến khi trung tính và thừa khoảng 1 ml rồi pha loãng thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Amoni
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.1).
Lấy 10 ml dung dịch S pha loãng thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử theo phương pháp A. Dùng hỗn hợp gồm 5 ml *nước* và 10 ml *dung dịch amoni mẫu 1 phần triệu NH_4 (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Arsen
Không được quá 2 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).
Lấy 0,5 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp A.

Calci
Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.4.3).
Thêm *acid hydrocloric (TT)* vào hỗn dịch chứa 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *nước* cho đến khi trung tính, pha loãng thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 2 ml *acid hydrocloric (TT)* và 18 ml *nước*. Lấy 12 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* làm mẫu đối chiếu.

Sắt
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).
Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 5 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*, pha loãng thành 10 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Định lượng
Hòa tan 1,500 g chế phẩm trong 50 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 N (CĐ)*, dùng 0,2 ml *dung dịch da cam methyl (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 N (CĐ)* tương đương với 84,0 mg $NaHCO_3$.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc
Kháng acid, điều trị thiếu hụt điện giải.

THUỐC BỘT NATRI HYDROCARBONAT
Pulveres Natrii hydrocarbonas

Chế phẩm là thuốc bột uống có chứa natri hydrocarbonat. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc bột" (Phụ lục 1.7) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng natri hydrocarbonat, $NaHCO_3$, không ít hơn 0,985 g trong 1 g chế phẩm.

Tính chất
Bột trắng, khô rời không vón cục, vị mặn.

Định tính
Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 90 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 100 ml bằng cùng dung môi.
A. Lấy 5 ml dung dịch S, thêm vào 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)*, màu hồng nhạt xuất hiện. Đun nóng, khí bay lên và dung dịch có màu đỏ.
B. Chế phẩm cho phản ứng của carbonat và hydrocarbonat (Phụ lục 8.1).
C. Dung dịch S cho phản ứng của ion natri (Phụ lục 8.1).

Carbonat
pH của dung dịch S vừa mới pha không được lớn hơn 8,6 (Phụ lục 6.2).

Định lượng
Hòa tan 1,500 g chế phẩm trong 50 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 N (CĐ)*, dùng 0,2 ml *dung dịch da cam methyl (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 N (CĐ)* tương đương với 84,0 mg $NaHCO_3$.

Bảo quản
Chế phẩm đóng gói trong bao kín, bảo quản ở nhiệt độ không quá 30 °C.

Loại thuốc
Dung dịch làm kiềm hóa, điều hòa cân bằng acid - kiềm.

Hàm lượng thường dùng
5 g, 10 g, 20 g, 50 g, 100 g.

THUỐC TIÊM NATRI HYDROCARBONAT
Injectio Natrii bicarbonas

Là dung dịch vô khuẩn của natri hydrocarbonat trong nước để pha thuốc tiêm. Chế phẩm có thể chứa chất ổn định thích hợp.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng natri hydrocarbonat, $NaHCO_3$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu.

Định tính
Chế phẩm phải cho phản ứng đặc trưng của ion natri và ion hydrocarbonat (Phụ lục 8.1).

pH
Từ 7,5 đến 8,5 (Phụ lục 6.2).

Chất gây sốt
Theo phương pháp Thử chất gây sốt (Phụ lục13.4). Dùng 10 ml chế phẩm đối với thuốc tiêm natri bicarbonat có nồng độ 2,5 % hay ít hơn cho 1 kg trọng lượng thỏ. Đối với chế phẩm có nồng độ natri hydrocarbonat lớn hơn 2,5 % thì pha loãng chế phẩm bằng nước để pha thuốc tiêm không có chất gây sốt để được dung dịch có nồng độ natri hydrocarbonat 2,5 % và dùng 10 ml dung dịch này cho 1 kg trọng lượng thỏ.

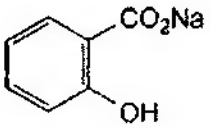
Định lượng
Lấy một thể tích chế phẩm tương ứng với 1 g natri hydrocarbonat. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,5 N (CĐ)*, dùng *dung dịch da cam methyl (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,5 N (CĐ)* tương đương với 42,0 mg $NaHCO_3$.

Bảo quản
Thuốc thường đóng ống thủy tinh trung tính kín. Để nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng acid và thuốc kiềm hóa.

Hàm lượng thường dùng
1,4 %, 4,2 %, 7,5 %, 8,4 %.

NATRI SALICYLAT
Natrii salicylas



$C_7H_5NaO_3$ P.t.l: 160,1

Natri salicylat là natri 2-hydroxybenzencarboxylat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_7H_5NaO_3$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng hay tinh thể nhỏ không màu hay hình vẩy ánh.
Dễ tan trong nước, hơi tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, C.
Nhóm II: B, C.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của natri salicylat chuẩn.
B. Dung dịch S (xem Độ trong và màu sắc của dung dịch) phải cho phản ứng của salicylat (Phụ lục 8.1).
C. Chế phẩm phải cho phản ứng của natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* được chuẩn bị từ *nước cất* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn dung dịch màu mẫu VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid
Thêm 0,1 ml *dung dịch đỏ phenol (TT)* vào 20 ml dung dịch S, dung dịch có màu vàng. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)* cần dùng để làm màu của dung dịch chuyển sang màu đỏ tím không quá 2,0 ml.

Clorid
Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.5).
Thêm 5 ml *nước* và 10 ml *acid nitric loãng (TT)* vào 5 ml dung dịch S, sau đó lọc. Pha loãng 10 ml dịch lọc thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Sulfat
Không được quá 0,06 % (Phụ lục 9.4.14).
Pha loãng 2,5 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 1,60 g chế phẩm trong 16 ml hỗn hợp *nước - ethanol 96 %* (5 : 10). Lấy 12 ml dung dịch tiến hành thử theo phương pháp 2. Dùng 10 ml dung dịch chì mẫu 2 phần triệu thu được bằng cách pha loãng từ *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb (TT)* với hỗn hợp *nước - ethanol 96 %* (5 : 10), để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,00 g; 105 °C).

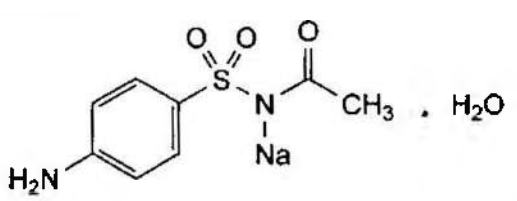
Định lượng
Hòa tan 0,130 g chế phẩm trong 30 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 16,01 mg $C_7H_5NaO_3$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống viêm, giảm đau.

Chế phẩm
Viên nén.

NATRI SULFACETAMID
Sulfacetamidum natricum



$C_8H_9N_2NaO_3S.H_2O$ P.t.l: 254,2

Natri sulfacetamid là natri acetyl[(4-aminophenyl)sulfonyl] azanid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_8H_9N_2NaO_3S$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc trắng ánh vàng. Dễ tan trong nước, khó tan trong ethanol khan.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, E.
Nhóm II: B, C, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của natri sulfacetamid chuẩn.
B. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT)*. Phổ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được từ bước sóng 230 nm đến 350 nm có một cực đại hấp thụ tại bước sóng 255 nm. Độ hấp thụ riêng tại bước sóng cực đại từ 660 đến 720, tính theo chế phẩm khan.
C. Hòa tan 1 g chế phẩm trong 10 ml *nước*, thêm 6 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)*, lọc lấy tủa. Rửa tủa bằng một lượng nhỏ *nước* và sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 4 h. Nhiệt độ nóng chảy của tủa thu được phải từ 181 °C đến 185 °C (Phụ lục 6.7).
D. Hòa tan khoảng 1 mg tủa thu được ở phản ứng định tính C trong 1 ml *nước* bằng cách đun nóng. Dung dịch thu được cho phản ứng của amin thơm bậc nhất (Phụ lục 8.1) với tủa màu đỏ cam tạo thành.
E. Dung dịch S (xem Độ trong và màu sắc của dung dịch) phải cho phản ứng của natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 1,25 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu VL_4 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Từ 8,0 đến 9,5 (Phụ lục 6.2).
Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng và tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Pha động: Acid acetic băng - methanol - nước dùng cho sắc ký (1 : 10 : 89).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg natri sulfacetamid chuẩn và 5 mg *sulfanilamid (TT)* (tạp chất A) trong 1,0 ml pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (12,5 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 7 lần thời gian lưu của sulfacetamid.
Thời gian lưu tương đối so với sulfacetamid (thời gian lưu khoảng 5 min) của tạp chất A khoảng 0,5. Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất A và pic của sulfacetamid ít nhất là 5,0.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất A với 0,5.
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A đã hiệu chỉnh không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: A. 4-aminobenzensulfonamid (sulfanilamid).
Tạp chất B: *N*-(4-sulfamoylphenyl)acetamid.
Tạp chất C: *N*-[[4-(acerylamino)phenyl]sulfonyl]acetamid.
Tạp chất D: 4,4'-sulfonyldianilin (dapson).

Sulfat
Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.14).
Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước cất* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi. Thêm 25 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)*, lắc 30 min và lọc. Lấy 15 ml dịch lọc để thử.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8)
Lấy 12 ml dịch lọc thu được ở mục Sulfat tiến hành theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Từ 6,0 % đến 8,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,200 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 50 ml *nước* và 20 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*. Thêm 3 g *kali bromid (TT)*, làm lạnh dung dịch trong nước đá và tiến hành phương pháp chuẩn độ bằng nitrit (Phụ lục 10.4). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp đo điện.
1 ml *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)* tương đương với 23,62 mg $C_8H_9N_2NaO_3S$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng khuẩn.

Chế phẩm
Thuốc nhỏ mắt.

NATRI SULFAT
Natrii sulfas
Natri sulfat ngậm mười phân tử nước

$Na_2SO_4.10H_2O$ P.t.l: 322,2

Natri sulfat phải chứa từ 98,5 % % đến 101,0 % Na_2SO_4, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hay gần như trắng hoặc tinh thể trong suốt không màu.
Dễ tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %.
Tan một phần trong nước kết tinh của chính nó ở khoảng 33 °C.

Định tính
A. Chế phẩm phải cho phản ứng của natri (Phụ lục 8.1).
B. Chế phẩm phải cho phản ứng của sulfat (Phụ lục 8.1).
C. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Mất khối lượng do làm khô.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* được chuẩn bị từ *nước cất* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)* vào 10 ml dung dịch S. Lượng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)* cần dùng để làm dung dịch chuyển màu không quá 0,5 ml.

Clorid
Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.5).
Pha loãng 5 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Calci
Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.3), nếu chế phẩm được dùng để sản xuất thuốc tiêm truyền.
Pha loãng 10 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước cất* và tiến hành thử.

Sắt
Không được quá 40 phần triệu (Phụ lục 9.4.13), nếu chế phẩm được dùng để sản xuất thuốc tiêm truyền.
Pha loãng 5 ml dung dịch S thành 10 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Magnesi
Không được quá 0,01 %, nếu chế phẩm được dùng để sản xuất thuốc tiêm truyền.
Thêm 1 ml *glycerin 85 % (TT)*, 0,15 ml *dung dịch vàng titan (TT)*, 0,25 ml *dung dịch amoni oxalat 4 % (TT)* và 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)* vào 10 ml dung dịch S, lắc đều. Dung dịch thu được nếu có màu hồng thì màu không được đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu được chuẩn bị đồng thời trong cùng một điều kiện, nhưng thay 10 ml dung dịch S bằng hỗn hợp 5 ml *dung dịch magnesi mẫu 10 phần triệu Mg (TT)* và 5 ml *nước*.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 12 ml dung dịch S, tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Từ 52,0 % đến 57,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 30 °C trong 1 h; sau đó 130 °C).

Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 40 ml *nước*. Thêm vào dung dịch thu được hỗn hợp gồm có 0,2 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và 80 ml *methanol (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch chì nitrat 0,1 M (CĐ)*. Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2) dùng điện cực chọn lọc chì làm điện cực chỉ thị và điện cực bạc - bạc clorid làm điện cực đối chiếu.
1 ml *dung dịch chì nitrat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 14,20 mg Na_2SO_4.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Thuốc nhuận tràng.

Nhãn
Nhãn cần ghi rõ nếu chế phẩm phù hợp dùng để sản xuất thuốc tiêm.

NATRI SULFAT KHAN
Natrii sulfas anhydricum

Na_2SO_4 P.t.l: 142,0

Natri sulfat khan phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % Na_2SO_4, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột trắng hoặc gần như trắng, hút ẩm. Dễ tan trong nước.

Định tính
A. Chế phẩm phải cho phản ứng của natri (Phụ lục 8.1).
B. Chế phẩm phải cho phản ứng của sulfat (Phụ lục 8.1).
C. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Mất khối lượng do làm khô.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 2,2 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* được chuẩn bị từ *nước cất* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)* vào 10 ml dung dịch S. Lượng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)* cần dùng để làm dung dịch chuyển màu không quá 0,5 ml.

Clorid
Không được quá 0,045 % (Phụ lục 9.4.5).
Pha loãng 5 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Calci
Không được quá 0,045 % (Phụ lục 9.4.3), nếu chế phẩm được dùng để sản xuất thuốc tiêm truyền.
Pha loãng 10 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước cất* và tiến hành thử.

Sắt
Không được quá 90 phần triệu (Phụ lục 9.4.13), nếu chế phẩm được dùng để sản xuất thuốc tiêm truyền. Pha loãng 5 ml dung dịch S thành 10 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Magnesi
Không được quá 0,02 %, nếu chế phẩm được dùng để sản xuất thuốc tiêm truyền.
Thêm 1 ml *glycerin 85 % (TT)*, 0,15 ml *dung dịch vàng titan (TT)*, 0,25 ml *dung dịch amoni oxalat 4 % (TT)* và 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)* vào 10 ml dung dịch S, lắc đều. Dung dịch thu được nếu có màu hồng thì màu không được đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu được chuẩn bị đồng thời trong cùng một điều kiện, nhưng thay 10 ml dung dịch S bằng hỗn hợp 5 ml *dung dịch magnesi mẫu 10 phần triệu Mg (TT)* và 5 ml *nước*.

Kim loại nặng
Không được quá 45 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 12 ml dung dịch S, tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 130 °C).

Định lượng
Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 40 ml *nước*. Thêm vào dung dịch thu được hỗn hợp gồm có 0,2 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và 80 ml *methanol (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch chì nitrat 0,1 M (CĐ)*. Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2) dùng điện cực chọn lọc chì làm điện cực chỉ thị và điện cực bạc - bạc clorid làm điện cực đối chiếu.
1 ml *dung dịch chì nitrat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 14,20 mg Na_2SO_4.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Thuốc nhuận tràng.

Nhãn
Nhãn cần ghi rõ nếu chế phẩm phù hợp dùng để sản xuất thuốc tiêm.

NATRI THIOSULFAT
Natrii thiosulfas
Natri hyposulfit

$Na_2S_2O_3.5H_2O$ P.t.l: 248,2

Natri thiosulfat phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $Na_2S_2O_3.5H_2O$.

Tính chất
Tinh thể trong, không màu, lên hoa trong không khí khô. Rất tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %, tan trong nước kết tinh của nó ở khoảng 49 °C.

Định tính
Dung dịch S: Hòa tan 10,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.
A. Chế phẩm làm mất màu *dung dịch iod - iodid (TT)*.
B. Lấy 0,5 ml dung dịch S, thêm 0,5 ml *nước*, 2 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N* có tủa trắng chuyển nhanh sang vàng rồi dần dần sang đen.
C. Lấy 2,5 ml dung dịch S, thêm 2,5 ml *nước*, 1 ml *acid hydrocloric (TT)*, sẽ xuất hiện tủa lưu huỳnh và khí bay ra sẽ làm xanh *giấy tẩm hồ tinh bột có iodat (TT)*.
D. 1 ml dung dịch S phải cho phản ứng (A) của ion natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 10,0 g chế phẩm trong 50 ml *nước cất*, thêm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 100 ml bằng *nước cất*.
Dung dịch vừa pha xong phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Từ 6,0 đến 8,4 (Phụ lục 6.2).
Dùng dung dịch S vừa pha xong để đo.

Sulfat và sulfit
Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.4.14).
Pha loãng 2,5 ml dung dịch S vừa pha xong thành 10 ml bằng *nước cất*. Hút 3 ml dung dịch thu được, thêm 2 ml *dung dịch iod - iodid (TT)*, thêm tiếp từng giọt *dung dịch iod - iodid (TT)* cho đến khi có màu vàng rất nhạt bền vững. Pha loãng với *nước cất* thành 15 ml và tiến hành thử.

Sulfid
Thêm 0,5 ml *dung dịch natri nitroprusiat 0,5 % (TT)* mới pha vào 10 ml dung dịch S, dung dịch thu được không được có màu tím.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu.
Thêm 0,05 ml *dung dịch natri sulfid (TT)* vào 10,0 ml dung dịch S, để yên 2 min. Dung dịch thu được không được có màu đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu có chứa 10 ml *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* và 0,05 ml *dung dịch natri sulfid (TT)*.

Định lượng
Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong 20 ml *nước* và chuẩn độ bằng *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)*. Vào lúc cuối chuẩn độ, thêm 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)* tương đương với 24,82 mg $Na_2S_2O_3.5H_2O$.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Điều trị ngộ độc cyanid.

Chế phẩm
Thuốc tiêm, viên nén.

VIÊN NÉN NATRI THIOSULFAT
Tabellae Natrii thiosulfas

Là viên nén bao tan trong ruột chứa natri thiosulfat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng natri thiosulfat, $Na_2S_2O_3.5H_2O$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Dung dịch S: Loại bỏ lớp bao của viên, nghiền thành bột mịn. Lấy lượng bột chế phẩm tương ứng với khoảng 1,0 g natri thiosulfat hòa tan trong 10 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, lọc.

A. Dung dịch S cho phản ứng của ion natri (Phụ lục 8.1).
B. Lấy 1 ml dung dịch S, thêm vài giọt *dung dịch iod 0,1 N (TT)*, màu biến mất.
C. Lấy 1 ml dung dịch S, thêm 1 ml *acid hydrocloric (TT)*, sẽ xuất hiện tủa lưu huỳnh và có mùi của lưu huỳnh dioxyd.
D. Lấy 1 ml dung dịch S, thêm 2 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (TT)*, sẽ xuất hiện tủa trắng chuyển nhanh sang vàng rồi dần dần sang đen.

Độ rã
Viên phải đáp ứng yêu cầu trong mục "Phép thử độ rã của viên bao tan trong ruột" (Phụ lục 11.7).

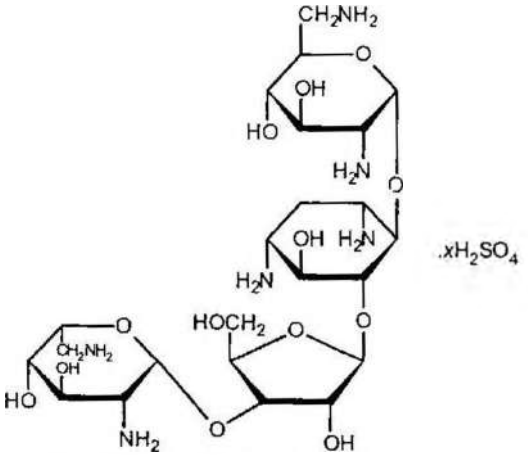
Định lượng
Cân 20 viên đã loại bỏ lớp bao, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác lượng bột viên nghiền mịn tương ứng khoảng 0,5 g natri thiosulfat, hòa tan trong 20 ml *nước* và chuẩn độ bằng *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)*. Vào lúc cuối chuẩn độ, thêm 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)*.
1 ml *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)* tương đương với 24,82 mg $Na_2S_2O_3.5H_2O$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc giải độc. Chống nấm.

Hàm lượng thường dùng
0,33 g.

NEOMYCIN SULFAT
Neomycini sulfas



$C_{23}H_{46}N_6O_{13}.xH_2SO_4$ P.t.l: 615 (dạng base)

Neomycin sulfat là hỗn hợp muối sulfat của các chất được sản xuất bằng cách nuôi cấy một số chủng *Streptomyces fradiae* chọn lọc, thành phần chính là muối sulfat của 2-deoxy-4-*O*-(2,6-diamino-2,6-dide-oxy-α-D-glucopyranosyl)-5-*O*-[3-*O*-(2,6-diamino-2,6-dideoxy-β-L-idopyranosyl)-β-D-ribofuranosyl]-D-streptamin (neomycin B). Hoạt lực không được nhỏ hơn 680 IU trong 1 mg, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột màu trắng hoặc trắng ngà, hút ẩm. Rất dễ tan trong nước, rất khó tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong aceton.

Định tính
A. Trong phần Neomycin C, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3).
B. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của ion sulfat (Phụ lục 8.1).

pH
Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Dung dịch có pH từ 5,0 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng
Từ +53,5° đến +59,0°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 1,00 g chế phẩm trong nước và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Neamin
Không được quá 2 %.
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel H.
Dung môi khai triển: Dicloromethan - amoniac - methanol (10 : 20 : 30).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,5 mg neamin chuẩn trong 1,0 ml *nước*.
Dung dịch đối chiếu (2): Trộn 0,5 ml dung dịch thử và 0,5 ml dung dịch đối chiếu (1).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl thành dải 5 mm mỗi dung dịch trên. Để khô vết. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được ít nhất 8 cm. Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 10 min. Phun *thuốc thử ninhydrin và kẽm clorid (TT)* và sấy bản mỏng ở 110 °C trong 15 min. Phun bản mỏng lần nữa với thuốc thử trên và sấy lại ở 110 °C trong 15 min. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, vết tương ứng với neamin không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết chính tách rõ rệt.

Neomycin C
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel.
Dung môi khai triển: Methanol - dung dịch natri clorid 20 % (20 : 80).
Dung dịch thử: Hòa tan 40 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 30 mg framycetin sulfat chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 25,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 40 mg neomycin sulfat chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl thành dải 5 mm mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được ít nhất 12 cm. Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 10 min. Phun *dung dịch ninhydrin (TT)* và sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 10 min. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, vết neomycin C (có R_f hơi nhỏ hơn R_f của vết chính) không được đậm hơn vết của dung dịch đối chiếu (1) (15 %), nhưng phải đậm hơn vết của dung dịch đối chiếu (2) (3 %). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) có một vết với R_f hơi nhỏ hơn R_f của vết chính.

Sulfat
Từ 27,0 % đến 31,0 % sulfat (SO_4) tính theo chế phẩm đã làm khô.
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 100 ml *nước* và điều chỉnh đến pH 11 bằng *amoniac (TT)*. Thêm 10,0 ml *dung dịch bari clorid 0,1 M (CĐ)* và khoảng 0,5 mg *đỏ tía phthalein (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)*, khi dung dịch bắt đầu chuyển màu, thêm 50 ml *ethanol 96 % (TT)*, tiếp tục chuẩn độ đến khi màu xanh tím biến mất.
1 ml *dung dịch bari clorid 0,1 M (CĐ)* tương đương với 9,606 mg sulfat (SO_4).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 8,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, 60 °C, áp suất không quá 0,7 kPa, phosphor pentoxyd, 3 h).

Tro sulfat
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp Thử vi sinh vật (Phụ lục 13.9).

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm aminoglycosid.

Chế phẩm
Viên nén, dung dịch uống, dịch nhỏ mắt, nhỏ tai, mỡ tra mắt, mỡ và kem bôi ngoài da.

THUỐC NHỎ MẮT NEOMYCIN
Collyrium Neomycini

Thuốc nhỏ mắt neomycin là dung dịch vô khuẩn của neomycin sulfat trong nước. Có thể có thêm tá dược thích hợp.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nhỏ mắt" (Phụ lục 1.14) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng neomycin từ 90,0 % đến 130,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong suốt, không màu đến vàng nhạt.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Methanol - amoniac 13,5 M - cloroform (60 : 40 : 20)
Dung dịch thử: Dung dịch chế phẩm.
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch neomycin sulfat chuẩn 0,5 %.
Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch chứa đồng lượng thể tích của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng một lượng thể tích dung dịch chế phẩm tương đương với 3,5 IU neomycin, 1 µl dung dịch đối chiếu (1), 1 µl dung dịch đối chiếu (2). Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra và để khô ngoài không khí, phun *dung dịch ninhydrin 1 % trong butanol* và sấy ở 105 °C trong 2 min.
Vết chính màu đỏ trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, hình dạng, màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) chỉ cho 1 vết chính màu đỏ duy nhất.
B. Dung dịch chế phẩm phải cho phản ứng của sulfat (Phụ lục 8.1).

pH
Từ 6,0 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Định lượng
Lấy chính xác một thể tích chế phẩm có chứa 17 500 IU neomycin vào bình định mức 50 ml, thêm *nước* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Tiến hành định lượng theo Phụ lục 13.9 Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm aminoglycosid.

Hàm lượng thường dùng
17 000 IU/10 ml, 34 000 IU/10 ml.

NEVIRAPIN KHAN
Nevirapinum anhydricum



$C_{15}H_{14}N_4O$ P.t.l: 266,3

Nevirapin khan là 11-cyclopropyl-4-methyl-5,11-dihydro-6*H*-dipyrido [3,2-*b*:2',3'-*e*][1,4]diazepin-6-on, phải chứa từ 97,5 % đến 102,0 % $C_{15}H_{14}N_4O$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột màu trắng hay gần như trắng.
Thực tế không tan trong nước, hơi tan hoặc khó tan trong methylen clorid, khó tan trong methanol.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của nevirapin chuẩn.
B. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử Mất khối lượng do làm khô.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - dung dịch amoni dihydrophosphat 0,288 % được điều chỉnh đến pH 5,0 bằng dung dịch natri hydroxyd loãng (20 : 80).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 24,0 mg chế phẩm trong hỗn hợp 4 ml *acetonitril (TT)* và 80 ml pha động, siêu âm đến khi tan hoàn toàn và pha loãng thành 100,0 ml với pha động.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 3,0 ml dung dịch thử (1) thành 25,0 ml với pha động.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 100,0 ml với pha động. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Thêm 2,0 ml pha động vào một lọ nevirapin chuẩn dùng để định tính pic (có chứa tạp A, B và C), lắc và siêu âm trong 1 min.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 24,0 mg nevirapin khan chuẩn trong hỗn hợp 4 ml *acetonitril (TT)* và 80 ml pha động, siêu âm đến khi tan hoàn toàn và pha loãng thành 100,0 ml với pha động. Pha loãng 3,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml với pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *hexadecylamidylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Nhiệt độ cột: 35 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1) và (2).
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 10 lần thời gian lưu của nevirapin.
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo nevirapin chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) để định tính các pic tạp chất A, B và C.
Thời gian lưu tương đối so với nevirapin (thời gian lưu khoảng 8 min) của tạp chất B khoảng 0,7; tạp chất A khoảng 1,5 và tạp chất C khoảng 2,8.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (2), hệ số phân giải giữa pic tạp chất B và pic nevirapin không nhỏ hơn 5.
Giới hạn:
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1):
Tạp chất A, B, C: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).
Tổng diện tích của tất cả các pic tạp chất không được lớn hơn 6 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,6 %).
Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 11-ethyl-4-methyl-5,11-dihydro-6*H*-dipyrido[3,2-*b*:2',3'-*e*][1,4]diazepin-6-on.
Tạp chất B: 4-methyl-5,11-dihydro-6*H*-dipyrido[3,2-*b*:2',3'-*e*][1,4]diazepin-6-on.
Tạp chất C: 4-methyl-11-propyl-5,11-dihydro-6*H*-dipyrido[3,2-*b*:2',3'-*e*][1,4]diazepin-6-on.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8)
Lấy 0,50 g chế phẩm, tiến hành thử theo phương pháp 7.
Dùng 1,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2)
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Tiến hành như mô tả trong phần Tạp chất liên quan với những thay đổi sau:
Tiến hành sắc ký với 25 µl dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (3)

Tính hàm lượng phần trăm nevirapin, $C_{15}H_{14}N_4O$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic nevirapin trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (3) và hàm lượng $C_{15}H_{14}N_4O$ trong nevirapin khan chuẩn.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Ức chế enzym phiên mã ngược thuộc nhóm non-nucleosid, kháng HIV.

Chế phẩm
Thuốc viên nén, hỗn dịch uống.

VIÊN NÉN NEVIRAPIN
Tabellae Nevirapini

Là viên nén hoặc viên nén bao phim chứa nevirapin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng nevirapin, $C_{15}H_{14}N_4O$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lắc một lượng bột viên đã nghiền mịn, tương ứng với khoảng 0,02 g nevirapin, với 100 ml *methanol (TT)*, lọc và pha loãng 5 ml dịch lọc thành 50 ml với *methanol (TT)*. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở dải sóng từ 220 nm đến 350 nm phải phù hợp với phổ của dung dịch nevirapin chuẩn có nồng độ tương đương, trong cùng dung môi.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic nevirapin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch *acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian thử qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, pha loãng bằng môi trường hòa tan để được dung dịch có nồng độ nevirapin khoảng 0,02 mg/ml. Đo độ hấp thụ của dung dịch thử ở bước sóng cực đại khoảng 313 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. So sánh với dung dịch nevirapin chuẩn có cùng nồng độ pha trong môi trường hòa tan.
Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng nevirapin, $C_{15}H_{14}N_4O$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm phosphat pH 3,0, pha động, dung dịch chuẩn, dung dịch thử và *điều kiện sắc ký*: Chuẩn bị như mục Định lượng.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký đối với dung dịch thử và ghi lại sắc đồ trong khoảng thời gian gấp 6 lần thời gian lưu của pic nevirapin.
Hàm lượng các tạp chất nếu có trên sắc ký đồ của dung dịch thử được tính theo phương pháp chuẩn hóa (Phụ lục 5 các kỹ thuật tách sắc ký).
Giới hạn: Mỗi tạp chất không được quá 1,0 %, tổng các tạp chất không được quá 2,0 %. Bỏ qua các pic của mẫu trắng và các pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 %.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm phosphat pH 3,0: Hòa tan 12,0 g *natri dihydrophosphat khan (TT)* trong 800 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 3,0 ± 0,05 bằng *acid phosphoric (TT)* và pha loãng bằng *nước* vừa đủ 1000 ml.
Pha động: *Acetonitril - methanol - dung dịch đệm phosphat pH 3,0* (20 : 20 : 60).
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng nevirapin chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ nevirapin, $C_{15}H_{14}N_4O$, khoảng 0,5 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg nevirapin, vào bình định mức 100 ml, thêm 80 ml pha động và lắc siêu âm 15 min. Pha loãng bằng pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều và lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.
Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, số đĩa lý thuyết của cột tính theo pic nevirapin không được nhỏ hơn 7500; hệ số đối xứng của pic nevirapin không được lớn hơn 1,5 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic nevirapin từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng nevirapin, $C_{15}H_{14}N_4O$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic nevirapin thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{15}H_{14}N_4O$ trong nevirapin chuẩn.

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

Loại thuốc
Kháng virus.

Hàm lượng thường dùng
200 mg.

NHÔM HYDROXYD KHÔ
Aluminii hydroxydum siccum

Nhôm hydroxyd khô là nhôm oxyd ngậm nước, phải chứa từ 47,0 % đến 60,0 % Al_2O_3 (P.t.l: 102,0).

Tính chất
Bột trắng vô định hình.
Thực tế không tan trong nước, tan trong các acid vô cơ loãng và trong các dung dịch hydroxyd kiềm.

Định tính
Dung dịch S: Hòa tan 1,25 g chế phẩm trong 7,5 ml *acid hydrocloric (TT)* bằng cách đun nóng trên cách thủy và pha loãng thành 50 ml bằng *nước*.
Dung dịch S phải cho phản ứng của ion nhôm (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu số II (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu VL_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn kiềm
Lắc 1,0 g chế phẩm với 20 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* trong 1 min và lọc. Thêm vào 10 ml dịch lọc, 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)*. Dung dịch nếu có màu hồng, phải mất màu khi cho thêm 0,3 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)*.

Khả năng trung hòa
Tiến hành phép thử ở 37 °C.
Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 100 ml *nước*, đun nóng, thêm 100,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* đã được làm nóng trước và khuấy liên tục. pH của dung dịch sau 10 min, 15 min và 20 min không được dưới 1,8; 2,3 và 3,0 và ở bất kỳ thời điểm nào cũng không được quá 4,5. Thêm 10,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,5 N (CĐ)* đã được làm nóng trước, khuấy liên tục trong 1 h và chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* đến pH 3,5. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* đã dùng không được quá 35,0 ml.

Clorid
Không được quá 1 % (Phụ lục 9.4.5).
Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)* bằng cách làm nóng và pha loãng thành 100 ml bằng *nước*. Pha loãng 5 ml dung dịch thu được thành 15 ml bằng *nước* và tiến hành thử.

Sulfat
Không được quá 1 % (Phụ lục 9.4.14).
Pha loãng 4 ml dung dịch S thành 100 ml bằng *nước*. Lấy 15 ml dung dịch thu được và tiến hành thử.

Arsen
Không được quá 4 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).
Lấy 10 ml dung dịch S tiến hành thử theo phương pháp A.

Kim loại nặng
Không được quá 60 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Trung hòa 10 ml dung dịch S bằng *amoniac đậm đặc (TT)*, dùng *dung dịch vàng metanil (TT)* làm chỉ thị ngoại. Lọc nếu cần, rồi pha loãng thành 15 ml bằng *nước*. Lấy 12 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo phương pháp I. Dùng 10 ml *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Giới hạn nhiễm khuẩn
Tổng số vi sinh vật hiếu khí: Không được quá 10^3 CFU/g.
Xác định bằng phương pháp đĩa thạch (Phụ lục 13.6).
Chế phẩm không được có vi khuẩn đường ruột, các vi khuẩn Gram âm khác và *Escherichia coli* (Phụ lục 13.6).

Định lượng
Hòa tan 0,800 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT)* bằng cách đun nóng trên cách thủy. Để nguội và pha loãng với *nước* thành 50,0 ml. Thêm vào 10,0 ml dung dịch này *dung dịch amoniac 6 M (TT)* cho tới khi bắt đầu xuất hiện tủa. Thêm một lượng tối thiểu *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* cần thiết để hòa tan tủa và pha loãng với *nước* thành 20 ml. Tiến hành chuẩn độ nhôm theo phương pháp chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).
1 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 5,098 mg Al_2O_3.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, ở nhiệt độ dưới 30 °C.

Loại thuốc
Kháng acid dạ dày.

Chế phẩm
Viên nén, hỗn dịch.

NHÔM PHOSPHAT KHÔ
Aluminii phosphas siccum

$AlPO_4.H_2O$ P.t.l: 122,0 (khan)

Nhôm phosphat khô chủ yếu là nhôm phosphat đã hydrat hóa, phải chứa từ 94,0 % đến 102,0 % $AlPO_4$ tính trên chế phẩm đã nung.

Tính chất
Bột màu trắng hay gần trắng. Rất khó tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %, tan trong các dung dịch loãng của acid vô cơ và kiềm hydroxyd.

Định tính
Dung dịch S: Hòa tan 2,00 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S cho phản ứng của ion nhôm và phản ứng B của ion phosphat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Hỗn dịch chế phẩm 4 % trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* có pH từ 5,5 đến 7,2 (Phụ lục 6.2).

Khả năng trung hòa
Cân 0,50 g chế phẩm, thêm 30 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* ở 37 °C và duy trì nhiệt độ 37 °C trong 15 min, khuấy liên tục, pH của hỗn hợp này ở 37 °C sau 15 min phải từ 2,0 đến 2,5 (Phụ lục 6.2).

Arsen
Không được quá 1 phần triệu (Phụ lục 9.4.2, phương pháp A). Dùng 1,0 g chế phẩm.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Lấy 12 ml dung dịch thu được để thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Clorid
Không được quá 1,3 % (Phụ lục 9.4.5).
Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)* và pha loãng thành 200 ml bằng *nước*. Lấy 15 ml dung dịch thu được và tiến hành thử.

Sulfat
Không được quá 0,6 % (Phụ lục 9.4.14).
Pha loãng 8 ml dung dịch S thành 100 ml bằng *nước*. Lấy 15 ml dung dịch thu được và tiến hành thử.

Phosphat tan
Không được quá 1,0 % tính theo PO_4^{3-}.
Dung dịch thử: Lắc 5,0 g chế phẩm với 150 ml *nước* trong 2 h, lọc và rửa phễu lọc bằng 50 ml *nước*. Tập trung dịch lọc và nước rửa, thêm *nước* vừa đủ 250,0 ml. Pha loãng 10 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2,86 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 100 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 5 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 3 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 5 ml bằng *nước*.
Cách tiến hành: Lấy 5,0 ml của mỗi dung dịch trên, thêm vào mỗi dung dịch 4 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)*, 1 ml *dung dịch amoni molybdat (TT)*, 5 ml *nước* và 2 ml dung dịch có chứa 0,10 g *4-methyl-aminophenol sulfat (TT)*, 0,5 g *natri sulfit khan (TT)* và 20,0 g *natri metabisulfit (TT)* trong 100 ml *nước*. Trộn đều, để yên trong 15 min và thêm *nước* vừa đủ 25 ml. Để yên tiếp 15 min và đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch ở bước sóng 730 nm.
Tính hàm lượng phosphat tan từ đường chuẩn được thiết lập bởi các dung dịch đối chiếu (1), (2) và (3).

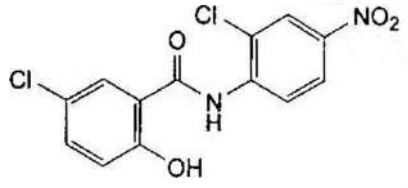
Mất khối lượng do nung
Từ 10,0 % đến 20 %.
(1,000 g, nung 800 °C đến khối lượng không đổi).

Định lượng
Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*. Lấy 10,0 ml dung dịch thu được, thêm 10,0 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* và 30 ml hỗn hợp đồng thể tích của *dung dịch amoni acetat (TT)* và *dung dịch acid acetic loãng (TT)*. Đun sôi trong 3 min, làm lạnh. Thêm 25 ml *ethanol 96 % (TT)* và 1 ml *dung dịch dithizon 0,025 %* mới pha trong *ethanol 96 % (TT)*. Chuẩn độ lượng natri edetat 0,1 M thừa bằng *dung dịch kẽm sulfat 0,1 M (CĐ)* đến khi màu chuyển sang hồng.
1 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 12,20 mg $AlPO_4$.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Kháng acid dạ dày.

NICLOSAMID KHAN
Niclosamidum anhydricum



$C_{13}H_8Cl_2N_2O_4$ P.t.l: 327,1

Niclosamid khan là 5-cloro-*N*-(2-cloro-4-nitrophenyl)-2-hydroxybenzamid, phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $C_{13}H_8Cl_2N_2O_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Tinh thể mịn màu trắng ánh vàng hoặc màu hơi vàng.
Thực tế không tan trong nước, hơi tan trong aceton, khó tan trong ethanol.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, E.
Nhóm II: B, C, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của niclosamid khan chuẩn. Chuẩn bị mẫu thử bằng cách trộn 0,5 mg chế phẩm với 0,3 g *kali bromid (TT)* và nén thành viên nén.
B. Điểm chảy: Từ 227 °C đến 232 °C (Phụ lục 6.7).

C. Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*, thêm 0,1 g *kẽm bột (TT)*, đun nóng trong cách thủy 10 min, để nguội và lọc. Thêm vào dịch lọc 1 ml *dung dịch natri nitrit 0,5 %* và để yên 3 min. Thêm 2 ml *dung dịch amoni sulfamat 2 %*, lắc, để yên 3 min và thêm 2 ml *dung dịch naphthylethylendiamin dihydroclorid 0,5 % (TT)*. Màu tím xuất hiện.

D. Đốt chế phẩm trên dây đồng bằng ngọn lửa không màu. Ngọn lửa chuyển màu xanh lục.

E. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử Mất khối lượng do làm khô.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp đồng thể tích của *acetonitril (TT)* và *dung dịch chứa 0,2 % kali dihydrophosphat, 0,1 % dinatri hydrophosphat, 0,2 % tetrabutylamoni hydrosulfat*.

Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* bằng cách đun nóng nhẹ, để nguội và thêm *methanol (TT)* vừa đủ 50,0 ml.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *acetonitril (TT)*. Pha loãng tiếp 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng *acetonitril (TT)*.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (12,5 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành: Tiêm dung dịch đối chiếu. Điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao của pic niclosamid không thấp hơn 20 % của thang đo. Tiêm dung dịch thử và tiến hành sắc ký trong khoảng thời gian gấp hai lần thời gian lưu của pic niclosamid. Trên sắc đồ của dung dịch thử: Tổng diện tích của các pic phụ, trừ pic niclosamid và pic dung môi, không được lớn hơn bốn lần diện tích của pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (0,2 %). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 10 % diện tích của pic niclosamid trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (0,005 %).

Acid 5-clorosalicylic

Không được quá 60 phần triệu.

Dung dịch thử: Thêm 15 ml *nước* vào 1,0 g chế phẩm, đun sôi 2 min, để nguội, lọc qua màng lọc 0,45 µm, rửa màng lọc. Gộp dịch lọc và dịch rửa, pha loãng dịch thu được thành 20,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 30 mg *acid 5-clorosalicylic (TT)* trong 20 ml *methanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *nước*.

Cách tiến hành: Thêm lần lượt 0,1 ml *dung dịch sắt (III) clorid 1,3 % (TT)* vào 10,0 ml dung dịch thử và 10,0 ml dung dịch đối chiếu. Màu tím tạo thành trong dung dịch thử không được đậm hơn màu tím tạo thành trong dung dịch đối chiếu.

2-Cloro-4-nitroanilin

Không được quá 0,01 %.

Dung dịch thử: Thêm 5 ml *methanol (TT)* vào 0,250 g chế phẩm, đun sôi, để nguội. Thêm 45 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*, đun sôi, để nguội, lọc rồi pha loãng dịch lọc thành 50,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50 mg *2-cloro-4-nitroanilin (TT)* trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *methanol (TT)*. Pha loãng 2,0 ml dung dịch này thành 20,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*.

Cách tiến hành: Thêm lần lượt 0,5 ml *dung dịch natri nitrit 0,5 %* vào 10,0 ml dung dịch thử và 10,0 ml dung dịch đối chiếu. Để yên 3 min. Thêm 1 ml *dung dịch amoni sulfamat 2 %*, lắc, để yên trong 3 min rồi thêm 1 ml *dung dịch naphthylethylendiamin dihydroclorid 0,5 % (TT)*. Màu tím hồng tạo thành trong dung dịch thử không được đậm hơn màu tím hồng tạo thành trong dung dịch đối chiếu.

Clorid

Không được quá 0,05 % (Phụ lục 9.4.5).

Thêm hỗn hợp gồm 1,2 ml *acid acetic (TT)* và 40 ml *nước* vào 2,0 g chế phẩm, đun sôi trong 2 min, để nguội và lọc. Lấy 2 ml dịch lọc pha loãng với *nước* thành 15 ml để thử.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 105 °C; 4 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Cân chính xác khoảng 0,300 g chế phẩm hòa tan trong 80 ml hỗn hợp đồng thể tích *aceton (TT)* và *methanol (TT)*. Định lượng bằng *dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,1 M (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,1 M (CĐ)* tương đương với 32,71 mg $C_{13}H_8Cl_2N_2O_4$.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

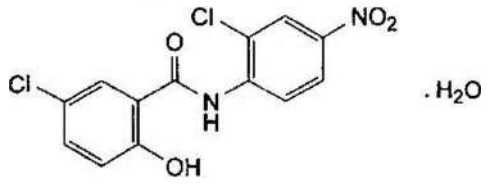
Trị giun sán.

Chế phẩm

Viên nén.

NICLOSAMID MONOHYDRAT

Niclosamidi monohydratum



$C_{13}H_8Cl_2N_2O_4.H_2O$ P.t.l: 345,1

Niclosamid monohydrat là 5-cloro-*N*-(2-cloro-4-nitrophenyl)-2-hydroxybenzamid monohydrat, phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $C_{13}H_8Cl_2N_2O_4$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Tinh thể mịn màu vàng.

Thực tế không tan trong nước, hơi tan trong aceton, khó tan trong ethanol.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, E.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm sau khi đã sấy khô ở 100 °C đến 105 °C trong 4 h phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của niclosamid khan chuẩn.

B. Điểm chảy của chế phẩm sau khi đã sấy khô ở 100 °C đến 105 °C trong 4 h phải từ 227 °C đến 232 °C (Phụ lục 6.7).

C. Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*, thêm 0,1 g *bột kẽm (TT)*, đun nóng cách thủy 10 min, làm lạnh và lọc. Thêm vào dịch lọc 1 ml *dung dịch natri nitrit 0,5 %* và để yên 3 min. Thêm 2 ml *dung dịch amoni sulphamat 2 %*, lắc, để yên 3 min và thêm 2 ml *dung dịch naphthyl ethylendiamin dihydroclorid 0,5 % (TT)*. Màu tím xuất hiện.

D. Đốt chế phẩm trên lưỡi đồng bằng ngọn lửa không màu. Ngọn lửa chuyển màu xanh lá cây.

E. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử Mất khối lượng do làm khô.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Acetonitril - dung dịch chứa 0,2 % kali dihydrophosphat, 0,1 % dinatri hydrophosphat, 0,2 % tetrabutylamoni hydrosulfat* (1 : 1).

Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *methanol (TT)*, đun nóng nhẹ, làm lạnh và thêm *methanol (TT)* vừa đủ 50,0 ml.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *acetonitril (TT)*. Pha loãng tiếp 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng *acetonitril (TT)*.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (12,5 cm × 4 mm) nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp hai lần thời gian lưu của pic niclosamid.

Tiến hành sắc ký dung dịch đối chiếu, điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao của pic niclosamid không thấp hơn 20 % của thang đo.

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

Tổng diện tích của các pic phụ, trừ pic niclosamid và pic dung môi, không được lớn hơn 4 lần diện tích của pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (0,2 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 10 % diện tích của pic niclosamid trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu.

Acid 5-clorosalicylic

Không được quá 60 phần triệu.

Dung dịch thử: Thêm 15 ml *nước* vào 1,0 g chế phẩm, đun sôi 2 min, làm lạnh, lọc qua màng lọc 0,45 µm, rửa màng lọc. Gộp dịch lọc và dịch rửa, pha loãng dịch thu được thành 20,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 30 mg *acid 5-clorosalicylic (TT)* trong 20 ml *methanol (TT)* và pha loãng với *nước* thành 100 ml. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *nước*.

Cách tiến hành: Thêm lần lượt 0,1 ml *dung dịch sắt (III) clorid 1,3 % (TT)* vào 10,0 ml dung dịch thử và 10,0 ml dung dịch đối chiếu. Màu tím của dung dịch thử không được đậm hơn màu tím của dung dịch đối chiếu.

2-Cloro-4-nitroanilin

Không được quá 0,01 %.

Dung dịch thử: Thêm 5 ml *methanol (TT)* vào 0,250 g chế phẩm đun sôi, làm lạnh. Thêm 45 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*, đun sôi, làm lạnh, lọc rồi pha loãng dịch lọc thành 50,0 ml với *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50 mg *2-cloro-4-nitroanilin (TT)* trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Lấy 1 ml dung dịch thu được pha loãng với *methanol (TT)* thành 100 ml. Pha loãng tiếp 2 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*.

Cách tiến hành: Thêm lần lượt 0,5 ml *dung dịch natri nitrit 0,5 %* vào 10,0 ml dung dịch thử và 10,0 ml dung dịch đối chiếu. Để yên 3 min. Thêm 1 ml *dung dịch amoni sulphamat 2 %*, lắc, để yên trong 3 min rồi thêm 1 ml *dung dịch naphthylethylendiamin dihydroclorid 0,5 % (TT)*. Màu tím hồng tạo thành trong dung dịch thử không được đậm hơn màu trong dung dịch đối chiếu.

Clorid

Không được quá 0,05 % (Phụ lục 9.4.5).

Thêm hỗn hợp gồm 1,2 ml *acid acetic (TT)* và 40 ml *nước*

vào 2,0 g chế phẩm, đun sôi trong 2 min, làm lạnh và lọc. Pha loãng 2 ml dịch lọc thành 15 ml bằng *nước* để thử.

Mất khối lượng do làm khô
Từ 4,5 % đến 6,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C; 4 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Cân chính xác khoảng 0,300 g chế phẩm hòa tan trong 80 ml hỗn hợp dung môi đồng thể tích *aceton (TT)* và *methanol (TT)*. Định lượng bằng *dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,1 M (CĐ)*. Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,1 M (CĐ)* tương đương với 32,71 mg $C_{13}H_8Cl_2N_2O_4$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Trị giun sán.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN NICLOSAMID
Tabellae Niclosamidi

Là viên nén chứa niclosamid khan hoặc niclosamid monohydrat. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng niclosamid, $C_{13}H_8Cl_2N_2O_4$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Đun nóng một lượng bột viên tương ứng khoảng 0,5 g niclosamid khan với 25 ml *ethanol 96 % (TT)* nóng, lọc nóng và bay hơi dịch lọc cho tới khô trên cách thủy. Cắn thu được để làm các phản ứng sau:
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn phải phù hợp với phổ hồng ngoại của niclosamid chuẩn. Nếu phổ thu được không phù hợp với phổ chuẩn thì sấy cắn ở 120 °C trong 1 h và ghi phổ mới.
B. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch cắn 0,001 % trong *ethanol 96 % (TT)* ở bước sóng từ 230 nm đến 360 nm có cực đại hấp thụ ở khoảng 335 nm.
C. Đun nóng 50 mg cắn với 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* và 0,1 g *kẽm bột (TT)* trong cách thủy 10 min, làm nguội và lọc. Thêm vào dịch lọc 0,5 ml *dung dịch natri nitrit 1 % (TT)* và để yên 10 min. Thêm tiếp vào đó 2 ml *dung dịch amoni sulphamat 2 %*, lắc, để yên 10 min và thêm vào 2 ml *dung dịch N-(1-naphthyl) ethylendiamin dihydroclorid 0,5 % (TT)*, dung dịch chuyển thành màu tím.

2-Cloro-4-nitroanilin
Đun sôi một lượng bột viên tương ứng 0,10 g niclosamid khan với 20 ml *methanol (TT)* trong 2 min, làm nguội, thêm *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* vừa đủ 50 ml và lọc. Lấy 10 ml dịch lọc, thêm 0,5 ml *dung dịch natri nitrit 0,5 % (TT)* và để yên 10 min. Thêm 1 ml *dung dịch amoni sulphamat 2 %*, lắc, để yên 10 min và thêm tiếp 1 ml *dung dịch N-(1-naphthyl) ethylendiamin dihydroclorid 0,5 % (TT)*. Màu tạo thành không được đậm hơn màu của dung dịch gồm 20 ml *methanol (TT)* chứa 10 µg *2-cloro-4-nitroanilin (TT)* được tiến hành đồng thời trong cùng điều kiện, bắt đầu từ "thêm *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*...".

5- Acid clorosalicylic
Đun sôi một lượng bột viên tương ứng 0,50 g niclosamid khan với 10 ml *nước* trong 2 min, làm nguội, lọc và thêm vào dịch lọc 0,2 ml *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)*, không có màu đỏ hoặc màu tím tạo thành.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hỗn hợp gồm 50 thể tích *acetonitril (TT)* và 50 thể tích của dung dịch chứa *0,2 % kali dihydrophosphat, 0,2 % tetrabutylamoni hydrosulfat* và *0,1 % dinatri hydrophosphat*.
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng 0,1 g niclosamid khan với 80 ml *methanol (TT)* trong 15 min, thêm *methanol (TT)* vừa đủ 100,0 ml và lọc.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử thành 100 thể tích bằng *acetonitril (TT)* và pha loãng 1 thể tích dung dịch này thành 20 thể tích bằng *acetonitril (TT)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu, điều chỉnh độ nhạy của detector sao cho chiều cao của pic tương ứng với niclosamid không được thấp hơn 20 % chiều cao của thang đo.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử trong khoảng thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của pic niclosamid.
Trên sắc ký đồ thu được dung dịch thử: Tổng diện tích của các pic phụ không được lớn hơn 4 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Bỏ qua bất cứ pic nào do dung môi và các pic phụ có diện tích nhỏ hơn 10 % so với diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Định lượng
Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,3 g niclosamid khan, hòa tan trong 60 ml

dimethylformamid (TT). Chuẩn độ bằng *dung dịch tetrabutyl amoni hydroxyd 0,1 M (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). 1 ml dung dịch *tetrabutyl amoni hydroxyd 0,1 M (CĐ)* tương ứng với 32,71 mg $C_{13}H_8Cl_2N_2O_4$.

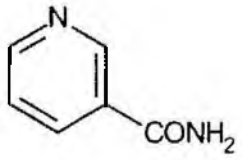
Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống giun sán.

Hàm lượng thường dùng
500 mg (tính theo niclosamid khan).

Nhãn
Nhãn phải được ghi rõ thuốc nên nhai trước khi nuốt.

NICOTINAMID
Nicotinamidum



$C_6H_6N_2O$ P.t.l: 122,1

Nicotinamid là pyridin-3-carboxamid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_6H_6N_2O$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Tinh thể không màu hay bột kết tinh màu trắng, có mùi nhẹ và đặc trưng.
Dễ tan trong nước và ethanol, khó tan trong cloroform và ether.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của nicotinamid chuẩn.
B. Đun sôi 0,1 g chế phẩm với 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)* có mùi amoniac bay ra.
C. Lấy 2 ml dung dịch S, thêm 2 ml *dung dịch cyanogen bromid (TT)* và 3 ml *dung dịch anilin 2,5 %*, lắc đều, màu vàng xuất hiện.
D. Điểm chảy: 128 °C đến 131°C (Phụ lục 6.7).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* để được 50 ml.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu NV_7 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Dung dịch S phải có pH từ 6,0 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).

Kim loại nặng
Không được quá 30 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Pha loãng 10 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước*. Lấy 12 ml dung dịch thu được tiến hành theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi khai triển: *Cloroform - ethanol - nước* (48 : 45 : 4).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,4 g chế phẩm trong hỗn hợp đồng thể tích *ethanol 96 % (TT)* và *nước* để được 5,0 ml.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 0,5 ml dung dịch thử thành 200 ml bằng hỗn hợp đồng thể tích *ethanol 96 % (TT)* và *nước*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm, lấy bản mỏng ra để khô, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết chính của dung dịch đối chiếu (0,25 %).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; phosphor pentoxyd; áp suất 1,5 đến 2,7 kPa; 18 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 20 ml *acid acetic khan (TT)*, đun nóng nhẹ nếu cần thiết, thêm 5 ml *anhydrid acetic (TT)*, sử dụng *dung dịch tím tinh thể (TT)* làm chỉ thị và chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* cho đến khi dung dịch chuyển sang màu xanh lam lục.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 12,21 mg $C_6H_6N_2O$.

Bảo quản
Trong đồ bao gói kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Vitamin nhóm B.

Bào chế
Viên nén, bột pha tiêm.

VIÊN NÉN NICOTINAMID
Tabellae Nicotinamidi

Là viên nén chứa nicotinamid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng nicotinamid, $C_6H_6N_2O$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

A. Chiết một lượng bột viên tương ứng với 0,1 g nicotinamid bằng cách lắc với 25 ml *ethanol (TT)* trong 15 min, lọc và bốc hơi dịch lọc đến khô trên cách thủy. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại của nicotinamid chuẩn.

B. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch ở phần Định lượng trong khoảng từ 230 nm đến 350 nm phải có một cực đại hấp thụ ở 262 nm và hai vai ở 258 nm và 269 nm.

C. Chiết một lượng bột viên tương ứng với 50 mg nicotinamid bằng 50 ml *nước* và lọc. Thêm vào 2 ml dịch lọc 2 ml *dung dịch cyanogen bromid (TT)* và 3 ml *dung dịch anilin 2,5 % (TT)*, lắc đều, xuất hiện màu vàng.

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel F_{254}.

Dung môi khai triển: Cloroform - ethanol 96 % - nước (48 : 45 : 10).

Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên có chứa 0,1 g nicotinamid với 15 ml *ethanol (TT)* trong 15 min, lọc, làm bốc hơi trên cách thủy tới khô và hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 400 lần một thể tích dung dịch (1) với *ethanol (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai bản mỏng đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử cũng không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (0,25 %).

Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân một lượng bột viên tương ứng với 50 mg nicotinamid, chuyển vào bình định mức 100 ml, thêm 50 ml *ethanol 96 % (TT)*, lắc trong 15 min và thêm *ethanol 96 % (TT)* tới định mức, trộn đều, lọc, bỏ 15 ml dịch lọc đầu. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml với *ethanol 96 % (TT)* và đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 262 nm. Dùng *ethanol 96 % (TT)* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng nicotinamid, $C_6H_6N_2O$, theo A (1 %, 1 cm). Lấy 241 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng cực đại 262 nm.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

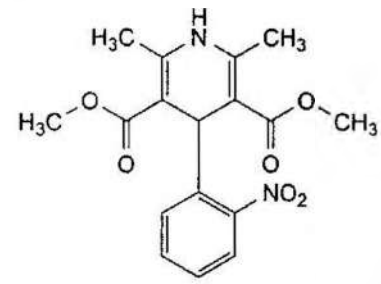
Vitamin.

Hàm lượng thường dùng

25 mg, 50 mg.

NIFEDIPIN

Nifedipinum



$C_{17}H_{18}N_2O_6$ P.t.l: 346,3

Nifedipin là dimethyl 2,6-dimethyl-4-(2-nitrophenyl)-1,4-dihydropyridin-3,5-dicarboxylat, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{17}H_{18}N_2O_6$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu vàng.

Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong aceton, hơi tan trong ethanol. Dưới ánh sáng ban ngày hoặc ánh sáng nhân tạo ở bước sóng nhất định, chế phẩm dễ dàng chuyển thành dẫn chất nitrosophenylpyridin. Dưới ánh sáng tử ngoại chế phẩm chuyển thành dẫn chất nitrophenylpyridin.

Tiến hành các phép thử trong điều kiện tránh ánh sáng hay dưới ánh sáng có bước sóng dài (trên 420 nm). Pha các dung dịch ngay trước khi sử dụng và để tránh ánh sáng.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của nifedipin chuẩn.

B. Điểm chảy của chế phẩm phải từ 171 °C đến 175 °C (Phụ lục 6.7).

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - cyclohexan (40 : 60).

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg nifedipin chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 3/4 bản mỏng. Để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu.

D. Lấy 25 mg chế phẩm vào ống nghiệm, thêm 10 ml dung dịch hỗn hợp gồm *acid hydrocloric - nước - ethanol 96 %* (1,5 : 3,5 : 5). Đun nóng nhẹ để hòa tan. Thêm 0,5 g *kẽm hạt (TT)*, để 5 min, thỉnh thoảng khuấy nhẹ. Lọc sang ống nghiệm thứ hai rồi thêm 5 ml *dung dịch natri nitrit 1 % (TT)* vào dịch lọc, để yên trong 2 min. Thêm 2 ml *dung*

dịch amoni sulfamat 5 %. Lắc mạnh rồi thêm 2 ml *dung dịch naphthylethyldiamin dihydroclorid 0,5 % (TT)*. Màu đỏ đậm xuất hiện và bền trong ít nhất 5 min.

Tạp chất D và các tạp base khác
Không được quá 0,14 %.
Hòa tan 4 g chế phẩm trong 160 ml *acid acetic băng (TT)* vào bình nón 250 ml, dùng bể siêu âm.
Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, dùng 0,25 ml *dung dịch naphtholbenzein (TT)* làm chỉ thị, đến khi màu chuyển từ vàng nâu sang màu xanh lá.
Thể tích *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* đã dùng không được quá 0,48 ml.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Acetonitril - methanol - nước* (9 : 36 : 55).
Dung dịch thử. Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 20 ml *methanol (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg tạp chất A chuẩn của nifedipin trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg tạp chất B chuẩn của nifedipin trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Trộn 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1), 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) và 0,1 ml dung dịch thử rồi pha loãng thành 20,0 ml bằng pha động. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 235 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (3).
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của nifedipin.
Thứ tự rửa giải: Tạp chất A, tạp chất B và nifedipin.
Thời gian lưu của nifedipin khoảng 15,5 min.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic của tạp chất A và pic của tạp chất B ít nhất là 1,5; độ phân giải giữa pic của tạp chất B và pic nifedipin ít nhất là 1,5.
Giới hạn:
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %).
Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B không được lớn hơn diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %).
Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic nifedipin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %).
Tổng các tạp chất không được quá 0,3 %.
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic nifedipin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,01 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Dimethyl 2,6-dimethyl-4-(2-nitrophenyl)-pyridin-3,5-dicarboxylat (nitrophenylpyridin analog).
Tạp chất B: Dimethyl 2,6-dimethyl-4-(2-nitrosophenyl)-pyridin-3,5-dicarboxylat (nitrosophenylpyridin analog).
Tạp chất C: Methyl 2-(2-nitrobenzyliden)-3-oxobutanoat.
Tạp chất D: Methyl 3-aminobut-2-enonat.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C; 2 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,1300 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 25 ml *2-methyl-2-propanol (TT)* và 25 ml *dung dịch acid percloric 1 M (TT)*. Thêm 0,1 ml *dung dịch feroin (TT)* làm chỉ thị và chuẩn độ từ từ bằng *dung dịch ceri sulfat 0,1 M (CĐ)* cho đến khi mất màu hồng. Song song tiến hành với mẫu trắng. 1 ml *dung dịch ceri sulfat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 17,32 mg $C_{17}H_{18}N_2O_6$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chẹn kênh calci, điều trị tăng huyết áp.

Chế phẩm
Nang, viên nén.

VIÊN NÉN NIFEDIPIN
Tabellae Nifedipini

Là viên nén bao phim chứa nifedipin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng nifedipin, $C_{17}H_{18}N_2O_6$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tiến hành các phép thử trong điều kiện tránh ánh sáng hay dưới ánh sáng có bước sóng dài (lớn hơn 420 nm). Pha các dung dịch ngay trước khi sử dụng và để tránh ánh sáng. Dùng dụng cụ thủy tinh màu nâu.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel F_{254} (Bản mỏng Merck silica gel 60 F_{254} là phù hợp).

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - cyclohexan (40 : 60).
Dung môi pha mẫu: Dicloromethan - methanol (50 : 50).
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên đã nghiền mịn (bỏ lớp vỏ bao nếu cần) tương ứng với khoảng 20 mg nifedipin trong 100 ml dung môi pha mẫu, lọc.
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch nifedipin 0,02 % trong dung môi pha mẫu.
Dung dịch đối chiếu (2): Trộn đều 1 thể tích dung dịch thử và 1 thể tích dung dịch đối chiếu (1).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký trong bình không bão hòa dung môi đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.
Dung dịch thử phải cho vết chính có cùng vị trí và kích thước so với vết chính thu được từ dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho một vết chính duy nhất.
B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic nifedipin trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril – methanol - nước (9 : 36 : 55).
Dung dịch thử: Cân một lượng bột viên tương ứng với 50 mg nifedipin vào bình định mức dung tích 25 ml, thêm 15 ml *methanol (TT)*, lắc kỹ, thêm *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lọc. Trộn đều 1 thể tích dịch lọc với 1 thể tích pha động.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Tiếp tục pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml bằng pha động
Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch tạp chất A chuẩn của nifedipin trong pha động có nồng độ 0,0005 %.
Dung dịch đối chiếu(3): Dung dịch tạp chất B chuẩn của nifedipin trong pha động có nồng độ 0,0005 %.
Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Trộn đều 1 thể tích dung dịch thu được với 1 thể tích dung dịch đối chiếu (2) và 1 thể tích dung dịch đối chiếu (3).
Dung dịch đối chiếu (5): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 235 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm lần lượt các dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (4), hệ số phân giải giữa pic tạp chất A và tạp chất B không nhỏ hơn 1,5; hệ số phân giải giữa pic tạp chất B và pic nifedipin không nhỏ hơn 1,5.
Yêu cầu: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:
Diện tích của pic tạp chất A không được lớn hơn diện tích của pic tương ứng thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).
Diện tích của pic tạp chất B không được lớn hơn diện tích của pic tương ứng thu được từ dung dịch đối chiếu (3) (0,5 %).
Diện tích của bất cứ pic tạp nào khác không lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Tổng diện tích các pic tạp khác không lớn hơn 5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %).
Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Dimethyl-2,6-dimethyl-4-(2-nitrophenyl)pyridin-3,5-dicarboxylat.
Tạp chất B: Dimethyl-2,6-dimethyl-4-(2-nitrosophenyl)pyridin-3,5-dicarboxylat.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *acid hydrocloric 0,1 M (TT).*
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quí định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, loại bỏ dịch lọc đầu.
Dung dịch chuẩn: Pha loãng dung dịch nifedipin chuẩn 0,025 % trong *methanol (TT)* với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ tương tự như dung dịch thử.
Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng với *pha động* và *điều kiện sắc ký* như mô tả trong mục Tạp chất liên quan.
Tính lượng nifedipin, $C_{17}H_{18}N_2O_6$, hòa tan trong mỗi viên.
Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % (Q) lượng nifedipin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với *pha động* và *điều kiện sắc ký* như ở mục Tạp chất liên quan.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 20 mg nifedipin chuẩn, hòa tan trong một lượng tối thiểu *methanol (TT)* và thêm pha động vừa đủ 100,0 ml.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, loại bỏ lớp bao phim (nếu cần) tính khối lượng trung bình của viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg nifedipin vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml *methanol (TT)*và lắc siêu âm để hòa tan, thêm *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml bằng pha động.
Dung dịch phân giải: Dung dịch có chứa 0,0003 % nifedipin, 0,0002 % tạp chất A và 0,0002 % tạp chất B trong pha động.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký đối với dung dịch thử độ phân giải. Trên sắc ký đồ thu được, độ phân giải giữa pic tạp chất A và tạp

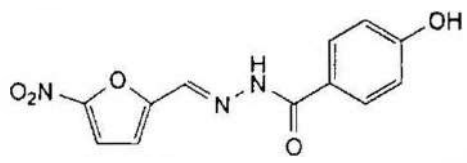
chất B không nhỏ hơn 1,5, độ phân giải giữa pic tạp chất B và nifedipin không nhỏ hơn 1,5.
Tiêm dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic nifedipin trong 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng $C_{17}H_{18}N_2O_6$, có trong viên dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{17}H_{18}N_2O_6$ của nifedipin chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Điều trị đau thắt ngực và tăng huyết áp.

Hàm lượng thường dùng
10 mg.

NIFUROXAZID
Nifuroxazidum



$C_{12}H_9N_3O_5$ P.t.l: 275,2

Nifuroxazid là (*E*)-4-Hydroxy-*N'*-[(5-nitrofuran-2-yl) methyliden]benzohydrazid, phải chứa từ 98,5 % đến 101,5 % $C_{12}H_9N_3O_5$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu vàng sáng. Thực tế không tan trong nước và methylen clorid, khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của nifuroxazid chuẩn.

Độ hấp thụ riêng
Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong 10,0 ml *ethylen glycol monomethyl ether (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng *methanol (TT)*. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *methanol (TT)*.
Độ hấp thụ riêng của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 367 nm (Phụ lục 4.1) phải từ 940 đến 1000.

Tạp chất A
Không được quá 0,05 %.
Dung dịch thử (1): Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *dimethyl sulfoxid (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Lấy 5,5 ml dung dịch thử (1), thêm 50,0 ml *nước* trong khi khuấy. Để yên trong 15 min và lọc.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,5 ml dung dịch thử (1), thêm 5,0 ml dung dịch 4-hydroxybenzohydrazid (tạp chất A) trong *dimethyl sulfoxid (TT)* nồng độ 50 mg/L. Thêm 50,0 ml *nước*, vừa thêm vừa khuấy. Để yên trong 15 min và lọc.
Lần lượt thêm 0,5 ml *thuốc thử phosphomolybdotungstic (TT)* và 10,0 ml dung dịch *natri carbonat (TT)* 10,6 % vào 10,0 ml dung dịch thử (2) và 10,0 ml dung dịch đối chiếu. Để yên 1 h. Đo độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của hai dung dịch trên ở bước sóng 750 nm. Độ hấp thụ của dung dịch thử (2) không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch đối chiếu.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). *Sử dụng bình định mức màu nâu nếu không có chỉ dẫn khác.*
Pha động A: Tetrahydrofuran - nước (5 : 95).
Pha động B: Acetonitril.
Dung môi pha mẫu: Acetonitril - nước (40 : 60).
Dung dịch thử: Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong dung môi pha mẫu, siêu âm không quá 5 min, pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng dung môi pha mẫu. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Để chuẩn bị tạp chất E, hòa tan 5 mg chế phẩm trong dung môi pha mẫu trong bình định mức không màu, siêu âm 5 min, pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi. Để yên 1 h.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5,0 mg methyl parahydroxybenzoat chuẩn (tạp chất B) trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm, hình cầu).
Nhiệt độ cột: 10 °C.
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 280 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tl/tt)	Pha động B (% tl/tt)
0 - 10	67	33
10 - 30	67 → 43	33 → 57

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1), (2) và (3).
Thời gian lưu tương đối của các tạp chất so với nifuroxazid (thời gian lưu khoảng 8 min): Tạp chất A (đồng phân hỗ biến keto-enol) khoảng 0,36 và 0,39; tạp chất E khoảng 0,9; tạp chất B khoảng 1,2; tạp chất C khoảng 2,6; tạp chất

D khoảng 3,4.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất E và pic của nifuroxazid ít nhất là 2,0.
Giới hạn:
Tạp chất E: Diện tích pic tạp chất E không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).
Tạp chất B, C, D: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,6 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,3 %). Không quá 1 pic trong số 3 pic trên có diện tích lớn hơn 0,2 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %).
Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất trừ tạp chất E không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,5 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,05 %), bỏ qua các pic của tạp chất A.
Ghi chú:
Tạp chất A: 4-hydroxybenzohydrazid (*p*-hydroxybenzohydrazid).
Tạp chất B: methyl 4-hydroxybenzoat (methylparahydroxybenzoat).
Tạp chất C: (5-nitrofuran-2-yl)methylidendiacetat.
Tạp chất D: (*E,E*)-*N,N'*-bis[(5-nitrofuran-2-yl)methyliden]hydrazin (5-nitrofurfural azin).
Tạp chất E: (*Z*)-4-hydroxy-*N'*-[(5-nitrofuran-2-yl)methyliden] benzohydrazid.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g tiến hành theo phương pháp 4. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C; 3 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

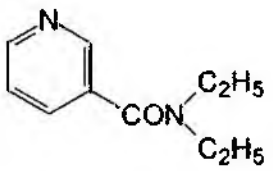
Định lượng
Hòa tan 0,200 g chế phẩm, đun nóng nếu cần, trong 30 ml *dimethyl formamid (TT)*, thêm 20 ml *nước*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương 27,52 mg $C_{12}H_9N_3O_5$

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng khuẩn.

Chế phẩm
Nang.

NIKETHAMID
Nikethamidum



$C_{10}H_{14}N_2O$ P.t.l: 178,2

Nikethamid là *N,N*-diethylpyridin-3-carboxamid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{10}H_{14}N_2O$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Chất lỏng sánh như dầu hoặc khối kết tinh không màu hoặc màu hơi ánh vàng. Có thể trộn lẫn với nước, cloroform, ethanol 96 % và ether ở bất kỳ tỷ lệ nào.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của nikethamid chuẩn.
B. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) trong khoảng từ 230 nm đến 350 nm trong cốc đo dày 2 cm của dung dịch 0,0015 % trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* chỉ có một cực đại hấp thụ ở 263 nm và A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 263 nm khoảng 285.
C. Đun nóng 0,1 g chế phẩm với 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*. Diethylamin được tạo ra có thể nhận biết bằng mùi đặc trưng và bằng sự chuyển màu giấy quỳ đỏ thành xanh.
D. Thêm 2 ml *dung dịch cyanogen bromid (TT)* và 3 ml *dung dịch anilin 2,5 % (TT)* vào 2 ml dung dịch chế phẩm 0,1 % và lắc, màu vàng xuất hiện.

pH
pH của dung dịch 25 % từ 6,0 đến 7,8 (Phụ lục 6.2).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Chế phẩm ở dạng lỏng hoặc được làm lỏng bằng cách đun nóng nhẹ phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn màu của màu mẫu V_5 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Chỉ số khúc xạ
Từ 1,524 đến 1,526 (Phụ lục 6.1).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Propanol - cloroform (25 : 75).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,4 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 40 mg ethylnicotinamid chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 10,0 ml bằng *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết nào tương ứng với ethylnicotinamid trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và bất kỳ vết phụ nào khác ngoài vết chính và vết tương ứng với ethylnicotinamid không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 12 ml dung dịch chế phẩm 10 % trong *nước* tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Không được quá 0,3 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 2,000 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 20 ml *acid acetic khan (TT)* và 5 ml *anhydrid acetic (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). 1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 17,82 mg $C_{10}H_{14}N_2O$.

Bảo quản
Trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kích thích hệ thần kinh trung ương.

THUỐC GIỌT NIKETHAMID
Solutio Nikethamidi

Là dung dịch thuốc chứa nikethamid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Dung dịch thuốc" (Phụ lục 1.3) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng nikethamid, $C_{10}H_{14}N_2O$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu hoặc hơi vàng.

Định tính
A. Lấy 1 ml chế phẩm, kiềm hóa bằng *dung dịch natri hydroxyd 5 M (TT)*, chiết với 5 ml *dicloromethan (TT)*. Dịch chiết được bốc hơi dung môi đến cắn khô trên cách thủy dưới luồng khí nitơ. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại của nikethamid chuẩn.
B. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) trong khoảng từ 230 nm đến 350 nm, trong cốc đo dày 1 cm của dung dịch thu được ở phần định lượng, chỉ có một cực đại hấp thụ ở 263 nm.

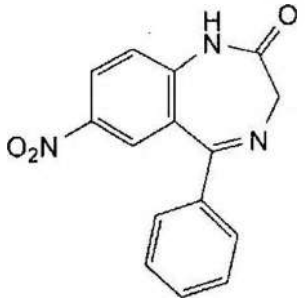
Định lượng
Pha loãng 5,0 ml chế phẩm thành 500,0 ml với *nước*. Lấy chính xác 5,0 ml dung dịch này, thêm 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* và pha loãng với *nước cất* thành 500,0 ml, lắc đều. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 263 nm, dùng cốc dày 1 cm. Mẫu trắng là *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*.
Tính hàm lượng nikethamid, $C_{10}H_{14}N_2O$, theo A (1 %, 1 cm). Lấy 282 là giá trị A (1 %,1 cm) ở bước sóng 263 nm.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kích thích hệ thần kinh trung ương.

Hàm lượng thường dùng
Dung dịch 25 %.

NITRAZEPAM
Nitrazepamum



$C_{15}H_{11}N_3O_3$ P.t.l: 281,3

Nitrazepam là 7-nitro-5-phenyl-1,3-dihydro-2*H*-1,4-benzo diazepin-2-on, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{15}H_{11}N_3O_3$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc vàng. Thực tế không tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của nitrazepam chuẩn.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). *Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.*
Pha động A: Dung dịch *natri dihydrophosphat (TT)* 7,8 g/l, chỉnh đến pH 3,0 với *acid phosphoric (TT).*
Pha động B: Acetonitril.
Dung dịch thử: Hoà tan 50 mg chế phẩm trong *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *acetonitril (TT).* Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hoà tan 2 mg clonazepam chuẩn trong *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng dung dịch thử.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 270 nm.
Nhiệt độ cột: 40 °C.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 3	65	35
3 - 10	65 → 50	35 → 50
10 - 20	50	50

Thời gian lưu tương đối so với nitrazepam (thời gian lưu khoảng 9 min): Clonazepam khoảng 1,1.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), tỷ số đỉnh-hõm (Hp/Hv) ít nhất là 4,0; trong đó Hp là chiều cao đỉnh pic clonazepam so với đường nền và Hv là chiều cao tính từ đường nền lên đến đáy hõm phân tách giữa pic clonazepam và pic nitrazepam.
Giới hạn:
Với mỗi tạp chất bất kỳ, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các pic tạp chất không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú
Tạp chất A: 3-amino-6-nitro-4-phenylquinolin-2(1*H*)-on.
Tạp chất B: (2-amino-5-nitrophenyl)phenylmethanon.
Tạp chất C: 2-bromo-*N*-[4-nitro-2-(phenylcarbonyl)phenyl]acetamid.
Tạp chất D: 2-(1,3-dioxo-1,3-dihydro-2*H*-isoindol-2-yl)-*N*-[4-nitro-2-(phenylcarbonyl) phenyl] acetamid.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C; 4 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

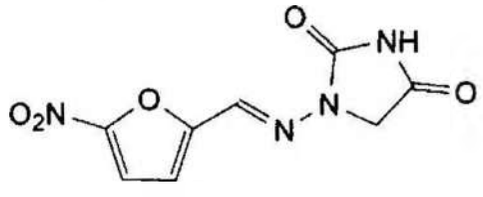
Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 25 ml *anhydrid acetic (TT).* Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ),* xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 28,13 mg $C_{15}H_{11}N_3O_3$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
An thần, gây ngủ.

Chế phẩm
Viên nén.

NITROFURANTOIN
Nitrofurantoinum



$C_8H_6N_4O_5$ P.t.l: 238,2

Nitrofurantoin là 1-[[(5-nitrofuran-2-yl)methylen]-amino] imidazolidin-2,4-dion, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_8H_6N_4O_5$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu vàng hoặc tinh thể màu vàng. Không mùi hoặc gần như không mùi. Rất khó tan trong nước và ethanol 96 %, tan trong dimethylformamid.

Định tính
A. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch trong phần Định lượng từ bước sóng 220 nm đến 400 nm. Dung dịch phải có hai cực đại hấp thụ ở 266 nm và 367 nm. Tỷ lệ giữa độ hấp thụ ở bước sóng 367 nm và độ hấp thụ ở bước sóng 266 nm phải từ 1,36 đến 1,42. Tiến hành phép thử trong điều kiện tránh ánh sáng.

B. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 10 ml *dimethylformamid (TT)*. Thêm 0,1 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 M trong ethanol (TT)* vào 1 ml dung dịch trên. Màu nâu xuất hiện.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel HF_{254}.
Dung môi khai triển: *Methanol - nitromethan* (10 : 90).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong một lượng tối thiểu *dimethylformamid (TT)* rồi pha loãng thành 10 ml bằng *aceton (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 100 ml bằng *aceton (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Sấy khô bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 5 min. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Phun *dung dịch phenylhydrazin hydroclorid (TT)*. Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 10 min. Trong cả hai trường hợp khi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm và quan sát trực tiếp sau khi hiện màu, bất cứ vết phụ nào trên sắc đồ của dung dịch thử đều không được đậm màu hơn vết trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Tiến hành tránh ánh sáng.
Hòa tan 0,120 g chế phẩm trong 50 ml *dimethylformamid (TT)* và pha loãng thành 1000,0 ml bằng *nước*. Lấy 5,0 ml dung dịch trên pha loãng thành 100,0 ml bằng dung dịch chứa 1,8 % *natri acetat (TT)* và 0,14 % (tt/tt) *acid acetic băng (TT)*. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở cực đại hấp thụ 367 nm. Dùng dung dịch chứa *natri acetat* và *acid acetic băng (TT)* ở trên làm mẫu trắng. Tính hàm lượng $C_8H_6N_4O_5$ theo A (1 %, 1 cm), lấy 765 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 367 nm.

Bảo quản
Tránh ánh sáng, ở nhiệt độ dưới 25 °C.

Loại thuốc
Kháng sinh.

VIÊN NÉN NITROFURANTOIN
Tabellae Nitrofurantoini

Là viên nén chứa nitrofurantoin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng nitrofurantoin, $C_8H_6N_4O_5$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) trong khoảng bước sóng từ 220 nm đến 400 nm của dung dịch chế phẩm ở mục định lượng cho hai cực đại hấp thụ ở bước sóng 266 nm và 367 nm.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel HF_{254}
Dung môi khai triển: Methanol - nitromethan (10 : 90)
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên có chứa 0,1 g nitrofurantoin với 10 ml hỗn hợp *dimethylformamid - aceton* (1 : 9), lọc.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 100 ml với *aceton (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 5 min và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại 254 nm. Phun dung *dịch phenylhydrazin hydroclorid (TT)* rồi sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 10 min. Khi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại và quan sát trực tiếp sau khi phun thuốc thử, bất cứ vết nào ngoài vết chính có trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải không được đậm màu hơn vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml *đệm phosphat chuẩn pH 7,2 (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 60 min, 120 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc bằng môi trường hòa tan đến nồng độ tương ứng với dung dịch chuẩn.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg nitrofurantoin chuẩn, thêm 25 ml *dimethylformamid (TT)*, lắc kỹ để hòa tan, pha loãng với môi trường hòa tan thành 500 ml, trộn đều rồi tiếp tục pha loãng một thể tích thích hợp của dung dịch này bằng môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 10 µg/ml.
Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thử và dung dịch chuẩn ở bước sóng 375 nm (Phụ lục 4.1), dùng môi trường hòa tan làm mẫu trắng. Tính lượng nitrofurantoin, $C_8H_6N_4O_5$, đã hòa tan trong mỗi viên ở các thời điểm 60 min và 120 min từ độ hấp thụ đo được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_8H_6N_4O_5$ của nitrofurantoin chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 25 % (Q) lượng nitrofurantoin, $C_8H_6N_4O_5$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong

60 min và không ít hơn 85 % (Q) lượng nitrofurantoin, $C_8H_6N_4O_5$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 120 min.

Định lượng

Thực hiện trong điều kiện tránh ánh sáng.

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên, nghiền mịn. Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,12 g nitrofurantoin, thêm 50 ml *dimethylformamid (TT)*, lắc 5 min, pha loãng với *nước* thành 1000 ml, lắc đều. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này với dung dịch có chứa 1,8 % *natri acetat (TT)* và 0,14 % (theo thể tích) *acid acetic băng (TT)* thành 100,0 ml, lọc. Đo độ hấp thụ ánh sáng của dịch lọc thu được ở bước sóng 367 nm (Phụ lục 4.1) trong cốc dày 1 cm, mẫu trắng là dung dịch natri acetat - acid acetic. Tính hàm lượng nitrofurantoin theo A (1 %, 1 cm), lấy 765 là giá trị A (1 %, 1 cm) của nitrofurantoin ở bước sóng cực đại 367 nm.

Bảo quản

Đựng trong lọ nút kín, tránh ánh sáng, để nơi khô mát.

Loại thuốc

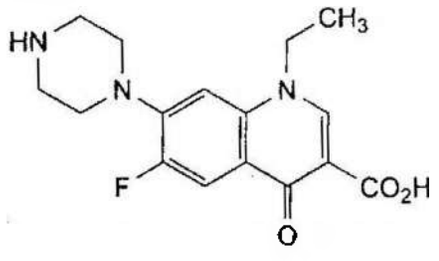
Thuốc kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

50 mg, 100 mg.

NORFLOXACIN

Norfloxacinum



$C_{16}H_{18}FN_3O_3$ P.t.l: 319,3

Norfloxacin là acid 1-ethyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinolin-3-carboxylic, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{16}H_{18}FN_3O_3$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc vàng nhạt, hút ẩm, nhạy cảm với ánh sáng.

Rất khó tan trong nước, khó tan trong aceton và ethanol 96 %.

Định tính

Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của norfloxacin chuẩn.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M trong methanol (TT)* đã được lọc trước và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được không được đục hơn hỗn dịch chuẩn đối chiếu số II (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn dung dịch màu mẫu N_7 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Nước được điều chỉnh đến pH 2,0 bằng *acid phosphoric (TT).*

Pha động B: Acetonitril (TT).

Dung dịch A: Pha động A - pha động B (95 : 5).

Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong 25 ml dung dịch A, siêu âm 5 min và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng dung dịch A. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng dung dịch A.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 4 mg norfloxacin chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa các tạp chất A, E và H) trong 5 ml dung dịch A, siêu âm 5 min và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 4 mg norfloxacin chuẩn dùng để định tính pic (chứa tạp chất K) trong 5 ml dung dịch A, siêu âm 5 min và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped hexadecylamidysilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).

Nhiệt độ cột: 60 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 265 nm.

Tốc độ dòng: 1,4 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 5	95	5
5 - 7	95 → 93	5 → 7
7 - 10	93 → 87	7 → 13
10 - 15	87 → 47	13 → 53
15 - 20	47 → 10	53 → 90

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo norfloxacin chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất A, E và H. Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo norfloxacin chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của tạp chất K.

Thời gian lưu tương đối so với norfloxacin (thời gian lưu khoảng 11 min): Tạp chất K khoảng 0,6; tạp chất E khoảng 0,97; tạp chất A khoảng 1,5; tạp chất H khoảng 1,6.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất A và pic của tạp chất H ít nhất là 3,0. Tỷ số đỉnh - hõm

(H_p/H_v) ít nhất là 5; trong đó H_p là chiều cao đỉnh pic tạp chất E so với đường nền và H_v là chiều cao tính từ đường nền lên đến đáy hõm giữa pic tạp chất E và pic norfloxacin.
Giới hạn:
Tạp chất E, K: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,15 %).
Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid 7-cloro-1-ethyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinolin-3-carboxylic.
Tạp chất B: Acid 7-[(2-aminoethyl)amino]-1-ethyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinolin-3-carboxylic.
Tạp chất C: Acid 1-ethyl-4-oxo-6,7-bis(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinolin-3-carboxylic.
Tạp chất D: 1-ethyl-6-fluoro-7-(piperazin-1-yl)quinolin-4(1*H*)-on.
Tạp chất E: Acid 7-cloro-1-ethyl-4-oxo-6-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinolin-3-carboxylic.
Tạp chất F: Acid 6-cloro-1-ethyl-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinolin-3-carboxylic.
Tạp chất G: Acid 1-ethyl-6-fluoro-7-(4-formylpiperazin-1-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinolin-3-carboxylic.
Tạp chất H: Acid 7-[4-(ethoxycarbonyl)piperazin-1-yl]-1-ethyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydroquinolin-3-carboxylic.
Tạp chất I: Acid 7-cloro-6-[4-(ethoxycarbonyl)piperazin-1-yl]-1-ethyl-4-oxo-1,4-dihydroquinolin-3-carboxylic.
Tạp chất J: Acid 6,7-bis[4-(ethoxycarbonyl)piperazin-1-yl]-1-ethyl-4-oxo-1,4-dihydroquinolin-3-carboxylic.
Tạp chất K: Acid 6-fluoro-1-methyl-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinolin-3-carboxylic.

Kim loại nặng
Không được quá 15 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 2,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 4. Dùng 3 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C; trong chân không; 2 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2)
Dùng 1,0 g chế phẩm, chén platin.

Định lượng
Cân chính xác khoảng 0,240 g chế phẩm, hòa tan trong 80 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 31,93 mg $C_{16}H_{18}FN_3O_3$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm fluoroquinolon.

Chế phẩm
Viên nén, thuốc nhỏ mắt.

VIÊN NÉN NORFLOXACIN
Tabellae Norfloxacini

Là viên nén bao phim chứa norfloxacin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng norfloxacin, $C_{16}H_{18}FN_3O_3$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4). Tránh ánh sáng trong quá trình thử.
Bản mỏng: Silica gel GF_{254} đã được triển khai trước với *methanol (TT)* và để khô ngoài không khí.
Dung môi khai triển: Nước - diethylamin - toluen - cloroform - methanol (8 : 14 : 20 : 40 : 40).
Dung môi hòa tan: Hỗn hợp có chứa 50 thể tích *dicloromethan (TT)* và 50 thể tích một dung dịch được pha bằng cách thêm 9 ml *acid hydrocloric (TT)* vào 1000 ml *methanol (TT)*.
Dung dịch thử: Cân một lượng bột viên tương ứng với 0,4 g norfloxacin, thêm 2 ml *nước* và phân tán bằng lắc siêu âm. Thêm 100 ml dung môi hòa tan, trộn đều. Lắc siêu âm đến khi hình thành hỗn dịch đồng nhất, pha loãng thành 200 ml bằng cùng dung môi. Ly tâm 25 ml dung dịch thu được để có dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan bằng cách lắc siêu âm 50 mg norfloxacin chuẩn trong 15 ml dung môi hòa tan và pha loãng thành 25 ml bằng cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 50 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm và 365 nm. Ở cả hai cách phát hiện vết, vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic norfloxacin trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 750 ml dung dịch đệm acetat.
Dung dịch đệm acetat: Thêm 14,3 ml *acid acetic băng (TT)* vào 4 500 ml *nước*, trộn đều, khuấy và thêm từ từ 2,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 50 %*, sau đó thêm *nước* vừa đủ 5 000 ml. Nếu cần, điều chỉnh tới pH 4 bằng *acid acetic băng (TT)* hoặc bằng *dung dịch natri hydroxyd 50 %*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc bằng môi trường hòa tan để được dung dịch có nồng độ norfloxacin khoảng 0,0016 %. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 313 nm, cốc đo dày 1 cm. Dùng môi trường hòa tan làm mẫu trắng. So sánh với dung dịch norfloxacin chuẩn có nồng độ tương đương pha trong môi trường hòa tan.
Tính lượng norfloxacin, $C_{16}H_{18}FN_3O_3$, được hòa tan dựa vào độ hấp thụ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{16}H_{18}FN_3O_3$ trong norfloxacin chuẩn.
Yêu cầu: Không được ít hơn 80 % (Q) norfloxacin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tránh ánh sáng trong quá trình thử.
Pha động: Acetonitril - dung dịch acid phosphoric 0,1 % (tt/tt) (150 : 850)
Dung dịch thử: Cân 20 viên đã loại bỏ lớp bao, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng khoảng 0,1 g norfloxacin vào bình định mức 200 ml, thêm 80 ml pha động, trộn đều và siêu âm ít nhất 5 min, thêm pha động đến định mức, lắc đều, lọc. Hút chính xác 10 ml dịch lọc thu được vào bình định mức 25 ml, pha loãng bằng pha động đến định mức.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng norfloxacin chuẩn với pha động để thu được dung dịch có nồng độ 0,02 %.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (30 cm × 3,9 mm) chứa pha tĩnh C (10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 275 nm.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Nhiệt độ cột: 40 °C.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Cách tiến hành:
Cân bằng cột với *dung dịch natri dihydrophosphat 0,01 M (TT)* đã chỉnh đến pH 4,0 bằng *acid phosphoric (TT)* với tốc độ 0,5 ml/min trong 8 h. Tiếp tục cân bằng cột với pha động khoảng 30 min trước khi tiến hành sắc ký.
Kiểm tra khả năng thích hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, thời gian lưu của pic norfloxacin khoảng 5 min. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số đối xứng của pic norfloxacin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn nhỏ hơn 2 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic norfloxacin trong 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Tính hàm lượng norfloxacin, $C_{16}H_{18}FN_3O_3$, có trong viên dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{18}FN_3O_3$ trong norfloxacin chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm fluoroquinolon.

Hàm lượng thường dùng
200 mg, 400 mg.

NƯỚC CẤT
Aqua destillata

Nước cất là nước được điều chế từ nước uống được hoặc nước tinh khiết bằng phương pháp cất.
Nước cất phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Nước tinh khiết".

NƯỚC ĐỂ PHA THUỐC TIÊM
Aqua pro injectione

H_2O P.t.l: 18,02

Nước để pha thuốc tiêm được điều chế từ nước uống được hoặc nước tinh khiết bằng phương pháp cất với thiết bị cất thích hợp và được dùng như là dung môi để pha chế thuốc tiêm theo lô, mẻ.
Trong suốt quá trình sản xuất và bảo quản phải có những biện pháp thích hợp để kiểm soát lượng vi sinh vật có trong nước, phải đặt ra các giới hạn cảnh báo và giới hạn hành động thích hợp để phát hiện những chiều hướng bất lợi. Trong điều kiện thông thường, giới hạn hành động là 10 CFU/100 ml nước, được xác định bằng phương pháp màng lọc (Phụ lục 13.6), sử dụng tối thiểu 200 ml chế phẩm và được ủ ấm ở 30 °C đến 35 °C trong 5 ngày. Đối với các quy trình vô khuẩn, cần áp dụng giới hạn cảnh báo nghiệm ngặt hơn.

Tính chất
Chất lỏng trong, không màu, không mùi và không vị.
Carbon hữu cơ toàn phần
Lượng carbon hữu cơ toàn phần không quá 0,5 mg/l (Phụ lục 7.11)

Độ dẫn điện
Sử dụng thiết bị đo có độ chính xác bằng hoặc nhỏ hơn 0,1 $\mu S \cdot cm^{-1}$ có khoảng đo phù hợp đã được hiệu chuẩn theo quy định.
Đo độ dẫn điện ở chế độ không bù nhiệt. Nếu thực hiện ở chế độ đo bù nhiệt phải có thẩm định thích hợp cho chế độ đo này.

Độ dẫn điện của chế phẩm (Phụ lục 6.10) phải nhỏ hơn hoặc bằng giới hạn trong Bảng 1.

Nếu nhiệt độ đo không được liệt kê trong bảng thì giới hạn độ dẫn điện tối đa cho phép là giá trị độ dẫn điện tương ứng với nhiệt độ gần nhất thấp hơn nhiệt độ đo.

Bảng 1: Bảng quy định về độ dẫn điện theo nhiệt độ

Nhiệt độ (°C)	Độ dẫn điện ($\mu S \cdot cm^{-1}$)
0	0,6
5	0,8
10	0,9
15	1,0
20	1,1
25	1,3
30	1,4
35	1,5
40	1,7
45	1,8
50	1,9
55	2,1
60	2,2
65	2,4
70	2,5
75	2,7
80	2,7
85	2,7
90	2,7
95	2,9
100	3,1

Nếu độ dẫn điện của chế phẩm không đáp ứng yêu cầu trong Bảng 1 thì tiến hành như sau: Chuyển một thể tích chế phẩm (100 ml hoặc hơn) vào một dụng cụ thích hợp, khuấy đều và duy trì nhiệt độ ở 25 ± 1 °C, đo độ dẫn điện trong điều kiện khuấy liên tục, khuấy mạnh và quan sát sự thay đổi của độ dẫn điện theo thời gian, ghi lại kết quả khi độ dẫn điện thay đổi (do hấp thụ CO_2 trong không khí) không quá 0,1 $\mu S \cdot cm^{-1}$ trong 5 min (giá trị D1). Độ dẫn điện không được quá 2,1 $\mu S \cdot cm^{-1}$. Nếu độ dẫn lớn hơn 2,1 $\mu S \cdot cm^{-1}$ lại tiến hành tiếp trong vòng không quá 5 min như sau: Thêm vào 100 ml mẫu thử 0,3 ml *dung dịch kali clorid bão hòa (TT)* mới pha, vẫn duy trì nhiệt độ ở 25 ± 1 °C và xác định pH (Phụ lục 6.2) của dung dịch mẫu thử với độ chính xác tới 0,1 đơn vị pH, từ giá trị pH đo được quy ra giá trị độ dẫn điện theo Bảng 2 (giá trị D2). Mẫu thử đạt yêu cầu về độ dẫn điện khi D1 nhỏ hơn D2. Nếu D1 lớn hơn D2 hoặc pH nằm ngoài khoảng 5,0 đến 7,0 thì chế phẩm không đạt yêu cầu về độ dẫn điện.

Bảng 2: Bảng quy định về giới hạn độ dẫn điện theo giá trị pH tương ứng

pH	Độ dẫn điện ($\mu S \cdot cm^{-1}$)
5,0	4,7
5,1	4,1
5,2	3,6
5,3	3,3
5,4	3,0
5,5	2,8
5,6	2,6
5,7	2,5
5,8	2,4
5,9	2,4
6,0	2,4
6,1	2,4
6,2	2,5
6,3	2,4
6,4	2,3
6,5	2,2
6,6	2,1
6,7	2,6
6,8	3,1
6,9	3,8
7,0	4,6

Nitrat

Không được quá 0,2 phần triệu.

Lấy 5 ml chế phẩm vào một ống nghiệm, ngâm sâu trong nước đá, thêm 0,4 ml *dung dịch kali clorid 10 % (TT)*, 0,1 ml *dung dịch diphenylamin (TT)* và 5 ml *acid sulfuric đậm đặc không có nitrogen (TT)* (vừa nhỏ từng giọt vừa lắc), để trong cách thủy ở 50 °C trong 15 min. Dung dịch thu được không được có màu xanh đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu được tiến hành trong cùng điều kiện nhưng thay chế phẩm bằng hỗn hợp gồm 4,5 ml *nước không có nitrat (TT)* và 0,5 ml *dung dịch nitrat mẫu 2 phần triệu NO_3 (TT)*.

Nhôm

Nếu mục đích sử dụng là để sản xuất các dung dịch thẩm tách thì chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử nhôm. Không được quá 10 phần tỷ (Phụ lục 9.4.9).

Lấy 400 ml chế phẩm, thêm 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0 (TT)* và 100 ml *nước cất (TT)*. Dùng dung dịch đối chiếu là một hỗn hợp gồm 2 ml *dung dịch nhôm mẫu 2 phần triệu Al (TT)*, 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0 (TT)* và 98 ml *nước cất (TT)*. Chuẩn bị mẫu trắng gồm hỗn hợp 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0* và 100 ml *nước cất (TT)*.

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 0,25 EU/ml (Phụ lục 13.2).

Bảo quản
Nước để pha thuốc tiêm được bảo quản vô khuẩn và tránh mọi nguồn gây tạp nhiễm.

NƯỚC TINH KHIẾT
Aqua purificata

H_2O P.t.l: 18,0

Nếu không có qui định gì khác, nước tinh khiết được dùng để pha chế các chế phẩm không yêu cầu vô khuẩn và không có chất gây sốt.

NƯỚC TINH KHIẾT NGUYÊN LIỆU
Nước tinh khiết nguyên liệu được làm tinh khiết từ nước uống được bằng phương pháp cất, trao đổi ion, thẩm thấu ngược hoặc bằng các phương pháp thích hợp khác.
Nước tinh khiết nguyên liệu được bảo quản và phân phối trong điều kiện thích hợp để ngăn chặn sự phát triển của vi sinh vật và tránh các tạp nhiễm khác.
Trong suốt quá trình sản xuất và bảo quản phải có những biện pháp thích hợp để kiểm soát lượng vi sinh vật có trong nước, phải đặt ra các giới hạn cảnh báo và giới hạn hành động thích hợp để phát hiện những chiều hướng bất lợi. Trong điều kiện thông thường, giới hạn hành động là 100 CFU/1 ml nước, được xác định bằng phương pháp màng lọc (Phụ lục 13.6), sử dụng lượng chế phẩm thích hợp và được ủ ấm ở 30 °C đến 35 °C ít nhất trong 5 ngày.

Tính chất
Chất lỏng trong, không màu, không mùi, không vị.

Carbon hữu cơ toàn phần hoặc giới hạn chất khử
Có thể chọn một trong hai phương pháp sau:
A. Lượng carbon hữu cơ toàn phần không quá 0,5 mg/l (Phụ lục 7.11)
B. Giới hạn chất khử: Lấy 100 ml chế phẩm thêm 10 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* và 0,1 ml *dung dịch kali permanganat 0,02 M*, đun sôi trong 5 min, dung dịch vẫn còn màu hồng nhạt.

Độ dẫn điện
Sử dụng thiết bị đo có độ chính xác bằng hoặc nhỏ hơn 0,1 $\mu S \cdot cm^{-1}$ có khoảng đo phù hợp đã được hiệu chuẩn theo quy định.
Đo độ dẫn điện ở chế độ không bù nhiệt. Nếu thực hiện ở chế độ đo bù nhiệt phải có thẩm định thích hợp cho chế độ đo này.
Độ dẫn điện của chế phẩm (Phụ lục 6.10) phải nhỏ hơn hoặc bằng giới hạn trong Bảng 1.

Bảng 1: Bảng quy định về độ dẫn điện theo nhiệt độ

Nhiệt độ (°C)	Độ dẫn điện ($\mu S \cdot cm^{-1}$)
0	2,4
10	3,6
20	4,3
25	5,1
30	5,4
40	6,5
50	7,1
60	8,1
70	9,1
75	9,7
80	9,7
90	9,7
100	10,2

Trường hợp đo ở nhiệt độ không được liệt kê trong bảng thì tính độ dẫn điện tối đa cho phép bằng cách nội suy giữa hai nhiệt độ thấp hơn và cao hơn gần nhất trong bảng.

Nitrat
Không được quá 0,2 phần triệu.
Lấy 5 ml chế phẩm vào một ống nghiệm, ngâm sâu trong nước đá, thêm 0,4 ml *dung dịch kali clorid 10 % (TT)*, 0,1 ml *dung dịch diphenylamin (TT)* và 5 ml *acid sulfuric đậm đặc không có nitrogen (TT)* (vừa nhỏ từng giọt vừa lắc), để trong cách thủy ở 50 °C trong 15 min. Dung dịch thu được không được có màu xanh đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu được tiến hành trong cùng điều kiện nhưng thay chế phẩm bằng hỗn hợp gồm 4,5 ml *nước không có nitrat (TT)* và 0,5 ml *dung dịch nitrat mẫu 2 phần triệu NO_3 (TT)*.

Nhôm
Nếu mục đích sử dụng là để sản xuất các dung dịch thẩm tách thì chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử nhôm. Không được quá 10 phần tỷ (Phụ lục 9.4.9).
Lấy 400 ml chế phẩm, thêm 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0 (TT)* và 100 ml *nước cất (TT)*. Dùng dung dịch đối chiếu là một hỗn hợp gồm 2 ml *dung dịch nhôm mẫu 2 phần triệu Al (TT)*, 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0 (TT)* và 98 ml *nước cất (TT)*. Chuẩn bị mẫu trắng gồm hỗn hợp 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0 (TT)* và 100 ml *nước cất (TT)*.

Kim loại nặng
Không được quá 0,1 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 200 ml chế phẩm cho vào cốc thủy tinh, thêm 0,15 ml *dung dịch acid nitric 0,1 M*, đem bốc hơi trên cách thủy tới khi còn 20 ml. Lấy 12 ml dung dịch này để tiến hành thử kim loại nặng theo phương pháp 1. Dùng 10 ml *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* đã được cho thêm 0,075 ml *dung dịch acid nitric 0,1 M* để chuẩn bị mẫu so sánh. Thêm vào mẫu trắng 0,075 ml *acid nitric 0,1 M*.

Nếu nước tinh khiết nguyên liệu đáp ứng yêu cầu về độ dẫn điện trong chuyên luận "Nước để pha thuốc tiêm" thì không cần thiết phải tiến hành phép thử kim loại nặng.

Nội độc tố vi khuẩn
Nếu mục đích sử dụng để sản xuất dung dịch thẩm tách mà không có các phương pháp thích hợp loại bỏ nội độc tố vi khuẩn thì phải đáp ứng yêu cầu của phép thử nội độc tố vi khuẩn.
Không được quá 0,25 EU/ml (Phụ lục 13.2).

NƯỚC TINH KHIẾT THÀNH PHẨM (ĐÓNG TRONG CHAI, LỌ)
Nước tinh khiết nguyên liệu sau khi sản xuất được đựng trong các đồ đựng thích hợp và bảo quản ở điều kiện nhất định để đảm bảo các yêu cầu về vi sinh vật. Nước tinh khiết thành phẩm phải đáp ứng các yêu cầu của Nước tinh khiết nguyên liệu và các yêu cầu sau đây:

Tính chất
Chất lỏng trong, không màu, không mùi, không vị.

Giới hạn acid kiềm
Thêm 0,05 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)* vào 10 ml chế phẩm mới đun sôi để nguội trong cốc thủy tinh có mỏ. Dung dịch không được có màu đỏ.
Thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)* vào 10 ml chế phẩm. Dung dịch không được có màu xanh lam.

Chất khử
Lấy 100 ml chế phẩm, thêm 10 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* và 0,1 ml dung dịch *kali permanganat 0,02 M (CĐ)*, đun sôi trong 5 min, dung dịch vẫn còn màu hồng nhạt.

Clorid
Lấy 10 ml chế phẩm, thêm 1 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)* và 0,2 ml *dung dịch bạc nitrat 1,7 % (TT)* . Dung dịch không được thay đổi trong ít nhất 15 min.

Sulfat
Lấy 10 ml chế phẩm, thêm 0,1 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và 0,1 ml *dung dịch bari clorid 6,1 %*. Dung dịch không được thay đổi trong ít nhất 1 h.

Amoni
Không được quá 0,2 phần triệu.
Lấy 20 ml chế phẩm, thêm 1 ml *dung dịch kali tetraiodo mercurat kiềm (TT)*, sau 5 min kiểm tra bằng cách nhìn theo chiều dọc ống nghiệm. Dung dịch không được có màu đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu được tiến hành đồng thời bằng cách thêm 1 ml *dung dịch kali tetraiodomercurat kiềm (TT)* vào hỗn hợp gồm 4 ml *dung dịch amoni mẫu 1 phần triệu NH_4 (TT)* và 16 ml *nước không có amoni (TT)*.

Calci và magnesi
Lấy 100 ml chế phẩm, thêm 2 ml *đệm amoniac pH 10,0 (TT)*, 50 mg *hỗn hợp đen eriocrom T (TT)* và 0,5 ml *dung dịch natri edetat 0,01 M*, chỉ một màu xanh lam thuần túy được tạo thành.

Cắn sau khi bay hơi
Không được quá 0,001 %.
Bay hơi 100 ml chế phẩm tới khô trên cách thủy và sấy trong tủ sấy đến khối lượng không đổi ở 100 °C đến 105 °C. Khối lượng cắn còn lại không được quá 1 mg.

Giới hạn nhiễm khuẩn
Tổng số vi sinh vật hiếu khí sống lại được không được lớn hơn 10^2 CFU/ml, xác định bằng phương pháp màng lọc, dùng môi trường thạch casein đậu tương (Phụ lục 13.6).

Bảo quản và ghi nhãn
Trong đồ đựng kín. Đồ đựng không được làm thay đổi tính chất của nước.
Dán nhãn thích hợp đối với nước để điều chế dung dịch thẩm tách.

NƯỚC VÔ KHUẨN ĐỂ TIÊM
Aqua sterilis pro injectione

Nước vô khuẩn để tiêm là "Nước để pha thuốc tiêm" được đựng trong các đồ đựng thích hợp, đóng kín và được tiệt khuẩn bằng nhiệt trong điều kiện đảm bảo chế phẩm đạt yêu cầu về nội độc tố vi khuẩn. Các đồ đựng dùng chứa nước vô khuẩn để tiêm thường bằng thủy tinh, hoặc bằng vật liệu thích hợp khác đạt các yêu cầu qui định trong Dược điển Việt Nam. Nước vô khuẩn để tiêm dùng để hòa tan các thuốc tiêm bột hoặc pha loãng các chế phẩm thuốc tiêm trước khi sử dụng.
Mỗi đồ đựng phải chứa đủ lượng nước theo qui định cho phép khi lấy ra.
Nước vô khuẩn để tiêm phải đáp ứng các yêu cầu về thuốc tiêm trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19).

Tính chất
Chất lỏng trong, không màu, không mùi và không vị.

Giới hạn acid kiềm
Lấy 20 ml chế phẩm, thêm 0,05 ml *dung dịch đỏ phenol (TT)* làm chỉ thị. Nếu dung dịch có màu vàng, phải chuyển thành màu đỏ khi thêm 0,1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (CĐ)*. Nếu dung dịch có màu đỏ, phải chuyển thành màu vàng khi thêm 0,15 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (CĐ)*.

Độ dẫn điện
Độ dẫn điện của chế phẩm ở 25 °C ± 1 °C không được quá 25 $\mu S \cdot cm^{-1}$ đối với loại có thể tích không quá 10 ml và không được quá 5 $\mu S \cdot cm^{-1}$ đối với loại có thể tích lớn hơn 10 ml.

Chất khử
Đối với loại có thể tích nhỏ hơn 50 ml:
Đun sôi 100 ml chế phẩm với 10 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)*, thêm 0,4 ml *dung dịch kali permanganat 0,02 M (CĐ)* và đun sôi trong 5 min, dung dịch vẫn còn màu hồng nhạt.
Đối với loại có thể tích lớn hơn hoặc bằng 50 ml:
Đun sôi 100 ml chế phẩm với 10 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)*, thêm 0,2 ml *dung dịch kali permanganat 0,02 M (CĐ)* và đun sôi trong 5 min, dung dịch vẫn còn màu hồng nhạt.

Clorid
Đối với loại có thể tích nhỏ hơn hoặc bằng 100 ml:
Không được quá 0,5 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).
Lấy 15 ml chế phẩm để thử. Mẫu so sánh là hỗn hợp gồm 1,5 ml *dung dịch clorid mẫu 5 phần triệu Cl (TT)* và 13,5 ml *nước*. Quan sát dung dịch theo trục thẳng đứng từ trên xuống, dọc theo ống nghiệm.
Đối với loại có thể tích lớn hơn 100 ml:
Lấy 10 ml chế phẩm, thêm 1 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* và 0,2 ml *dung dịch bạc nitrat 1,7 % (TT)*. Dung dịch không được thay đổi trong ít nhất 15 min.

Nitrat
Không được quá 0,2 phần triệu.
Lấy 5 ml chế phẩm vào một ống nghiệm, ngâm sâu trong nước đá, thêm 0,4 ml *dung dịch kali clorid 10 % (TT)*, 0,1 ml *dung dịch diphenylamin (TT)* và 5 ml *acid sulfuric đậm đặc không có nitrogen (TT)* (vừa nhỏ từng giọt vừa lắc), để trong cách thủy ở 50 °C trong 15 min. Dung dịch thu được không được có màu xanh đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu được tiến hành trong cùng điều kiện nhưng thay chế phẩm bằng hỗn hợp gồm 4,5 ml *nước không có nitrat (TT)* và 0,5 ml *dung dịch nitrat mẫu 2 phần triệu NO_3 (TT)*.

Sulfat
Lấy 10 ml chế phẩm, thêm 0,1 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và 0,1 ml *dung dịch bari clorid 6,1 %*. Dung dịch không được thay đổi trong ít nhất trong 1 h.

Nhôm
Nếu mục đích sử dụng là để sản xuất các dung dịch thẩm tách thì phải đáp ứng yêu cầu của phép thử nhôm.
Không được quá 10 phần tỷ (Phụ lục 9.4.9).
Lấy 400 ml chế phẩm, thêm 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0 (TT)* và 100 ml *nước cất (TT)*. Dùng dung dịch đối chiếu là một hỗn hợp gồm 2 ml *dung dịch nhôm mẫu 2 phần triệu Al (TT)*, 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0 (TT)* và 98 ml *nước cất (TT)*. Chuẩn bị mẫu trắng gồm hỗn hợp 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0 (TT)* và 100 ml *nước cất (TT)*.

Amoni
Đối với loại có thể tích nhỏ hơn 50 ml:
Không được quá 0,6 phần triệu.
Lấy 20 ml chế phẩm, thêm 1 ml *dung dịch kali tetra iodomercurat kiềm (TT)*, sau 5 min kiểm tra bằng cách nhìn theo chiều dọc ống nghiệm. Dung dịch không được có màu đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu được tiến hành đồng thời bằng cách thêm 1 ml *dung dịch kali tetra iodomercurat kiềm (TT)* vào hỗn hợp gồm 4 ml *dung dịch amoni mẫu 3 phần triệu NH_4 (TT)* và 16 ml *nước không có amoni (TT)*.
Đối với loại có thể tích lớn hơn hoặc bằng 50 ml:
Không được quá 0,2 phần triệu.
Lấy 20 ml chế phẩm, thêm 1 ml *dung dịch kali tetraiodo mercurat kiềm (TT)*, sau 5 min kiểm tra bằng cách nhìn theo chiều dọc ống nghiệm. Dung dịch không được có màu đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu được tiến hành đồng thời bằng cách thêm 1 ml *dung dịch kali tetraiodomercurat kiềm (TT)* vào hỗn hợp gồm 4 ml *dung dịch amoni mẫu 1 phần triệu NH_4 (TT)* và 16 ml *nước không có amoni (TT)*.

Calci và magnesi
Lấy 100 ml chế phẩm, thêm 2 ml *đệm amoniac pH 10,0 (TT)*, 50 mg *hỗn hợp đen eriocrom T (TT)* và 0,5 ml *dung dịch natri edetat 0,01 M*, chỉ một màu xanh lam thuần túy được tạo thành.

Cắn sau khi bay hơi
Bay hơi 100 ml chế phẩm tới khô trên cách thủy và sấy trong tủ sấy đến khối lượng không đổi ở 100 °C đến 105 °C.
Đối với loại có thể tích nhỏ hơn hoặc bằng 10 ml, yêu cầu khối lượng cắn còn lại không được quá 4 mg (0,004 %);
Đối với loại có thể tích lớn hơn 10 ml, yêu cầu khối lượng cắn còn lại không được lớn hơn 3 mg (0,003 %).

Thử vô khuẩn
Phải vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 0,25 EU/ml (Phụ lục 13.2).

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, để nơi khô mát, tránh mọi nguồn lây nhiễm.

NƯỚC OXY GIÀ ĐẬM ĐẶC
Solutio Hydrogenii peroxydi concentrata

Nước oxy già đậm đặc chứa từ 29,0 % đến 31,0 % (kl/kl) H_2O_2. Một thể tích dung dịch tương ứng với khoảng 110 thể tích khí oxy. Chế phẩm có thể chứa chất bảo quản.

Tính chất
Chất lỏng trong suốt, không màu, ăn da, mùi hơi đặc biệt, có phản ứng acid nhẹ.
Chế phẩm bị phân hủy dưới tác dụng của không khí, ánh sáng và nhiệt độ.

Định tính
A. Lấy 1 ml chế phẩm, thêm 0,2 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* và 0,25 ml *dung dịch kali permanganat 0,1 N*. Dung dịch mất màu và có khí bay ra.
B. Lắc 0,05 ml chế phẩm với 2 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*, 2 ml *ether (TT)* và 0,05 ml *dung dịch kali cromat 5 % (TT)*. Lớp ether có màu xanh lam.
C. Chế phẩm phải đạt yêu cầu về hàm lượng H_2O_2.

Giới hạn acid
Pha loãng 10 ml chế phẩm với 100 ml *nước* đun sôi để nguội, thêm 0,25 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)*. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* thêm vào để làm chuyển màu dung dịch không được ít hơn 0,05 ml và không nhiều hơn 0,5 ml.

Chất bảo quản
Lắc 20 ml chế phẩm với 10 ml *cloroform (TT)* và sau đó lắc tiếp 2 lần, mỗi lần 5 ml *cloroform (TT)*. Gộp dịch chiết cloroform, để bay hơi dung môi ở nhiệt độ phòng. Làm khô cắn thu được trong bình hút ẩm có silica gel, cân. Lượng cắn thu được không quá 10 mg (500 phần triệu).

Cắn không bay hơi
Lấy 10 ml chế phẩm vào một chén bạch kim đã cân bì, để yên đến khi hết sùi. Để nguội nếu cần. Bốc hơi trên nồi cách thủy và sấy cắn đến khô ở 100 °C đến 105 °C. Cắn thu được không được quá 20 mg (0,2 %).

Định lượng
Cân chính xác khoảng 1 g chế phẩm, pha loãng với *nước* vừa đủ 100,0 ml. Lấy 10,0 ml dung dịch thu được, thêm 20 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*, chuẩn độ bằng *dung dịch kali permanganat 0,1 N (CĐ)* đến màu hồng.
1 ml *dung dịch kali permanganat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 1,701 mg H_2O_2 hoặc 0,56 ml khí oxy.

Bảo quản
Đựng trong bình đậy bằng nút thủy tinh có khóa mở hoặc nút bằng chất dẻo có lỗ để khí oxy có thể thoát ra được. Để ở chỗ mát, tránh ánh sáng. Nếu chế phẩm không chứa chất bảo quản thì để ở nhiệt độ không quá 15 °C.

Loại thuốc
Khử trùng, khử mùi.

NƯỚC OXY GIÀ LOÃNG 3 %
Solutio Hydrogenii peroxydi diluta 3 %

Nước oxy già loãng chứa từ 2,5 g đến 3,5 g H_2O_2 trong 100 ml. Một thể tích dung dịch tương ứng với khoảng 10 thể tích khí oxy. Chế phẩm có thể chứa chất bảo quản thích hợp. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu sau đây:

Tính chất
Chất lỏng trong, không màu.
Chế phẩm bị phân hủy nhanh dưới tác dụng của các chất oxy hóa hoặc chất khử.

Định tính
A. Lắc 2 ml chế phẩm với 0,2 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* và 0,25 ml *dung dịch kali permanganat 0,1 N*. Sau vài giây dung dịch mất màu hoặc có màu hồng rất nhạt và khí bay ra.
B. Lắc 0,5 ml chế phẩm với 2 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*, 2 ml *ether (TT)* và 0,5 ml *dung dịch kali cromat 5 % (TT)*. Lớp ether có màu xanh đậm.
C. Chế phẩm phải đạt yêu cầu về hàm lượng H_2O_2.

Giới hạn acid
Pha loãng 10 ml chế phẩm với 20 ml *nước* mới đun sôi để nguội, thêm 0,25 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)*. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* thêm vào để làm chuyển màu dung dịch không được ít hơn 0,05 ml và không nhiều hơn 1,0 ml.

Chất bảo quản
Lấy 50 ml chế phẩm, chiết bằng hỗn hợp *cloroform - ether* (3 : 2) ba lần với 25 ml, 10 ml và 10 ml. Bay hơi dung môi ở nhiệt độ phòng trong một cốc thủy tinh đã cân bì. Làm khô cắn trong bình hút ẩm có silica gel trong 2 h. Lượng cắn không được quá 25 mg.

Cắn không bay hơi
Không được quá 0,2 %.
Làm bay hơi 10 ml chế phẩm trong một chén bạch kim (đã cân bì) trên cách thủy và sấy khô ở 100 °C đến 105 °C trong 1 h.

Định lượng
Lấy 2,0 ml chế phẩm cho vào bình nón đã chứa sẵn 20 ml *nước*, thêm 20 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch kali permanganat 0,1 N (CĐ)*.
1 ml *dung dịch kali permanganat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 1,701 mg H_2O_2 hoặc 0,56 ml khí oxy.

Bảo quản
Đựng trong chai, lọ nút kín, để ở chỗ mát, tránh ánh sáng. Nếu chế phẩm không chứa chất bảo quản thì để ở nhiệt độ không quá 15 °C.

Loại thuốc
Khử trùng, khử mùi.

NƯỚC OXY GIÀ LOÃNG 10 %
Solutio Hydrogenii peroxydi diluta 10 %

Nước oxy già loãng chứa từ 9,0 g đến 11,5 g H_2O_2 trong 100 ml. Một thể tích dung dịch tương ứng với khoảng 33 thể tích khí oxy. Chế phẩm có thể chứa chất bảo quản thích hợp. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu sau đây:

Tính chất
Chất lỏng trong, không màu.
Chế phẩm bị phân hủy nhanh dưới tác dụng của các chất oxy hóa hoặc chất khử.

Định tính
A. Lắc 2 ml chế phẩm với 0,2 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* và 0,25 ml *dung dịch kali permanganat 0,1 N*. Sau vài giây dung dịch mất màu hoặc có màu hồng rất nhạt và khí bay ra.
B. Lắc 0,5 ml chế phẩm với 2 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*, 2 ml *ether (TT)* và 0,05 ml *dung dịch kali cromat 5 % (TT)*. Lớp ether có màu xanh lam.
C. Chế phẩm phải đạt yêu cầu về hàm lượng H_2O_2.

Giới hạn acid
Lấy 6 ml chế phẩm pha loãng với *nước* vừa đủ 20 ml. Pha loãng 10 ml dung dịch này với 20 ml *nước* mới đun sôi để nguội, thêm 0,25 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)*. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* thêm vào để làm chuyển màu dung dịch không được ít hơn 0,05 ml và không nhiều hơn 1,0 ml.

Chất bảo quản
Lấy 20 ml chế phẩm, chiết bằng hỗn hợp *cloroform - ether* (3 : 2) ba lần với 25 ml, 20 ml và 10 ml. Bay hơi dung môi ở nhiệt độ phòng trong một cốc thủy tinh đã cân bì. Làm khô cắn trong bình hút ẩm có silica gel trong 2 h. Lượng cắn không được quá 10 mg.

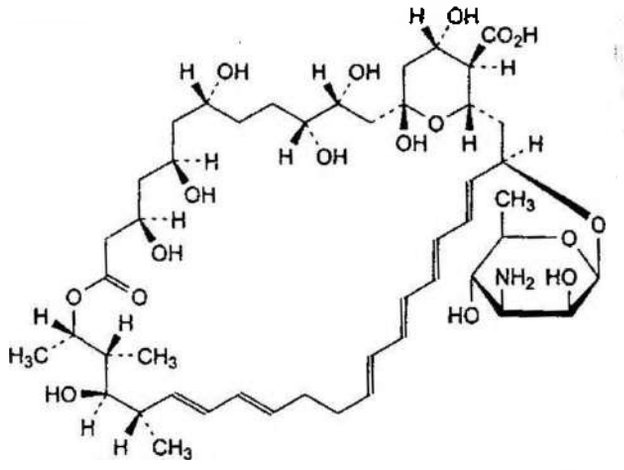
Cắn không bay hơi
Không được quá 0,2 %.
Làm bay hơi 10 ml chế phẩm trong một chén bạch kim (đã cân bì) trên cách thủy và sấy khô ở 100 °C đến 105 °C trong 1 h.

Định lượng
Lấy 5,0 ml chế phẩm pha loãng với *nước* vừa đủ 20 ml. Lấy 2,0 ml dung dịch này cho vào bình nón đã chứa sẵn 20 ml *nước*, thêm 20 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch kali permanganat 0,1 N (CĐ)*. 1 ml *dung dịch kali permanganat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 1,701 mg H_2O_2 hoặc 0,56 ml khí oxy.

Bảo quản
Đựng trong chai, lọ nút kín, để ở chỗ mát, tránh ánh sáng. Nếu chế phẩm không chứa chất bảo quản thì để ở nhiệt độ không quá 15 °C.

Loại thuốc
Khử trùng, khử mùi.

NYSTATIN
Nystatinum



$C_{47}H_{75}NO_{17}$ P.t.l: 926

Nystatin là một chất chống nấm, được sản xuất bằng cách lên men sử dụng một số chủng *Streptomyces noursei*, chứa chủ yếu là các tetraen, thành phần chính là acid (1*S*, 3*R*,4*R*,7*R*,9*R*,11*R*,15*S*,16*R*,17*R*,18*S*,19*E*,21*E*,25*E*,27*E*, 29*E*,31*E*,33*R*,35*S*,36*R*,37*S*)-33-[(3-amino-3,6-dideoxy-β-D-mannopyranosyl)oxy]-1,3,4,7,9,11,17,37-octahydroxy-15,16,18-trimethyl-13-oxo-14,39-dioxabicyclo [33.3.1] nonatriaconta-19,21,25,27,29,31-hexaen-36-carboxylic (nystatin A_1). Hoạt lực không được dưới 4400 IU/mg và không được dưới 5000 IU/mg nếu dùng để sản xuất thuốc dùng đường uống, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Sản xuất
Nếu chế phẩm không dùng để sản xuất thuốc ngoài da, phương pháp sản xuất phải được đánh giá để chứng tỏ rằng chế phẩm nếu được thử phải đạt yêu cầu của phép thử sau: ***Độc tính bất thường*** (Phụ lục 13.5)
Tiêm trong màng bụng mỗi chuột nhắt 0,5 ml hỗn dịch chế phẩm trong *dung dịch acacia 0,5 %* có chứa không dưới 600 IU.

Tính chất
Bột màu vàng hoặc nâu nhạt, dễ hút ẩm.
Thực tế không tan trong nước và trong ethanol 96 %, dễ tan trong dimethylformamid và dimethyl sulfoxid, khó tan trong methanol.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, E.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại của nystatin đối chiếu.
B. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch ở phép thử Độ hấp thụ ánh sáng, có 4 cực đại hấp thụ ở 230; 291; 305 và 319 nm và một vai ở 280 nm. Tỷ lệ độ hấp thụ giữa các cực đại 291 nm và 319 nm so với độ hấp thụ cực đại ở 305 nm lần lượt từ 0,61 đến 0,73 và từ 0,83 đến 0,96. Tỷ

lệ giữa độ hấp thụ cực đại ở 230 nm so với độ hấp thụ ở 280 nm từ 0,83 đến 1,25.
C. Thêm 0,1 ml *acid hydrocloric (TT)* vào khoảng 2 mg chế phẩm. Xuất hiện màu nâu.
D. Thêm 0,1 ml *acid sulfuric (TT)* vào khoảng 2 mg chế phẩm. Xuất hiện màu nâu, màu chuyển thành tím khi để lâu.
E. Trong phần Thành phần nystatin, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Độ hấp thụ ánh sáng
Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong một hỗn hợp gồm 5,0 ml *acid acetic băng (TT)* và 50 ml *methanol (TT)*, thêm *methanol (TT)* vừa đủ 100,0 ml. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với *methanol (TT)*. Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở cực đại hấp thụ 305 nm không được nhỏ hơn 0,60, đo trong vòng 30 min sau khi pha.

Thành phần nystatin
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3), áp dụng phương pháp chuẩn hóa để tính kết quả, tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Pha động A: Acetonitril - dung dịch amoni acetat 0,385 % (29 : 71).
Pha động B: Acetonitril - dung dịch amoni acetat 0,385 % (60 : 40).
Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong *dimethyl sulfoxid (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg nystatin chuẩn trong *dimethyl sulfoxid (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 20 mg chế phẩm trong 25 ml *methanol (TT)* và pha loãng thành 50 ml với *nước*. Thêm 2,0 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* vào 10,0 ml dung dịch thu được, để yên trong 1 h.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml bằng *dimethyl sulfoxid (TT)*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml với *dimethyl sulfoxid (TT)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *base-deactivated end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Nhiệt độ cột: 30 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 305 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 25	100	0
25 - 35	100 → 0	0 → 100
35 - 45	0	100
45 - 50	0 → 100	100 → 0
50 - 55	100	0

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa 2 pic chính (thời gian lưu khoảng 13 min và 19 min) ít nhất là 3,5.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (3).
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của pic nystatin A_1 (thời gian lưu khoảng 14 min) không được dưới 85,0 % tổng diện tích các pic, diện tích của bất kỳ pic nào khác không được lớn hơn 4,0 % tổng diện tích các pic.
Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) và các pic có thời gian lưu nhỏ hơn 2 min.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; phosphor pentoxyd; 60 °C; áp suất không quá 0,1 kPa; 3 h).

Tro sulfat
Không được quá 3,5 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Tiến hành theo Phụ lục 13.9 Xác định hoạt lực kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật. Chú ý tránh ánh sáng trong quá trình định lượng.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 75 mg nystatin chuẩn vào bình định mức 50 ml, hòa tan trong *dimethylformamid (TT)* và thêm vừa đủ đến vạch với cùng dung môi. Pha loãng dung dịch thu được bằng dung dịch đệm số 19 để thu được các dung dịch làm việc.
Dung dịch thử: Tiến hành tương tự dung dịch chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng. Nhãn phải ghi rõ nếu chế phẩm chỉ dùng để pha chế thuốc dùng ngoài da.

Loại thuốc
Thuốc chống nấm.

Chế phẩm
Viên nén, thuốc đặt âm đạo, kem, mỡ dùng ngoài.

THUỐC MỠ NYSTATIN
Unguentum Nystatini

Là thuốc mỡ dùng trên da có chứa nystatin phân tán mịn trong các chất nhũ hóa thích hợp.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc mềm dùng trên da và niêm mạc" (Phụ lục 1.12) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng nystatin, $C_{47}H_{75}NO_{17}$, từ 90,0 % đến 130,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Thuốc mỡ phải mịn, đồng nhất, không bị biến màu, không có mùi lạ.

Định tính
Phân tán một lượng chế phẩm tương ứng với 25 000 IU trong 10 ml *cloroform (TT)*, thêm 40 ml *methanol (TT)*, lắc kỹ và lọc. Pha loãng 1 ml dịch lọc thu được thành 25 ml *với methanol (TT)*. Đo phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 250 nm đến 350 nm. Mẫu trắng là dung dịch được tiến hành trong cùng điều kiện nhưng không có chế phẩm. Phổ hấp thụ thu được phải có 3 cực đại ở các bước sóng 291 nm, 305 nm và 319 nm. Tỷ lệ độ hấp thụ ở các bước sóng cực đại 291 nm và 319 nm so với độ hấp thụ ở bước sóng cực đại 305 nm lần lượt phải nằm trong khoảng từ 0,61 đến 0,73 và từ 0,83 đến 0,96.

Định lượng
Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Cân chính xác một lượng thuốc mỡ tương ứng với 200 000 IU nystatin vào bình định mức 100 ml, thêm *dimethylformamid (TT)* vừa đủ đến vạch và lắc trong 15 min. Pha loãng dung dịch thu được bằng dung dịch đệm số 19 để thu được các dung dịch thử. Tiến hành phép định lượng theo Phụ lục 13.9 Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống nấm.

Hàm lượng thường dùng
100 000 IU trong 1 g.

VIÊN ĐẶT NYSTATIN
Suppositoria Nystatini

Là viên nén đặt âm đạo chứa nystatin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc đặt" (Phụ lục 1.10) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng nystatin, $C_{47}H_{75}NO_{17}$, từ 90,0 % đến 130,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Lấy một lượng bột chế phẩm tương ứng với 300 000 IU, thêm hỗn hợp gồm 5 ml *acid acetic băng (TT)* và 50 ml *methanol (TT)*, lắc, thêm *methanol (TT)* vừa đủ 100 ml, lọc. Pha loãng 1 ml dịch lọc thành 100 ml với *methanol (TT)*. Đo phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 250 nm đến 350 nm. Mẫu trắng là dung dịch được tiến hành trong cùng điều kiện nhưng không có chế phẩm. Phổ hấp thụ thu được phải có 3 cực đại ở các bước sóng 291 nm, 305 nm và 319 nm. Tỷ lệ độ hấp thụ ở các bước sóng cực đại 291 nm và 319 nm so với độ hấp thụ ở bước sóng cực đại 305 nm lần lượt phải nằm trong khoảng từ 0,61 đến 0,73 và từ 0,83 đến 0,96.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Định lượng
Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 200 000 IU nystatin vào bình định mức 50 ml. Thêm 40 ml *dimethylformamid (TT)* và lắc mạnh trong 1 h. Thêm *dimethylformamid (TT)* đến định mức, lắc đều. Ly tâm lấy dịch trong. Pha loãng dung dịch thu được bằng dung dịch đệm số 19 để thu được các dung dịch thử. Tiến hành phép định lượng theo Phụ lục 13.9 Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ẩm và tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống nấm.

Hàm lượng thường dùng
100 000 IU.

VIÊN NÉN NYSTATIN
Tabellae Nystatini

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

Hàm lượng nystatin, $C_{47}H_{75}NO_{17}$, từ 90,0 % đến 130,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Lấy một lượng bột viên tương ứng với khoảng 300 000 IU nystatin hòa trong hỗn hợp gồm 5 ml *acid acetic băng (TT)* và 50 ml *methanol (TT)*, lắc kỹ, thêm *methanol (TT)* vừa đủ 100 ml, trộn đều và lọc. Pha loãng 1 ml dịch lọc thành 100 ml với *methanol(TT)*. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 250 nm đến 350 nm. Mẫu trắng là dung dịch được tiến hành trong cùng điều kiện nhưng không có chế phẩm. Phổ hấp thụ thu được phải có 3 cực đại ở các bước sóng 291 nm, 305 nm và 319 nm. Tỷ lệ độ hấp thụ ở các bước sóng cực đại 291 nm và 319 nm so với độ hấp thụ ở bước sóng cực đại 305 nm lần lượt phải nằm trong khoảng từ 0,61 đến 0,73 và từ 0,83 đến 0,96.

Độ rã (Phụ lục 11.6)
Không được quá 30 min.
Môi trường: *Dung dịch acid hydrocloric 2,5 % (TT).*
Nếu viên không rã, rửa viên bằng cách nhúng nhanh vào *nước* và cho vào môi trường là *đệm phosphat chuẩn pH 6,8 (TT)*, thử thêm 30 min nữa, viên phải rã.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, phosphor pentoxyd, 60 °C, áp suất không quá 0,7 kPa, 3 h).

Định lượng
Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Cân 20 viên đã được loại bỏ lớp vỏ bao, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 200 000 IU nystatin vào bình định mức 50 ml. Thêm 40 ml *dimethylformamid (TT)* và lắc mạnh trong 1 h. Thêm *dimethylformamid (TT)* đến định mức, lắc đều. Ly tâm lấy dịch trong. Pha loãng dung dịch thu được bằng dung dịch đệm số 19 (Phụ lục 13.9) để thu được các dung dịch thử. Tiến hành định lượng theo Phụ lục 13.9 Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật.

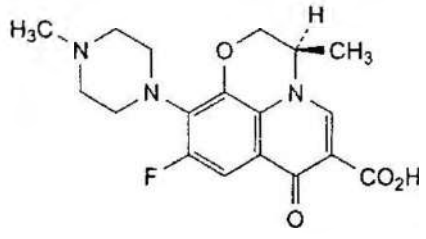
Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ẩm và tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống nấm.

Hàm lượng thường dùng
500 000 IU.

OFLOXACIN

Ofloxacinum



và đồng phân đối quang

$C_{18}H_{20}FN_3O_4$ P.t.l: 361,4

Ofloxacin là acid (3*RS*)-9-fluoro-3-methyl-10-(4-methyl piperazin-1-yl)-7-oxo-2,3-dihydro-7*H*-pyrido[1,2,3-*de*]-1,4-benzoxazin-6-carboxylic, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{18}H_{20}FN_3O_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu vàng nhạt hoặc vàng sáng, khó tan trong nước, tan trong acid acetic băng, khó tan đến tan trong methylen clorid, ít tan trong methanol.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của ofloxacin chuẩn.

Độ hấp thụ ánh sáng
Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 440 nm không được lớn hơn 0,25.

Góc quay cực
Từ -0,10° đến +0,10° (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (1 : 4) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Tạp chất A
Không được quá 0,2 %.
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254} (dày 2 µm - 10 µm).
Dung môi khai triển: *Acid acetic băng - nước - ethyl acetat* (10 : 10 : 20).
Hỗn hợp dung môi: *Methanol - methylen clorid* (10 : 40).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10,0 mg tạp chất A chuẩn của ofloxacin trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 2/3 chiều dài bản mỏng. Để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết của tạp chất A trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm hơn vết tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid (3*RS*)-9,10-difluoro-3-methyl-7-oxo-2,3-dihydro-7*H*-pyrido[1,2,3-*de*]-1,4-benzoxazin-6-carboxylic (FPA).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.
Pha động: Hòa tan 4,0 g *amoni acetat (TT)* và 7,0 g *natri perclorat (TT)* trong 1300 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 2,2 bằng *acid phosphoric (TT)*. Thêm 240 ml *acetonitril (TT)* và trộn đều.
Hỗn hợp dung môi: Acetonitril - nước (10 : 60).
Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg tạp chất E chuẩn của ofloxacin trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Trộn đều 10,0 ml dung dịch thu được và 5,0 ml dung dịch thử và thêm hỗn hợp dung môi thành 50,0 ml. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Độ rã (Phụ lục 11.6)
Không được quá 30 min.
Môi trường: *Dung dịch acid hydrocloric 2,5 % (TT).*
Nếu viên không rã, rửa viên bằng cách nhúng nhanh vào *nước* và cho vào môi trường là *đệm phosphat chuẩn pH 6,8 (TT)*, thử thêm 30 min nữa, viên phải rã.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, phosphor pentoxyd, 60 °C, áp suất không quá 0,7 kPa, 3 h).

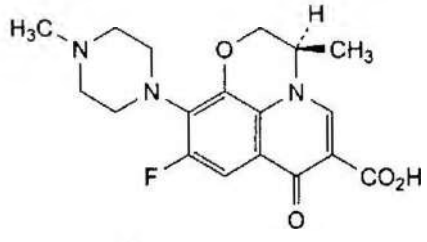
Định lượng
Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Cân 20 viên đã được loại bỏ lớp vỏ bao, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 200 000 IU nystatin vào bình định mức 50 ml. Thêm 40 ml *dimethylformamid (TT)* và lắc mạnh trong 1 h. Thêm *dimethylformamid (TT)* đến định mức, lắc đều. Ly tâm lấy dịch trong. Pha loãng dung dịch thu được bằng dung dịch đệm số 19 (Phụ lục 13.9) để thu được các dung dịch thử. Tiến hành định lượng theo Phụ lục 13.9 Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ẩm và tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống nấm.

Hàm lượng thường dùng
500 000 IU.

OFLOXACIN
Ofloxacinum



và đồng phân đối quang

$C_{18}H_{20}FN_3O_4$ P.t.l: 361,4

Ofloxacin là acid (3*RS*)-9-fluoro-3-methyl-10-(4-methyl piperazin-1-yl)-7-oxo-2,3-dihydro-7*H*-pyrido[1,2,3-*de*]-1,4-benzoxazin-6-carboxylic, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{18}H_{20}FN_3O_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu vàng nhạt hoặc vàng sáng, khó tan trong nước, tan trong acid acetic băng, khó tan đến tan trong methylen clorid, ít tan trong methanol.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của ofloxacin chuẩn.

Độ hấp thụ ánh sáng
Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 440 nm không được lớn hơn 0,25.

Góc quay cực
Từ -0,10° đến +0,10° (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (1 : 4) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Tạp chất A
Không được quá 0,2 %.
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254} (dày 2 µm - 10 µm).
Dung môi khai triển: *Acid acetic băng - nước - ethyl acetat* (10 : 10 : 20).
Hỗn hợp dung môi: *Methanol - methylen clorid* (10 : 40).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10,0 mg tạp chất A chuẩn của ofloxacin trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 2/3 chiều dài bản mỏng. Để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết của tạp chất A trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm hơn vết tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid (3*RS*)-9,10-difluoro-3-methyl-7-oxo-2,3-dihydro-7*H*-pyrido[1,2,3-*de*]-1,4-benzoxazin-6-carboxylic (FPA).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.
Pha động: Hòa tan 4,0 g *amoni acetat (TT)* và 7,0 g *natri perclorat (TT)* trong 1300 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 2,2 bằng *acid phosphoric (TT)*. Thêm 240 ml *acetonitril (TT)* và trộn đều.
Hỗn hợp dung môi: Acetonitril - nước (10 : 60).
Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg tạp chất E chuẩn của ofloxacin trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Trộn đều 10,0 ml dung dịch thu được và 5,0 ml dung dịch thử và thêm hỗn hợp dung môi thành 50,0 ml. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột: 45 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 294 nm.
Tốc độ dòng: Điều chỉnh tốc độ dòng sao cho thời gian lưu của ofloxacin vào khoảng 20 min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2,5 lần thời gian lưu của ofloxacin.
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất E.
Thời gian lưu tương đối so với ofloxacin (thời gian lưu khoảng 20 min): Tạp chất B khoảng 0,3; tạp chất C khoảng 0,5; tạp chất D khoảng 0,7; tạp chất E khoảng 0,9; tạp chất F khoảng 1,6.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất E và pic của ofloxacin ít nhất là 2,0.
Giới hạn:
Tạp chất B, C, D, E, F: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 2,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,25 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất B: (3*RS*)-9-fluoro-3-methyl-10-(4-methylpiperazin-1-yl)-2,3-dihydro-7*H*-pyrido[1,2,3-*de*]-1,4-benzoxazin-7-on.
Tạp chất C: Acid (3*RS*)-3-methyl-10-(4-methylpiperazin-1-yl)-7-oxo-2,3-dihydro-7*H*-pyrido[1,2,3-*de*]-1,4-benzoxazin-6-carboxylic.
Tạp chất D: Acid (3*RS*)-10-fluoro-3-methyl-9-(4-methyl piperazin-1-yl)-7-oxo-2,3-dihydro-7*H*-pyrido[1,2,3-*de*]-1,4-benzoxazin-6-carboxylic.
Tạp chất E: Acid (3*RS*)-9-fluoro-3-methyl-7-oxo-10-(piperazin-1-yl)-2,3-dihydro-7*H*-pyrido[1,2,3-*de*]-1,4-benzoxazin-6-carboxylic.
TạpchấtF:4-[(3*RS*)-6-carboxy-9-fluoro-3-methyl-7-oxo-2,3-dihydro-7*H*-pyrido[1,2,3-*de*]-1,4-benzoxazin-10-yl]-1-methylpiperazin 1-oxyd.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 2,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C; 4 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong 100 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 36,14 mg $C_{18}H_{20}FN_3O_4$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm fluoroquinolon.

Chế phẩm
Viên nén, nang, thuốc nhỏ mắt.

NANG OFLOXACIN
Capsulae Ofloxacini

Là nang cứng chứa ofloxacin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng ofloxacin, $C_{18}H_{20}FN_3O_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - dung dịch amoniac 0,45 M (150 : 75 : 15).
Dung dịch thử: Lấy một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với khoảng 3 mg ofloxacin, hòa tan trong 10 ml hỗn hợp *cloroform - methanol* (1 : 1), lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch ofloxacin chuẩn có nồng độ 0,3 mg/ml trong hỗn hợp *cloroform - methanol* (1 : 1).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 chiều dài bản mỏng. Lấy bản mỏng ra khỏi bình sắc ký và để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic ofloxacin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng một lượng dịch lọc thu được với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* để được dung dịch có nồng độ ofloxacin khoảng 5 µg/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 293 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. So sánh với dung dịch ofloxacin chuẩn có nồng độ tương đương trong cùng dung môi. Tính hàm lượng ofloxacin, $C_{18}H_{20}FN_3O_4$, hòa tan trong mỗi nang dựa vào độ hấp thụ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{18}H_{20}FN_3O_4$ của ofloxacin chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 80% (Q) lượng ofloxacin, $C_{18}H_{20}FN_3O_4$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hỗn hợp *dung dịch natri lauryl sulfat 0,24 % - acetonitril - acid acetic băng* (580 : 400 : 20).
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng ofloxacin chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,05 M (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,06 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang và nghiền mịn. Cân chính xác một lượng bột tương ứng với khoảng 30 mg ofloxacin vào bình định mức 100 ml, thêm 75 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,05 M (TT)* và lắc siêu âm 10 min. Thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,05 M (TT)* đến định mức, lắc đều. Lọc qua giấy lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Hút chính xác 10,0 ml dịch lọc vào bình định mức 50 ml và pha loãng bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,05 M (TT)* đến định mức, lắc đều.
Dung dịch phân giải: Hòa tan một lượng ofloxacin chuẩn và propylparaben trong *acetonitril (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ 0,1 mg ofloxacin và 2,4 mg propylparaben trong 1 ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột: Duy trì ở 35 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 294 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống:
Tiến hành sắc ký đối với dung dịch phân giải: Độ phân giải giữa hai pic ofloxacin và propylparaben không được nhỏ hơn 2,0. Tiến hành sắc ký 6 lần riêng biệt đối với dung dịch chuẩn: Hệ số đối xứng pic không được lớn hơn 3,0 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic ofloxacin không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng ofloxacin từ diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{18}H_{20}FN_3O_4$ trong ofloxacin chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín. Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
100 mg; 200 mg.

THUỐC NHỎ MẮT OFLOXACIN
Collyrium Ofloxacini

Thuốc nhỏ mắt ofloxacin là dung dịch vô khuẩn của ofloxacin trong *nước*.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nhỏ mắt" (Phụ lục 1.14) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng ofloxacin, $C_{18}H_{20}FN_3O_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong suốt, không màu.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi khai triển: *Cloroform - methanol - dung dịch amoniac 0,45 M* (150 : 75 : 15).
Dung dịch thử: Pha loãng một thể tích chế phẩm bằng hỗn hợp *cloroform - methanol* (1 : 1), để thu được dung dịch có nồng độ ofloxacin khoảng 0,3 mg/ml.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch ofloxacin chuẩn có nồng độ 0,3 mg/ml trong hỗn hợp *cloroform - methanol* (1 : 1).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 chiều dài bản mỏng. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic ofloxacin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

pH
Từ 6,0 đến 6,8 (Phụ lục 6.2).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hỗn hợp *dung dịch natri lauryl sulfat 0,24 % - acetonitril - acid acetic băng* (580 : 400 : 20).

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng ofloxacin chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,05 M (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,06 mg/ml.
Dung dịch thử: Pha loãng một thể tích chính xác chế phẩm bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,05 M (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ ofloxacin khoảng 0,06 mg/ml.
Dung dịch phân giải: Hòa tan một lượng ofloxacin chuẩn và propylparaben trong *acetonitril (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ 0,1 mg ofloxacin và 2,4 mg propylparaben trong 1 ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột: Duy trì ở 35 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 294 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống:
Tiến hành sắc ký đối với dung dịch phân giải: Độ phân giải giữa hai pic ofloxacin và propylparaben không được nhỏ hơn 2,0. Tiến hành sắc ký 6 lần riêng biệt đối với dung dịch chuẩn: Hệ số đối xứng pic không được lớn hơn 3,0 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic ofloxacin không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng ofloxacin từ diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{18}H_{20}FN_3O_4$ trong ofloxacin chuẩn.

Bảo quản
Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng sinh.

Nồng độ thường dùng
0,3 %.

VIÊN NÉN OFLOXACIN
Tabellae Ofloxacini

Là viên nén hoặc viên nén bao phim chứa ofloxacin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng ofloxacin, $C_{18}H_{20}FN_3O_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi khai triển: *Cloroform - methanol - dung dịch amoniac 0,45 M* (150 : 75 : 15).
Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên tương ứng với khoảng 3 mg ofloxacin, hòa tan trong 10 ml hỗn hợp *cloroform - methanol* (1 : 1), lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch ofloxacin chuẩn có nồng độ 0,3 mg/ml trong hỗn hợp *cloroform - methanol* (1 : 1).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 chiều dài bản mỏng. Lấy bản mỏng ra khỏi bình sắc ký và để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic ofloxacin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng một lượng dịch lọc thu được với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* để được dung dịch có nồng độ ofloxacin khoảng 5 µg/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 293 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. So sánh với dung dịch ofloxacin chuẩn có nồng độ tương đương trong cùng dung môi. Tính hàm lượng ofloxacin, $C_{18}H_{20}FN_3O_4$, hòa tan từ mỗi viên dựa vào độ hấp thụ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{18}H_{20}FN_3O_4$ của ofloxacin chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 80% (Q) lượng ofloxacin, $C_{18}H_{20}FN_3O_4$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hỗn hợp *dung dịch natri lauryl sulfat 0,24 % - acetonitril - acid acetic băng* (580 : 400 : 20).
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng ofloxacin chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,05 M (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,06 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân 20 viên (loại bỏ vỏ bao, nếu có) để xác định khối lượng trung bình và nghiền mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 30 mg ofloxacin vào bình định mức 100 ml, thêm 75 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,05 M (TT)* và lắc siêu âm 10 min. Thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,05 M (TT)* đến định mức, lắc đều. Lọc qua giấy lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Hút chính xác 10,0 ml dịch lọc vào bình định mức 50 ml và pha loãng bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,05 M (TT)* đến định mức, lắc đều.

Dung dịch phân giải: Hòa tan một lượng ofloxacin chuẩn và propylparaben trong *acetonitril (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ 0,1 mg ofloxacin và 2,4 mg propylparaben trong 1 ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột: Duy trì ở 35 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 294 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống:
Tiến hành sắc ký đối với dung dịch phân giải: Độ phân giải giữa hai pic ofloxacin và propylparaben không được nhỏ hơn 2,0. Tiến hành sắc ký 6 lần riêng biệt đối với dung dịch chuẩn: Hệ số đối xứng pic không được lớn hơn 3,0 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic ofloxacin không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng ofloxacin từ diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{18}H_{20}FN_3O_4$ trong ofloxacin chuẩn.

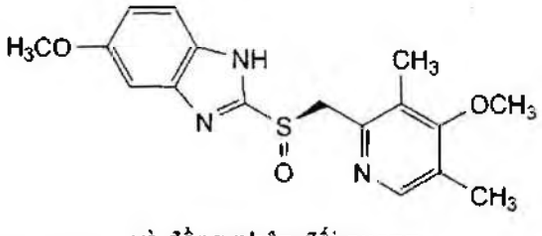
Bảo quản
Trong bao bì kín. Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
100 mg; 200 mg.

OMEPRAZOL

Omeprazolum



và đồng phân đối quang

$C_{17}H_{19}N_3O_3S$ P.t.l: 345,4

Omeprazol là 5-methoxy-2-[(*RS*)-[(4-methoxy-3,5-dimethylpyridin-2-yl)methyl]-sulphinyl]-1*H*-benzimidazol, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{17}H_{19}N_3O_3S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột trắng hoặc gần như trắng.
Rất khó tan trong nước, tan trong methylen clorid, hơi tan trong ethanol 96 % và methanol. Tan trong dung dịch kiềm loãng.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của omeprazol chuẩn. Nếu phổ hấp thụ hồng ngoại ở trạng thái rắn của chế phẩm và omeprazol chuẩn khác nhau thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và chuẩn trong *methanol (TT)*, bay hơi tới cắn rồi tiến hành ghi lại phổ của cắn mới thu được.

Độ trong của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi. Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.1).

Tạp chất F và G
Không được quá 350 phần triệu.
Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch S đo ở bước sóng 440 nm không được quá 0,10.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.
Pha động: *Acetonitril - dung dịch đệm pH 7,6* (27 : 73).
Dung dịch đệm pH 7,6: Dung dịch dinatri hydrophosphat 0,14 % đã được điều chỉnh pH về 7,6 bằng *acid phosphoric*.
Dung dịch thử: Hòa tan 3 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 1 mg omeprazol chuẩn và 1 mg tạp chất D chuẩn của omeprazol trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 3 mg omeprazol chuẩn dùng để định tính pic (chứa tạp chất E) trong pha động và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (12,5 cm × 4,6 mm) nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 40 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 5 lần thời gian lưu của omeprazol.
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) để xác định pic của tạp chất D. Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo omeprazol chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của tạp chất E.
Thời gian lưu tương đối so với omeprazol (thời gian lưu khoảng 9 min): Tạp chất E khoảng 0,6; tạp chất D khoảng 0,8.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất D và pic của omeprazol ít nhất là 3,0; nếu cần, điều chỉnh

pH của dung dịch đệm pH 7,6 hoặc tỷ lệ acetonitril để đạt độ phân giải, pH tăng sẽ tăng độ phân giải.
Giới hạn:
Tạp chất D, E: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,15 %).
Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 5-methoxy-1*H*-benzimidazol-2-thiol.
Tạp chất B: 2-[(*RS*)-[(3,5-dimethylpyridin-2-yl)methyl]sulfinyl] -5-methoxy-1*H*-benzimidazol.
Tạp chất C: 5-methoxy-2-[[(4-methoxy-3,5-dimethylpyridin-2-yl)methyl]sulfanyl]-1*H*-benzimidazol (ufiprazol).
Tạp chất D: 5-methoxy-2-[[(4-methoxy-3,5-dimethylpyridin-2-yl)methyl]sulfonyl]-1*H*-benzimidazol (omeprazol sulfon).
Tạp chất E: 4-methoxy-2-[[(*RS*)-(5-methoxy-1*H*-benzimidazol-2-yl)sulfinyl]methyl]-3,5-dimethylpyridin 1-oxyd.
Tạp chất F: 8-methoxy-1,3-dimethyl-12-thioxopyrido[1',2':3,4] imidazo[1,2-*a*]benzimidazol-2(12*H*)-on.
Tạp chất G: 9-methoxy-1,3-dimethyl-12-thioxopyrido[1',2':3,4] imidazo[1,2-*a*]benzimidazol-2(12*H*)-on.
Tạp chất H: 2-[(*RS*)-[(4-cloro-3,5-dimethylpyridin-2-yl)methyl] sulfinyl]-5-methoxy-1*H*-benzimidazol.
Tạp chất I: 4-methoxy-2-[[(5-methoxy-1*H*-benzimidazol-2-yl) sulfonyl]methyl]-3,5-dimethylpyridin 1-oxyd.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; trong chân không; 60 °C, 4 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong hỗn hợp 10 ml *nước* và 40 ml *ethanol 96 % (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 34,54 mg $C_{17}H_{19}N_3O_3S$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng, ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C.

Loại thuốc
Ức chế proton, điều trị loét dạ dày.

Chế phẩm
Nang, viên nén tan trong ruột; hỗn dịch.

NANG TAN TRONG RUỘT OMEPRAZOL
Capsulae Omeprazoli

Là nang cứng chứa các vi hạt được bao tan trong ruột có chứa omeprazol.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng omeprazol, $C_{17}H_{19}N_3O_3S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Methylen clorid bão hòa amoniac - methylen clorid - isopropanol (2 : 2 : 1)
Dung môi pha loãng: Methylen clorid - methanol (1 : 1).
Dung dịch thử: Lấy thuốc trong ít nhất 5 viên nang, nghiền mịn và trộn đều. Cân một lượng bột thuốc tương ứng với 10 mg omeprazol vào bình đựng thích hợp, thêm 2 ml dung môi pha loãng, siêu âm 5 min, và để yên dung dịch này 20 min trước khi chấm sắc ký.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan một lượng omeprazol chuẩn trong dung môi pha loãng để được dung dịch có nồng độ 5 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai đến khi dung môi đi được 3/4 chiều dài bản mỏng. Để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.
B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic omeprazol trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Giai đoạn trong môi trường acid
Môi trường hòa tan: 500 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 2 h.
Cách tiến hành:
Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, dung dịch đệm phosphat pH 7,6 và *điều kiện sắc ký* thực hiện như mô tả trong phần Giai đoạn trong môi trường đệm.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg omeprazol chuẩn vào bình định mức 250 ml, hòa tan bằng 50 ml *ethanol (TT)*, pha loãng bằng *dung dịch natri tetraborat 0,01 M* đến định mức. Hút chính xác 10 ml dung dịch này cho vào bình định mức 100 ml, thêm 20 ml *ethanol (TT)*, pha loãng bằng *dung dịch natri tetraborat 0,01 M* đến định mức, lắc đều.

Dung dịch thử: Sau 2 h, lọc dung dịch môi trường qua rây có đường kính lỗ rây không quá 0,2 mm. Lấy các vi hạt trong giỏ quay và vi hạt không qua rây, rửa bằng *nước*, dùng khoảng 60 ml *dung dịch natri tetraborat 0,01 M (TT)* để chuyển các vi hạt vào bình định mức 100 ml, siêu âm trong khoảng 20 min cho đến khi các vi hạt vỡ ra, thêm 20 ml *ethanol (TT)*, pha loãng bằng *dung dịch natri tetraborat 0,01 M* đến định mức, lắc đều. Pha loãng một lượng thích hợp dung dịch này với *dung dịch natri tetraborat 0,01 M* để được một dung dịch có nồng độ omeprazol khoảng 0,02 mg/ml.

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

Tính lượng omeprazol trong mỗi viên hòa tan trong môi trường acid bằng cách lấy lượng omeprazol ghi trên nhãn trừ đi lượng không bị hòa tan tính được từ diện tích pic omeprazol trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và từ hàm lượng của $C_{17}H_{19}N_3O_3S$ trong omeprazol chuẩn.

Yêu cầu:

Mức độ L1: Chế phẩm đạt yêu cầu nếu không có nang nào có lượng omeprazol hòa tan vượt quá 15 % lượng ghi trên nhãn.

Mức độ L2: Nếu không đạt yêu cầu của mức độ L1, tiếp tục thử 6 nang nữa. Giá trị trung bình của 12 nang không được quá 20 % và không có nang nào có lượng omeprazol hòa tan lớn hơn 35 % lượng ghi trên nhãn.

Mức độ L3: Thử tiếp 12 viên nữa nếu không đạt yêu cầu của mức độ L1 và L2. Giá trị trung bình của 24 nang không vượt quá 20 % và không được có nhiều hơn 2 nang có lượng omeprazol hòa tan lớn hơn 35 % và không có nang nào hòa tan lớn hơn 45 % lượng ghi trên nhãn.

Giai đoạn trong môi trường đệm

Thiết bị: Kiểu giỏ quay.

Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch đệm phosphat pH 6,8.*

Thực hiện như trong giai đoạn môi trường acid với những viên nang mới trong cùng một lô. Sau 2 h, thêm 400 ml *dung dịch dinatri phosphat 0,235 M pH 10,4* vào mỗi cốc. Điều chỉnh đến pH 6,8 ± 0,05 bằng *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT).*

Pha các dung dịch đệm:

Dung dịch dinatri phosphat 0,235 M pH 10,4: Hòa tan 33,36 g *dinatri hydrophosphat khan (TT)* trong 1000 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 10,4 ± 0,1 bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT).*

Dung dịch đệm phosphat pH 6,8: Thêm 400 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* vào 320 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 0,235 M pH 10,4*, điều chỉnh đến pH 6,8 ± 0,05 bằng *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT).*

Dung dịch đệm phosphat pH 7,6: Hòa tan 0,718 g *natri dihydrophosphat (TT)* và 4,49 g *dinatri hydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*. Điều chỉnh đến pH 7,6 ± 0,1 (nếu cần) bằng *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT).* Pha loãng 250 ml dung dịch này thành 1000 ml bằng *nước*.

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 30 min.

Cách tiến hành:

Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - dung dịch đệm phosphat pH 7,6 (34 : 66), có thể điều chỉnh tỉ lệ nếu cần.

Dung dịch chuẩn (1) (đối với viên nang 10 mg): Hòa tan chính xác một lượng omeprazol chuẩn trong *ethanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 2 mg/ml. Tiếp tục pha loãng bằng *dung dịch đệm phosphat pH 6,8* để được dung dịch có nồng độ 0,01 mg/ml. Thêm ngay 2,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,25 M* vào 10,0 ml dung dịch này, lắc đều.

Dung dịch chuẩn (2) (đối với viên nang 20 mg và 40 mg): Tiến hành như dung dịch chuẩn (1), nhưng dung dịch thu được trước khi thêm 2,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,25 M* phải có nồng độ 0,02 mg/ml.

Dung dịch thử (1) (đối với viên nang 10 mg và 20 mg): Hút 5,0 ml dung dịch sau khi hòa tan vào trong một ống nghiệm có chứa sẵn 1,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,25 M*. Lắc đều, lọc qua màng lọc 1,2 µm hoặc nhỏ hơn. Tránh ánh sáng.

Dung dịch thử (2) (đối với viên nang 40 mg): Hút 5,0 ml dung dịch sau khi hòa tan cho vào ống nghiệm có chứa sẵn 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,25 M* và 5,0 ml *dung dịch đệm phosphat pH 6,8*. Lắc đều, lọc qua màng lọc 1,2 µm hoặc nhỏ hơn. Tránh ánh sáng.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (12,5 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).

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

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, phép thử chỉ có giá trị khi hiệu lực của cột được xác định bằng số đĩa lý thuyết không dưới 2000 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic omeprazol trên sắc ký đồ thu được trong 6 lần tiêm nhắc lại không lớn hơn 2,0 %.

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

Tính lượng omeprazol hòa tan từ mỗi nang dựa vào diện tích pic omeprazol trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và từ hàm lượng của $C_{17}H_{19}N_3O_3S$ trong omeprazol chuẩn.

Yêu cầu:

Đối với nang hàm lượng 10 mg và 20 mg: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng omeprazol, $C_{17}H_{19}N_3O_3S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Đối với nang hàm lượng 40 mg: Không được ít hơn 70 % (Q) lượng omeprazol, $C_{17}H_{19}N_3O_3S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Tạp sắc ký

Dung môi pha loãng, dung dịch A, dung dịch B, dung dịch chuẩn, dung dịch thử, pha động và *điều kiện sắc ký:* Như mô tả trong mục Định lượng.

Tiêm riêng biệt 10 µL dung dịch chuẩn và thử, ghi lại sắc ký đồ. Tính phần trăm mỗi tạp chất theo công thức:

$$P\ (\%) = (10C/FA)(r_i/r_s)$$

trong đó:
C: Nồng độ omeprazol trong dung dịch chuẩn (µg/ml);
F: Hệ số đáp ứng tương đối (F = 1,6 đối với những pic có thời gian lưu tương đối khoảng 0,33; F = 3,1 đối với những pic có thời gian lưu tương đối khoảng 0,64; F = 1 đối với những tạp còn lại);
A: Lượng omeprazol (mg) trong lượng mẫu dùng để pha dung dịch thử, tính được từ kết quả định lượng;
r_i: Diện tích của mỗi pic tạp trên sắc ký đồ của dung dịch thử;
r_s: Diện tích pic omeprazol trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn;
Yêu cầu: Mỗi tạp chất không được quá 0,5 % và tổng tất cả các tạp chất không được quá 2,0 %.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung môi pha loãng: Hòa tan 7,6 g *natri tetraborat (TT)* trong 800 ml *nước*. Thêm 1 g *natri edetat (TT)*, điều chỉnh đến pH 11,0 ± 0,1 bằng *dung dịch natri hydroxyd 50 %*. Chuyển dung dịch này vào bình định mức 2000 ml, thêm 400 ml *ethanol (TT)*, pha loãng với *nước* đến định mức.
Dung dịch A: Hòa tan 6 g *glycin* trong 1500 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 9,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd 50 %* và pha loãng với *nước* vừa đủ 2000 ml, lọc.
Dung dịch B: Acetonitril - metanol (85 : 15).
Pha động: Hỗn hợp dung dịch A và dung dịch B theo chương trình dung môi như chỉ dẫn ở phần Điều kiện sắc ký (điều chỉnh nếu cần).
Dung dịch chuẩn: Hòa tan (bằng cách siêu âm) một lượng omeprazol chuẩn trong dung môi pha loãng để được dung dịch có nồng độ khoảng 0,2 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của thuốc trong nang và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột tương ứng với khoảng 20 mg omeprazol vào bình định mức 100 ml, thêm 50 ml dung môi pha loãng, siêu âm trong 15 min, thêm cùng dung môi đến định mức.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (4,6 mm × 15 cm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 305 nm.
Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl
Thời gian và pha động có thể thay đổi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 20	88 → 40	12 → 60
20 - 21	40 → 88	60 → 12
21 - 25	88	12

Cách tiến hành: Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi hiệu lực của cột được xác định bằng dung dịch chuẩn có số đĩa lý thuyết không dưới 20 000, hệ số đối xứng không được lớn hơn 2 hoặc nhỏ hơn 0,8 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic omeprazol trên sắc ký đồ thu được trong 6 lần tiêm nhắc lại không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng omeprazol, $C_{17}H_{19}N_3O_3S$, dựa vào diện tích pic omeprazol thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của omeprazol chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống loét dạ dày, tá tràng, ức chế bơm proton.

Hàm lượng thường dùng
20 mg.

ORESOL
Sales perorales ad rehydratationem
Thuốc bột uống bù dịch

Chế phẩm là thuốc bột uống có chứa glucose hoặc glucose khan, natri clorid, kali clorid và natri citrat hoặc natri hydrocarbonat. Thuốc được hòa tan vào một thể tích nước theo yêu cầu, dùng để uống nhằm phòng ngừa và điều trị chứng mất nước do tiêu chảy, kể cả điều trị duy trì.
Chế phẩm có thể chứa các chất tạo mùi thích hợp và khi cần thiết có thể chứa một lượng tối thiểu tá dược trơn để thu được sản phẩm mong muốn.

Công thức điều chế: Công thức điều chế 1 gói chế phẩm để pha trong 1 lít nước như sau:

Thành phần	Khối lượng	
	ORS Hydrocarbonat (B)	ORS Citrat (C)
Natri clorid	3,5	3,5
Kali clorid	1,5	1,5
Natri citrat	0	2,9
Natri hydrocarbonat	2,5	0
Glucose khan	20,0	20,0
(hoặc glucose monohydrat)	22,0	22,0
Tổng số khối lượng	27,5 g (hoặc 29,5 g)	27,9 g (hoặc 29,9 g)

Glucose monohydrat có thể dùng khi natri hydrocarbonat đóng gói riêng.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc bột" (Phụ lục 1.7) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng kali, K; **natri,** Na; **hydrocarbonat,** HCO_3; **clorid,** Cl và **citrat,** $C_6H_5O_7$, phải từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng glucose khan, $C_6H_{12}O_6$, hoặc **glucose monohydrat** $C_6H_{12}O_6.H_2O$, phải từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Bột trắng hay hơi ngà, khô rời, không vón cục. Vị mặn hơi ngọt. Khi pha 1 gói thuốc trong 1 lít nước sẽ được dung dịch trong và hầu như không màu.

Định tính

A. Khi đun nóng chảy chế phẩm, ban đầu có màu vàng sau chuyển màu nâu, phồng lên và cháy với mùi đường cháy.

Hòa tan lượng thuốc trong một gói vào 250 ml nước, dung dịch thu được làm các phép thử sau:

B. Phải cho phản ứng của muối natri (Phụ lục 8.1).

C. Phải cho phản ứng (B) của muối kali (Phụ lục 8.1).

D. Phải cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

E. Đối với chế phẩm chứa natri citrat, phải cho phản ứng của citrat (Phụ lục 8.1).

G. Đối với chế phẩm chứa natri hydrocarbonat, phải cho phản ứng của hydrocarbonat (Phụ lục 8.1).

H. Đun sôi 1 ml dung dịch với 5 ml *thuốc thử Fehling (TT)* sẽ xuất hiện tủa đỏ gạch của đồng (I) oxyd.

pH (chỉ thử với loại chế phẩm có citrat)

Hòa tan 1,4 g chế phẩm trong 50 ml *nước*, dung dịch thu được phải có pH từ 7,0 đến 8,8 (Phụ lục 6.2).

Định lượng

Định lượng glucose: Cân chính xác khoảng 8 g chế phẩm, hòa tan trong khoảng 60 ml *nước*, thêm 0,2 ml *dung dịch amoniac 10 % (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 100,0 ml. Trộn đều, để yên 30 min. Lọc nếu cần để thu được dung dịch trong. Xác định góc quay cực α của dung dịch thu được trong ống dài 2 dm ở 25 °C. Tính lượng glucose khan $C_6H_{12}O_6$ trong mẫu thử (g) bằng cách nhân giá trị góc quay cực α với 0,9477.

Định lượng citrat: Cân chính xác khoảng 1 g chế phẩm, hòa tan trong 40 ml *acid acetic khan (TT)* bằng cách làm nóng nhẹ ở 50 °C, để nguội, chuẩn độ trong môi trường khan (Phụ lục 10.6) bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* với chỉ thị là *dung dịch 1-naphtol benzein 0,2 % trong acid acetic khan (TT)*. Song song làm mẫu trắng.

1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 6,303 mg citrat ($C_6H_5O_7$).

1 g natri citrat tương đương với 0,643 g $C_6H_5O_7$.

Định lượng clorid: Hút 25,0 ml dung dịch A ở phần định lượng natri, thêm khoảng 20 ml *nước*. Định lượng bằng *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* với chỉ thị là *dung dịch kali cromat 5 % (TT)*.

1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 3,545 mg clorid (Cl).

1 g natri clorid hoặc 1 g kali clorid tương đương với 0,6066 g hoặc 0,4765 g Cl.

Định lượng hydrocarbonat: Cân chính xác khoảng 2 g chế phẩm nếu đóng chung, hoặc 0,15 g natri hydrocarbonat nếu để riêng gói. Hòa tan trong 70 ml *nước*, định lượng bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* với chỉ thị là *dung dịch da cam methyl (TT)*.

1 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 6,101 mg hydrocarbonat (HCO_3).

1 g natri hydrocarbonat tương đương với 0,7263 g HCO_3.

Định lượng natri: Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch chuẩn gốc natri 1000 µg/ml

Dung dịch kali clorid 4 % : Hòa tan 4 g *kali clorid (TT)* trong *nước trao đổi ion (TT)* thành 100 ml.

Chuẩn bị dãy chuẩn natri:

Pha loãng 10,0 ml *dung dịch chuẩn gốc natri 1000 µg/ml* thành 100 ml bằng *nước trao đổi ion (TT)* để được dung dịch natri có nồng độ 100 µg/ml.

Tiến hành pha dãy chuẩn natri có các nồng độ 2,0 µg/ml; 4,0 µg/ml ; 6,0 µg/ml và 8,0 µg/ml theo bảng sau:

Nồng độ chuẩn natri (µg/ml)	Dung dịch chuẩn natri 100 µg/ml (ml)	Dung dịch kali clorid 4% (ml)	Nước trao đổi ion (TT) vừa đủ (ml)
0 (Trắng)	0	10	100
2,0	2,0	10	100
4,0	4,0	10	100
6,0	6,0	10	100
8,0	8,0	10	100

Chuẩn bị dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 10 g chế phẩm vào bình định mức 500 ml, thêm 300 ml *nước trao đổi ion (TT)*, lắc để hòa tan, thêm *nước trao đổi ion (TT)* đến định mức, lắc đều (dung dịch A). Pha loãng dung dịch A từng bước bằng *nước trao đổi ion (TT)* để thu được dung dịch thử natri có nồng độ khoảng 4 µg/ml, thêm dung dịch kali clorid 4 % vào dung dịch cuối với tỷ lệ 1/10.

Tiến hành: Sử dụng máy quang phổ hấp thụ nguyên tử có trang bị đèn cathod rỗng natri, đầu đốt sử dụng ngọn lửa acetylen - không khí nén. Tiến hành đo độ hấp thụ nguyên tử của các dung dịch chuẩn và dung dịch thử tại vạch phổ cực đại của natri 589,0 nm. Từ độ hấp thụ của các dung dịch chuẩn và dung dịch thử, lập đường chuẩn thực nghiệm biểu diễn sự phụ thuộc của độ hấp thụ vào nồng độ natri và tính toán nồng độ natri trong dung dịch thử dựa vào đường chuẩn.

Định lượng kali: Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch natri clorid 4 %: Hòa tan 4 g *natri clorid (TT)* trong *nước trao đổi ion (TT)* thành 100 ml.

Dung dịch chuẩn gốc kali 1000 µg/ml.

Chuẩn bị dãy chuẩn kali:

Pha loãng 10,0 ml *dung dịch chuẩn gốc kali 1000 µg/ml* thành 100 ml *bằng nước trao đổi ion (TT)* để được dung dịch kali có nồng độ 100 µg/ml.

Tiến hành pha dãy chuẩn kali có các nồng độ 1,0 µg/ml; 2,0 µg/ml; 3,0 µg/ml và 4,0 µg/ml theo bảng sau:

Nồng độ chuẩn kali (µg/ml)	Dung dịch chuẩn kali 100 µg/ml (ml)	Dung dịch natri clorid 4% (ml)	Nước cất vừa đủ (ml)
0 (Trắng)	0	10	100
1,0	1,0	10	100
2,0	2,0	10	100
3,0	3,0	10	100
4,0	4,0	10	100

Chuẩn bị dung dịch thử: Pha loãng dung dịch A trong phần định lượng natri từng bước bằng *nước trao đổi ion (TT)* để thu được dung dịch thử kali có nồng độ khoảng 2 µg/ml, thêm dung dịch natri clorid 4 % vào dung dịch cuối với tỷ lệ 1/10.

Tiến hành: Sử dụng máy quang phổ hấp thụ nguyên tử có trang bị đèn cathod rỗng kali, đầu đốt sử dụng ngọn lửa acetylen - không khí nén. Tiến hành đo độ hấp thụ nguyên tử của các dung dịch chuẩn và dung dịch thử tại vạch phổ cực đại của kali 776,5 nm. Từ độ hấp thụ của các dung dịch chuẩn và dung dịch thử lập đường chuẩn thực nghiệm biểu diễn sự phụ thuộc của độ hấp thụ vào nồng độ kali và tính toán nồng độ kali trong dung dịch thử dựa vào đường chuẩn.

Bảo quản

Chế phẩm đóng gói trong bao kín tránh ẩm, tốt nhất là trong bao giấy nhôm. Nên đóng gói thành liều đơn hoặc liều dùng trong một ngày.

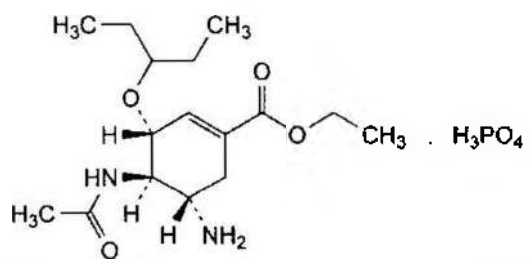
Bảo quản ở nhiệt độ không quá 30 °C.

Loại thuốc

Bù nước và điện giải.

OSELTAMIVIR PHOSPHAT

Oseltamiviri phosphas



$C_{16}H_{28}N_2O_4.H_3PO_4$ P.t.l: 410,4

Oseltamivir phosphat là ethyl (3*R*,4*R*,5*S*)-4-acetamido-5-amino-3-(1-ethylpropoxy)-cyclohex-1-en-1-carboxylat phosphat, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{28}N_2O_4.H_3PO_4$ tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột trắng hoặc gần như trắng, đa hình. Dễ tan trong nước và methanol, thực tế không tan trong methylen clorid.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của oseltamivir phosphat (không có tạp chất B) chuẩn.

Nếu phổ hấp thụ hồng ngoại của chế phẩm khác với mẫu chuẩn thì hòa tan riêng rẽ chế phẩm và oseltamivir phosphat (không có tạp chất B) chuẩn trong *methanol (TT)*, bốc hơi tới cắn rồi tiến hành ghi lại phổ mới của cắn.

B. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Góc quay cực riêng.

C. Hòa tan 200 mg chế phẩm trong 10 ml *nước*. Dung dịch phải cho phản ứng (B) của phosphat (Phụ lục 8.1).

Góc quay cực riêng

Từ -30,7° đến -32,6°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4). Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi, đo ở 25 °C.

Tạp chất B

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) kết nối với detector phổ khối (Phụ lục 4.5).

Pha động: Dung dịch amoni acetat 0,154 % trong nước dùng cho sắc ký - acetonitril (TT_1) - nước dùng cho sắc ký (10 : 30 : 60).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm *trong nước dùng cho sắc ký (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2,5 mg tạp chất B chuẩn của oseltamivir trong 5,0 ml *ethanol khan (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng *nước dùng cho sắc ký (TT)*. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *nước dùng cho sắc ký (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 50,0 mg oseltamivir phosphat (không có tạp chất B) chuẩn trong dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (5 cm × 3,0 mm) được nhồi *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm). Nhiệt độ cột: 40 °C.

Detector phổ khối: Đặt các thông số để đạt được yêu cầu của độ thích hợp hệ thống. Ví dụ:

Ion hóa: ESI dương;
Phát hiện m/z: 356,2;
Thời gian lưu trú: 580 ms;
Gain EMV: 1;
Điện thế phân mảnh ion: 120 V;
Nhiệt độ khí: 350 °C;
Tốc độ dòng khí làm khô: 13 L/min;
Áp suất đầu phun: 345 kPa;
Điện thế mao quản (Vcap): 3 kV.

Thể tích tiêm: 1 µl.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Tỉ lệ chia dòng sau cột: Dùng tỉ lệ chia dòng thích hợp với detector khối phổ (ví dụ 1 : 3).
Thời gian chạy: 3 min.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic oseltamivir phosphat thu được trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (2) từ 6 lần tiêm lại không được lớn hơn 15 %.
Giới hạn:
Diện tích pic tạp chất B trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (100 phần triệu).
Ghi chú:
Tạp chất B: Ethyl (*1R,2R,3S,4R,5S*)-4-acetamido-5-amino-2-azido-3(1-ethylpropoxy) cyclohexan carboxylat.

Tạp chất H
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).
Thuốc thử tạo dẫn xuất silyl: Trộn đều 1,0 ml *cloro trimethylsilan (TT)*, 2,0 ml *hexamethyldisilazan (TT)* và 10,0 ml *pyridin khan (TT)*.
Dung dịch thử: Cân chính xác 15,0 mg chế phẩm vào lọ 2 ml và thêm 1,0 ml *thuốc thử tạo dẫn xuất silyl*. Đóng nút lọ, lắc đều và đun nóng ở 60 °C trong 20 min. Ly tâm và loại bỏ tủa.
Dung dịch đối chiếu: Cân chính xác 15,0 mg tạp chất H chuẩn của oseltamivir vào lọ 2 ml và thêm 1,0 ml *pyridin khan (TT)*. Đóng nút lọ và lắc đều, thu được dung dịch A. Lưu ý, tạp chất H dễ hút ẩm. Cân chính xác 15,0 mg chế phẩm vào lọ 2 ml khác và thêm 1,0 ml *thuốc thử tạo dẫn xuất silyl*. Đóng nút lọ, lắc đều và đun nóng ở 60 °C trong 20 min. Ly tâm và loại bỏ tủa thu được dung dịch B. Lấy 10,0 µl dung dịch A và 10,0 µl dung dịch B vào bình định mức 10 ml, thêm *pyridin khan (TT)* đến vạch.
Điều kiện sắc ký:
Cột mao quản kích thước (30 m × 0,32 mm) làm bằng silica nung chảy được phủ pha tĩnh *poly(dimethyl)siloxan dùng cho sắc ký khí (TT)* (lớp phim dày 0,25 µm).
Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký khí.*
Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.
Tỷ lệ chia dòng: 1 : 50.
Detector ion hóa ngọn lửa.
Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 2	180
	2 - 11	180 → 250
	11 - 21	250
Buồng tiêm		260
Detector		260

Thể tích tiêm: 1 µl.
Cách tiến hành:
Thời gian lưu tương đối so với oseltamivir phosphat (thời gian lưu khoảng 10 min): tạp chất H khoảng 0,5.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic tạp chất H trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu thu được từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 5 %.
Giới hạn:
Diện tích pic tạp chất H thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,15 %).
Ghi chú:
Tạp chất H: Tributylphosphan oxyd.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch A: Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 980 ml *nước dùng cho sắc ký (TT)*, điều chỉnh đến pH 6,0 bằng *dung dịch kali hydroxyd 1 M (TT)* và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước dùng cho sắc ký (TT)*.
Pha động: Acetonitril (TT_1) - methanol (TT_2) - dung dịch A (135 : 245 : 620).
Hỗn hợp dung môi: Acetonitril (TT_1) - methanol (TT_2) - nước dùng cho sắc ký (135 : 245 : 620).
Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg tạp chất A chuẩn của oseltamivir và 5 mg tạp chất C chuẩn của oseltamivir trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 50,0 mg oseltamivir phosphat (không có tạp chất B) chuẩn trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi *end-capped octylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Nhiệt độ cột 50 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 207 nm.
Thể tích tiêm: 15 µl.
Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của oseltamivir phosphat.
Thời gian lưu tương đối so với oseltamivir phosphat (thời gian lưu khoảng 17 min): tạp chất A khoảng 0,16; tạp chất C khoảng 0,17.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất A với pic của tạp chất C ít nhất là 1,5.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ dung dịch thử:
Tạp chất C: Diện tích pic tạp chất C không được lớn hơn 0,3 lần diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %).

Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 7 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,7 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid (3*R*,4*R*,5*S*)-5-acetamido-4-amino-3-(1-ethylpropoxy) cyclohex-1-en-1-carboxylic.
Tạp chất C: Acid (3*R*,4*R*,5*S*)-4-acetamido-5-amino-3-(1-ethylpropoxy) cyclohex-1-en-1-carboxylic.

Nước
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,500 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Điều kiện sắc ký được mô tả ở phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (3).
Tính hàm lượng phần trăm của oseltamivir phosphat, $C_{16}H_{28}N_2O_4.H_3PO_4$, trong chế phẩm dựa vào diện tích oseltamivir phosphat thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (3) và hàm lượng của $C_{16}H_{28}N_2O_4.H_3PO_4$ trong oseltamivir phosphat (không có tạp chất B) chuẩn.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Điều trị cúm.

Chế phẩm
Nang.

NANG OSELTAMIVIR
Capsulea Oseltamiviri

Là nang cứng chứa oseltamivir phosphat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" mục (1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng oseltamivir, $C_{16}H_{28}N_2O_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Methanol - ethyl acetat - toluen - amoniac (8 : 6 : 4 : 2).
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với khoảng 15 mg oseltamivir với 10 ml *methanol (TT)*, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan khoảng 20 mg oseltamivir phosphat chuẩn trong 10 ml *methanol (TT).*
Cách tiến hành: Chấm 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 bản mỏng. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí. Soi bản mỏng dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ thu được, vết chính của dung dịch thử phải có cùng vị trí, hình dạng và kích thước với vết của dung dịch đối chiếu.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic oseltamivir trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *acid hydrocloric 0,1 M (TT)*
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 20 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng có hấp thụ cực đại khoảng 240 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. Tính hàm lượng oseltamivir $C_{16}H_{28}N_2O_4$, hòa tan từ mỗi nang dựa vào độ hấp thụ của dung dịch oseltamivir phosphat chuẩn có nồng độ tương đương pha trong cùng dung môi.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) hàm lượng oseltamivir, $C_{16}H_{28}N_2O_4$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 20 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, điều kiện sắc ký như mô tả ở phần Định lượng.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch chuẩn ở phần Định lượng.
Dung dịch thử: Dung dịch thử ở phần Định lượng.
Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, nếu xuất hiện các pic tạp chất thì tỷ lệ phần trăm của mỗi tạp chất được tính theo công thức sau:

$$\frac{A_i \times m_C \;\; 2 \times a \times M \times 312{,}4}{A_C \times m_i \times L \times 410{,}4} \times \frac{1}{F} \times 100$$

Trong đó:
A_C: Diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu;
A_i: Diện tích pic tạp chất trên sắc ký đồ của dung dịch thử;
m_C: Lượng cân oseltamivir phosphat chuẩn ở phần Định lượng (mg);
m_i: Lượng cân của mẫu thử ở phần Định lượng (mg);
a: Hàm lượng của oseltamivir phosphat chuẩn (%);
M: Khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang (mg);
L: Lượng oseltamivir ghi trên nhãn (mg).
312,4; 410,4: Phân tử lượng của oseltamivir và oseltamivir phosphat.
F: Hệ số đáp ứng tương đối (trong Bảng 1).

Bảng 1: Thời gian lưu, hệ số đáp ứng tương đối và giới hạn của các tạp chất

	Thời gian lưu tương đối	Hệ số đáp ứng tương đối *F*	Giới hạn tối đa cho phép (%)
Tạp chất A[a]	0,18	1,4	2,0
Tạp chất B[b]	0,49	2,7	0,3
Oseltamivir	1,00	1,0	-
Tạp chất C[c]	1,45	0,9	0,5
Tạp đơn chưa xác định		1,0	0,2
Tổng tạp đơn chưa xác định		1,0	0,5
Tổng tạp chất		1,0	3,0

[a]: (3*R*,4*R*,5*S*)-4-Acetylamino-5-amino-3-(1-ethylpropoxy0-1-cyclohexen-1-carboxylic acid.
[b]: 4-Acetylamino-3-hydroxybenzoic acid ethyl ester.
[c]: ((3*R*,4*R*,5*S*)-4-Amino-5-acetylamino-3-(1-ethylpropoxy)-1cyclohexen-1-carboxylic acid ethyl ester.

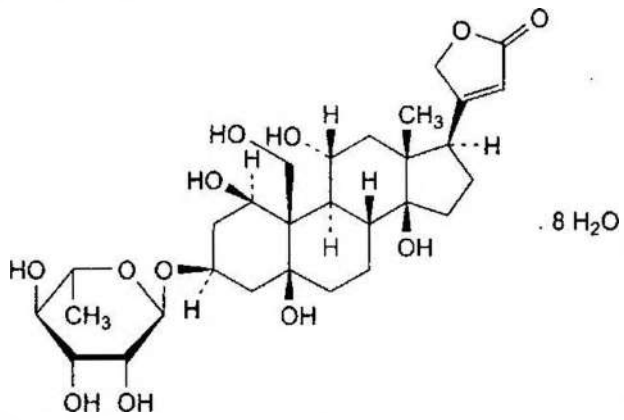
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm phosphat pH 6,0: Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 980 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 6,0 bằng *dung dịch kali hydroxyd 1 M (TT)*. Thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Pha động: *Acetonitril - methanol - dung dịch đệm phosphat pH 6,0* (135 : 245 : 620).
Hỗn hợp dung môi: Acetonitril - methanol - acid phosphoric 0,01 N (135 : 245 : 620).
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng oseltamivir phosphat chuẩn tương ứng với 50 mg oseltamivir, hòa tan bằng hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 100 mg oseltamivir vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 40 ml hỗn hợp dung môi và lắc siêu âm 20 min. Để nguội và thêm hỗn hợp dung môi vừa đủ đến vạch, lắc đều, ly tâm ở tốc độ 3000 r/min trong 5 min lấy dịch trong.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 207 nm.
Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.
Nhiệt độ cột: 50 °C.
Thể tích tiêm: 15 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký 6 lần riêng biệt đối với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic oseltamivir không được lớn hơn 2,0 %. Hệ số đối xứng không lớn hơn 2,0.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng oseltamivir, $C_{16}H_{28}N_2O_4$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng oseltamivir $C_{16}H_{28}N_2O_6$ có trong oseltamivir phosphat chuẩn.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín. Để nơi khô mát, nhiệt độ không quá 30 °C, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng virus cúm A.

Hàm lượng thường dùng
45 mg, 75 mg và 150 mg.

OUABAIN
Ouabainum



$C_{29}H_{44}O_{12}.8H_2O$ P.t.l: 729,0

Ouabain là 3β-[(6-deoxy-α-L-mannopyranosyl) oxy]-1β, 5, 11α, 14, 19-pentahydroxy- 5β, 14β-card-20(22)-enolid ngậm 8 phân tử nước, phải chứa từ 96,0 % đến 104,0 % $C_{29}H_{44}O_{12}$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng hay tinh thể không màu.
Hơi tan trong nước và ethanol, thực tế không tan trong ethyl acetat.

Định tính
A. Trong mục Tạp chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải có vị trí, màu sắc và kích thước tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1).
B. Hòa tan 2 mg đến 3 mg chế phẩm trong 2 ml *acid sulfuric (TT)*, màu hồng xuất hiện và nhanh chóng chuyển sang màu đỏ. Dung dịch cho huỳnh quang màu xanh lục dưới ánh sáng tử ngoại.
C. Hòa tan khoảng 1 mg chế phẩm trong 1 ml *dung dịch dinitrobenzen 1 % trong ethanol 96 %*, thêm 0,2 ml dung *dịch natri hydroxyd loãng (TT)*, màu xanh lam đậm xuất hiện.

D. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 5 ml *dung dịch acid sulfuric 15 %* và đun sôi vài phút. Dung dịch có màu vàng và vẩn đục. Lọc, thêm vào dịch lọc 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 12 %* và 3 ml *thuốc thử Fehling (TT)*. Đun nóng có tủa đỏ tạo thành.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong 15 ml *nước*, đun nóng trên cách thủy. Để nguội và pha loãng thành 20,0 ml với *nước*.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực riêng
Từ -30° đến -33°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).
Xác định trên dung dịch S.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Nước - methanol - dimethyl sulfoxid - cloroform (4 : 15 : 15 : 70).
Dung môi hòa tan: Nước - cloroform - methanol (32 : 100 : 100).
Dung dịch thử: Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng với 20 mg chế phẩm khan trong 1,0 ml dung môi hòa tan.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan một lượng ouabain chuẩn tương ứng với 20 mg ouabain khan trong 1,0 ml dung môi hòa tan.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan một lượng ouabain chuẩn tương ứng với 10 mg ouabain khan trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 25,0 ml bằng cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 2,5 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 10 ml bằng dung môi hòa tan.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai đến khi dung môi đi được 13 cm. Sấy ngay bản mỏng ở 140 °C trong 30 min trong tủ sấy có quạt. Để nguội, phun *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT)* và sấy ở 140 °C trong 15 min. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (2,0 %). Phép thử chỉ có giá trị khi vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) và từ dung dịch thử đã di chuyển được một đoạn đủ để các vết phụ tách rõ rệt và nhìn thấy rõ vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3).

Alcaloid và strophanthin-K
Thêm 0,5 ml *dung dịch acid tanic 10 %* vào 5,0 ml dung dịch S, không có tủa tạo thành.

Nước
Từ 18,0 % đến 22,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,100 g chế phẩm.

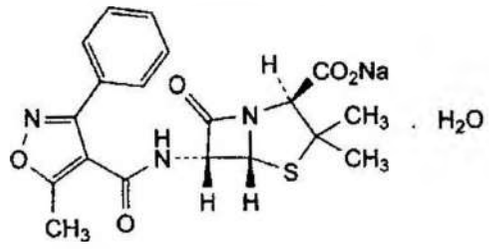
Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 40,0 mg chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng *ethanol 96 % (TT)*, pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml bằng *ethanol 96 % (TT)*. Chuẩn bị mẫu chuẩn giống như mẫu thử với 40,0 mg ouabain chuẩn. Thêm 3,0 ml *dung dịch natri picrat kiềm (TT)* vào 5,0 ml dung dịch thử và 5,0 ml dung dịch chuẩn. Để yên 30 min tránh ánh sáng và đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử và dung dịch chuẩn ở bước sóng cực đại 495 nm. Dùng hỗn hợp 5,0 ml *ethanol 96 % (TT)* và 3,0 ml *dung dịch natri picrat kiềm (TT)* chuẩn bị đồng thời làm mẫu trắng.
Tính hàm lượng của $C_{29}H_{44}O_{12}$ từ các độ hấp thụ đo được và hàm lượng của ouabain chuẩn.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc trị suy tim.

OXACILIN NATRI MONOHYDRAT
Oxacillininum natricum monohydricum



$C_{19}H_{18}N_3NaO_5S.H_2O$ P.t.l: 441,4

Oxacilin natri monohydrat là natri (2*S*,5*R*,6*R*)-3,3-dimethyl-6-[[(5-methyl-3-phenylisoxazol-4-yl)carbonyl] amino]-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylat natri monohydrat, phải chứa từ 95,0 % đến 102,0 % $C_{19}H_{18}N_3NaO_5S$, tính theo chế phẩm khan.
Chế phẩm bán tổng hợp từ một sản phẩm lên men.

Tính chất
Bột màu trắng hay gần như trắng.
Dễ tan trong nước, tan trong methanol, thực tế không tan trong methylen clorid.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của oxacilin natri monohydrat chuẩn.
B. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của ion natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) đo ở bước sóng 430 nm không được lớn hơn 0,10.

pH

Từ 4,5 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).

Hoà tan 0,30 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Góc quay cực riêng

Từ +196° đến +212°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hoà tan 0,250 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Trộn đều 25 thể tích *acetonitril (TT)* với 75 thể tích dung dịch *kali dihydrophosphat 0,27 %* được chỉnh đến pH 5,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT).*

Dung dịch thử: Hoà tan 50,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với pha động.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Hoà tan 5 mg cloxacilin natri chuẩn (tạp chất E) và 5 mg oxacilin natri monohydrat chuẩn trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với pha động.

Dung dịch đối chiếu (3): Để tạo tạp chất B và tạp chất D, hòa tan 25 mg chế phẩm trong 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,05 M (TT)*, để yên trong 3 min và pha loãng thành 100 ml với pha động. Tiêm ngay dung dịch thu được vào hệ thống sắc ký.

Dung dịch đối chiếu (4): Hoà tan 5 mg oxacilin chuẩn dùng để định tính pic (gồm tạp chất E, F, G, I và J) trong 5 ml pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 225 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Thời gian chạy sắc ký bằng 7 lần thời gian lưu của pic oxacilin.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với mẫu trắng, dung dịch thử và các dung dịch đối chiếu.

Xác định các pic tạp chất: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), 2 pic được rửa giải ra trước pic chính lần lượt là pic của tạp chất B và tạp chất D.

So sánh sắc ký đồ cung cấp kèm theo oxacilin chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (4) để xác định các pic tạp chất E, F, G, I và J.

Thời gian lưu tương đối của các pic tạp chất so với pic oxacilin (thời gian lưu khoảng 5 min) là: Tạp chất A khoảng 0,3; tạp chất B (isomer 1) khoảng 0,4; tạp chất B (isomer 2) khoảng 0,5; tạp chất C khoảng 0,65; tạp chất D (2 isomer) khoảng 0,9; tạp chất E khoảng 1,5; tạp chất F khoảng 1,9; tạp chất G khoảng 2,1; tạp chất H khoảng 3,5; tạp chất I khoảng 3,8; tạp chất J khoảng 5,8.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic oxacilin và pic tạp chất E không nhỏ hơn 2,5.

Sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (4) phải tương ứng với sắc ký đồ cung cấp kèm theo oxacilin chuẩn dùng để định tính pic.

Yêu cầu: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:

Tổng diện tích của 2 pic tương ứng với 2 pic isomer của tạp chất B không được lớn hơn 1,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) (1,5 %).

Diện tích của pic tương ứng với tạp chất E không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %).

Tổng diện tích của 2 pic tương ứng với 2 pic isomer của tạp chất D, diện tích của mỗi pic tạp chất F, G, I, J không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).

Diện tích của mỗi pic tạp chất khác không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).

Tổng diện tích các pic tạp chất không được lớn hơn 3 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) (3,0 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-amino-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic (acid 6-aminopenicilanic).

Tạp chất B: Acid (4*S*)-2-[carboxy[[(5-methyl-3-phenylisoxazol-4-yl)carbonyl]amino]methyl]-5,5-dimethylthiazolidin-4-carboxylic (acid penicilloic của oxacilin).

Tạp chất C: Acid 5-methyl-3-phenylisoxazol-4-carboxylic.

Tạp chất D: Acid (2*RS*,4*S*)-5,5-dimethyl-2-[[[(5-methyl-3-phenylisoxazol-4-yl)carbonyl]amino]methyl] thiazolidin-4-carboxylic (acid peniloic của oxacilin).

Tạp chất E: Cloxacilin.

Tạp chất F: Acid (2*R*,5*R*,6*R*)-3,3-dimethyl-6-[[(5-methyl-3-phenylisoxazol-4-yl)carbonyl]amino]-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-thiocarboxylic (thiooxacilin).

Tạp chất G: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[[3-(clorophenyl)-5-methylisoxazol-4-yl]carbonyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic (cloxacilin isomer).

Tạp chất H: Acid (3*S*,7*R*,7a*R*)-2,2-dimethyl-5-(5-methyl-3-phenylisoxazol-4-yl)-2,3,7,7a-tetrahydro imidazo[5,1-b]thiazol-3,7-dicarboxylic (acid penilic của oxacilin).

Tạp chất I: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*S*,5*R*,6*R*)-3,3-dimethyl-6-[[(5-methyl-3-phenylisoxazol-4-yl)carbonyl]amino]-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carbonyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic (6APA oxacilin amid).

Tạp chất J: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-[(2*R*,4*S*)-4-carboxy-5,5-dimethylthiazolidin-2-yl][[(5-methyl-3-phenylisoxazol-4-yl) carbonyl]amino]acetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic (ozolamid của 6-APA dimer).

Ethyl acetat và butyl acetat

Phương pháp sắc ký khí head-space (Phụ lục 5.2).

Dung dịch thử: Hoà tan 0,200 g chế phẩm trong 6,0 ml *nước*.

Dung dịch đối chiếu: Hoà tan 83 mg *ethyl acetat (TT)* và 83 mg *butyl acetat (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 250,0 ml với cùng dung môi. Sử dụng 6,0 ml dung dịch này. Đóng ngay các lọ đựng mẫu tiêm bằng nút cao su có bao lớp polytetrafluoroethylen và giữ bởi một vòng chụp ngoài bằng nhôm. Lắc đều để thu được dung dịch đồng nhất.

Điều kiện sắc ký:

Cột mao quản bằng silica nung chảy (50 m × 0,32 mm), được phủ lớp phim *poly(dimethyl)siloxan* dày 5 µm.

Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký khí (TT)*.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Các điều kiện tiêm pha hơi tĩnh:

Nhiệt độ cân bằng: 80 °C.

Thời gian cân bằng: 60 min.

Nhiệt độ dòng chảy: 140 °C.

Thời gian điều áp: 30 s.

Chương trình nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 6	70
	6 - 16	70 → 220
	16 - 18	220
Buồng tiêm		140
Detector		250

Detector ion hóa ngọn lửa.

Thời gian lưu của ethyl acetat khoảng 10 min, của butyl acetat khoảng 15,5 min.

Giới hạn:

Ethyl acetat không được quá 1,0 %.

Butyl acetat không được quá 1,0 %.

N,N-Dimethylanilin

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16, phương pháp 2).

Acid 2-ethylhexanoic

Không được quá 0,8 % (Phụ lục 10.17).

Nước

Từ 3,5 % đến 5,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,300 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn

Không được quá 0,20 EU/mg (Phụ lục 13.2).

Nếu chế phẩm được dùng để sản xuất các dạng thuốc tiêm mà không có phương pháp hữu hiệu loại bỏ nội độc tố vi khuẩn thì phải đáp ứng yêu cầu của phép thử này.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, điều kiện sắc ký như mô tả ở mục Tạp chất liên quan.

Dung dịch thử: Hoà tan 50,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với pha động. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với pha động.

Dung dịch chuẩn: Hoà tan 50,0 mg oxacilin natri monohydrat chuẩn trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với pha động. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với pha động.

Cách tiến hành:

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

Tính hàm lượng oxacilin natri, $C_{19}H_{18}N_3NaO_5S$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng của $C_{19}H_{18}N_3NaO_5S$ trong oxacilin natri monohydrat chuẩn.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín. Nếu chế phẩm vô khuẩn phải bảo quản trong đồ đựng kín, vô khuẩn.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Chế phẩm

Nang, bột pha tiêm.

OXYGEN

Oxygenium

O_2 P.t.l: 32,00

Oxygen phải chứa ít nhất 99,5 % O_2 (tt/tt).

Tính chất

Khí không màu, không mùi.

1 ml oxygen hòa tan trong khoảng 32 ml nước và trong khoảng 7 ml ethanol ở 20 °C, tại áp suất 101,3 kPa.

Định tính

A. Cho một mảnh gỗ cháy còn than hồng tiếp xúc với chế phẩm, sẽ bốc cháy thành ngọn lửa sáng.

B. Lắc chế phẩm với *dung dịch kiềm pyrogalol (TT)*, chế phẩm sẽ bị hấp thụ và dung dịch chuyển thành màu nâu sẫm.

Khí oxygen được sản xuất bằng quy trình phân đoạn khí hóa lỏng thì không phải thử hai chỉ tiêu carbon monoxyd và carbon dioxyd.

Carbon monoxyd

Không được quá 5 phần triệu (tt/tt).

Tiến hành theo Phụ lục 9.5: "Thử giới hạn carbon monoxyd trong khí y tế". Dùng 7,5 L chế phẩm để thử, tốc độ dòng 4 L/h và 7,5 L *argon* để làm mẫu trắng. Chênh lệch thể tích *dung dịch natri thiosulfat 0,002 M (CĐ)* giữa 2 lần chuẩn độ không được quá 0,4 ml.

Ống nghiệm dùng cho các phép thử: Carbon monoxyd, Carbon dioxyd, Các chất oxy hóa phải đáp ứng yêu cầu trong Phụ lục 9.1 và đường kính trong của ống nghiệm thích hợp, sao cho chiều cao của 50 ml chất lỏng đem thử phải từ 12 cm đến 14cm.

Carbon dioxyd

Không được quá 0,03 % (tt/tt).

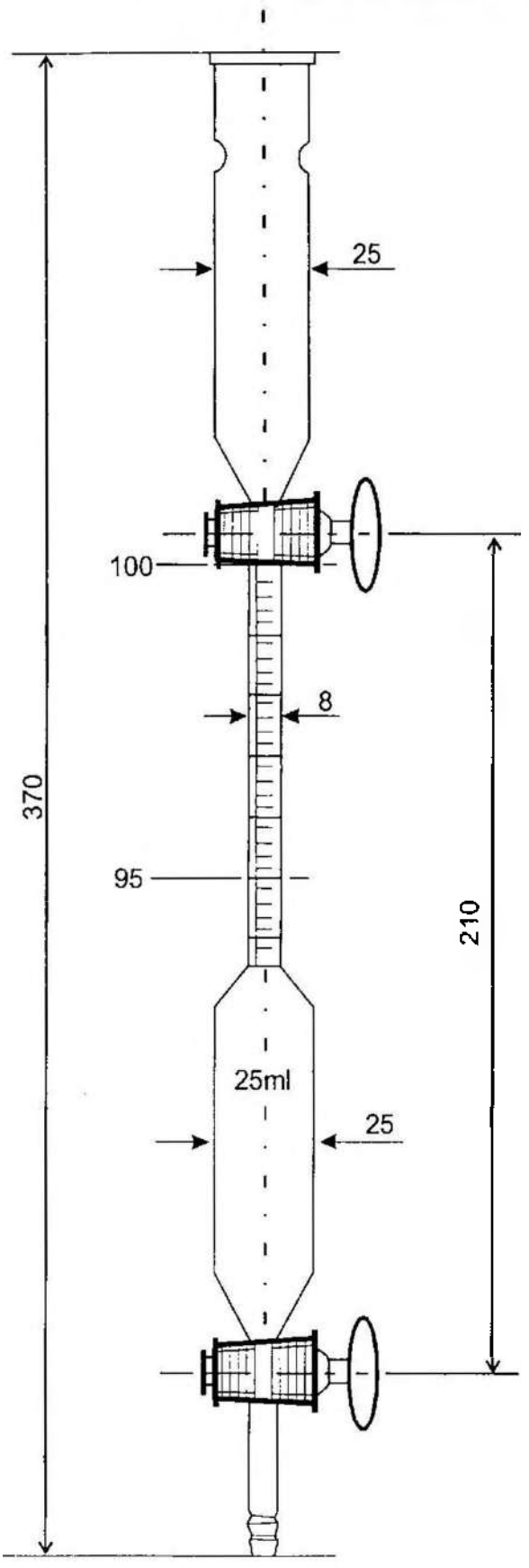
Sục 1,0 L chế phẩm qua 50 ml *dung dịch bari hydroxyd 0,15 M (TT)* trong.
Nếu dung dịch bị đục, thì độ đục không được quá độ đục của dung dịch đối chiếu gồm 1,0 ml *dung dịch natri hydrocarbonat 0,11 %* trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và 50 ml *dung dịch bari hydroxyd 0,25 M (TT)*.

Giới hạn acid - kiềm
Dung dịch thử: Cho 2,0 L chế phẩm chạy qua hỗn hợp gồm 0,1 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* và 50 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): 50 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Hỗn hợp 50 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* và 0,2 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*.
Thêm vào mỗi dung dịch trên 0,1 ml *dung dịch đỏ methyl 0,02 % trong ethanol 70 %*. Cường độ màu của dung dịch thử phải đậm hơn dung dịch đối chiếu (1) và nhạt hơn dung dịch đối chiếu (2).

Các chất oxy hóa
Cho vào mỗi bình trụ 50 ml *dung dịch hồ tinh bột có kali iodid (TT)* vừa mới pha và 0,2 ml *acid acetic băng (TT)*. Để hai bình trong chỗ tối. Cho 5,0 L chế phẩm sục qua một trong hai bình. So sánh màu của dung dịch trong hai bình. Dung dịch trong cả hai bình phải không màu.

Nước
Hàm lượng nước không được quá 60 mg/l.
Thiết bị bao gồm một trong một ẩm kế điện như mô tả dưới đây, một ống đo độ ẩm thích hợp, hoặc một ẩm kế.
Các tế bào đo bao gồm một màng anhydrid phosphoric mỏng đặt giữa hai dây bạch kim được cuộn lại sao cho có hoạt tính như các điện cực. Anhydrid phosphoric hấp thụ hơi nước trong khí thử sẽ tạo thành acid phosphoric, acid này là một chất dẫn điện.
Trước khi đưa khí thử vào thiết bị, để khí ổn định ở nhiệt độ phòng và đảm bảo nhiệt độ không đổi trong máy. Tạo một điện thế liên tục giữa các điện cực để điện phân nước và tái tạo anhydrid phosphoric.
Đo điện lượng, điện lượng đo được tỷ lệ với lượng nước trong khí thử. (Đây là một hệ thống đo tuân theo định luật Faraday.)
Giới hạn:

Định lượng
Dùng một buret khí dung tích 25 ml (như Hình 1) gồm một thân chính, phía trên là một ống khắc độ 0,2 % giữa 95 đến 100. Buret có gắn khóa ở hai đầu. Khóa dưới gắn với vòi ống có ngấn dùng để đưa khí vào buret. Khóa trên được gắn với một phễu hình trụ dùng để chứa dung dịch hấp thụ dùng trong định lượng.



Hình 1: Buret khí

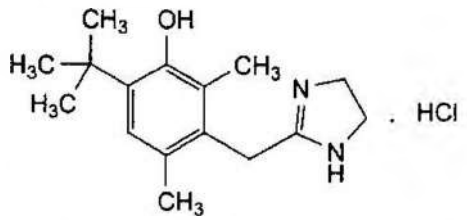
Rửa buret với nước và sấy khô. Mở cả hai khóa. Nối vòi ống với bình chứa chế phẩm, điều chỉnh lưu lượng khí vào buret với tốc độ 1 L/min. Cho khí chạy qua buret 1 min. Đóng khóa trên của buret, rồi đóng tiếp khóa dưới. Nhấc buret ra khỏi bình chứa chế phẩm. Vặn khóa trên 1/2 vòng để loại áp suất thừa (nếu có) trong buret. Để buret thẳng đứng. Đổ vào phễu hình trụ một dung dịch mới pha gồm 21 ml *dung dịch kali hydroxyd 56 %* và 130 ml *dung dịch natri dithionit 20 %*. Mở từ từ khóa trên. Dung dịch sẽ hấp thụ oxygen và chảy vào buret. Để yên 10 min, không lắc. Đọc mức chất lỏng trong phần chia vạch của buret. Số đọc được là hàm lượng (%) O_2 trong chế phẩm (tt/tt).

Bảo quản

Oxygen được giữ dưới dạng khí nén hoặc dạng hóa lỏng trong bình chứa phù hợp, đáp ứng các qui chế về an toàn hiện hành. Các bình oxygen phải được bảo quản ở chỗ mát. Các van và vòi khóa không được bôi dầu mỡ.

OXYMETAZOLIN HYDROCLORID

Oxymetazolini hydrocloridum



$C_{16}H_{24}N_2O.HCl$ P.t.l: 296,8

Oxymetazolin hydroclorid là 3-[(4,5-dihydro-1*H*-imidazol -2-yl)methyl]-6-(1,1-dimethylethyl)-2,4-dimethylphenol hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{16}H_{24}N_2O$. HCl tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan trong nước và ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của oxymetazolin hydroclorid chuẩn.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Diethylamin - cyclohexan - ethanol khan (6 : 15 : 79).

Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong hỗn hợp *ethyl acetat - methanol* (1 : 1) và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20 mg oxymetazolin hydroclorid chuẩn trong hỗn hợp *ethyl acetat - methanol* (1 : 1) và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 2/3 chiều dài bản mỏng. Làm khô bản mỏng bằng dòng không khí nóng trong 5 min. Để nguội, rồi phun lên bản mỏng *dung dịch kali ferricyanid 0,5 % (TT)* trong *dung dịch sắt (III) clorid 1,3 % (TT)* . Quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính trên sắc đồ của dung dịch thử phải có vị trí, màu sắc và kích thước giống với vết chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu.

C. Hòa tan khoảng 2 mg chế phẩm trong 1 ml *nước*. Thêm 0,2 ml *dung dịch natri nitroprusiat 5 % (TT)* và 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*. Để yên 10 min. Thêm 2 ml *dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT)*. Màu tím xuất hiện.

D. Chế phẩm cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.1) và màu không đậm hơn màu mẫu VN_7 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi. Thêm 0,1 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)* và 0,2 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*. Dung dịch có màu đỏ. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)* dùng để làm chuyển màu dung dịch sang vàng không quá 0,4 ml.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.

Pha động A: Dung dịch kali dihydrophosphat 0,136 % (TT) được điều chỉnh đến pH 3,0 bằng *acid phosphoric (TT)*.

Pha động B: Acetonitril (TT_1).

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *nước*. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5,0 mg tạp chất A chuẩn của oxymetazolin và 5,0 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 20,0 ml bằng *nước*.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 5	70	30
5 - 20	70 → 15	30 → 85
20 - 35	15	85

Thời gian lưu tương đối so với oxymetazolin (thời gian lưu khoảng 5,0 min): Tạp chất A khoảng 0,9.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất A và pic của oxymetazolin ít nhất là 4,0.
Giới hạn:
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,15 %).
Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: *N*-(2-aminoethyl)-2-[4-(1,1-dimethylethyl)-3-hydroxy-2,6-dimethylphenyl]acetamid.
Tạp chất B: 2-[4-(1,1-dimethylethyl)-2,6-dimethylbenzyl]-4,5-dihydro-1*H*-imidazol (xylometazolin).
Tạp chất C: 2-[4-(1,1-dimethylethyl)-3-hydroxy-2,6-dimethylphenyl] acetamid.
Tạp chất D: Acid [4-(1,1-dimetylethyl)-3-hydroxy-2,6-dimethylphenyl] acetic.
Tạp chất E: [4-(1,1-dimethylethyl)-3-hydroxy-2,6-dimethylphenyl] acetonitril.

Nước
Không được quá 0,3 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 1,00 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 20 ml *acid acetic khan (TT)* và 20 ml *anhydrid acetic (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 29,68 mg $C_{16}H_{25}ClN_2O$.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Đồng vận alpha-adrenoceptor, chất gây co mạch.

THUỐC NHỎ MŨI OXYMETAZOLIN
Nasalia Oxymetazolini

Thuốc nhỏ mũi oxymetazolin là dung dịch của oxymetazolin hydroclorid trong nước, có thể có thêm tá dược thích hợp. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nhỏ mũi và thuốc xịt mũi dạng lỏng" (Phụ lục 1.15) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng oxymetazolin hydroclorid, $C_{16}H_{24}N_2O.HCl$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu.

pH
Từ 4,0 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Định tính
A. Lấy chính xác một thể tích dung dịch chế phẩm chứa khoảng 2,5 mg oxymetazolin hydroclorid, cho vào bình gạn dung tích 60 ml, thêm *nước* cho đủ khoảng 10 ml. Thêm 2 ml *dung dịch natri carbonat 10 % (TT)*. Chiết với 10 ml *cloroform (TT)*, chuyển dịch chiết cloroform sang một bình gạn khác. Chiết với 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Để yên và gạn bỏ lớp cloroform. Lấy 8 ml lớp nước acid hóa cho vào một ống nghiệm, trung tính bằng vài giọt *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*. Thêm dư một giọt *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*. Lắc kỹ. Sau đó, thêm vài giọt *dung dịch natri nitroprusiat 5 % (TT)* và 2 giọt *dung dịch natri hydroxyd 15 % (TT)* để yên trong 10 min. Thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* cho tới pH khoảng 8 đến 9. Để yên 10 min sẽ xuất hiện màu tím.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic oxymetazolin hydroclorid trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.

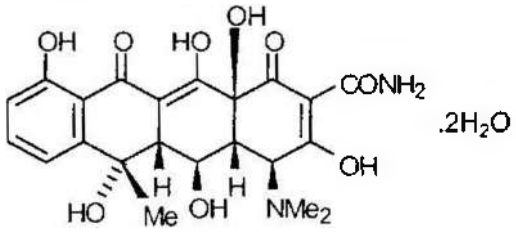
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hỗn hợp methanol - dung dịch đệm amoni nitrat pH 9,5 (9 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 2,0 ml dung dịch chế phẩm pha loãng với *methanol (TT)* vừa đủ 20,0 ml. Lọc.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng oxymetazolin hydroclorid chuẩn hòa tan trong *nước* để thu được dung dịch có nồng độ tương đương với nồng độ oxymetazolin hydroclorid trong chế phẩm. Lấy 2,0 ml dung dịch thu được pha loãng với *methanol (TT)* vừa đủ 20,0 ml. Lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (250 × 4 mm) được nhồi pha tĩnh A (5 µm).
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Tính hàm lượng oxymetazolin hydroclorid,

$C_{16}H_{24}N_2O.HCl$, trong chế phẩm dựa vào các diện tích của pic oxymetazolin hydroclorid thu được từ dung dịch chuẩn, dung dịch thử và từ hàm lượng của oxymetazolin hydroclorid trong oxymetazolin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản
Nơi mát, tránh ánh sáng.

Hàm lượng thường dùng
0,025 % và 0,05 %.

OXYTETRACYCLIN DIHYDRAT
Oxytetracyclinum dihydratum



$C_{22}H_{24}N_2O_9\,2H_2O$ P.t.l: 496,4

Oxytetracyclin dihydrat là (4*S*,4a*R*,5*S*,5a*R*,6*S*,12a*S*)-4-(dimethylamino)-3,5,6,10,12,12a-hexahydroxy-6-methyl-1,11-dioxo-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahydro-tetracen-2-carboxamid dihydrat, phải chứa từ 95,0 % đến 102,0 % $C_{22}H_{24}N_2O_9$, tính theo chế phẩm đã làm khô.
Chế phẩm thu được từ quá trình nuôi cấy một số chủng *Streptomyces rimosus* hoặc từ các phương pháp khác.

Tính chất
Bột kết tinh vàng. Rất khó tan trong nước, tan trong các dung dịch acid và kiềm loãng.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Octadecylsilyl silica gel F_{254}.
Dung môi khai triển: Acetonitril - methanol - dung dịch acid oxalic 6,3 % đã được điều chỉnh đến pH 2,0 bằng *amoniac* (20 : 20 : 60).
Dung dịch thử: Hòa tan 5 mg chế phẩm trong *methanol (TT)*, pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg oxytetracyclin chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg oxytetracyclin chuẩn, 5 mg tetracyclin hydroclorid chuẩn và 5 mg minocyclin hydroclorid chuẩn trong *methanol (TT)*, pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl các dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (2). Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Làm khô bản mỏng bằng một luồng không khí, kiểm tra dưới ánh sáng đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) phải cho ba vết tách rõ ràng.
B. Thêm 5 ml *acid sulfuric (TT)* vào 2 mg chế phẩm, màu đỏ đậm tạo thành. Thêm tiếp 2,5 ml *nước* vào dung dịch thu được, màu chuyển sang màu vàng.
C. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong hỗn hợp gồm 1 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)* và 5 ml *nước*. Lắc và thêm 1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)*. Dung dịch tạo thành không được đục hơn hỗn hợp gồm 1 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)*, 5 ml *dung dịch kali clorid 0,0021 %* và 1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)*.

pH
Từ 4,5 đến 7,5 (Phụ lục 6.2)
Lắc kỹ để phân tán 0,1 g chế phẩm trong 10 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, đem đo pH.

Góc quay cực riêng
Từ -203° đến -216°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Độ hấp thụ riêng
Từ 290 đến 310 tại bước sóng 353 nm, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 4.1).
Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong *dung dịch đệm pH 2,0 (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *dung dịch đệm pH 2,0 (TT)* và đem đo độ hấp thụ tại bước sóng 353 nm.

Tạp chất hấp thụ ánh sáng
Đo độ hấp thụ của dung dịch trong vòng 1 h kể từ khi bắt đầu chuẩn bị dung dịch (Phụ lục 4.1).
Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong hỗn hợp *dung dịch acid hydrocloric 1 M - methanol* (1 : 99) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Độ hấp thụ của dung dịch tại bước sóng 430 nm không được quá 0,25 (tính theo chế phẩm đã làm khô).
Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong hỗn hợp *dung dịch acid hydrocloric 1 M - methanol* (1 : 99) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Độ hấp thụ của dung dịch tại bước sóng 490 nm không được quá 0,20 (tính theo chế phẩm đã làm khô).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Cân 60,0 g *2-methyl-2-propanol (TT)* chuyển vào bình định mức dung tích 1000 ml bằng 200 ml *nước*. Thêm 60 ml dung dịch đệm phosphat 0,33 M pH 7,5, 50 ml *dung dịch tetrabutylamoni hydrosulfat 1,0 %* đã được chỉnh pH đến 7,5 bằng *dung dịch natri hydroxyd*

loãng (TT). Thêm 10 ml *dung dịch natri edetat 0,04 %* đã được chỉnh pH đến 7,5 bằng *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*, pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*. Lọc và đuổi khí trước khi dùng.

Dung dịch thử: Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20,0 mg oxytetracyclin chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 20,0 mg 4-epioxytetracyclin chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 20,0 mg tetracyclin hydroclorid chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch phân giải: Trộn 1,5 ml dung dịch đối chiếu (1); 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) và 3,0 ml dung dịch đối chiếu (3) và pha loãng thành 25,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (4): Trộn 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) và 4,0 ml dung dịch đối chiếu (3), pha loãng thành 200,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là *styren-divinylbenzen copolymer* (8 m).

Nhiệt độ cột: 60 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa 4-epioxytetracyclin (pic đầu tiên) và oxytetracyclin (pic thứ hai) ít nhất là 4,0; độ phân giải giữa oxytetracyclin và tetracyclin (pic thứ ba) ít nhất là 5,0. Điều chỉnh lượng 2-methyl-2-propanol trong pha động nếu cần thiết. Hệ số đối xứng của pic oxytetracyclin không được lớn hơn 1,25.

Tiến hành sắc ký dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (4).

Giới hạn: Trên sắc đồ của dung dịch thử:

4-Epioxytetracyclin: Diện tích pic của 4-epioxytetracyclin không được lớn hơn diện tích pic tương ứng trên sắc đồ dung dịch đối chiếu (4) (0,5 %)

Tetracyclin: Diện tích pic của tetracyclin không được lớn hơn diện tích pic tương ứng trên sắc đồ dung dịch đối chiếu (4) (2,0 %).

2-Acetyl-2-decarbamoyloxytetracyclin (được rửa giải trên phần đuôi của pic chính): Diện tích pic của 2-acetyl-2-decarbamoyloxytetracyclin không được lớn hơn 4 lần diện tích của pic của 4-epioxytetracyclin trên sắc đồ dung dịch đối chiếu (4) (2,0 %).

Bỏ qua các pic phụ có diện tích nhỏ hơn 0,02 lần diện tích pic của oxytetracylin trên sắc ký đồ dung dịch phân giải (0,1 %).

Kim loại nặng

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

Lấy 0,5 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 6. Dùng 2,5 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Từ 6,0 % đến 9,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,250 g chế phẩm.

Tro sulfat

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

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.

Tiến hành với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).

Tính toán hàm lượng của $C_{22}H_{24}N_2O_9$ dựa vào diện tích pic chính của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).

Bảo quản

Trong đồ bao gói kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

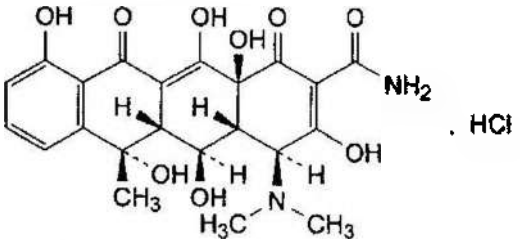
Kháng sinh.

Chế phẩm

Viên nén.

OXYTETRACYCLIN HYDROCLORID

Oxytetracyclinum hydrochloridum



. HCl

$C_{22}H_{24}N_2O_9.HCl$ P.t.l: 496,9

Oxytetracyclin hydroclorid là (4*S*,4a*R*,5*S*,5a*R*,6*S*,12a*S*)-4-(dimethylamino)-3,5,6,10,12,12a-hexahydroxy-6-methyl-1,11-dioxo-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahydrotetracen-2-carboxamid hydroclorid, phải chứa từ 95,0 % đến 102,0 % $C_{22}H_{24}N_2O_9.HCl$, tính theo chế phẩm khan.

Chế phẩm thu được từ quá trình nuôi cấy một số chủng *Streptomyces rimosus* hoặc từ các phương pháp khác.

Tính chất

Bột kết tinh vàng, dễ hút ẩm. Dễ tan trong nước, hơi tan trong ethanol (96 %). Dung dịch trong nước vẩn đục khi để yên do oxytetracyclin kết tủa.

Định tính

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

Bản mỏng: Octadecylsilyl silica gel F_{254}.

Dung môi khai triển: Acetonitril - methanol - dung dịch acid oxalic 6,3 % đã được điều chỉnh pH đến 2,0 bằng amoniac đặc (20 : 20 : 60).

Dung dịch thử: Hòa tan 5 mg chế phẩm trong *methanol (TT)*, pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg *oxytetracyclin hydroclorid chuẩn* trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg *oxytetracyclin hydroclorid chuẩn*, 5 mg *tetracyclin hydroclorid chuẩn* và 5 mg *minocyclin hydroclorid chuẩn* trong *methanol (TT)*, pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl mỗi dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (2). Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 bản mỏng. Làm khô bản mỏng ngoài không khí, kiểm tra dưới ánh sáng đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho ba vết tách ra rõ ràng.

B. Thêm 5 ml *acid sulfuric (TT)* vào 2 mg chế phẩm, màu đỏ đậm tạo thành. Thêm dung dịch thu được vào 2,5 ml *nước*, màu chuyển sang vàng.

C. Chế phẩm cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

pH

Từ 2,3 đến 2,9 (Phụ lục 6.2).

Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 10 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*.

Góc quay cực riêng

Từ -188° đến -200°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Độ hấp thụ riêng

Từ 270 đến 290 tại bước sóng 353 nm, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 4.1).

Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong *dung dịch đệm pH 2,0 (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *dung dịch đệm pH 2,0 (TT)* và đo độ hấp thụ tại 353 nm.

Tạp chất hấp thụ ánh sáng

Do độ hấp thụ của dung dịch trong vòng 1 h kể từ khi bắt đầu chuẩn bị các dung dịch (Phụ lục 4.1).

Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi gồm *dung dịch acid hydrocloric 1 M - methanol* (1 : 99) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi. Độ hấp thụ của dung dịch tại bước sóng 430 nm không được quá 0,50 (tính theo chế phẩm khan).

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong hỗn hợp *dung dịch acid hydrocloric 1 M - methanol* (1 : 99) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi. Độ hấp thụ của dung dịch tại bước sóng 490 nm không được quá 0,20 (tính theo chế phẩm khan).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch trước khi dùng.

Pha động A: Cân 30,0 g *2-methyl-2-propanol (TT)* chuyển vào bình định mức dung tích 1000 ml bằng 200 ml *nước*. Thêm 60 ml *dung dịch đệm phosphat 0,33 M pH 7,5 (TT)*, 50 ml *dung dịch tetrabutylamoni hydrosulfat 1,0 %* đã được chỉnh pH đến 7,5 bằng *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*. Thêm 10 ml *dung dịch natri edetat 0,04 %* đã được chỉnh pH đến 7,5 bằng *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*, pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*. Lọc và đuổi khí trước khi dùng.

Pha động B: Pha tương tự pha động A, nhưng dùng 100,0 g *2-methyl-2-propanol (TT)*.

Dung dịch thử: Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20,0 mg oxytetracyclin chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 20,0 mg 4-epioxytetracyclin chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 20,0 mg tetracyclin hydroclorid chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 8,0 mg α-apooxytetracyclin chuẩn trong 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M* và pha loãng thành 100,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (5): Hòa tan 8,0 mg β-apooxytetracyclin chuẩn trong 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M* và pha loãng thành 100,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (6): Trộn 1,5 ml dung dịch đối chiếu (1), 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2), 3,0 ml dung dịch đối chiếu (3), 3,0 ml dung dịch đối chiếu (4), 3,0 ml dung dịch đối chiếu (5) và pha loãng thành 25,0 ml bằng dung *dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (7): Trộn 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2), 4,0 ml dung dịch đối chiếu (3), 40,0 ml dung dịch đối chiếu (5) và pha loãng thành 200,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là *styren-divinylbenzen copolymer* (8 µm).

Nhiệt độ cột: 60 °C.

Detector quang phổ tử ngoại tại bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 15	70	30
15 - 30	30	70
30 - 45	70	30

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiêm dung dịch đối chiếu (6). Độ phân giải giữa pic tạp chất A (pic đầu tiên) và pic oxytetracyclin (pic thứ hai) phải ít nhất bằng 4,0. Độ phân giải giữa oxytetracyclin và pic tạp chất B (pic thứ ba) phải ít nhất bằng 5,0. Độ phân giải giữa pic tạp chất D (pic thứ tư) và pic tạp chất E (pic thứ 5) phải ít nhất bằng 3,5. Nếu cần, điều chỉnh tỷ lệ pha động A và pha động B và/hoặc điều chỉnh chương trình thời gian để đạt được rửa giải một bước. Hệ số đối xứng của pic oxytetracyclin không được lớn hơn 1,25.
Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (7).
Giới hạn:
Tạp chất A: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của pic tạp chất A không được lớn hơn diện tích của pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (7) (0,5 %).
Tạp chất B: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của pic tạp chất B không được lớn hơn diện tích của pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (7) (2,0 %).
Tạp chất C: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, tạp chất C rửa giải trên đuôi pic chính và có diện tích không được lớn hơn 4 lần diện tích của pic tạp chất A thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (7) (2,0 %).
Tổng các tạp chất D, E và F (rửa giải giữa D và E): tổng diện tích các pic tạp chất D, E và F không lớn hơn diện tích của pic tạp chất E thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (7) (2,0 %).
Bỏ qua các pic có diện tích pic nhỏ hơn hoặc bằng 0,02 lần diện tích pic oxytetracyclin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6) (0,1 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 4-epioxytetracyclin(4*R*,4a*R*,5*S*,5a*R*,6*S*,12a*S*)-4-(dimethylamino)-3,5,6,10,12,12a-hexahydroxy-6-methyl-1,11-dioxo-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahydro-tetracen-2-carboxamid),
Tạp chất B: Tetracyclin,
Tạp chất C: 2-acetyl-2-decarbamoyloxytetracyclin(4*S*,4a*R*,5*S*,5a*R*,6*S*,12a*S*)-2-acetyl-4-(dimethylamino)-3,5,6,10,12,12a-hexahydroxy-6-methyl-4a,5a,6,12a-tetrahydrotetracen-1,11(4*H*,5*H*)-dion),
Tạp chất D: α-apo-oxytetracyclin (3*S*,4*S*,5*S*)-4-[(1*R*)-4,5-dihydroxy-9-methyl-3-oxo-1,3-dihydronaphtho [2,3-c] furan-1-yl]-3-(dimethylamino)-2,5-dihydroxy-6-oxocyclo-hex-1-enecarboxamid),
Tạp chất E: β-apo-oxytetracyclin (3*S*,4*S*,5*R*)-4-[(1*R*)-4,5-dihydroxy-9-methyl-3-oxo-1,3-dihydronaphtho [2,3-c]-furan-1-yl]-3-(dimethylamino)-2,5-dihydroxy-6-oxocyclo-hex-1-enecarboxamid,
Tạp chất F: anhydro-oxytetracyclin (4*S*,4a*R*,5*R*,12a*S*)-4-(dimethylamino)-3,5,10,11,12a-pentahydroxy-6-methyl-1,12-dioxo-1,4,4a,5,12,12a-hexahydrotetracen-2-carbo-xamid).

Kim loại nặng
Không được quá 50 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 0,5 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 6. Dùng 2,5 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Không được quá 2,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,500 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 0,4 EU/mg, nếu chế phẩm được dùng để pha chế thuốc tiêm mà không có quy trình loại bỏ nội độc tố thích hợp.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Điều kiện sắc ký như phần thử tạp chất liên quan.
Tiến hành với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).
Tính hàm lượng của $C_{22}H_{25}ClN_2O_9$ dựa vào diện tích pic chính của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).
1 mg oxytetracyclin tương đương với 1,079 mg oxytetracyclin hydroclorid.

Bảo quản
Đựng trong đồ bao gói kín, tránh ánh sáng. Nếu chế phẩm vô khuẩn, bảo quản trong bao bì kín, vô khuẩn.

Loại thuốc
Kháng sinh.

Chế phẩm
Viên nén, nang.

NANG OXYTETRACYCLIN
Capsulae Oxytetracyclini

Là nang cứng chứa oxytetracyclin hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng oxytetracyclin hydroclorid, $C_{22}H_{24}N_2O_9.HCl$, từ 95,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

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

Bản mỏng: Silica gel H.
Phun dung dịch natri edetat 10 % đã điều chỉnh đến pH 7,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)* lên bản mỏng, khoảng 10 ml cho một bản mỏng kích thước (100 mm × 200 mm). Để khô ở vị trí nằm ngang ít nhất 1 h. Trước khi sử dụng, hoạt hoá bản mỏng ở 110 °C trong 1 h.
Dung môi khai triển: Nước - methanol - dicloromethan (6 : 35 : 59)
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột thuốc trong nang tương ứng 10 mg oxytetracyclin hydroclorid với 20 ml *methanol (TT)*, ly tâm lấy phần dung dịch trong ở trên.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg oxytetracyclin hydroclorid chuẩn trong 10 ml *methanol (TT).*
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg oxytetracyclin hydroclorid chuẩn và 5 mg demeclocyclin hydroclorid chuẩn trong 10 ml *methanol (TT).*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 1 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí, màu sắc và kích thước. Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách nhau rõ ràng riêng biệt.
B. Lấy một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với 0,5 mg oxytetracylin hydroclorid, thêm 2 ml *acid sulfuric (TT)*, màu đỏ thẫm được tạo thành. Thêm 1 ml *nước*, màu chuyển thành vàng.
C. Lấy một lượng bột thuốc tương ứng với 20 mg oxytetracyclin hydroclorid, lắc kỹ với 10 ml *nước*, lọc, dịch lọc cho phản ứng của clorid (Phụ lục 8.1).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g bột thuốc; áp suất giảm không quá 0,7 kPa; 60 °C; 3 h).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, bỏ 10 ml dịch lọc đầu, pha loãng nếu cần. Đo độ hấp thụ ở bước sóng cực đại khoảng 353 nm (Phụ lục 4.1), trong cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).* Tính lượng oxytetracyclin hydroclorid hòa tan theo A (1 %,1 cm). Lấy 282 là giá trị A (1 %,1 cm) của oxytetracyclin hydroclorid ở bước sóng cực đại 353 nm.
Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng oxytetracyclin hydroclorid, $C_{22}H_{24}N_2O_9$.HCl, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Tạp chất hấp thụ ánh sáng
Hòa tan lượng bột thuốc của 5 nang trong hỗn hợp *dung dịch acid hydrocloric 1 M - methanol* (1 : 99) để được hai dung dịch thử có nồng độ oxytetracyclin hydroclorid là 0,20 % và 1,0 %. Lọc. Độ hấp thụ của dung dịch 0,20 % ở bước sóng khoảng 430 nm không được lớn hơn 0,75 (Phụ lục 4.1), tính theo bột thuốc đã làm khô. Độ hấp thụ của dung dịch 1,0 % ở bước sóng khoảng 490 nm không được lớn hơn 0,40, tính theo bột thuốc đã làm khô.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch acid hydrocloric 0,1 M trong methanol: Pha loãng 1 thể tích *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* thành 10 thể tích bằng *methanol (TT).*
Pha động: Hòa tan 50,0 g *2-methylpropan-2-ol (TT)* trong 200 ml *nước*, thêm 60 ml *dung dịch đệm phosphat 0,33 M pH 7,5 (TT)*, 50 ml *dung dịch tetrabutylamoni hydrosulfat 1,0 %* đã được điều chỉnh pH đến 7,5 bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)* và 10 ml *dung dịch natri edetat 0,04 %* đã được điều chỉnh pH đến 7,5 bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT).* Thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột tương ứng khoảng 0,1 g oxytetracyclin hydroclorid cho vào bình định mức 100 ml, thêm 80 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M trong methanol*, lắc siêu âm để hòa tan, thêm đến vạch định mức với cùng dung môi, trộn đều và lọc qua màng lọc. Pha loãng 1,0 ml dịch lọc thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch chuẩn (1): Dung dịch oxytetracyclin chuẩn 0,1 % trong cùng dung môi.
Dung dịch chuẩn (2): Dung dịch oxytetracyclin chuẩn 0,005 % trong cùng dung môi.
Dung dịch chuẩn (3): Dung dịch 4-epioxytetracyclin chuẩn 0,1 % trong cùng dung môi.
Dung dịch chuẩn (4): Dung dịch tetracyclin hydroclorid chuẩn 0,1 % trong cùng dung môi.
Dung dịch phân giải: Hút 1,5 ml dung dịch chuẩn (1), 1 ml dung dịch chuẩn (3) và 3 ml dung dịch chuẩn (4) pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 nm) được nhồi pha tĩnh *styren-divinylbenzen copolymer* (8 - 10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Nhiệt độ cột: 60 °C.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiêm dung dịch phân giải. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic đầu (4-epioxytetracyclin) và pic thứ hai (oxytetracyclin) không nhỏ hơn 4,0; độ phân giải giữa pic thứ hai (oxytetracyclin) và pic thứ ba (tetracyclin) không nhỏ hơn 5,0 (nếu cần điều chỉnh lượng 2-methylpropan-2-ol trong pha động để tăng

độ phân giải); hệ số đối xứng của pic oxytetracyclin không lớn hơn 1,25.
Tính hàm lượng oxytetracyclin hydroclorid, $C_{22}H_{24}N_2O_9.HCl$, trong nang từ diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn (2), dung dịch thử và hàm lượng $C_{22}H_{24}N_2O_9$ trong oxytetracyclin chuẩn.
1 mg $C_{22}H_{24}N_2O_9$ tương đương với 1,079 mg $C_{22}H_{24}N_2O_9.HCl$.

Bảo quản
Để ở nơi mát, trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

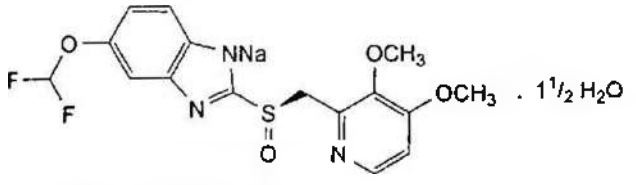
Loại thuốc
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
100 mg.

PANTOPRAZOL NATRI SESQUIHYDRAT

Pantoprazolum natricum sesquihydricum

Pantoprazol natri



và đồng phân đối quang

$C_{16}H_{14}F_2N_3NaO_4S.1½\ H_2O$ P.t.l: 432,4

Pantoprazol natri sesquihydrat là natri 5-(difluoromethoxy)-2-[(*RS*)-[(3,4-dimethoxypyridin-2-yl)methyl]sulfinyl] benzimidazol-1-id sesquihydrat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{16}H_{14}F_2N_3NaO_4S$, tính theo chế phẩm khan.
Chế phẩm được sản xuất theo phương pháp đảm bảo thu được dạng ngậm nước thích hợp và nếu được kiểm tra bằng một phương pháp phù hợp phải chứng minh được chế phẩm ngậm 1,5 phân tử nước (ví dụ như phương pháp cận hồng ngoại hoặc nhiễu xạ tia X).

Tính chất
Bột màu trắng hay gần như trắng.
Dễ tan trong nước và trong ethanol (96%), thực tế không tan trong hexan.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của pantoprazol natri sesquihydrat chuẩn.
B. Chế phẩm phải cho phản ứng của natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không đậm hơn dung dịch màu đối chiếu N_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực
Từ -0,4° đến +0,4° (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong 10 ml *nước*, điều chỉnh pH từ 11,5 đến 12,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,2 M (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml bằng *nước*.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Dung dịch *dikali hydrophosphat (TT)* 1,74 g/l, điều chỉnh đến pH 7,00 ± 0,05 bằng dung dịch *acid phosphoric (TT)* 330 g/l.
Pha động B: Acetonitril dùng trong phương pháp sắc ký.
Dung môi pha mẫu: Acetonitril dùng trong phương pháp sắc ký - dung dịch natri hydroxyd 0,001 M (50 : 50).
Dung dịch thử: Hòa tan 23 mg chế phẩm trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng dung môi pha mẫu. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng dung môi pha mẫu.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan chất chuẩn có trong một lọ pantoprazol chuẩn dùng để đánh giá tính phù hợp của hệ thống (chứa tạp A, B, C, D và E) trong 1,0 ml dung môi pha mẫu.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (12,5 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột: 40 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 290 nm, với tạp chất C ở bước sóng 305 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 40	80 → 20	20 → 80
40 - 45	20 → 80	80 → 20

Tiến hành sắc ký với mẫu trắng, dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và (2).
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo pantoprazol chuẩn dùng để đánh giá tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) để định tính các pic tạp A, B, C, D + F và E.
Thời gian lưu tương đối so với pantoprazol (thời gian lưu khoảng 11 min) của tạp chất C khoảng 0,6; tạp chất A khoảng 0,9; tạp chất D và F khoảng 1,2; tạp chất E khoảng 1,3; tạp chất B khoảng 1,5.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), hệ số phân giải giữa tạp chất E và tạp chất D + F không nhỏ hơn 1,5.

Sắc ký đồ thu được tương tự như sắc ký đồ được cung cấp từ pantoprazol chuẩn dùng để đánh giá tính phù hợp của hệ thống.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất C với 0,3.
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Tổng tạp chất D và F: Tổng diện tích pic tạp chất D và F không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Tạp chất B, C, E: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Tổng diện tích tất cả các pic tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Bỏ qua các pic có diện tích không lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 5-(difluoromethoxy)-2-[[(3,4-dimethoxypyridin-2-yl)methyl]sulfonyl]-1*H*-benzimidazol.
Tạp chất B: 5-(difluoromethoxy)-2-[[(3,4-dimethoxypyridin-2-yl)methyl]sulfanyl]-1*H*-benzimidazol.
Tạp chất C: 5-(difluoromethoxy)-1*H*-benzimidazol-2-thiol.
Tạp chất D: 5-(difluoromethoxy)-2-[(*RS*)-[(3,4-dimethoxypyridin-2-yl)methyl]sulfinyl]-1-methyl-1*H*-benzimidazol.
Tạp chất F: 6-(difluoromethoxy)-2-[(*RS*)-[(3,4-dimethoxypyridin-2-yl)methyl]sulfinyl]-1-methyl-1*H*-benzimidazol.
Tạp chất E: Hỗn hợp các dồng phân lập thể của 6,6' - bis(difluoro methoxy)-2,2'-bis[[(3,4-yl)methyl]sulfinyl]-1-methyl-1*H*-benzimidazol, dimethoxypyridin-2-yl)methyl]sulfinyl]-1*H*,1'*H*-5,5'-bibenzimidazolyl.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8)
Lấy 1,0 g chế phẩm, tiến hành thử theo phương pháp 3.
Dùng 2,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Từ 5,9 % đến 6,9 %. (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,150 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 80 ml *acid acetic khan (TT)*, thêm vào 5 ml *anhydrid acetic (TT)* và lắc hỗn hợp trong ít nhất 10 min. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 20,27 mg $C_{16}H_{14}F_2N_3NaO_4S$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Ức chế bơm proton, điều trị loét đường tiêu hóa.

Chế phẩm
Viên nén, nang, thuốc bột pha tiêm.

VIÊN NÉN BAO TAN TRONG RUỘT PANTOPRAZOL
Tabellae Pantoprazoli

Là viên nén bao tan trong ruột chứa pantoprazol natri.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng pantoprazol, $C_{16}H_{15}F_2N_3O_4S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

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

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Giai đoạn trong môi trường acid
Môi trường hòa tan: 1000 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 2 h.
Cách tiến hành:
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - triethylamin - nước (40 : 1 : 60). Điều chỉnh pH đến 7,0 ± 0,05 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch chuẩn gốc: Cân một lượng pantoprazol natri chuẩn tương ứng 20 mg pantoprazol vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,02 M (TT)* và lắc siêu âm đến khi hòa tan hoàn toàn. Thêm 2 ml *acetonitril (TT)* và thêm *dung dịch natri hydroxyd 0,02 M (TT)* đến vạch, lắc đều.
Dung dịch chuẩn: Hút 1,0 ml dung dịch chuẩn gốc vào bình định mức thích hợp và pha loãng với hỗn hợp gồm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M - dung dịch natri hydroxyd 0,5 M* (1 : 1) để được dung dịch có nồng độ pantoprazol tương ứng với nồng độ của dung dịch thử.
Dung dịch thử: Sau 2 h, hút dịch hòa tan, lọc. Pha loãng 10,0 ml dịch lọc thu được thành 20,0 ml bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,5 M*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (7,5 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 µm).

Nhiệt độ cột: 30 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 290 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số đối xứng của pic pantoprazol không lớn hơn 2,5 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic pantoprazol trên sắc ký đồ thu được từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính lượng pantoprazol hòa tan từ diện tích pic pantoprazol trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của $C_{16}H_{15}F_2N_3O_4S$ trong pantoprazol natri chuẩn (phân tử lượng của pantoprazol là 383,37 và pantoprazol natri là 405,35).
Yêu cầu: Không quá 10 % lượng pantoprazol so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 2 h (Phụ lục 11.4, mục 4.3)
Giai đoạn trong môi trường đệm
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 1000 ml *dung dịch đệm phosphat pH 6,8.*
Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 30 min.
Dung dịch đệm phosphat pH 6,8: Trộn dung dịch *acid hydrocloric 0,1 M (TT)* với *dung dịch natri phosphat tribasic 0,2 M* theo tỉ lệ 3 : 1 và điều chỉnh pH đến 6,8 ± 0,05 bằng *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, nếu cần.
Dung dịch chuẩn: Hút 1,0 ml dung dịch chuẩn gốc ở giai đoạn môi trường acid vào bình định mức thích hợp và pha loãng với hỗn hợp gồm *dung dịch đệm phosphat pH 6,8* và *dung dịch natri hydroxyd 0,5 M* (1 : 1) để được dung dịch có nồng độ pantoprazol tương ứng với nồng độ của dung dịch thử.
Dung dịch thử: Chuyển viên đã qua thử giai đoạn acid ở trên vào bình thử, thêm 1000 ml *dung dịch đệm phosphat pH 6,8* đã được làm nóng trước đến nhiệt độ 37 ± 0,5 °C. Sau 30 min, lấy dịch hòa tan, lọc. Pha loãng 10,0 ml dịch lọc thành 20,0 ml bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,5 M.*
Cách tiến hành:
Xác định lượng pantoprazol hòa tan bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với các điều kiện sắc ký giống như giai đoạn acid.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng pantoprazol, $C_{16}H_{15}F_2N_3O_4S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong cả hai giai đoạn (Phụ lục 11.4, mục 4.3).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, dung dịch kiểm tra tính phù hợp của hệ thống, dung dịch thử và *điều kiện sắc ký* như mô tả trong phần Định lượng.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng dung dịch chuẩn ở phần Định lượng với *dung dịch natri hydroxyd 0,02 M* để được dung dịch có nồng độ pantoprazol 0,0004 mg/ml.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch kiểm tra tính phù hợp của hệ thống. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic pantoprazol và pic tạp chất A không nhỏ hơn 3; Hệ số đối xứng của pic pantoprazol không lớn hơn 2,0.
Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic pantoprazol trên sắc ký đồ thu được trong 6 lần tiêm nhắc lại không lớn hơn 10,0 %.
Tiến hành sắc ký dung dịch thử với thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của pic pantoprazol.
Thời gian lưu tương đối so với pantoprazol: của tạp chất D và F khoảng 1,2; tạp chất A khoảng 1,3; tạp chất B khoảng 2,7.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 2,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %).
Tổng tạp chất D và F (hai tạp chất này không tách hoàn toàn nên có thể tích phân cùng nhau): Tổng diện tích pic tạp chất D và F không được lớn hơn 2,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %).
Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,3 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,2 %).
Tổng diện tích tất cả các pic tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %).
Bỏ qua các pic có diện tích không lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm pH 7,9: Hòa tan 3,85 g *amoni acetat (TT)* và 1,1 g *tetrabutylamoni hydrosulfat (TT)* trong 1000 ml *nước* và điều chỉnh pH đến 7,9 bằng *dung dịch amoniac 12,5 %.*
Pha động: Acetonitril - dung dịch đệm pH 7,9 (35 : 65).
Dung môi pha mẫu: Acetonitril - dung dịch natri hydroxyd 0,02 M (1 : 1).
Dung dịch chuẩn: Cân một lượng pantoprazol natri chuẩn tương ứng 20 mg pantoprazol vào bình định mức 100 ml, thêm 60 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,02 M (TT)* và lắc siêu âm 5 min để hòa tan. Thêm 2 ml *acetonitril (TT)* và *dung dịch natri hydroxyd 0,02 M* đến vạch, lắc đều.
Dung dịch kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Pha pantoprazol natri chuẩn và tạp chất A chuẩn của pantoprazol trong *dung dịch natri hydroxyd 0,02 M (TT)* để được dung dịch chứa pantoprazol natri 0,2 mg/ml và tạp chất A 0,0004 mg/ml.
Dung dịch thử: Lấy 20 viên, bóc bỏ vỏ bao, cân xác định khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính

xác một lượng bột viên tương ứng với 20 mg pantoprazol vào bình định mức 100 ml, thêm 60 ml dung môi pha mẫu và lắc siêu âm 15 min. Thêm dung môi pha mẫu đến vạch, lắc đều, lọc.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 290 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch kiểm tra tính phù hợp của hệ thống. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic pantoprazol và pic tạp chất A không nhỏ hơn 3; Hệ số đối xứng của pic pantoprazol không lớn hơn 2,0.

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic pantoprazol trên sắc ký đồ thu được trong 6 lần tiêm nhắc lại không lớn hơn 2,0 %.

Tính hàm lượng pantoprazol trong viên từ diện tích pic pantoprazol trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của $C_{16}H_{15}F_2N_3O_4S$ trong pantoprazol natri chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

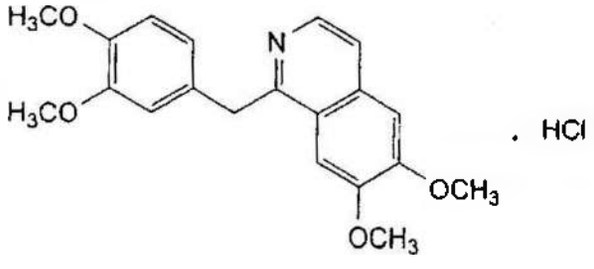
Thuốc chống loét dạ dày, tá tràng, ức chế bơm proton.

Hàm lượng thường dùng

20 mg, 40 mg.

PAPAVERIN HYDROCLORID

Papaverini hydrochloridum



$C_{20}H_{21}NO_4.HCl$ P.t.l: 375,9

Papaverin hydroclorid là 1-(3,4-dimethoxybenzyl)-6,7-dimethoxyisoquinolin hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{20}H_{21}NO_4.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Tinh thể hay bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng.

Hơi tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của papaverin hydroclorid chuẩn.

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Diethylamin - ethyl acetat - toluen (10 : 20 : 70).

Dung dịch thử: Hòa tan 5 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 5 mg papaverin hydroclorid chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 2/3 chiều dài bản mỏng. Sấy khô bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 2 h và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vị trí và kích thước giống với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

C. Thêm 5 ml *amoniac đậm đặc (TT)* bằng cách nhỏ từng giọt vào 10 ml dung dịch S (xem mục Độ trong và màu sắc của dung dịch) và để yên 10 min. Tủa sau khi rửa và sấy khô có điểm chảy từ 146 °C đến 149 °C (Phụ lục 6.7).

D. Chế phẩm cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,4 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)*, đun nóng nhẹ nếu cần, và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Từ 3,0 đến 4,0 (Phụ lục 6.2).

Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Dung dịch kali dihydrophosphat 0,34 % (TT) được điều chỉnh đến pH 3,0 bằng *acid phosphoric loãng (TT)*.

Pha động B: Acetonitril (TT).

Pha động C: Methanol (TT).

Hỗn hợp dung môi: Acetonitril - pha động A (20 : 80).

Dung dịch thử: Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 12 mg noscapin chuẩn trong 1,0 ml dung dịch thử và pha loãng thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh *base-deactivated octylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 238 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Pha động C (% tt/tt)
0 - 5	85	5	10
5 - 12	85 → 60	5	10 → 35
12 - 20	60	5	35
20 - 24	60 → 40	5 → 20	35 → 40
24 - 27	40	20	40
27 - 32	40 → 85	20 → 5	40 → 10

Thời gian lưu tương đối so với papaverin (thời gian lưu khoảng 24 min): Tạp chất E khoảng 0,7; tạp chất C khoảng 0,75; tạp chất B khoảng 0,8; tạp chất A khoảng 0,9; tạp chất F khoảng 1,1; tạp chất D khoảng 1,2.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất A và pic của papaverin ít nhất là 1,5.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng: Tạp chất A là 6,2; tạp chất C là 2,7; tạp chất D là 0,5.
Bất kỳ tạp chất nào: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu cần, không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: (3*S*)-6,7-dimethoxy-3-[(5*R*)-4-methoxy-6-methyl-5,6,7,8-tetrahydro-1,3-dioxolo[4,5-*g*]isoquinolin-5-yl] isobenzofuran-1(3*H*)-on (noscapin).
Tạp chất B: (*RS*)-(3,4-dimethoxyphenyl)(6,7-dimethoxyisoquinolin-1-yl)methanol (papaverinol).
Tạp chất C: 1-(3,4-dimethoxybenzyl)-6,7-dimethoxy-3,4-dihydroisoquinolin (dihydropapaverin).
Tạp chất D: (3,4-dimethoxyphenyl)(6,7-dimethoxyisoquinolin-1-yl)methanon (papaveraldin).
Tạp chất E: (1*RS*)-1-(3,4-dimethoxybenzyl)-6,7-dimethoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin (tetrahydropapaverin)
Tạp chất F: 2-(3,4-dimethoxyphenyl)-*N*-[2-(3,4-dimethoxyphenyl) ethyl]acetamid.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng lượng chế phẩm đã làm khô ở phép thử Mất khối lượng do làm khô.

Định lượng
Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 5,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* và 50 ml *ethanol 96 % (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
Đọc thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tiêu thụ giữa 2 điểm uốn.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 37,59 mg $C_{20}H_{22}ClNO_4$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Ức chế phosphodiesterase; giãn cơ trơn, chống co thắt.

Chế phẩm
Viên nén, nang tác dụng kéo dài, thuốc tiêm.

VIÊN NÉN PAPAVERIN HYDROCLORID
Tabellae Papaverini hydrochloridi

Là viên nén chứa papaverin hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng papaverin hydroclorid, $C_{20}H_{21}NO_4.HCl$, từ 93,0 % đến 107,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Cân một lượng bột chế phẩm tương ứng với khoảng 30 mg papaverin hydroclorid, thêm 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Cho vào bình chiết và chiết bằng 10 ml *cloroform (TT)*, lọc qua giấy lọc để thu lớp cloroform, bốc hơi dịch lọc trên cách thủy đến khô và sấy cắn ở 105 °C trong 2 h. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của papaverin hydroclorid.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng tới nồng độ thích hợp bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 250 nm. So sánh với dung dịch papaverin hydroclorid chuẩn có nồng độ tương đương pha trong cùng một dung môi.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng papaverin hydroclorid, $C_{20}H_{21}NO_4.HCl$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

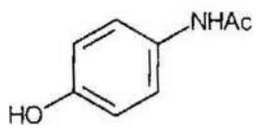
Định lượng
Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 30 mg papaverin hydroclorid chuyển vào một bình nón có nút mài, thêm vào khoảng 100 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, lắc bằng máy lắc trong 15 min. Lọc hỗn hợp vào bình định mức 200 ml, thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* đến định mức. Hút 3,0 ml dung dịch này cho vào một bình chiết, thêm 10 ml *nước* và kiềm hóa bằng *dung dịch amoniac 6 M (TT)*. Chiết alkaloid 5 lần, mỗi lần bằng 5 ml *cloroform (TT)* và bốc hơi dịch chiết gộp đến khô. Hòa tan cắn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* đến vừa đủ 100,0 ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 251 nm, trong cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng. Song song tiến hành với dung dịch papaverin hydroclorid chuẩn có nồng độ khoảng 4,5 µg/ml. Tính hàm lượng papaverin hydroclorid, $C_{20}H_{21}NO_4$.HCl, có trong viên dựa vào độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{20}H_{21}NO_4$.HCl trong papaverin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản
Đựng trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống co thắt.

Hàm lượng thường dùng
40 mg.

PARACETAMOL
Paracetamolum



$C_8H_9NO_2$ P.t.l: 151,2

Paracetamol là *N*-(4-hydroxyphenyl) acetamid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_8H_9NO_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng, không mùi. Hơi tan trong nước, rất khó tan trong cloroform, ether, methylen clorid, dễ tan trong dung dịch kiềm, ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, C.
Nhóm II: B, C, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của paracetamol chuẩn.
B. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Lấy 1,0 ml dung dịch, thêm 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, thêm *methanol (TT)* thành 100,0 ml. Bảo quản dung dịch này tránh ánh sáng và đem đo ngay độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) ở bước sóng cực đại 249 nm. A(1 %, 1 cm) phải trong khoảng 860 đến 980.
C. Điểm chảy (Phụ lục 6.7): Từ 168 °C đến 172 °C
D. Đun nóng 0,1 g chế phẩm trong 1 ml *acid hydrocloric (TT)* trong 3 min, thêm 1 ml *nước*, làm lạnh trong đá, không có tủa tạo thành. Thêm 0,05 ml *dung dịch kali dicromat 0,49 %*, xuất hiện màu tím và không chuyển sang màu đỏ.
E. Chế phẩm phải cho phản ứng của nhóm acetyl (Phụ lục 8.1). Thực hiện phản ứng bằng cách đun trực tiếp trên lửa.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Các dung dịch được chuẩn bị ngay khi tiến hành thử nghiệm.
Pha động: Hỗn hợp gồm 375 thể tích *dung dịch dinatri hydrophosphat 1,79 %*, 375 thể tích *dung dịch natri dihydrophosphat 0,78 %* và 250 thể tích *methanol (TT)* có chứa 0,46 % của *dung dịch tetrabutylamoni hydroxid 40 %*.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 2,5 ml *methanol (TT)* có chứa 0,46 % *dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 40 %* và pha loãng thành 10,0 ml với hỗn hợp đồng thể tích của *dung dịch dinatri hydrophosphat 1,79 %* và *dung dịch natri dihydrophosphat 0,78 %*.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml bằng pha động. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5,0 mg *4-aminophenol (TT)*, 5 mg paracetamol chuẩn và 5,0 mg *cloroacetanilid (TT)* trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 250,0 ml với pha động.
Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 20,0 mg *4-nitrophenol (TT)* trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Nhiệt độ cột: 35 °C.
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 245 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 12 lần thời gian lưu của pic paracetamol.
Thời gian lưu tương đối so paracetamol (thời gian lưu khoảng 4 min): Tạp chất K khoảng 0,8; tạp chất F khoảng 3; tạp chất J khoảng 7.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic của tạp chất

K và pic của paracetamol ít nhất là 4; tỉ lệ giữa tín hiệu và nhiễu cho pic của tạp chất J ít nhất là 50.

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

Tạp chất J: Diện tích pic tạp chất J không được lớn hơn 0,2 lần diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (10 phần triệu).

Tạp chất K: Diện tích pic tạp chất K không được lớn hơn diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (50 phần triệu).

Tạp chất F: Diện tích pic tạp chất F không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,05%).

Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,01 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: *N*-(2-hydroxyphenyl)acetamid

Tạp chất B: *N*-(4-hydroxyphenyl)propanamid

Tạp chất C: *N*-(3-cloro-4-hydroxyphenyl)acetamid

Tạp chất D: *N*-phenylacetamid

Tạp chất E: 1-(4-hydroxyphenyl)ethanon

Tạp chất F: 4-nitrophenol

Tạp chất G: 1-(4-hydroxyphenyl)ethanon oxim

Tạp chất H: 4-(acetylamino)phenyl acetat

Tạp chất I: 1-(2-hydroxyphenyl)ethanon

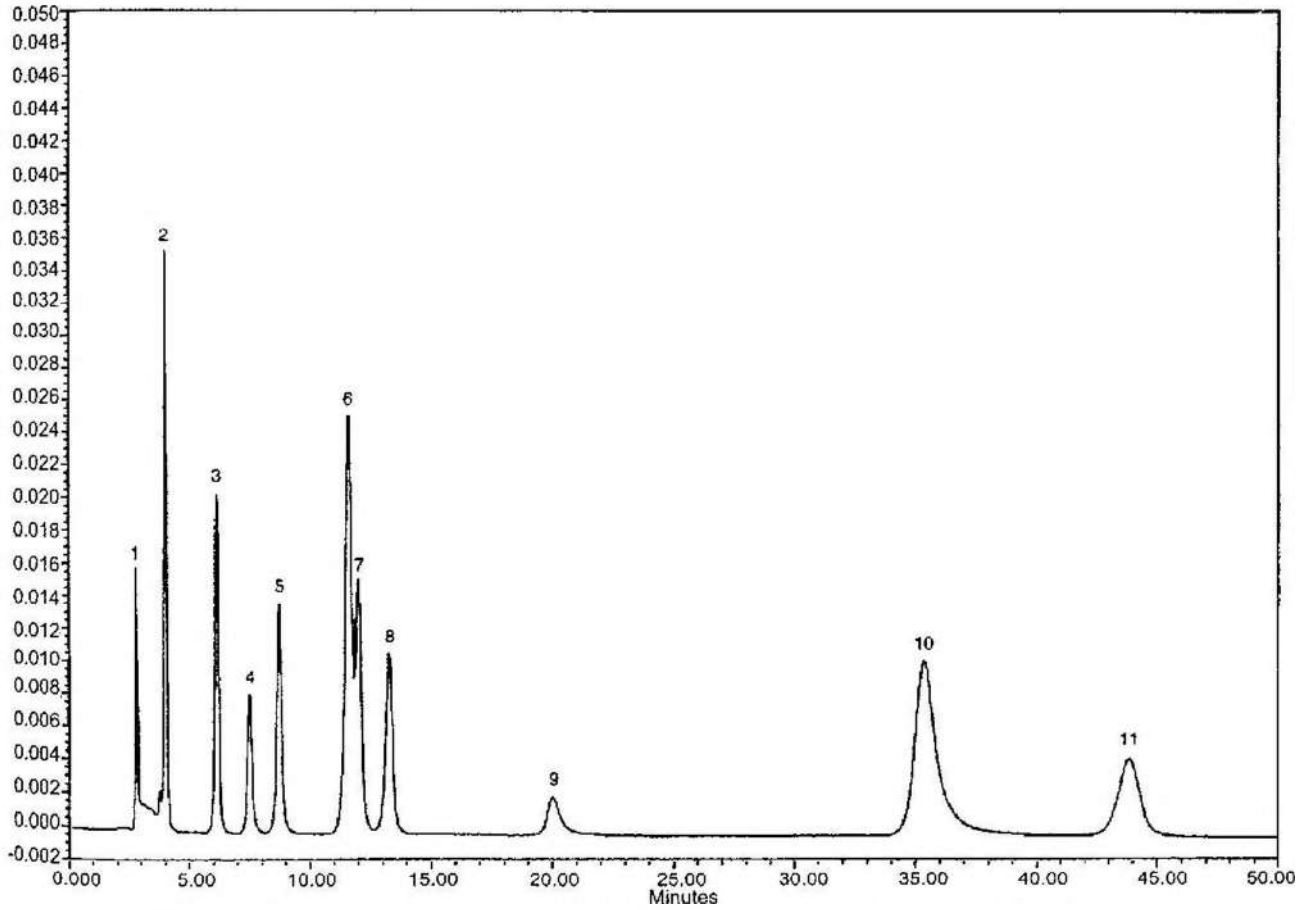
Tạp chất J: *N*-(4-clorophenyl)acetamid (cloroacetanilid)

Tạp chất K: 4-aminophenol.

Kim loại nặng

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

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong hỗn hợp *nước - aceton* (15 : 85) và pha loãng thành 20,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi. Lấy 12 ml dung dịch này thử theo phương pháp 2. Dùng dung dịch chì mẫu 1 phần triệu thu được bằng cách pha loãng *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu (TT)* với hỗn hợp dung môi trên để chuẩn bị mẫu đối chiếu.



1. Tạp chất K
2. Paracetamol
3. Tạp chất B
4. Tạp chất A
5. Tạp chất C
6. Các tạp chất E và D
7. Tạp chất G
8. Tạp chất H
9. Tạp chất F
10. Tạp chất I
11. Tạp chất J

Hình 1. Sắc ký đồ của thử nghiệm các tạp chất liên quan

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
Dùng 1,000 g chế phẩm; sấy ở 100 °C đến 105 °C.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 10 ml *nước* và 30 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)*. Đun sôi hồi lưu trong 1 h, làm lạnh và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*. Lấy 20,0 ml dung dịch, thêm 40 ml *nước*, 40 g *nước* đá, 15 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và 0,1 ml *dung dịch feroin (TT)*. Định lượng bằng *dung dịch amoni ceri sulfat 0,1 M (CĐ)* cho đến khi xuất hiện màu vàng lục. Song song tiến hành mẫu trắng trong cùng điều kiện.
1 ml *dung dịch amoni ceri sulfat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 7,56 mg $C_8H_9NO_2$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Hạ sốt, giảm đau.

Chế phẩm
Viên nén, nang, hỗn dịch uống, dung dịch uống, viên nén sủi, viên đặt, thuốc tiêm truyền.

NANG PARACETAMOL
Capsulae Paracetamoli

Là nang cứng chứa paracetamol.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Lắc một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 0,5 g paracetamol với 20 ml *aceton (TT)*, lọc, bay hơi dịch lọc đến khô, sấy cắn ở 105 °C. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của paracetamol.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *đệm phosphat chuẩn pH 5,8 (TT)*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Pha loãng dịch lọc bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* để được dung dịch có nồng độ paracetamol khoảng 7,5 µg/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 257 nm, mẫu trắng là *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*. Tính hàm lượng paracetamol hòa tan theo A (1 %,1 cm). Lấy 715 là giá trị A (1 %, 1 cm) của paracetamol ở bước sóng 257 nm.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng và tránh ánh sáng.
Pha động: Hỗn hợp gồm 250 thể tích *methanol (TT)* có chứa 4,6 g/l *dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 40 %*, 375 thể tích *dung dịch dinatri hydrophosphat 0,05 M* và 375 thể tích *dung dịch natri dihydrophosphat 0,05 M*.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột thuốc tương đương với khoảng 0,2 g paracetamol vào bình định mức 10 ml, thêm 8 ml pha động, lắc siêu âm, thêm pha động vừa đủ thể tích, lắc đều, lọc.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 20,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Chứa 0,002 % *4-aminophenol (TT)* và 0,002 % paracetamol chuẩn trong pha động.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng dung dịch chứa 0,02 % *4'-cloroacetanilid (TT)* trong *methanol (TT)* bằng pha động để thu được dung dịch chứa 0,00002 % 4'-cloroacetanilid.
Điều kiện sắc ký:
Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5µm). Cột Zorbax Rx C8 là phù hợp.
Nhiệt độ cột: 35 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 245 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa 2 pic tương ứng với 4-aminophenol và paracetamol không nhỏ hơn 4,0. Tiến hành sắc ký dung dịch thử với thời gian bằng 12 lần thời gian lưu của pic paracetamol.
Yêu cầu:
Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử: Pic tương ứng với 4-aminophenol không được có diện tích lớn hơn diện tích pic 4-aminophenol thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %). Pic tương ứng với 4'-cloroacetanilid không được có diện tích lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (10 ppm). Bất kỳ pic tạp nào khác không được có diện tích lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,25 %).

Định lượng
Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 0,150 g paracetamol cho vào bình định mức 200 ml, thêm 50 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M*, thêm 100 ml *nước* và lắc kỹ 15 min. Thêm

nước đến định mức, lắc đều. Lọc, loại bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng 10,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml với *nước*. Lấy chính xác 10 ml dung dịch này cho vào bình định mức dung tích 100 ml, thêm 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M*. Pha loãng với *nước* đến định mức. Đo độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 257 nm, cốc đo dày 1 cm. Dùng *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M* làm mẫu trắng.
Tính hàm lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, theo A (1 %, 1cm). Lấy 715 là giá trị A (1 %, 1cm), ở bước sóng 257 nm.

Bảo quản
Để nơi mát, trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Giảm đau, hạ sốt.

Hàm lượng thường dùng
500 mg.

THUỐC TIÊM TRUYỀN PARACETAMOL
Injectio Paracetamoli

Là dung dịch vô khuẩn của paracetamol trong dung môi thích hợp.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu hoặc gần như không màu.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Methylen chlorid - methanol (4 : 1).
Dung dịch thử: Pha loãng dung dịch chế phẩm với *methanol (TT)* để thu được một dung dịch có chứa 2 mg paracetamol trong 1 ml.
Dung dịch đối chiếu: Hoà tan 10 mg paracetamol chuẩn trong 5 ml *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản sắc ký ra, để khô ngoài không khí. Soi dưới ánh sáng đèn tử ngoại bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về vị trí, hình dạng và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Trong mục Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn.

pH
Từ 5,0 đến 6,0 (Phụ lục 6.2).

4-Aminophenol
Không được quá 0,1 %.
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 1,6 g *natri butansulfonat (TT)* trong 1000 ml hỗn hợp *nước - methanol - acid formic* (85 : 15 : 0,4).
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 20 mg 4-aminophenol, chuyển vào bình định mức 100 ml. Hòa tan và pha loãng với hỗn hợp *nước - methanol* (15 : 85) tới thể tích. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch thử: Dung dịch chế phẩm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 272 nm.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký lần lượt các dung dịch chuẩn và thử.
Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, pic tương ứng với 4-aminophenol không được có diện tích lớn hơn diện tích pic 4-aminophenol thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 0,17 EU/mg paracetamol.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Nước - methanol (3 : 1), điều chỉnh tỉ lệ nếu cần.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 30 mg paracetamol chuẩn vào bình định mức 100 ml. Hòa tan và pha loãng với pha động đến thể tích, trộn đều. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này tới 100,0 ml với pha động, trộn đều
Dung dịch thử: Lấy chính xác một thể tích dung dịch chế phẩm tương ứng với khoảng 150 mg paracetamol vào bình định mức 100 ml. Thêm pha động đến thể tích, trộn đều. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml với pha động, trộn đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm đến 10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 243 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, trên sắc ký đồ thu được, số đĩa lý thuyết tính trên pic paracetamol không nhỏ hơn 1000, hệ số đối xứng không lớn hơn 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic thu được từ 6 lần tiêm lặp lại không quá 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, có trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_8H_9NO_2$ của paracetamol chuẩn.

Bảo quản
Bảo quản nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc hạ sốt, giảm đau.

Hàm lượng thường dùng
10 mg/ml. Lọ 50 ml hoặc 100 ml.

VIÊN ĐẶT PARACETAMOL
Suppositoria Paracetamoli

Là viên đặt trực tràng chứa paracetamol.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc đặt" (Phụ lục 1.10) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
*Dung môi khai triển: Methanol - diclorometh*an (1 : 4)
Dung dịch thử: Lấy 1 viên chế phẩm, thêm một thể tích *methanol (TT)* thích hợp để thu được dung dịch có nồng độ paracetamol 0,1 %. Đặt trên cách thủy cho đến khi chế phẩm tan chảy, để nguội, thỉnh thoảng khuấy, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch paracetamolchuẩn 0,1 % trong *methanol (TT).*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương đương về vị trí, kích thước và màu sắc với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Cân một lượng chế phẩm đã cắt nhỏ tương ứng khoảng 50 mg paracetamol, thêm 1 ml *acid hydrocloric (TT)* và đun đến sôi trong 3 min, thêm 10 ml *nước*, để nguội, không có tủa tạo thành. Thêm 0,05 ml *dung dịch kali dicromat 0,5 %*, xuất hiện màu tím không chuyển sang đỏ.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng và tránh ánh sáng.
Pha động: Hỗn hợp gồm 250 thể tích *methanol (TT)* có chứa 4,6 g/l *dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 40 %*, 375 thể tích *dung dịch dinatri hydrophosphat 0,05 M* và 375 thể tích *dung dịch natri dihydrophosphat 0,05 M.*
Dung dịch thử: Lấy 5 viên, cắt thành những mảnh nhỏ và hòa tan trong một lượng tối thiểu *ethanol 96 % (TT)*, làm ấm nếu cần, pha loãng với *nước* để có dung dịch có nồng độ khoảng 0,5 % paracetamol, lọc.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử pha thành 100,0 ml bằng pha động, lắc đều. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Chứa 0,0005 % 4-aminophenol và 0,0005 % paracetamol chuẩn trong pha động.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng dung dịch chứa 0,005 % 4'-cloroacetanilid trong *methanol (TT)* bằng pha động để thu được dung dịch chứa 0,000005 % 4'-cloroacetanilid.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5µm). Cột Zorbax Rx C8 là phù hợp.
Nhiệt độ cột: 35 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 245 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa 2 pic tương ứng với 4-aminophenol và paracetamol không nhỏ hơn 4,0. Tiến hành sắc ký dung dịch thử với thời gian bằng 12 lần thời gian lưu của pic paracetamol.
Yêu cầu:
Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử: Pic tương ứng với 4-aminophenol không được có diện tích lớn hơn diện tích pic 4-aminophenol thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %). Pic tương ứng với 4'-cloroacetanilid không được có diện tích lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (10 ppm). Bất kỳ pic tạp nào khác không được có diện tích lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %). Tổng diện tích các pic tạp chất khác không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu(1) (0,03 %).

Định lượng
Viên có chứa lượng paracetamol lớn hơn hoặc bằng 150 mg
Lấy một viên, thêm 30 ml *nước* và 100 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT).* Đun hồi lưu trong 1 h, để nguội, thêm 100 ml *nước*, 50 g nước đá, 50 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và 0,2 ml *dung dịch feroin sulfat (TT).*
Chuẩn độ bằng *dung dịch amoni ceri sulfat 0,2 M (CĐ)* cho đến khi xuất hiện màu vàng.
1 ml *dung dịch amoni ceri sulfat 0,2 M (CĐ)* tương ứng 15,12 mg paracetamol, $C_8H_9NO_2$.
Lặp lại phép thử trên bốn viên khác. Tính hàm lượng trung bình của một viên.
Viên có chứa lượng paracetamol lớn hơn 60 mg cho đến nhỏ hơn 150 mg
Lấy một viên, thêm 10 ml *nước* và 30 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT).* Đun hồi lưu trong 1 h, để nguội, thêm 40 ml *nước*, 40 g nước đá, 15 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và 0,1 ml *dung dịch feroin sulfat (TT).*
Chuẩn độ bằng *dung dịch amoni ceri sulfat 0,1 M (CĐ)* cho đến khi xuất hiện màu vàng.
1 ml *dung dịch amoni ceri sulfat 0,1 M (CĐ)* tương ứng với 7,56 mg paracetamol, $C_8H_9NO_2$.

Lặp lại phép thử trên bốn viên khác. Tính hàm lượng trung bình của một viên.

Viên có chứa lượng paracetamol nhỏ hơn hoặc bằng 60 mg

Lấy một viên, thêm 10 ml *nước* và 30 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)*. Đun hồi lưu trong 1 h, để nguội, thêm 40 ml *nước*, 40 g nước đá, 15 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và 0,1 ml *dung dịch feroin sulfat (TT)*.

Chuẩn độ bằng *dung dịch amoni ceri sulfat 0,025 M (CĐ)* cho đến khi xuất hiện màu vàng.

1 ml *dung dịch amoni ceri sulfat 0,025 M (CĐ)* tương ứng với 1,89 mg paracetamol, $C_8H_9NO_2$.

Lặp lại phép thử trên bốn viên khác. Tính hàm lượng trung bình của một viên.

Bảo quản

Trong bao bì kín, nhiệt độ từ 4 °C đến 8 °C.

Loại thuốc

Giảm đau, hạ sốt.

Hàm lượng thường dùng

80 mg; 150 mg; 300 mg.

VIÊN NÉN PARACETAMOL

Tabellae Paracetamoli

Là viên nén chứa paracetamol.

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

Hàm lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

Lắc một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,5 g paracetamol với 20 ml *aceton (TT)*, lọc, bay hơi dịch lọc đến khô, sấy cắn ở 105 °C. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của paracetamol.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml *đệm phosphat chuẩn pH 5,8 (TT)*.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc. Pha loãng dịch lọc bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* để được dung dịch có nồng độ paracetamol khoảng 7,5 µg/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 257 nm, mẫu trắng là *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*. Tính hàm lượng paracetamol hòa tan theo A (1 %,1 cm). Lấy 715 là giá trị A (1 %, 1 cm) của paracetamol ở bước sóng 257 nm.

Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng và tránh ánh sáng.

Pha động: Hỗn hợp gồm 250 thể tích *methanol (TT)* có chứa 4,6 g/l *dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 40 %* với 375 thể tích *dung dịch dinatri hydrophosphat 0,05 M* và 375 thể tích *dung dịch natri dihydrophosphat 0,05 M*.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương tương với khoảng 0,2 g paracetamol vào bình định mức 10 ml, thêm 8 ml pha động, lắc siêu âm, thêm pha động vừa đủ thể tích, lắc đều, lọc.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 20,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Chứa 0,002 % *4-aminophenol (TT)* và 0,002 % paracetamol chuẩn trong pha động.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng dung dịch chứa 0,02 % *4'-cloroacetanilid (TT)* trong *methanol (TT)* bằng pha động để thu được dung dịch chứa 0,00002 % 4'-cloroacetanilid.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm). Cột Zorbax Rx C8 là phù hợp.

Nhiệt độ cột: 35 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 245 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa 2 pic tương ứng với 4-aminophenol và paracetamol không nhỏ hơn 4,0. Tiến hành sắc ký dung dịch thử với thời gian bằng 12 lần thời gian lưu của pic paracetamol.

Yêu cầu:

Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử: Pic tương ứng với 4-aminophenol không được có diện tích lớn hơn diện tích pic 4-aminophenol thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %). Pic tương ứng với 4'-cloroacetanilid không được có diện tích lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (10 ppm). Bất kỳ pic tạp nào khác không được có diện tích lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,25 %).

Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,150 g paracetamol cho vào bình định mức 200 ml, thêm 50 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M*, thêm 100 ml *nước* và lắc kỹ 15 min. Thêm *nước* đến định mức, lắc đều. Lọc, loại bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng 10,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml với *nước*. Lấy chính xác 10 ml dung dịch này cho vào bình định mức dung tích 100 ml, thêm 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M*. Pha loãng với *nước* đến định mức. Đo độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 257 nm, cốc đo dày 1 cm. Dùng *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M* làm mẫu trắng.

Tính hàm lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, theo A (1 %, 1 cm). Lấy 715 là giá trị A (1 %, 1 cm), ở bước sóng 257 nm.

Bảo quản
Để nơi mát, trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Giảm đau, hạ sốt.

Hàm lượng thường dùng
300 mg, 500 mg.

VIÊN SỦI PARACETAMOL
Effervescentis tabellae Paracetamoli

Là viên nén sủi chứa paracetamol.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu của viên sủi trong chuyên luận "Thuốc viên nén" mục "Viên sủi bọt" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong nước ấm, viên hòa tan và sủi bọt mạnh, tạo thành dung dịch hơi đục.
B. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch trong phần Định lượng trong khoảng bước sóng từ 230 nm đến 350 nm. Phổ thu được phải có cực đại hấp thụ ở bước sóng 257 nm.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}
Dung môi khai triển: Toluen - aceton - cloroform (10 : 25 : 65).
Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên tương ứng với 0,1 g paracetamol, hòa tan vừa đủ với 100 ml *ethanol 96 % (TT).*
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch có chứa 0,1 % paracetamol chuẩn trong *ethanol 96 % (TT).*
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 0,25 g *4'-cloroacetanilid (TT)* và 0,1 g paracetamol chuẩn trong vừa đủ 100 ml *ethanol 96 % (TT).*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 40 µl mỗi dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1), dung dịch đối chiếu (2). Cho dung môi khai triển vào bình sắc ký không lót giấy và đặt ngay bản mỏng vừa chấm các dung dịch vào bình. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô hoàn toàn ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, kích thước, màu sắc với vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (2) cho hai vết tách rõ ràng riêng biệt, vết tương ứng với 4'-cloroacetanilid phải có giá trị R_f cao hơn.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng và tránh ánh sáng.
Pha động: Hỗn hợp gồm 250 thể tích *methanol (TT)* có chứa 4,6 g/l *dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 40 %*, 375 thể tích *dung dịch dinatri hydrophosphat 0,05 M* và 375 thể tích *dung dịch natri dihydrophosphat 0,05 M.*
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột thuốc tương tương với khoảng 0,2 g paracetamol vào bình định mức 10 ml, thêm 8 ml pha động, lắc siêu âm, thêm pha động vừa đủ thể tích, lắc đều, lọc.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 20,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Chứa 0,002 % *4-aminophenol (TT)* và 0,002 % paracetamol chuẩn trong pha động.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng dung dịch chứa 0,02 % *4'-cloroacetanilid (TT)* trong *methanol (TT)* bằng pha động để thu được dung dịch chứa 0,00002 % 4'-cloroacetanilid.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm). Cột Zorbax Rx C8 là phù hợp.
Nhiệt độ cột: 35 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 245 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa 2 pic tương ứng với 4-aminophenol và paracetamol không nhỏ hơn 4,0.
Tiến hành sắc ký dung dịch thử với thời gian bằng 12 lần thời gian lưu của pic paracetamol.
Yêu cầu:
Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử: Pic tương ứng với 4-aminophenol không được có diện tích lớn hơn diện tích pic 4-aminophenol thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %). Pic tương ứng với 4'-cloroacetanilid không được có diện tích lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (10 ppm). Bất kỳ pic tạp nào khác không được có diện tích lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,25%).

Định lượng
Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,150 g paracetamol cho vào bình định mức 200 ml, thêm từ từ 50 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* và chờ cho dung dịch hết sủi bọt, thêm 100 ml *nước*, lắc kỹ 15 min. Thêm *nước* đến định mức, lắc đều. Lọc, loại bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng 10,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml với *nước*. Lấy chính xác 10 ml dung dịch này cho vào bình định mức dung tích 100 ml, thêm 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M*. Pha loãng với *nước* đến định mức. Đo độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 257 nm, cốc đo dày 1 cm. Dùng *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, theo A (1 %, 1cm). Lấy 715 là giá trị A (1 %, 1cm), ở bước sóng 257 nm.

Bảo quản
Để nơi mát, trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Giảm đau, hạ sốt.

Hàm lượng thường dùng
500 mg.

VIÊN NÉN PARACETAMOL VÀ CAFEIN
Tabellae Paracetamoli et Coffeini

Là viên nén chứa paracetamol và cafein.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, và **cafein,** $C_8H_{10}N_4O_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Trong phần Định lượng, thời gian lưu tương đối của các pic chính paracetamol và cafein so với pic chuẩn nội trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử và dung dịch chuẩn phải phù hợp với nhau.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 60 min.
Cách tiến hành:
Pha động, dung dịch chuẩn nội, hỗn hợp dung môi, dung dịch chuẩn gốc, điều kiện sắc ký và cách tiến hành thực hiện như mô tả trong phần Định lượng.
Dung dịch chuẩn: Hút chính xác 20,0 ml dung dịch chuẩn gốc vào bình định mức 50 ml, thêm chính xác 3,0 ml dung dịch chuẩn nội và 20 ml *nước*, trộn đều, để yên khoảng 30 s. Pha loãng bằng hỗn hợp dung môi đến định mức, trộn đều. Dung dịch này sử dụng trong vòng 8 h.
Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Lấy một thể tích chính xác dịch lọc cho vào bình định mức 50 ml sao cho dung dịch thu được có nồng độ paracetamol 0,1 mg/ml và nồng độ cafein 0,1*J* mg/ml, *J* được xác định ở dung dịch chuẩn gốc. Thêm chính xác 3,0 ml dung dịch chuẩn nội và 20 ml hỗn hợp dung môi, trộn đều, để yên khoảng 30 s. Pha loãng bằng hỗn hợp dung môi đến định mức, trộn đều.
Tính hàm lượng của paracetamol, $C_8H_9NO_2$, và cafein, $C_8H_{10}N_4O_2$, đã hòa tan trong mỗi viên từ tỷ số giữa diện tích pic paracetamol hoặc cafein và diện tích pic chuẩn nội trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và nồng độ paracetamol và cafein trong dung dịch chuẩn.
Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, và cafein, $C_8H_{10}N_4O_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Nước - methanol - acid acetic băng (69 : 28 : 3), điều chỉnh tỉ lệ nếu cần.
Dung dịch chuẩn nội: Chuẩn bị dung dịch acid benzoic trong *methanol (TT)* có nồng độ khoảng 6 mg/ml.
Hỗn hợp dung môi: Methanol - acid acetic băng (95 : 5).
Dung dịch chuẩn gốc: Hòa tan chính xác một lượng paracetamol chuẩn và cafein chuẩn trong hỗn hợp dung môi để thu được dung dịch có nồng độ 0,25 mg/ml của paracetamol và 0,25*J* mg/ml của cafein, *J* là tỷ lệ lượng ghi trên nhãn của cafein và lượng ghi trên nhãn của paracetamol trong viên.
Dung dịch chuẩn: Hút chính xác 20,0 ml dung dịch chuẩn gốc và 3,0 ml dung dịch chuẩn nội vào bình định mức 50 ml, pha loãng bằng hỗn hợp dung môi đến định mức, trộn đều. Dung dịch thu được có nồng độ paracetamol khoảng 0,1 mg/ml và nồng độ cafein khoảng 0,1*J* mg/ml.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng khoảng 250 mg paracetamol vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 75 ml hỗn hợp dung môi, lắc trên máy lắc 30 min. Pha loãng bằng hỗn hợp dung môi đến định mức, trộn đều. Hút chính xác 2,0 ml dung dịch này và 3,0 ml dung dịch chuẩn nội vào bình định mức 50 ml, pha loãng bằng hỗn hợp dung môi đến định mức, trộn đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột: 45 °C ± 1 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 275 nm.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Hệ số đối xứng của pic tương ứng với paracetamol và cafein không được lớn hơn 1,2. Độ phân giải giữa pic tương ứng với paracetamol, cafein và pic chuẩn nội không được nhỏ hơn 1,4. Độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích đáp ứng từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Thời gian lưu tương đối của paracetamol khoảng 0,3, của cafein khoảng 0,5 và của acid benzoic là 1,0.
Tính hàm lượng paracetamol $C_8H_9NO_2$, và cafein, $C_8H_{10}N_4O_2$, có trong một đơn vị chế phẩm từ tỷ số giữa diện tích pic paracetamol hoặc cafein và diện tích pic chất chuẩn nội trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_8H_9NO_2$ của paracetamol chuẩn và $C_8H_{10}N_4O_2$ của cafein chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín ở nhiệt độ từ 15 °C đến 30 °C.

Loại thuốc
Giảm đau, hạ sốt.

Hàm lượng thường dùng
200 mg paracetamol, 50 mg cafein.
500 mg paracetamol, 65 mg cafein.

VIÊN NÉN PARACETAMOL VÀ CLORPHENIRAMIN

Tabellae Paracetamoli et Chlorpheniramini

Là viên nén chứa paracetamol và clorpheniramin maleat. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng clorpheniramin maleat, $C_{16}H_{19}ClN_2.C_4H_4O_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Định lượng paracetamol, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic paracetamol trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
B. Trong phần Định lượng clorpheniramin maleat, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic clorpheniramin maleat trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Trộn 9,0 ml dịch lọc với 1,0 ml *dung dịch acid phosphoric 1 %*.
Dung dịch chuẩn: Tiến hành như mô tả trong mục Định lượng paracetamol và Định lượng clorpheniramin maleat. Pha loãng (nếu cần) với *dung dịch acid phosphoric 0,1 %* để thu được các dung dịch có nồng độ paracetamol và clorpheniramin maleat tương ứng với nồng độ paracetamol và clorpheniramin maleat trong dung dịch thử.
Xác định hàm lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$ và clorpheniramin maleat, $C_{16}H_{19}ClN_2.C_4H_4O_4$, bằng phương pháp sắc ký lỏng như phần Định lượng paracetamol và Định lượng clorpheniramin maleat.
Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, và clorpheniramin maleat, $C_{16}H_{19}ClN_2.C_4H_4O_4$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng và tránh ánh sáng.
Pha động: Hỗn hợp gồm 250 thể tích *methanol (TT)* có chứa 4,6 g/l *dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 40 %*, 375 thể tích *dung dịch dinatri hydrophosphat 0,05 M* và 375 thể tích *dung dịch natri dihydrophosphat 0,05 M*.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột thuốc tương tương với khoảng 0,2 g paracetamol vào bình định mức 10 ml, thêm 8 ml pha động, lắc siêu âm, thêm pha động vừa đủ thể tích, lắc đều, lọc.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 20,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Chứa 0,002 % *4-aminophenol (TT)* và 0,002 % paracetamol chuẩn trong pha động.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng dung dịch chứa 0,02 % *4'-cloroacetanilid (TT)* trong *methanol (TT)* bằng pha động để thu được dung dịch chứa 0,00002 % 4'-cloroacetanilid.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm). Cột Zorbax Rx C8 là phù hợp.
Nhiệt độ cột: 35 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 245 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa 2 pic tương ứng với 4-aminophenol và paracetamol không nhỏ hơn 4,0. Tiến hành sắc ký dung dịch thử với thời gian bằng 12 lần thời gian lưu của pic paracetamol.
Yêu cầu:
Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử: Pic tương ứng với 4-aminophenol không được có diện tích lớn hơn diện tích pic 4-aminophenol thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %). Pic tương ứng với 4'-cloroacetanilid không được có diện tích lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (10 ppm). Bất kỳ pic tạp nào khác không được có diện tích lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,25 %).

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, điều kiện sắc ký, cách tiến hành như mô tả trong mục Định lượng clorpheniramin maleat.
Dung dịch thử: Lấy 1 viên nghiền thành bột mịn rồi chuyển vào bình định mức 250 ml, thêm 25 ml *methanol (TT)*, siêu âm cho bột phân tán hoàn toàn, thêm 1 ml *acid phosphoric (TT)*, pha loãng với *nước* vừa đủ đến vạch, trộn đều.
Dung dịch chuẩn: Tiến hành như mô tả trong mục Định lượng clorpheniramin maleat. Pha loãng (nếu cần) để có được nồng độ clorpheniramin maleat tương ứng với nồng độ clorpheniramin maleat trong dung dịch thử.
Tính hàm lượng clorpheniramin maleat, $C_{16}H_{19}ClN_2.C_4H_4O_4$, trong một viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{19}ClN_2.C_4H_4O_4$ của clorpheniramin maleat chuẩn.

Định lượng paracetamol
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Nước - methanol - acid acetic băng (79 : 20 : 1), điều chỉnh tỉ lệ nếu cần.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg paracetamol chuẩn vào bình định mức 100 ml, thêm 4 ml *methanol (TT)*, lắc cho tan hoàn toàn, pha loãng với *dung dịch acid phosphoric 0,1 %* đến định mức, trộn đều.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 100 mg paracetamol vào bình định mức 50 ml, thêm khoảng 7,5 ml *methanol (TT)*, siêu âm cho bột phân tán hoàn toàn, thêm 0,5 ml *acid phosphoric (TT)*, pha loãng với *nước* đến định mức, trộn đều. Hút 25,0 ml dịch lọc cho vào bình định mức 100 ml, pha loãng với *nước* đến định mức, trộn đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm đến 10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng của pic paracetamol không được lớn hơn 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic đáp ứng từ 6 lần tiêm lặp lại không quá 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, có trong viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_8H_9NO_2$ của paracetamol chuẩn.

Định lượng clorpheniramin maleat
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hỗn hợp *methanol - nước* (60 : 40) có chứa 0,34 g *kali dihydrophosphat (TT)*; 0,3 g *triethylamin hydroclorid (TT)*; 0,15 g *natri laurylsulfat (TT)* và 0,1 ml *acid phosphoric (TT)* trong mỗi 100 ml dung dịch, điều chỉnh tỉ lệ nếu cần.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác và hòa tan trong *nước* một lượng clorpheniramin maleat chuẩn để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,8 mg/ml. Tiếp tục pha loãng dung dịch này bằng *dung dịch acid phosphoric 0,1 %* để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 8 µg/ml.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 2 mg clorpheniramin maleat vào bình định mức 250 ml, thêm 25 ml *methanol (TT)*, siêu âm cho bột phân tán hoàn toàn, thêm 1 ml *acid phosphoric (TT)*, pha loãng với *nước* vừa đủ đến vạch, trộn đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *silica liên kết với các nhóm phenyl* (5 µm đến 10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 214 nm.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng của pic clorpheniramin maleat không được lớn hơn 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic đáp ứng từ 6 lần tiêm lặp lại không quá 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng clorpheniramin maleat, $C_{16}H_{19}ClN_2.C_4H_4O_4$, có trong viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{19}ClN_2.C_4H_4O_4$ của clorpheniramin maleat chuẩn.
Đối với viên phải thử độ đồng đều hàm lượng, lấy kết quả định lượng trung bình của 10 viên làm kết quả định lượng.

Bảo quản
Trong bao bì kín, ở nhiệt độ từ 15 °C đến 30 °C.

Loại thuốc
Thuốc giảm đau, kháng histamin.

Hàm lượng thường dùng
500 mg paracetamol; 4 mg hoặc 2 mg clorpheniramin maleat.

VIÊN NÉN PARACETAMOL VÀ CODEIN
Tabellae Paracetamoli et Codeini

Là viên nén chứa paracetamol và codein phosphat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn

Hàm lượng codein phosphat hemihydrat,
$C_{18}H_{21}NO_3.H_3PO_4.½H_2O$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của hai pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic paracetamol và pic codein phosphat thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Methanol - amoniac (49 : 1).
Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên tương ứng khoảng 12 mg codein phosphat cho vào bình chiết, thêm 5 ml *nước*, 1 ml *amoniac (TT)* và 5 ml *methylen clorid (TT)*, lắc 1 min, để yên cho tách lớp, sử dụng lớp dung dịch dưới làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Pha dung dịch codein phosphat chuẩn và paracetamol chuẩn trong *methylen clorid (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ tương đương với nồng độ codein phosphat và paracetamol trong dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu.

Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 3/4 bản mỏng, lấy bản mỏng ra, để khô tự nhiên và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Hai vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vị trí và kích thước tương ứng với hai vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT).*
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Xác định hàm lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, và codein phosphat hemihydrat, $C_{18}H_{21}NO_3.H_3PO_4.½H_2O$, bằng phương pháp sắc ký lỏng như phần Định lượng, sử dụng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* để chuẩn bị dung dịch chuẩn gốc codein phosphat và để pha dung dịch chuẩn. Điều chỉnh nồng độ nếu cần bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT).*
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, và codein phosphat hemihydrat, $C_{18}H_{21}NO_3.H_3PO_4.½H_2O$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm: Hòa tan 2,04 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong khoảng 950 ml *nước*. Thêm 2 ml *triethylamin (TT)*, điều chỉnh về pH 2,35 bằng *acid phosphoric (TT)*, pha loãng với *nước* thành 1000 ml và trộn đều.
Pha động: Dung dịch đệm - methanol (TT) (92 : 8). Lọc và đuổi khí. Điều chỉnh tỉ lệ nếu cần.
Dung dịch chuẩn gốc codein phosphat: Chuẩn bị dung dịch codein phosphat chuẩn trong pha động có nồng độ chính xác khoảng 0,3 mg/ml.
Dung dịch chuẩn: Chuyển 30 mg, cân chính xác, paracetamol chuẩn và 100*J* ml dung dịch chuẩn gốc codein phosphat, *J* là tỷ lệ lượng ghi trên nhãn (mg) của codein phosphat hemihydrat và lượng ghi trên nhãn của paracetamol (mg) trong một viên, vào bình định mức 100 ml. Pha loãng bằng pha động đến định mức.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 300 mg paracetamol vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 75 ml pha động, siêu âm trong 10 min. Pha loãng bằng pha động đến vạch và trộn đều. Lấy chính xác 5 ml dung dịch này cho vào bình định mức 50 ml. Pha loãng bằng pha động đến vạch và trộn đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 214 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 30 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Độ phân giải giữa pic paracetamol và pic codein phosphat không được nhỏ hơn 2,0. Độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic đáp ứng từ các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 % đối với pic paracetamol và 3,0 % đối với pic codein phosphat.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, và hàm lượng codein phosphat hemihydrat, $C_{18}H_{21}NO_3.H_3PO_4.½H_2O$, có trong viên dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_8H_9NO_2$ của paracetamol chuẩn, hàm lượng $C_{18}H_{21}NO_3.H_3PO_4.½H_2O$ của codein phosphat chuẩn.

Độ đồng đều hàm lượng codein phosphat
Chế phẩm có lượng codein phosphat dưới 60 mg trong một viên thì phải đạt yêu cầu về "Độ đồng đều hàm lượng" đối với codein phosphat (Phụ lục 11.2).
Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, dung môi hòa tan, dung dịch chuẩn: Như mô tả trong mục Định lượng.
Dung dịch thử: Lấy 1 viên nghiền thành bột mịn rồi chuyển vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 75 ml pha động, siêu âm trong 10 min. Pha loãng bằng pha động đến vạch và lắc đều. Lọc, pha loãng dịch lọc bằng pha động để có nồng độ codein phosphat tương đương với nồng độ codein phosphat trong dung dịch chuẩn.
Điều kiện sắc ký và cách tiến hành: Như mô tả trong mục Định lượng.
Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử và dung dịch chuẩn và dựa vào hàm lượng $C_{18}H_{21}NO_3.H_3PO_4.½H_2O$ của codein phosphat chuẩn, tính hàm lượng codein phosphat hemihydrat $C_{18}H_{21}NO_3.H_3PO_4.½H_2O$ có trong viên.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng ở nhiệt độ 15 °C đến 30 °C.

Loại thuốc
Giảm đau, hạ sốt.

Hàm lượng thường dùng
300 mg paracetamol, 60 mg codein phosphat;
600 mg paracetamol, 60 mg codein phosphat;
500 mg paracetamol, 30 mg codein phosphat;
500 mg paracetamol, 15 mg codein phosphat.

VIÊN NÉN PARACETAMOL VÀ IBUPROFEN
Tabellae Paracetamoli et Ibuprofeni

Là viên nén chứa paracetamol và ibuprofen.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng ibuprofen, $C_{13}H_{18}O_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

Trong mục Định lượng, sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải cho hai pic chính có thời gian lưu tương ứng với pic paracetamol và pic ibuprofen trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn paracetamol và dung dịch chuẩn ibuprofen.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml *đệm phosphat chuẩn pH 7,2 (TT).*

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành:

Dung dịch thử: Lấy một phần môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu.

Dung dịch chuẩn paracetamol: Cân chính xác khoảng 36 mg paracetamol chuẩn cho vào bình định mức 100 ml, thêm 20 ml *methanol (TT)*, lắc kỹ, thêm môi trường hòa tan vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Dung dịch chuẩn ibuprofen: Cân chính xác khoảng 44 mg ibuprofen chuẩn cho vào bình định mức 100 ml, thêm 20 ml *methanol (TT)*, lắc kỹ, thêm môi trường hòa tan vừa đủ đến vạch. Pha loãng (nếu cần) một thể tích dung dịch thu được bằng môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ ibuprofen tương ứng với dung dịch thử.

Xác định hàm lượng paracetamol và ibuprofen hòa tan bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với các điều kiện sắc ký như mô tả trong mục Định lượng.

Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng paracetamol, $C_8H_9NO_2$, và 75 % (Q) lượng ibuprofen, $C_{13}H_{18}O_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - dung dịch acid phosphoric 0,01 % (60 : 40), điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.

Dung dịch chuẩn paracetamol: Cân chính xác khoảng 32,5 mg paracetamol chuẩn vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 80 ml pha động, lắc siêu âm 15 min, thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Dung dịch chuẩn ibuprofen: Cân chính xác một lượng khoảng 40 mg ibuprofen chuẩn cho vào bình định mức 100 ml thêm khoảng 80 ml pha động, lắc siêu âm 15 min, thêm pha động đến vạch, lắc đều. Pha loãng (nếu cần) một thể tích dung dịch thu được bằng pha động để thu được một dung dịch có nồng độ ibuprofen tương ứng với dung dịch thử.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng khoảng 325 mg paracetamol cho vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 80 ml pha động, lắc siêu âm 15 min, thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc. Pha loãng 10,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký lần lượt với các dung dịch chuẩn và thử. Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử và dung dịch chuẩn và hàm lượng của các chất chuẩn, tính hàm lượng phần trăm paracetamol, $C_8H_9O_2N$, và ibuprofen, $C_{13}H_{18}O_2$, có trong chế phẩm.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

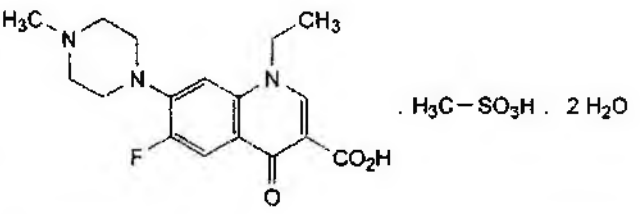
Hạ nhiệt giảm đau.

Hàm lượng thường dùng

325 mg paracetamol và 400 mg ibuprofen;
325 mg paracetamol và 200 mg ibuprofen;
325 mg paracetamol và 100 mg ibuprofen.

PEFLOXACIN MESILAT

Pefloxacini mesilas



$C_{18}H_{24}FN_3O_6S.2H_2O$ P.t.l: 465,5

Pefloxacin mesilat là acid 1-ethyl-6-fluoro-7-(4-methyl piperazin-1-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinolin-3-carboxylic methansulphonat dihydrat, phải chứa từ 98,5 % đến 101,5 % $C_{18}H_{24}FN_3O_6S$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột mịn màu trắng hay gần như trắng.

Dễ tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %, rất khó tan trong methylen clorid.

Định tính

A. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 10 ml *nước*, thêm 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*. Điều chỉnh đến pH 7,4 ± 0,1 bằng *acid phosphoric (TT)*, lắc hai lần, mỗi lần với 30 ml *methylen clorid (TT)*. Gộp lớp dung môi hữu cơ và làm khô bằng *natri sulfat khan (TT)*. Bốc hơi tới khô, đo phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được bằng phương pháp tạo đĩa halid với *kali bromid (TT)*. Phổ hấp thụ hồng ngoại thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của cắn thu được từ pefloxacin mesilat được chuẩn bị tương tự như mẫu thử.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Nước - amoniac - butanol - aceton (5 : 10 : 20 : 65).
Dung dịch thử: Hòa tan 40 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 1 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 60 mg *acid methansulfonic (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản sắc ký ra và để khô ngoài không khí, sau đó phun *dung dịch đỏ tía bromocresol 0,04 %* trong *ethanol 50 % (TT)* được điều chỉnh đến pH 10 bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, quan sát sắc ký đồ dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, hình dạng và màu sắc.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Sau khi pha 1 h, dung dịch S không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu số II (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu số 3 của dãy dung dịch màu đối chiếu phù hợp nhất (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Pha loãng 1 ml dung dịch S thành 10 ml bằng *nước không có carbon dioxyd (TT)*, dung dịch thu được phải có pH từ 3,5 đến 4,5 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - dung dịch A - thiodiethylen glycol (30 : 70 : 0,2).
Dung dịch A: Hòa tan 2,70 g *cetyltrimethylamoni bromid (TT)* và 6,18 g *acid boric (TT)* trong 900 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 8,3 bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml. *Dung dịch thử:* Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5,0 mg tạp chất B chuẩn của pefloxacin trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Hút 1,0 ml dung dịch thu được và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động. Dùng 2,0 ml dung dịch thu được hòa tan toàn bộ lượng chất chuẩn có trong lọ tạp chất C chuẩn của pefloxacin.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg tạp chất A chuẩn của norfloxacin (tạp chất F) trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Hút 1,0 ml dung dịch thu được pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 6 mm) được nhồi *octadecylsilyl vinyl polymer dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 258 nm và 273 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Thời gian chạy sắc ký bằng 4 lần thời gian lưu của pefloxacin (khoảng 60 min).
Thời gian lưu tương đối và hệ số hiệu chỉnh:

	Thời gian lưu tương đối khoảng	Hệ số hiệu chỉnh
Tạp chất E	0,2	-
Tạp chất D	0,3	-
Tạp chất A	0,5	-
Tạp chất G	0,8	1,4
Pefloxacin	1	-
Tạp chất C	1,7	2,4
Tạp chất B	1,8	-
Tạp chất H	2,4	1,8
Tạp chất F	3,5	-

Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký dung dịch đối chiếu (1) ở bước sóng 273 nm, độ phân giải giữa pic tạp chất B và pic tạp chất C không được nhỏ hơn 1,5.
Tiến hành sắc ký dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử ở bước sóng 258 nm, tính hàm lượng phần trăm các tạp chất C, F, G và H dựa vào diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) ở bước sóng 258 nm (chuẩn ngoại) sử dụng các hệ số hiệu chỉnh ghi ở bảng trên.
Từ sắc ký đồ của dung dịch thử ở bước sóng 273 nm, tính hàm lượng phần trăm các tạp chất A, B, D, E và các tạp chất khác áp dụng phương pháp chuẩn hóa.
Giới hạn:
Tạp chất A, B, D, E và các tạp chất khác phát hiện ở bước sóng 273 nm, và các tạp chất C, F, G, H phát hiện ở bước sóng 258 nm: mỗi tạp chất không được quá 0,5 % và không có quá 3 tạp chất có hàm lượng nằm trong khoảng từ 0,2 đến 0,5 %.
Tổng hàm lượng các tạp chất: Không được quá 1,0 %.
Bỏ qua các pic tạp chất phát hiện ở bước sóng 273 nm có diện tích nhỏ hơn 0,0005 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid 1-ethyl-6-fluoro-4-oxo-7-(piperazin-1-yl)-1,4-dihydroquinolin-3-carboxylic (norfloxacin),
Tạp chất B: Acid 6-cloro-1-ethyl-7-(4-methylpiperazin-1-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinolin-3-carboxylic (hợp chất clor tương tự pefloxacin),
Tạp chất E: 1-ethyl-6-fluoro-7-(4-methylpiperazin-1-yl)quinolin-4(1*H*)-on (pefloxacin decarboxy hóa),
Tạp chất C: Acid 1-ethyl-6-fluoro-5-(4-methylpiperazin-1-yl)-4-oxo-1,4-dihydroquinolin-3-carboxylic (isopefloxacin),
Tạp chất D: 4-(3-carboxy-1-ethyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydro quinolin-7-yl)-1-methylpiperazin 1-oxyd (pefloxacin *N*-oxyd),
Tạp chất F: Acid 7-cloro-1-ethyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydro quinolin-3-carboxylic (tạp chất A của norfloxacin),

Tạp chất G: Ethyl 7-cloro-1-ethyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydro quinolin-3-carboxylat (ester *N*-ethyl),
Tạp chất H: Acid 5-cloro-1-ethyl-6-fluoro-4-oxo-1,4-dihydro quinolin-3-carboxylic (acid iso-*N*-ethyl).

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 5. Dùng 10,0 ml *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Từ 7,0 % đến 8,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 50,0 mg chế phẩm và hỗn hợp dung môi gồm 10 thể tích *methanol (TT)* và 50 thể tích *methylen clorid (TT)*.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 15,0 ml *acid acetic khan (TT)* và thêm 75,0 ml *anhydrid acetic (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). 1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 21,48 mg $C_{18}H_{24}FN_3O_6S$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm quinolon.

VIÊN NÉN PEFLOXACIN MESYLAT
Tabellae Pefloxacini mesylati

Là viên nén hoặc viên nén bao phim chứa pefloxacin mesylat. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng pefloxacin, $C_{17}H_{20}FN_3O_3$, từ 93,0 % đến 107,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Nước - amoniac - butanol - aceton (5 : 10 : 20 : 65).
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với khoảng 400 mg pefloxacin trong 10 ml *nước*, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 60 mg *acid methansulfonic (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản sắc ký để khô ngoài không khí, sau đó phun *dung dịch đỏ tía bromocresol 0,04 % trong ethanol 50 % (TT)* được điều chỉnh đến pH 10 bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, quan sát sắc ký đồ dưới ánh sáng ban ngày. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, hình dạng và màu sắc.
B. Trong mục Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic pefloxacin mesylat trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 1000 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan để được dung dịch có nồng độ pefloxacin khoảng 4 µg/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 277 nm với mẫu trắng là môi trường hòa tan. Tính hàm lượng pefloxacin, $C_{17}H_{20}FN_3O_3$, hòa tan trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ của dung dịch pefloxacin mesylat chuẩn có nồng độ tương đương pha trong cùng dung môi.
Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng pefloxacin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, điều kiện sắc ký tiến hành như mô tả trong phần Định lượng.
Dung dịch thử: Lấy 20 viên (loại bỏ lớp bao phim nếu cần), tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên thích hợp, hòa trong pha động và lọc để được dung dịch có nồng độ pefloxacin khoảng 0,2 mg/ml.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với pha động.
Cách tiến hành :
Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu, điều chỉnh độ nhạy của detector sao cho chiều cao của pic chính trên sắc ký đồ không dưới 25 % thang đo.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử trong khoảng thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của pic chính.
Giới hạn: Diện tích của bất kỳ pic phụ nào trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %) và tổng diện tích của toàn bộ các pic phụ không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch kali dihydrophosphat 0,55 % - dung dịch tetrabutylamoni bromid 1,61 % - acetonitril (80 : 8 : 9). Điều chỉnh đến pH 4,0 bằng *acid phosphoric (TT).*

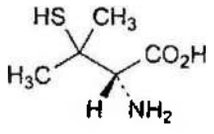
Dung dịch chuẩn: Cân và hòa tan pefloxacin mesylat chuẩn trong pha động để được dung dịch có nồng độ pefloxacin chính xác khoảng 0,002 %.
Dung dịch thử: Lấy 20 viên chế phẩm (loại bỏ lớp bao phim nếu cần), tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 100 mg pefloxacin vào bình định mức 200 ml, lắc kỹ với *nước* và thêm *nước* vừa đủ đến vạch, trộn đều, lọc. Pha loãng 2,0 ml dịch lọc thành 50,0 ml với pha động.
Dung dịch phân giải: Hỗn hợp dung dịch có chứa pefloxacin chuẩn 0,002 % và norfloxacin chuẩn 0,002 % trong pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 273 nm.
Nhiệt độ cột: 40 °C.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, ghi sắc ký đồ, thứ tự rửa giải là norfloxacin tiếp đến pefloxacin. Độ phân giải giữa hai pic pefloxacin và norfloxacin không được nhỏ hơn 5,0.
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic pefloxacin trong 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng pefloxacin, $C_{17}H_{20}FN_3O_3$, có trong viên dựa vào diện tích pic đáp ứng của pefloxacin mesylat trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{17}H_{20}FN_3O_3$ có trong pefloxacin mesylat chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng, để nơi mát.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm quinolon.

Hàm lượng
Viên nén 400 mg tính theo pefloxacin.

PENICILAMIN
Penicillaminum



$C_5H_{11}NO_2S$ P.t.l: 149,2

Penicilamin là acid(2*S*)-2-amino-3-methyl-3-sulfanylbutanoic, phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $C_5H_{11}NO_2S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B, D.
Nhóm II: A, C, D.
A. Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong hỗn hợp 0,5 ml *acid hydrocloric (TT)* và 4 ml *aceton (TT)* ấm, làm nguội trong nước đá và tạo tủa kết tinh bằng cách cọ đũa thủy tinh vào thành ống nghiệm. Tủa trắng tạo thành. Lọc chân không lấy tủa, rửa tủa bằng *aceton (TT)*, làm khô tủa bằng cách hút chân không. Dung dịch 1 % tủa trong *nước* là hữu tuyến.
B. Trong phép thử Tạp chất A, pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải có thời gian lưu và diện tích tương tự thời gian lưu và diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Acid acetic băng - nước - butanol (18 : 18 : 72).
Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong 4 ml *nước*
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg penicilamin chuẩn trong 4 ml *nước*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm. Lấy bản mỏng ra và làm khô bằng cách sấy ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C trong 10 min. Để bản mỏng trong bình bão hòa hơi iod trong 5 min đến 10 min. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương tự về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
D. Hòa tan 40 mg chế phẩm trong 4 ml *nước* và thêm 2 ml *dung dịch acid phosphotungstic (TT)*. Để yên 5 min, dung dịch xuất hiện màu xanh dương.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25 ml bằng cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không có màu đậm hơn dung dịch màu mẫu số 6 của dãy dung dịch màu đối chiếu phù hợp nhất (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Pha loãng 1 ml dung dịch S thành 10 ml bằng *nước không có carbon dioxyd (TT)*. pH của dung dịch thu được phải từ 4,5 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng
Từ -61,0° đến -65,0°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Các chất hấp thụ ánh sáng tử ngoại

Không được quá 0,5 % acid peniloic.

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thu được ở bước sóng 268 nm không được lớn hơn 0,07.

Tạp chất A

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.

Pha động: Pha dung dịch chứa *natri edetat (TT)* 0,01 % và *acid methansulfonic (TT)* 0,2 % trong *nước*.

Dung dịch thử: Hòa tan 40,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 40 mg penicilamin chuẩn trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 20,0 mg penicilamin disulfid chuẩn (tạp chất A) trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (10 µm).

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 220 nm.

Tốc độ dòng: 1,7 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Thời gian lưu tương đối của tạp chất A so với penicilamin (thời gian lưu khoảng 6 min) khoảng 1,8.

Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic penicilamin và pic tạp chất A ít nhất là 4,0.

Giới hạn:

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử: Diện tích pic của tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1 %).

Tạp chất B

Không được quá 0,1 phần triệu.

Tiến hành trong môi trường không có penicilin và với các thiết bị chuyên dụng cho phép thử. Tiệt trùng dụng cụ ở 180 °C trong 3 h và các dung dịch đệm ở 121 °C trong 20 min trước khi dùng.

Dung dịch thử (1): Hòa tan 1,000 g chế phẩm trong 8 ml *dung dịch đệm pH 2,5 (TT)* và thêm 8 ml *ether (TT)*. Lắc mạnh trong 1 min. Gạn lấy lớp ether. Tiếp tục chiết với ether một lần nữa, gộp dịch chiết ether. Thêm 8 ml *dung dịch đệm pH 2,5 (TT)* vào dịch chiết ether và lắc 1 min. Để yên cho tách lớp và gạn cẩn thận lấy lớp trên sao cho loại bỏ hoàn toàn được lớp nước (*penicilin không bền ở pH 2,5 vì vậy cần thực hiện toàn bộ thao tác chiết trong vòng 6 đến 7 min*). Thêm 8 ml *dung dịch đệm phosphat pH 6,0 (TT_2)* vào lớp ether, lắc 5 min, để tách lớp và gạn lấy lớp nước, kiểm tra pH dung dịch phải bằng 6,0.

Dung dịch thử (2): Thêm 20 µl *dung dịch penicilinas (TT)* vào 2 ml dung dịch thử (1) và ủ ấm ở 37 °C trong 1 h.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg *benzylpenicilin natri (TT)* trong 500 ml *dung dịch đệm phosphat pH 6,0 (TT_2)*. Pha loãng 0,25 ml dung dịch thu được thành 200,0 ml bằng *dung dịch đệm pH 2,5 (TT)*. Lấy 8 ml dung dịch thu được và tiến hành quy trình chiết như với dung dịch thử (1).

Dung dịch đối chiếu (2): Thêm 20 µl *dung dịch penicilinase (TT)* vào 2 ml dung dịch đối chiếu (1) và ủ ấm ở 37 °C trong 1 h.

Dung dịch mẫu trắng: Tiến hành như chuẩn bị dung dịch thử (1) nhưng không có chế phẩm.

Đun chảy môi trường dinh dưỡng có công thức dưới đây và cấy vào môi trường chủng vi khuẩn *Kocuria rhizophila* (ATCC 9341) ở nhiệt độ thích hợp để thu được nồng độ 5×10^4 vi khuẩn trong 1 ml môi trường, nồng độ chủng vi khuẩn có thể thay đổi miễn là thu được độ nhạy mong muốn và vòng vô khuẩn rõ ràng, sắc nét, có đường kính phù hợp. Đổ môi trường đã cấy chủng vào 5 đĩa petri đường kính 10 cm để tạo thành lớp môi trường có độ dày từ 2 mm đến 5 mm. Có thể đổ môi trường 2 lớp, trong đó chỉ có lớp môi trường phía trên được cấy chủng. Bảo quản các đĩa petri sao cho vi khuẩn không phát triển thêm hoặc bị chết đi và bề mặt của môi trường khô trước khi sử dụng. Với mỗi đĩa petri, đặt 5 ống trụ bằng thép không gỉ có đường kính trong 6 mm lên bề mặt môi trường theo đường tròn đồng tâm với đĩa petri và có bán kính 25 mm. Với mỗi đĩa petri, nhỏ vào mỗi ống trụ 0,15 ml dung dịch thử (1) và (2), dung dịch đối chiếu (1) và (2) và mẫu trắng. Ủ ở 30 °C trong ít nhất 24 h. Đo đường kính vòng vô khuẩn tạo thành bằng thiết bị đo có độ chính xác ít nhất 0,1 mm.

Phép thử chỉ có giá trị nếu dung dịch đối chiếu (1) có vòng vô khuẩn rõ ràng, dung dịch đối chiếu (2) và mẫu trắng không có vòng vô khuẩn. Nếu dung dịch thử (1) có vòng vô khuẩn và dung dịch thử (2) không có vòng vô khuẩn, có nghĩa vòng vô khuẩn này do penicilin trong dung dịch thử (1) tạo ra. Trong trường hợp này, đường kính vòng vô khuẩn trung bình của dung dịch thử (1) của 5 đĩa petri phải nhỏ hơn đường kính vòng vô khuẩn trung bình của dung dịch đối chiếu (1) trong cùng điều kiện.

Môi trường dinh dưỡng (pH 6,0)

Pepton	5,0 g
Cao nấm men	1,5 g
Cao thịt	1,5 g
Natri clorid	3,5 g
Thạch	15,0 g
Nước cất	1000 ml

Ghi chú:

Tạp chất B: penicilin.

Thủy ngân

Không được quá 10 phần triệu.

Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Thêm vào 1,00 g chế phẩm 10 ml *nước* và 0,15 ml *acid percloric (TT)* và lắc tròn đến khi hòa tan hoàn toàn. Thêm 1,0 ml *dung dịch amoni*

pyrolidindithiocarbamat 1 % (TT) đã được rửa 3 lần, mỗi lần bằng cùng thể tích *methyl isobutyl keton (TT)*, rửa ngay trước khi dùng. Trộn đều và thêm 2 ml *methyl isobutyl keton (TT)* và lắc trong 1 min. Pha loãng thành 25,0 ml bằng *nước* và để yên cho tách lớp, gạn lấy lớp methyl isobutyl keton.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan một lượng *thủy ngân oxyd vàng (TT)* tương đương với 0,108 g HgO trong một thể tích nhỏ nhất *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và pha loãng thành 1000,0 ml bằng *nước* (dung dịch thu được có nồng độ 100 phần triệu Hg). Chuẩn bị dung dịch đối chiếu tương tự như dung dịch thử nhưng thay chế phẩm bằng một thể tích thích hợp dung dịch chứa 100 phần triệu Hg.

Đo độ hấp thụ ở bước sóng 254 nm, dùng đèn cathod rỗng thủy ngân làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - acetylen.

Điều chỉnh thiết bị về 0 bằng lớp methyl isobutyl keton thu được bằng cách chuẩn bị một mẫu trắng như với dung dịch thử nhưng không có chế phẩm.

Kim loại nặng

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

Lấy 12 ml dung dịch S tiến hành theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 60 °C trong chân không áp suất không quá 0,67 kPa, phosphor pentoxyd).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,1000 g chế phẩm trong 30 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 14,92 mg $C_5H_{11}NO_2S$.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Tác nhân tạo phức, giải độc kim loại.

Chế phẩm

Viên nén.

PEPSIN

Pepsinum

Pepsin là chế phẩm dạng bột chứa men tiêu protein, lấy từ niêm mạc còn tươi của dạ dày lợn, trâu, bò hoặc cừu, tác dụng trong môi trường acid (pH từ 1 đến 5), phải có hoạt lực không ít hơn 0,5 đơn vị trong 1 mg, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Động vật lấy bột pepsin phải đáp ứng các yêu cầu về sức khỏe động vật phù hợp sử dụng cho người và yêu cầu của cơ quan có thẩm quyền.

Phải chỉ ra phương pháp đã dùng để loại bỏ sự nhiễm virus hay các tác nhân gây nhiễm khác.

Tính chất

Bột kết tinh hoặc vô định hình màu trắng hay vàng nhạt, hút ẩm. Tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %. Dung dịch trong nước có thể hơi đục lờ và có phản ứng acid nhẹ.

Định tính

Trong cối sứ cho 30 mg *fibrin xanh (TT)*, tạo hỗn dịch với 20 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*. Lọc hỗn dịch và rửa giấy lọc với *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* cho đến khi dịch lọc không màu. Chọc thủng giấy lọc và rửa fibrin xanh qua lỗ thủng vào một bình nón bằng 20 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*. Lắc hỗn hợp này trước khi dùng. Hòa tan một lượng chế phẩm không ít hơn 20 đơn vị hoạt lực trong 2 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và điều chỉnh đến pH 1,6 ± 0,1 (dung dịch thử). Cho vào hai ống nghiệm, mỗi ống 4 ml hỗn dịch fibrin được điều chế ở trên. Thêm vào một ống 1 ml dung dịch thử và ống còn lại 1 ml *nước* (mẫu trắng). Trộn đều các ống và cho vào nồi cách thủy ở 25 °C, lắc nhẹ trong 15 min. Dung dịch mẫu trắng không có màu và dung dịch thử phải có màu xanh.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).

(0,500 g; phosphor pentoxyd; áp suất không quá 0,7 kPa; 60 °C; 4 h).

Giới hạn nhiễm khuẩn

Tổng số vi sinh vật hiếu khí: Không quá 10^3 CFU/g.

1,0 g chế phẩm không được có *Escherichia coli* và 10 g chế phẩm không được có *Salmonella* (Phụ lục 13.6).

Định lượng

Hoạt lực của pepsin được xác định bằng cách so sánh lượng peptid không bị tủa bởi *dung dịch acid tricloroacetic (TT)* và được định lượng bằng cách sử dụng *thuốc thử phosphomolibdotungstic (TT)*, giải phóng từng phút từ cơ chất là dung dịch hemoglobin, với lượng peptid giải phóng từ pepsin đối chiếu với cùng cơ chất và cùng điều kiện.

Tránh lắc và làm sủi bọt các dung dịch thử và dung dịch chuẩn trong quá trình định lượng.

Dung dịch thử: Chuẩn bị ngay trước khi dùng một dung dịch chế phẩm chứa 0,5 đơn vị/ml trong *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*. Trước khi pha loãng đến thể tích cần thiết điều chỉnh đến pH 1,6 ± 0,1 nếu cần bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*.

Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị dung dịch pepsin chuẩn chứa 0,5 đơn vị/ml trong *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*. Trước khi pha loãng điều chỉnh đến pH 1,6 ± 0,1 nếu cần bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*.

Chỉ pha trong vòng 15 min trước khi dùng. Chuẩn bị các cặp ống nghiệm T, T_b, S_1, S_{1b}, S_2, S_{2b}, S_3, S_{3b} và ống B.

Thêm *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* vào các ống nghiệm như sau:

B: 1,0 ml

S_1 và S_{1b}: 0,5 ml

S_2, S_{2b}, T, và T_b: 0,25 ml

Thêm dung dịch đối chiếu vào các ống nghiệm như sau:

S_1 và S_{1b}: 0,5 ml

S_2 và S_{2b}: 0,75 ml

S_3 và S_{3b}: 1,0 ml

Thêm 0,75 ml dung dịch thử vào ống nghiệm T và T_b.

Thêm 10,0 ml *dung dịch acid tricloroacetic (TT)* vào các ống S_{1b}, S_{2b}, S_{3b}, T_b và B. Trộn đều.

Đặt các ống nghiệm và *dung dịch hemoglobin (TT)* trong cách thủy ở nhiệt độ 25 °C ± 0,1 °C. Khi nhiệt độ đã cân bằng, thêm 5,0 ml *dung dịch hemoglobin (TT)* vào ống nghiệm B, S_{1b}, S_{2b}, S_{3b} và T_b. Trộn đều. Thêm 5,0 ml *dung dịch hemoglobin (TT)* lần lượt và cách nhau 30 s vào ống nghiệm S_1, S_2, S_3 và T. Trộn đều ngay sau mỗi lần thêm.

Đúng 10 min sau khi thêm *dung dịch hemoglobin (TT)* dừng phản ứng bằng cách thêm 10,0 ml *dung dịch acid tricloroacetic (TT)* vào ống S_1, S_2, S_3 và T mỗi lần cách nhau 30 s. Trộn đều.

Lọc các ống nghiệm (thử và trắng) qua giấy lọc thích hợp đã được rửa trước bằng *dung dịch acid tricloroacetic 5 % (TT)* sau đó là *nước* và làm khô. Bỏ 5 ml dịch lọc đầu. Lấy 3,0 ml mỗi dịch lọc riêng biệt vào ống nghiệm chứa 20 ml *nước*. Trộn đều.

(Giấy lọc thích hợp là giấy lọc đáp ứng các phép thử sau: Lọc 5 ml *dung dịch acid tricloroacetic 5 % (TT)* qua một giấy lọc trắng, tròn, đường kính 7 cm. Độ hấp thụ của dịch lọc ở 275 nm (Phụ lục 4.1), dùng *dung dịch acid tricloroacetic 5 % (TT)* không lọc làm mẫu trắng, phải ít hơn 0,04).

Toàn bộ quá trình trên được ghi ở Bảng A.

Thêm vào mỗi ống nghiệm 1,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 20 % (TT)* và 1,0 ml *thuốc thử phosphomolybdotungstic (TT)* bắt đầu từ các ống trắng sau là các ống thử theo thứ tự như trên.

Sau 15 min đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch S_1, S_2, S_3, S_{1b}, S_{2b}, S_{3b}, T và T_b ở bước sóng 540 nm dùng dịch lọc của ống B làm mẫu trắng.

Hiệu chỉnh độ hấp thụ của dịch lọc từ ống S_1, S_2, S_3 bằng cách lấy độ hấp thụ đo được trừ đi độ hấp thụ dịch lọc S_{1b}, S_{2b}, S_{3b} theo thứ tự.

Vẽ đường cong chuẩn giữa độ hấp thụ đã tính và hoạt lực dung dịch đối chiếu đã dùng.

Xác định hoạt lực của chế phẩm dùng độ hấp thụ của dung dịch thử (T - T_b) từ đường cong chuẩn và tính toán độ pha loãng.

Bảo quản

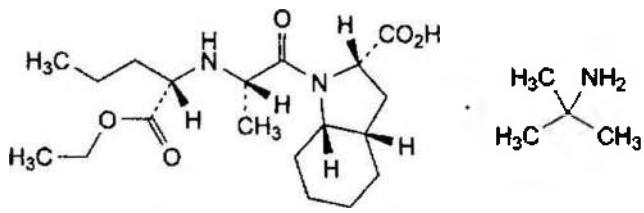
Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng và ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.

Bảng A

	Ống nghiệm								
	S_1	S_{1b}	S_2	S_{2b}	S_3	S_{3b}	T	T_b	B
Dung dịch acid hydrocloric loãng (TT) (ml)	0,5	0,5	0,25	0,25			0,25	0,25	1,0
Dung dịch đối chiếu (ml)	0,5	0,5	0,75	0,75	1,0	1,0			
Dung dịch thử (ml)							0,75	0,75	
Dung dịch acid tricloroacetic (TT) (ml)		10,0		10,0		10,0		10,0	10,0
Trộn		+		+		+		+	+
Trong cách thủy ở 25 °C	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Dung dịch hemoglobin (TT) (ml)		5,0		5,0		5,0		5,0	5,0
Trộn		+		+		+		+	+
Dung dịch hemoglobin (TT) (ml)	5,0		5,0		5,0		5,0		
Trộn	+		+		+		+		
Trong cách thủy ở 25 °C 10 min	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Dung dịch acid tricloroacetic (TT) (ml)	10,0		10,0		10,0		10,0		
Trộn	+		+		+		+		
Lọc	+	+	+	+	+	+	+	+	+

PERINDOPRIL *tert*-BUTYLAMIN

tert-Butylamini Perindoprilum
Perindopril Erbumin



$C_{19}H_{32}N_2O_5.C_4H_{11}N$ P.t.l: 441,6

Perindopril *tert*-butylamin là 2-methylpropan-2-amin (2*S*,3a*S*,7a*S*)-1-[(2*S*)-2-[[(1*S*)-1-(ethoxycarbonyl)butyl] amino]propanoyl]octahydro-1*H*-indol-2-carboxylat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{19}H_{32}N_2O_5.C_4H_{11}N$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hay gần như trắng, hút ẩm nhẹ. Có tính chất đa hình.

Dễ tan trong nước và ethanol 96 %, tan hoặc hơi tan trong diclorometan.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của perindopril *tert*-butylamin chuẩn. Nếu so sánh phổ có sự khác nhau thì hòa tan mẫu thử và mẫu đối chiếu riêng biệt trong *diclorometan (TT)*, bay hơi đến khô và dùng cắn để đo phổ mới.

B. Trên sắc ký đồ thu được từ phép thử Tạp chất A, dung dịch thử cho một vết có R_f tương ứng với vết có R_f lớn hơn trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (*tert*-butylamin).

C. Góc quay cực riêng: Từ -66° đến -69°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất A

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

Bản mỏng: *Silica gel G.*

Dung môi khai triển: *Acid acetic băng - toluen - methanol* (1 : 40 : 60).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hoà tan 5 mg tạp chất A chuẩn của perindopril trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20,0 ml với *methanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (3): Thêm 5 ml dung dịch đối chiếu (1) vào 5 ml *dung dịch 1,1 dimethylethylamin 2 % trong methanol (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (2) và dung dịch đối chiếu (3). Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 2/3 bản mỏng. Lấy bản mỏng ra, để khô trong luồng không khí ấm sau đó đặt vào bình bão hòa hơi iod trong ít nhất 20 h. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, bất kỳ vết nào tương ứng với vết tạp chất A thì không được đậm hơn vết tương ứng trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,25 %). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) cho 2 vết tách riêng biệt.

Ghi chú:

Tạp chất A: Acid (2*S*,3a*S*,7a*S*)-octahydro-1*H*-indol-2-carboxylic.

Tinh khiết đồng phân lập thể

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Trộn đều các dung môi theo thứ tự sau: *Acetonitril - pentanol - dung dịch natri heptansulfonat 0,15 % đã điều chỉnh đến pH 2,0 bằng hỗn hợp đồng thể tích acid percloric (TT) và nước* (21,7 : 0,3 : 78).

Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với *ethanol 96 % (TT)*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg chất chuẩn perindopril dùng cho thử tinh khiết đồng phân lập thể (chứa tạp chất I) trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *octadecylsilyl silica gel hình cầu loại dùng cho sắc ký* (5 µm).

Nhiệt độ cột và đoạn trước cột 30 cm: 50 °C

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.

Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.

Thời gian cân bằng: Ít nhất 4 h.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và các dung dịch đối chiếu. Thời gian chạy sắc ký bằng 1,5 lần thời gian lưu của perindopril.

Định tính các pic tạp chất: Dựa vào sắc ký đồ cung cấp kèm theo chất chuẩn perindopril dùng cho thử tinh khiết đồng phân lập thể và sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic tạp chất I. Thời gian lưu tương đối của pic tạp chất I so với pic perindopril (thời gian lưu khoảng 100 min) là 0,9.

Tính phù hợp của hệ thống: Sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) tương tự sắc ký đồ cung cấp kèm theo chất chuẩn perindopril dùng cho thử tinh khiết đồng phân lập thể. Tỉ số tín hiệu trên nhiễu ít nhất bằng 3 đối với pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Tỉ số đỉnh – hõm (H_p/H_v) ít nhất bằng 3, trong đó H_p là chiều cao của đỉnh pic tạp chất I và H_v là chiều cao của đáy hõm phân tách pic tạp chất I và pic perindopril trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Yêu cầu: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích pic tương ứng với tạp chất I không được lớn hơn diện tích pic

chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).
Bỏ qua các pic có thời gian lưu tương đối so với perindopril nhỏ hơn 0,6 hoặc lớn hơn 1,4.
Ghi chú:
Tạp chất I: Acid (2*RS*,3a*RS*,7a*RS*)-1-[(2*RS*)-2-[[(1*SR*)-1-(ethoxycarbonyl)butyl]amino]propanoyl]octahydro-1*H*-indole-2-carboxylic [(±)-1″-*epi*-perindopril].

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Điều chỉnh *nước* đến pH 2,5 bằng hỗn hợp đồng thể tích *acid percloric (TT)* và *nước*.
Pha động B: Dung dịch acid percloric 0,03 % (tt/tt) trong *acetonitril (TT_1)*.
Pha các dung dịch sau và dùng ngay sau khi pha hoặc duy trì ở nhiệt độ dưới 10 °C.
Dung dịch thử: Hòa tan 60 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 3 mg chất chuẩn perindopril dùng cho định tính pic (chứa các tạp B, E, F, H và K) trong 1 ml pha động A.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 200,0 ml bằng pha động A.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 10,0 ml bằng pha động A.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octylsilyl silica gel hình cầu loại dùng cho sắc ký* (5 µm), có kích thước lỗ xốp 15 nm.
Nhiệt độ cột và đoạn trước cột: 60 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (%tt/tt)	Pha động B (%tt/tt)
0 – (5 - t)	95	5
(5 - t) – (60 - t)	95 → 40	5 → 60
(60 - t) – (65 - t)	40 → 95	60 → 5

Giai đoạn đẳng dòng mô tả ở đây áp dụng cho hệ thống sắc ký có thể tích lưu trú (D) là 2 ml. Nếu D khác 2 ml, điều chỉnh thời gian gradient theo giá trị *t* được tính bằng công thức sau:

$$\frac{D - 2}{\text{Tốc độ dòng}}$$

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và các dung dịch đối chiếu.
Định tính các pic tạp chất: dựa vào sắc ký đồ cung cấp kèm theo chất chuẩn perindopril dùng cho thử định tính pic và sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) để xác định các pic tạp chất B, E, F, H và K.
Thời gian lưu tương đối so với perindopril (thời gian lưu khoảng 25 min): Tạp chất B khoảng 0,68; tạp chất K khoảng 0,72; tạp chất E khoảng 1,2; tạp chất F khoảng 1,6; tạp chất H khoảng 1,8 (có thể phân tách ra 1 hoặc 2 pic).
Tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), tỉ số đỉnh – hõm (H_p/H_v) ít nhất bằng 3, trong đó H_p là chiều cao của đỉnh pic tạp chất B và H_v là chiều cao của đáy hõm phân tách pic tạp chất B và pic tạp chất K.
Yêu cầu: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:
Tạp chất E: Diện tích pic tạp chất E không được lớn hơn 0,8 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,4 %).
Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B không được lớn hơn 0,6 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %).
Tạp chất F, H: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,4 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).
Tổng diện tích của pic các tạp chất: Không được quá 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %).
Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất B: Acid (2*S*,3a*S*,7a*S*)-1-[(2*S*)-2-[[(1*S*)-1-carboxybutyl]amino]propanoyl]octahydro-1*H*-indol-2-carboxylic (perindoprilat),
Tạp chất E: Acid (2*S*,3a*S*,7a*S*)-1-[(2*S*)-2-[[(1*S*)-1-[(1-methylethoxy)carbonyl]butyl]amino]propanoyl]octahydro-1*H*-indol-2-carboxylic,
Tạp chất F: Ethyl (2*S*)-2-[(3*S*,5a*S*,9a*S*,10a*S*)-3-methyl-1,4-dioxodecahydropyrazino[1,2-*a*]indol-2(1*H*)-yl]pentanoat,
Tạp chất H: Acid (2*S*,3a*S*,7a*S*)-1-[(2*S*)-2-[(5*RS*)-3-cyclohexyl-2-(cyclohexylimino)-4-oxo-5-propylimidazolidin-1-yl]propanoyl] octahydro-1*H*-indol-2-carboxylic,
Tạp chất K: (3*S*,5a*S*,9a*S*,10a*S*)-3-methyldecahydropyrazino[1,2-*a*]indol-1,4-dion.

Nước
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,50 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,160 g chế phẩm trong 50 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*.
Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 22,08 mg $C_{23}H_{43}N_3O_5$.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Ức chế men chuyển angiotensin.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN PERINDOPRIL *tert*-BUTYLAMIN
Tabellae tert-Butylamini perindoprilum

Là viên nén chứa perindopril *tert*-butylamin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng perindopril *tert*-butylamin,
$C_{19}H_{32}N_2O_5.C_4H_{11}N$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lấy một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 50 mg perindopril *tert*-butylamin, thêm 10 ml *dicloromethan (TT)*, lắc siêu âm khoảng 2 min để hòa tan và ly tâm trong 5 min. Gạn lấy dịch trong và lọc, chiết dịch lọc với 10 ml *nước*. Để yên tách lớp, gạn lấy lớp nước ở trên và rửa bằng *hexan (TT)* 2 lần, mỗi lần 10 ml. Bay hơi lớp nước trên cách thủy đến khô và sấy cắn ở 60 °C dưới áp suất không quá 0,7 kPa, chú ý không để nhiệt độ bay hơi và sấy lên cao quá. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại của perindopril *tert*-butylamin chuẩn.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic perindopril *tert*-butylamin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 500 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,05 M (TT)*
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Định lượng dược chất hòa tan bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao với điều kiện tiến hành như mục Định lượng, thể tích tiêm là 50 µl.
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, pha loãng dịch lọc nếu cần với *dung dịch acid hydrocloric 0,05 M (TT)* để được dung dịch có nồng độ perindopril *tert*-butylamin 0,004 mg/ml.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 20,0 mg perindopril *tert*-butylamin chuẩn và chuyển vào bình định mức 250 ml. Thêm khoảng 150 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,05 M (TT)*, lắc siêu âm để hòa tan và thêm cùng dung môi đến định mức, lắc đều. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,05 M (TT)*.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng perindopril *tert*-butylamin, $C_{19}H_{32}N_2O_5.C_4H_{11}N$ so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với *pha động, điều kiện sắc ký, dung dịch chuẩn và cách tiến hành* thực hiện như mục Định lượng.
Dung dịch thử: Lấy 1 viên, nghiền thành bột mịn rồi chuyển vào bình định mức 50 ml, thêm 40 ml pha động, lắc siêu âm để hòa tan và thêm pha động vừa đủ đến định mức, lắc đều, lọc. Pha loãng nếu cần với pha động để được dung dịch có nồng độ perindopril *tert*-butylamin 0,04 mg/ml.

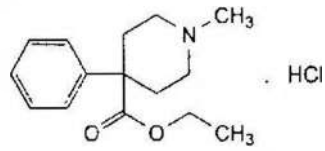
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Acetonitril - nước được điều chỉnh pH đến 2,0 bằng hỗn hợp đồng thể tích acid percloric và nước* (34 : 66).
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 20,0 mg perindopril *tert*-butylamin chuẩn và chuyển vào bình định mức 100 ml. Thêm 70 ml pha động, lắc siêu âm để hòa tan, để nguội và thêm pha động đến vạch, lắc đều. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng pha động.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 20 mg perindopril *tert*-butylamin cho vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml pha động và lắc siêu âm 20 min. Để nguội và thêm pha động vừa đủ 100 ml, lắc đều, lọc. Pha loãng 10,0 ml dung dịch lọc thành 50,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Nhiệt độ cột: 40 °C.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký:
Tiến hành sắc ký 6 lần riêng biệt đối với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic perindopril *tert*-butylamin không được lớn hơn 2,0 %. Hệ số đối xứng pic không lớn hơn 2,0.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng perindopril *tert*-butylamin $C_{19}H_{32}N_2O_5.C_4H_{11}N$ có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{19}H_{32}N_2O_5.C_4H_{11}N$ trong perindopril *tert*-butylamin chuẩn.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, để nơi khô mát, nhiệt độ không quá 30 °C, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Điều trị tăng huyết áp.

Hàm lượng thường dùng
2 mg, 4 mg và 8 mg.

PETHIDIN HYDROCLORID
Pethidini hydrocloridum



$C_{15}H_{21}NO_2.HCl$ P.t.l: 283,8

Pethidin hydroclorid là ethyl-1-methyl-4-phenyl-piperidin-4-carboxylat hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{15}H_{21}NO_2.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.
Sản xuất: Nếu chế phẩm dự định dùng để sản xuất thuốc tiêm thì qui trình sản xuất phải được thẩm định để chứng minh giới hạn tạp chất B không quá 0,1 phần triệu.

Tính chất
Bột kết tinh trắng. Rất dễ tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %, thực tế không tan trong ether.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của pethidin hydroclorid chuẩn.
B. Điểm chảy của chế phẩm phải từ 187 °C đến 190 °C (Phụ lục 6.7).
C. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 10 ml *ethanol (TT)* và thêm 10 ml *dung dịch acid picric 1 % (TT)*. Tủa tinh thể thu được sau khi rửa với nước và sấy khô ở 100 °C đến 105 °C chảy trong khoảng 186 °C đến 193 °C. Trộn đều đồng lượng tủa thu được và chế phẩm, xác định điểm chảy của hỗn hợp. Điểm chảy của hỗn hợp phải thấp hơn điểm chảy của tủa ít nhất là 20 °C (Phụ lục 6.7).
D. Thêm 5 ml *nước* vào 5 ml dung dịch S. Dung dịch này cho phản ứng A của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Thêm 0,2 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)* và 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)* vào 10 ml dung dịch S. Dung dịch này màu vàng. Thêm 0,3 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*, dung dịch chuyển sang đỏ.

Tạp chất B
Không được quá 10 phần triệu đối với chế phẩm không dùng pha tiêm.
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A. Hỗn hợp đồng thể tích *dung dịch natri peclorat 4,2 %* và *dung dịch acid phosphoric 1,16 %*, điều chỉnh đến pH 2,0 bằng *triethylamin (TT)*.
Pha động B: Acetonitril (TT).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong hỗn hợp *acetonitril - nước* (20 : 80) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch thử (2): Hòa tan 0,125 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 20 thể tích *acetonitril (TT)* và 80 thể tích *nước* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 0,5 ml dung dịch thử (1) thành 100,0 ml bằng hỗn hợp *acetonitril - nước* (20 : 80).
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg tạp chất *A (1-methyl-4-phenylpiperidin)* trong hỗn hợp *acetonitril - nước* (20 : 80) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 12,5 mg tạp chất B *(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6 tetrahydropyridin)* trong hỗn hợp *acetonitril - nước* (20 : 80) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng hỗn hợp *acetonitril - nước* (20 : 80).
Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (2) và 1,0 ml dung dịch đối chiếu (3) thành 100,0 ml bằng hỗn hợp *acetonitril - nước* (20 : 80).
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi *spherical end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm) với diện tích bề mặt 340 m^2/g, kích thước lỗ 10 nm và chứa 19 % carbon.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 15	80 - 75	20 - 25
15 - 31	75 - 55	25 - 45
31 - 40	55	45
40 - 41	55 - 80	45 - 20
41 - 50	80	20

Tiến hành sắc ký dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (4). Thời gian lưu tương đối so với pethidin (khoảng 24 min): Tạp chất B khoảng 0,66, tạp chất A khoảng 0,68.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4), tỷ lệ tín hiệu - nhiễu tối thiểu là 10 cho pic đầu tiên và tỷ lệ đỉnh - hõm (H_p/H_v) tối thiểu là 4 trong đó H_p = chiều cao của pic tạp chất B và H_v = chiều

cao của điểm thấp nhất trên đường cong tách pic này từ tạp chất A.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2), diện tích pic tương ứng với tạp chất B không được lớn hơn diện tích pic tương ứng trong dung dịch đối chiếu (4).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tiến hành như trong phần Tạp chất B với những thay đổi sau:
Tiến hành sắc ký với 20 µl dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (1).
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1):
Diện tích pic của bất kỳ tạp chất nào không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Tổng diện tích pic của các tạp chất không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %).
Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

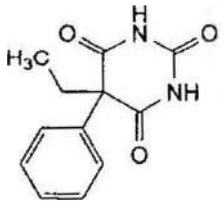
Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,220 g chế phẩm trong 50 ml *ethanol (TT)*, thêm 5,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo thế (Phụ lục 10.2). Đọc thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* thêm vào giữa 2 điểm uốn.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 28,38 mg $C_{15}H_{21}NO_2.HCl$.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc giảm đau.

PHENOBARBITAL
Phenobarbitalum



$C_{12}H_{12}N_2O_3$ P.t.l: 232,2

Phenobarbital là 5-ethyl-5-phenylpyrimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-trion, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{12}H_{12}N_2O_3$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Tinh thể không màu hay bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng. Rất khó tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %. Tạo thành hợp chất tan trong nước với hydroxyd, carbonat kiềm và với amoniac.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của phenobarbital chuẩn.
B. Xác định điểm chảy (Phụ lục 6.7) của chế phẩm và của hỗn hợp đồng lượng chế phẩm với phenobarbital chuẩn. Điểm chảy của chế phẩm và của hỗn hợp phải ở khoảng 176 °C. Sự khác biệt về điểm chảy của 2 mẫu trên không được quá 2 °C.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Là lớp dưới của hỗn hợp gồm *amoniac - ethanol 96 % - cloroform* (5 : 15 : 80).
Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg phenobarbital chuẩn trong *ethanol 96 % (TT)* pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được khoảng 2/3 chiều dài bản mỏng. Quan sát ngay bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu.
D. Phản ứng đặc trưng của barbiturat có hydro ở nhóm NH không bị thay thế (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 4 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)* và 6 ml *nước*. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu V_6 (Phụ lục 9.3 phương pháp 2).

Giới hạn acid
Đun sôi 1,0 g chế phẩm với 50 ml *nước* trong 2 min, để nguội rồi lọc.
Thêm 0,15 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)* vào 10,0 ml dịch lọc, dung dịch có màu vàng cam. Để chuyển sang màu vàng, thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* sử dụng không được quá 0,1 ml.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 6,60 g *natri acetat (TT)* trong 900 ml *nước*, thêm 3 ml *acid acetic băng (TT)*, điều chỉnh đến pH

4,5 bằng *acid acetic băng (TT)* và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*. Trộn 60 thể tích dung dịch thu được và 40 thể tích *methanol (TT)*.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,125 g chế phẩm trong 5,0 ml *methanol (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (1): Trộn 1,0 ml dung dịch thử với 20,0 ml *methanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động. Trộn 1,0 ml dung dịch thu được với 2,0 ml *methanol (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5,0 mg tạp chất A chuẩn của phenobarbital và 5,0 mg tạp chất B chuẩn của phenobarbital trong 2,0 ml *methanol (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml bằng pha động. Trộn 1,0 ml dung dịch thu được với 20,0 ml *methanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2,1 lần thời gian lưu của phenobarbital.

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất A và B.

Thời gian lưu tương đối so với phenobarbital (thời gian lưu khoảng 14 min): Tạp chất A khoảng 0,2; tạp chất B khoảng 0,3.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất A và pic của tạp chất B ít nhất là 1,5.

Giới hạn:

Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,15 %).

Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,15 %).

Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: (5*RS*)-5-ethyl-2,6-diimino-5-henyltetrahydropyrimidin-4(1*H*)-on.

Tạp chất B: (5*RS*)-5-ethyl-6-imino-5-phenyldihydropyrimidin-2,4(1*H*,3*H*)-dion.

Tạp chất C: 5-methyl-5-phenylpyrimidin-2,4,6(1*H*,3*H*,5*H*)-trion.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 40 ml *ethanol 96 % (TT)* và thêm 20 ml *nước*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 23,22 mg $C_{12}H_{12}N_2O_3$.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc

Thuốc an thần nhóm barbiturat.

Chế phẩm

Cồn thuốc, viên nén.

VIÊN NÉN PHENOBARBITAL

Tabellae Phenobarbitali

Viên nén Gardenal, Luminal

Là viên nén chứa phenobarbital.

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

Hàm lượng phenobarbital, $C_{12}H_{12}N_2O_3$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

A. Lấy một lượng bột viên tương ứng khoảng 60 mg phenobarbital lắc với 50 ml *cloroform (TT)* và lọc. Bốc hơi dịch lọc đến khô rồi sấy khô ở 105 °C trong 2 h. Phổ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn phải phù hợp với phổ hồng ngoại của phenobarbital chuẩn.

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

Độ hòa tan

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc đến nồng độ thích hợp bằng *đệm borat pH 9,6 (TT)*. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 240 nm. So sánh với dung dịch chuẩn có nồng độ

phenobarbital tương đương dung dịch thử pha trong cùng dung môi. Tính hàm lượng phenobarbital hòa tan dựa vào các độ hấp thụ đo được và nồng độ phenobarbital trong dung dịch chuẩn.
Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng phenobarbital so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

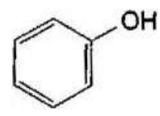
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm pH 4,5: Hòa tan 6,6 g *natri acetat (TT)* và 3,0 ml *acid acetic băng (TT)* trong 1000 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 4,5 ± 0,1 bằng *acid acetic băng (TT)*.
Pha động: Dung dịch đệm pH 4,5 - methanol (3 : 2).
Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan cafein chuẩn trong hỗn hợp đồng thể tích *methanol (TT)* và *dung dịch đệm pH 4,5* để có nồng độ cafein khoảng 125 µg/ml.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng chính xác khoảng 20,0 mg phenobarbital chuẩn trong 15,0 ml dung dịch chuẩn nội, lắc siêu âm nếu cần, lọc.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 20 mg phenobarbital, thêm 15,0 ml dung dịch chuẩn nội, lắc siêu âm trong 15 min, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 µm đến 10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ phân giải giữa pic phenobarbital và chất chuẩn nội không được nhỏ hơn 1,2; hệ số đối xứng của pic phenobarbital và pic chuẩn nội không được lớn hơn 2,0. Độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic đáp ứng từ các lần tiêm lặp lại không được quá 2,0 %. Thời gian lưu tương đối của cafein khoảng 0,6 và của phenobarbital là 1,0. Có thể điều chỉnh tỷ lệ pha động để đạt điều kiện trên.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng phenobarbital, $C_{12}H_{12}N_2O_3$, trong viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{12}H_{12}N_2O_3$ trong phenobarbital chuẩn.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống co giật và an thần, gây ngủ.

Hàm lượng thường dùng
10 mg, 50 mg, 100 mg.

PHENOL
Phenolum



C_6H_6O P.t.l: 94,1

Phenol phải chứa từ 99,0 % đến 100,5 % C_6H_6O.

Tính chất
Tinh thể hoặc khối kết tinh không màu hay màu hồng nhạt hoặc vàng nhạt, có mùi đặc trưng, dễ chảy lỏng. Tan trong nước, rất tan trong dicloromethan, ethanol 96 % và glycerin.

Định tính
A. Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 2 ml *dung dịch amoniac 13,5 M (TT)*, phải tan hoàn toàn và pha loãng thành 100 ml bằng *nước*. Lấy 2 ml dung dịch này, thêm 0,05 ml *dung dịch natri hypoclorit (3 % Cl) (TT)* xuất hiện màu xanh và màu này đậm dần.
B. Lấy 1 ml dung dịch S (xem Độ trong và màu sắc của dung dịch), thêm 10 ml *nước* và 0,1 ml *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)*, xuất hiện màu tím và màu này mất đi khi thêm 5 ml *propan-2-ol (TT)*.
C. Lấy 1 ml dung dịch S, thêm 10 ml *nước* và 1 ml *nước brom (TT)* sẽ có tủa màu vàng nhạt.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 15 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu N_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid
Thêm 0,05 ml *dung dịch da cam methyl (TT)* vào 2 ml dung dịch S. Dung dịch phải có màu vàng.

Điểm đông đặc
Không được dưới 39,5 °C (Phụ lục 6.6).

Cắn sau khi bay hơi
Không được quá 0,05 %.
Lấy 5,000 g chế phẩm làm bay hơi đến khô trên cách thủy và sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 1 h.

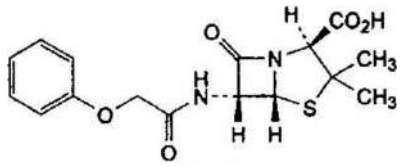
Định lượng
Hòa tan 2,000 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 1000,0 ml với cùng dung môi. Chuyển 25,0 ml dung dịch thu được vào 1 bình thủy tinh có nút mài. Thêm 50,0 ml *dung dịch brom 0,1 N (CĐ)* và 5 ml *acid hydrocloric (TT)*. Đậy bình và để 30 min (thỉnh thoảng lắc), sau đó để yên 15 min nữa. Thêm 5 ml *dung dịch kali iodid 20 % (TT)*, lắc và chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* cho đến màu vàng nhạt. Thêm 0,5 ml *dung dịch hồ tinh bột*

(TT) và 10 ml *cloroform (TT)*, tiếp tục vừa chuẩn độ vừa lắc mạnh. Song song làm mẫu trắng.
1 ml *dung dịch brom 0,1 N (CĐ)* tương đương với 1,569 mg C_6H_6O.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Sát trùng, bảo quản chống nhiễm khuẩn, chống ngứa.

PHENOXYMETHYLPENICILIN
Phenoxymethylpenicillinum



$C_{16}H_{18}N_2O_5S$ P.t.l: 350,4

Phenoxymethylpenicilin là acid (2*S*,5*R*,6*R*)-3,3-dimethyl-7-oxo-6-[(phenoxyacetyl)amino]-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic, được sản xuất bằng cách nuôi cấy chủng *Penicillium notatum* hoặc các chủng cùng họ trong môi trường có chứa tiền chất thích hợp, hay bằng các phương pháp khác. Tổng hàm lượng của phenoxymethylpenicilin và 4-hydroxyphenoxymethylpenicilin phải từ 95,0 % đến 100,5 %, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng, hơi hút ẩm. Rất khó tan trong nước, tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của phenoxymethylpenicilin chuẩn.
B. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu phép thử pH.
C. Tiến hành sắc ký lớp mỏng theo Định tính các penicilin (Phụ lục 8.2).
D. Phản ứng B trong phép thử Phản ứng màu của các penicilin và cephalosporin (Phụ lục 8.3).

pH
Từ 2,4 đến 4,0 (Phụ lục 6.2)
Lắc 50 mg chế phẩm trong 10 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* để tạo thành hỗn dịch.

Góc quay cực riêng
Từ +186° đến +200° tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *butanol (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Không được quá 1,0 %.
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)
Điều kiện sắc ký, dung môi pha mẫu và các dung dịch đối chiếu: Giống như ở phần Định lượng.
Dung dịch thử: Chuẩn bị ngay trước khi dùng. Hòa tan 80,0 mg chế phẩm trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch đối chiếu (4), tiến hành sắc ký đẳng dòng với thành phần pha động giống như phần Định lượng cho đến khi pic của phenoxymethylpenicilin được rửa giải ra khỏi cột. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống để thu được tỷ lệ tín hiệu/nhiễu ít nhất bằng 3. Tiêm dung dịch đối chiếu (5). Tiêm dung dịch thử, đặt chương trình pha động sao cho ban đầu rửa giải với pha động đẳng dòng giống như trên. Sau khi phenoxymethylpenicilin được rửa giải ra khỏi cột, ngay lập tức thay đổi tỷ lệ pha động theo chương trình sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Ghi chú
0 - 20	60 → 0	40 → 100	Gradient tuyến tính
20 - 35	0	100	Đẳng dòng
35 - 50	0 → 60	100 → 40	Cân bằng cột

Tiêm dung môi pha mẫu, tiến hành sắc ký giống như với dung dịch thử để thu được sắc ký đồ mẫu trắng.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào, trừ các pic tương ứng với mẫu trắng và pic của 4-hydroxyphenoxymethylpenicilin, không được lớn hơn diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (5).

4-Hydroxyphenoxymethylpenicilin
Không được quá 4,0 %, tính theo chế phẩm khan.
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) như mô tả trong phần Định lượng.

Nước
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 1,000 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Dung dịch đệm phosphat pH 3,5 - methanol - nước (10 : 30 : 60).
Pha động B: Dung dịch đệm phosphat pH 3,5 - nước - methanol (10 : 35 : 55).
Dung môi pha mẫu: Thêm 500 ml *nước* vào 250 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)*, lắc đều. Điều chỉnh đến pH 6,5 bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,84 % (TT)* và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*.
Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 55,0 mg phenoxymethylpenicilin kali chuẩn trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 4,0 mg 4-hydroxyphenoxymethylpenicilin chuẩn trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng dung môi pha mẫu.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10 mg phenoxymethylpenicilin kali chuẩn và 10 mg benzylpenicilin natri chuẩn trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20 ml với dung môi pha mẫu. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50 ml với dung môi pha mẫu.
Dung dịch đối chiếu (5): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 25,0 ml với dung môi pha mẫu.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành: Cân bằng cột với pha động là hỗn hợp pha động A và pha động B (60 : 40). Tiêm dung dịch đối chiếu (3). Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic chính ít nhất phải bằng 6,0 (điều chỉnh tỷ lệ giữa pha động A và pha động B nếu cần thiết) và tỷ số phân bố khối lượng (D_m) của pic thứ hai (phenoxymethylpenicilin) phải từ 5,0 đến 7,0. Tiêm riêng biệt dung dịch đối chiếu (1) sáu lần, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic không được lớn hơn 1,0 %.
Tiêm dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (2).
Tính hàm lượng phenoxymethylpenicilin và 4-hydroxyphenoxymethylpenicilin dựa vào diện tích pic đáp ứng. Nồng độ phenoxymethylpenicilin trong dung dịch chuẩn bằng nồng độ phenoxymethylpenicilin kali nhân với 0,902.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm penicilin.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN PENICILIN V
Tabellae Phenoxymethylpenicillini

Là viên nén chứa phenoxymethylpenicilin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng phenoxymethylpenicilin, $C_{16}H_{18}N_2O_5S$, từ 90,0 % đến 120,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lắc kỹ một lượng bột viên tương ứng với 80 mg phenoxymethylpenicilin với 5 ml *methanol (TT)* trong bình định mức 250 ml, thêm *nước* đến định mức, trộn đều, lọc. Phổ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dịch lọc phải có các cực đại ở các bước sóng 268 nm và 274 nm, cực tiểu ở bước sóng 272 nm.
B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic penicilin V trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Nước
Không được quá 3,0 % (Phụ lục 10.3).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4).
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng với môi trường hòa tan để được dung dịch có nồng độ thích hợp (nếu cần). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dịch lọc thu được ở cực đại 268 nm, trong cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. So sánh với dung dịch phenoxymethylpenicilin kali chuẩn có nồng độ tương đương pha trong môi trường hòa tan. Tính lượng phenoxymethylpenicilin, $C_{16}H_{18}N_2O_5S$, được hòa tan trong viên dựa vào các độ hấp thụ đo được và hàm lượng $C_{16}H_{18}N_2O_5S$ trong phenoxymethylpenicilin kali chuẩn.
Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng phenoxymethylpenicilin, $C_{16}H_{18}N_2O_5S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)
Pha động: Nước - acetonitril - acid acetic băng (650 : 350 : 5,75).
Dung dịch phân giải: Dung dịch có chứa 2,5 mg benzylpenicilin kali và 2,5 mg phenoxymethylpenicilin kali trong 1 ml, pha trong pha động.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch phenoxymethylpenicilin kali chuẩn có nồng độ khoảng 2,5 mg/ml, pha trong pha động.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên rồi nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng khoảng 400 000 đơn vị phenoxymethylpenicilin hòa trong pha động vừa đủ 100,0 ml, lắc kỹ trong 5 min, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (30 cm × 4 mm), được nhồi pha tĩnh C (3 µm đến 10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, thời gian lưu tương đối của pic benzylpenicilin khoảng 0,8 và của pic phenoxymethylpenicilin là 1,0. Hiệu năng của cột xác định trên pic phenoxymethylpenicilin không được nhỏ hơn 1800 đĩa lý thuyết, hệ số phân giải giữa pic benzylpenicilin và pic phenoxymethylpenicilin không được nhỏ hơn 3,0.

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic phenoxymethylpenicilin trên sắc ký đồ thu được trong 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 1,0 %. Có thể điều chỉnh tỷ lệ pha động để đạt điều kiện trên.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng phenoxymethylpenicilin, $C_{16}H_{18}N_2O_5S$, trong viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{18}N_2O_5S$ trong phenoxymethylpenicilin chuẩn.

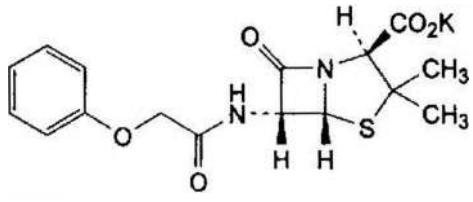
Bảo quản
Tránh ẩm và ánh sáng, ở nhiệt độ không quá 30 °C.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm penicilin.

Hàm lượng thường dùng
200 000 đơn vị (IU); 400 000 đơn vị (IU).

PHENOXYMETHYLPENICILIN KALI

Phenoxymethylpenicillinum kalicum



$C_{16}H_{17}KN_2O_5S$ P.t.l: 388,5

Phenoxymethylpenicilin kali là muối kali của acid (2*S*,5*R*,6*R*)-3,3-dimethyl-7-oxo-6-[(phenoxyacetyl)-amino]-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic, được sản xuất bằng cách nuôi cấy chủng *Penicillium notatum* hoặc các chủng cùng họ trong môi trường có chứa tiền chất thích hợp, hay bằng các phương pháp khác. Tổng hàm lượng của phenoxymethylpenicilin kali và 4-hydroxyphenoxymethylpenicilin kali phải từ 95,0 % đến 100,5 %, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của phenoxymethylpenicilin kali chuẩn.
B. Tiến hành sắc ký lớp mỏng theo Định tính các penicilin (Phụ lục 8.2).
C. Phản ứng B trong phép thử Phản ứng màu của các penicilin và cephalosporin (Phụ lục 8.3).
D. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của ion kali (Phụ lục 8.1)

pH
Từ 5,5 đến 7,5 (Phụ lục 6.2)
Hòa tan 100 mg chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Góc quay cực riêng
Từ +215° đến +230° tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Không được quá 1,0 %.
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)
Điều kiện sắc ký, dung môi pha mẫu và các dung dịch đối chiếu: Giống như ở phần Định lượng.
Dung dịch thử: Chuẩn bị ngay trước khi dùng. Hòa tan 80,0 mg chế phẩm trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch đối chiếu (4), tiến hành sắc ký đẳng dòng với thành phần pha động giống như phần định lượng cho đến khi pic của phenoxymethylpenicilin được rửa giải ra khỏi cột. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống để thu được tỷ lệ tín hiệu/độ nhiễu ít nhất bằng 3. Tiêm dung dịch đối chiếu (5). Tiêm dung dịch thử, đặt chương trình pha động sao cho ban đầu rửa giải với pha động đẳng dòng giống như trên. Sau khi phenoxymethylpenicilin được rửa giải ra khỏi cột, ngay lập tức thay đổi tỷ lệ pha động theo chương trình sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Ghi chú
0 - 20	60 → 0	40 → 100	Gradient tuyến tính
20 - 35	0	100	Đẳng dòng
35 - 50	0 → 60	100 → 40	Cân bằng cột

Tiêm dung môi pha mẫu, tiến hành sắc ký giống như với dung dịch thử để thu được sắc ký đồ mẫu trắng.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào, trừ các pic chính và pic của 4-hydroxy-phenoxymethylpenicilin, không được lớn hơn diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (5).

4-Hydroxyphenoxymethylpenicilin kali
Không được quá 4,0 %, tính theo chế phẩm khan.
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) như ở phần Định lượng.

Nước
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 1,000 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Dung dịch đệm phosphat pH 3,5 - methanol - nước (10 : 30 : 60).
Pha động B: Dung dịch đệm phosphat pH 3,5 - nước - methanol (10 : 35 : 55).
Dung môi pha mẫu: Thêm 500 ml *nước* vào 250 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)*, lắc đều. Điều chỉnh đến pH 6,5 bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,84 % (TT)* và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*.
Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50,0 mg phenoxymethyl penicilin kali chuẩn trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 4,0 mg 4-hydroxy-phenoxymethylpenicilin chuẩn trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng dung môi pha mẫu.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10 mg phenoxymethyl penicilin kali chuẩn và 10 mg benzylpenicilin natri chuẩn trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20 ml bằng dung môi pha mẫu. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50 ml bằng dung môi pha mẫu.
Dung dịch đối chiếu (5): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 25,0 ml bằng dung môi pha mẫu.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành: Cân bằng cột với pha động là hỗn hợp pha động A và pha động B (60 : 40).
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa hai pic chính ít nhất là 6,0 (điều chỉnh tỷ lệ giữa pha động A và pha động B nếu cần thiết) và tỷ số phân bố khối lượng (D_m) của pic thứ hai (phenoxymethylpenicilin) phải từ 5,0 đến 7,0. Tiêm riêng biệt dung dịch đối chiếu (1) sáu lần, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic không được lớn hơn 1,0 %.
Tiêm dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (2).
Tính hàm lượng phenoxymethylpenicilin kali và 4-hydroxy phenoxymethylpenicilin dựa vào diện tích pic đáp ứng. Hàm lượng 4-hydroxyphenoxymethylpenicilin kali bằng hàm lượng 4-hydroxyphenoxymethylpenicilin nhân với hệ số hiệu chỉnh được cung cấp kèm theo chất đối chiếu.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm penicilin.

Chế phẩm
Viên nén, bột pha hỗn dịch uống.

VIÊN NÉN PENICILIN V KALI
Tabellae Phenoxymethylpenicillini Kalii

Là viên nén chứa phenoxymethylpenicilin kali.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng phenoxymethylpenicilin, $C_{16}H_{18}N_2O_5S$, từ 90,0 % đến 120,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lắc kỹ một lượng bột viên tương ứng với khoảng 80 mg phenoxymethylpenicilin với khoảng 200 ml *nước* trong bình định mức 250 ml, thêm *nước* đến định mức, trộn đều, lọc. Phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dịch lọc thu được phải có cực đại ở các bước sóng 268 nm và 274 nm, cực tiểu ở bước sóng 272 nm.
B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic phenoxymethylpenicilin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
C. Đốt 0,5 g bột viên, rồi nung đến cắn tro màu trắng. Để nguội, thêm vào cắn 5 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)*. Đun sôi, để nguội, lọc. Dịch lọc phải cho phản ứng B của ion kali (Phụ lục 8.1).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,5 % (Phụ lục 9.6).
(Dùng 0,5 g bột viên đã nghiền mịn, sấy 3 h trong chân không, ở 60 °C).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *đệm phosphat chuẩn pH 6,0 (TT)*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng với môi trường hòa tan để được dung dịch có nồng độ thích hợp (nếu cần). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch ở cực đại 268 nm, trong cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. So sánh với dung dịch phenoxymethylpenicilin kali chuẩn có nồng độ tương đương pha trong môi trường hòa tan. Tính lượng phenoxymethylpenicilin, $C_{16}H_{18}N_2O_5S$, được hòa tan trong viên dựa vào các độ hấp thụ đo được và hàm lượng $C_{16}H_{18}N_2O_5S$ trong mẫu chuẩn.
Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng phenoxymethylpenicilin, $C_{16}H_{18}N_2O_5S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Nước - acetonitril - acid acetic băng (650 : 350 : 5,75).
Dung dịch phân giải: Dung dịch có chứa 2,5 mg benzylpenicilin kali và 2,5 mg phenoxymethylpenicilin kali trong 1 ml, pha trong pha động.

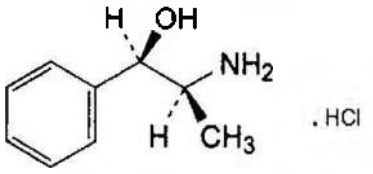
Dung dịch chuẩn: Dung dịch phenoxymethylpenicilin kali chuẩn có nồng độ khoảng 2,5 mg/ml, pha trong pha động.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên rồi nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng khoảng 400 000 đơn vị phenoxymethylpenicilin hòa trong pha động vừa đủ 100,0 ml, lắc kỹ trong 5 min, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (30 cm × 4 mm), được nhồi pha tĩnh C (3 µm đến 10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, thời gian lưu tương đối của pic benzylpenicilin khoảng 0,8 và của pic phenoxymethylpenicilin là 1,0. Hiệu năng của cột xác định trên pic phenoxymethylpenicilin không được ít hơn 1800 đĩa lý thuyết, hệ số phân giải giữa pic benzylpenicilin và pic phenoxymethylpenicilin không được nhỏ hơn 3,0.
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic henoxymethylpenicilin trên sắc ký đồ thu được trong 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 1,0 %.
Có thể điều chỉnh tỷ lệ pha động để đạt các điều kiện trên.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng phenoxymethylpenicilin, $C_{16}H_{18}N_2O_5S$, trong viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{18}N_2O_5S$ trong phenoxymethylpenicilin kali chuẩn.

Bảo quản
Tránh ẩm và ánh sáng, ở nhiệt độ không quá 30 °C.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm penicilin.

Hàm lượng thường dùng
200 000 đơn vị (IU); 400 000 đơn vị (IU).

PHENYLPROPANOLAMIN HYDROCLORID
Phenylpropanolamini hydrochloridum



và đồng phân đối quang

$C_9H_{13}NO.HCl$ P.t.l: 187,7

Phenylpropanolamin hydroclorid là (1*RS*,2*SR*)-2-amino-1-phenylpropan-1-ol hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,5 % $C_9H_{13}NO.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hay gần như trắng. Dễ tan trong nước và ethanol 96 %, thực tế không tan trong diclorometan.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, E.
Nhóm II: B, C, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của phenylpropanolamin hydroclorid chuẩn. Xác định dưới dạng đĩa nén không cần kết tinh lại.
B. Điểm chảy từ 194 °C đến 197 °C (Phụ lục 6.7).
C. Trong phần Tạp chất liên quan, vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải phù hợp về vị trí, màu và kích thước với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
D. Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 5 ml *nước*, thêm 0,2 ml *dung dịch đồng sulfat 12,5 % (TT)* và 0,3 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*, xuất hiện màu tím. Thêm 2 ml *ether (TT)* và lắc, có tủa màu tím tạo thành giữa 2 lớp dung dịch.
E. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của ion clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 1,25 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Thêm 0,1 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)* và 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)* vào 10 ml dung dịch S, dung dịch có màu vàng. Thêm 0,4 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*, dung dịch có màu đỏ.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel H.
Dung môi khai triển: Amoniac - ethanol 96 % - butanol (6 : 24 : 70).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng *ethanol 96 % (TT).*
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg phenylpropanolamin hydroclorid chuẩn trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 10 ml bằng *ethanol 96 % (TT).*
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 20 mg norpseudoephedrin hydroclorid chuẩn trong *ethanol 96 % (TT)*, thêm 1 ml dung dịch thử (1) và pha loãng thành 10 ml bằng *ethanol 96 %.*
Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 60 mg *amoni clorid (TT)* trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Trước khi chấm sắc ký, phun lên bản mỏng *dung dịch natri tetraborat 2 %* (8 ml cho bản mỏng kích thước 10 cm × 20 cm). Để khô bản mỏng dưới một luồng khí lạnh trong 30 min. Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên thành dải có kích thước 10 mm × 3 mm. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm. Sấy khô bản mỏng dưới một luồng khí ấm đến khi dung môi bay hết, để nguội. Phun *dung dịch ninhydrin 0,2 % trong ethanol 96 %* và sấy bản mỏng ở 110 °C trong 15 min. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), bất kỳ vết phụ nào, ngoài vết chính và vết tương ứng với amoni clorid, không được đậm hơn vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) cho 2 vết tách rõ rệt.

Phenylpropanonamin

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 283 nm không được lớn hơn 0,10.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4).

Lấy 12 ml dung dịch S tiến hành theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g, 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,1500 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* và 50 ml *ethanol 96 % (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Đọc thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* thêm vào giữa hai điểm uốn.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 18,77 mg $C_9H_{13}NO.HCl$.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

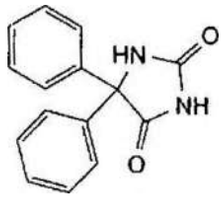
Thuốc giống thần kinh giao cảm.

Chế phẩm

Viên nén, nang phối hợp.

PHENYTOIN

Phenytoinum



$C_{15}H_{12}N_2O_2$ P.t.l: 252,3

Phenytoin là 5,5-diphenylimidazolidin-2,4-dion, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{15}H_{12}N_2O_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng.

Thực tế không tan trong nước, hơi tan trong ethanol 96 %, rất khó tan trong methylen clorid, tan trong các dung dịch hydroxyd kiềm loãng.

Định tính

Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của phenytoin chuẩn.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* và 20 ml *nước*.

Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 45 ml *nước* vào 1,0 g chế phẩm, đun sôi khoảng 2 min, để nguội và lọc. Rửa phễu lọc bằng *nước không có carbon dioxyd (TT)*, gộp dịch lọc và dịch rửa rồi pha loãng thành 50 ml bằng *nước không có carbon dioxyd (TT)*.

Lấy 10 ml dung dịch thu được, thêm 0,15 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)*, lượng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* cần dùng để làm màu của chỉ thị chuyển sang màu đỏ không quá 0,5 ml.

Lấy 10 ml dung dịch thu được, thêm 0,15 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)*, lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)* cần dùng để làm màu của chỉ thị chuyển sang màu xanh lam không quá 0,5 ml.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Methanol (TT_1) - acetonitril TT_1 - dung dịch đệm amoni dihydrophosphat 0,575 % đã được chỉnh đến pH 2,5 bằng acid phosphoric* (20 : 35 : 45).

Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 2 mg *2,2-diphenylglycin (TT)* (tạp chất C) trong 100,0 ml pha động.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10 mg phenytoin chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa tạp chất D và E) trong pha động, thêm 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) và pha loãng thành 10,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

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

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 4 lần thời gian lưu của phenytoin.

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo phenytoin chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của tạp chất C, D và E.

Thời gian lưu tương đối so với phenytoin (thời gian lưu khoảng 4 min): Tạp chất C khoảng 0,5; tạp chất D khoảng 0,6; tạp chất E khoảng 0,8.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic của tạp chất D và pic của tạp chất E ít nhất là 3,5.

Giới hạn:

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng: Tạp chất D là 1,7; tạp chất E là 1,4.

Tạp chất E: Diện tích pic tạp chất E đã hiệu chỉnh không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).

Tạp chất C: Diện tích pic tạp chất C không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).

Tạp chất D: Diện tích pic tạp chất D đã hiệu chỉnh không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).

Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: Diphenylmethanon (benzophenon).

Tạp chất B: Diphenylethandion (benzil).

Tạp chất C: Acid amino(diphenyl)acetic (2,2-diphenylglycin).

Tạp chất D: 3a,6a-diphenyltetrahydroimidazo[4,5-*d*]imidazol-2,5(1*H*,3*H*)-dion.

Tạp chất E: Acid (carbamoylamino)(diphenyl)acetic.

Tạp chất F: 5-(4-methylphenyl)-5-phenylimidazolidin-2,4-dion.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

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

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 50 ml *dimethylformamid (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri methoxyd 0,1 M (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch natri methoxyd 0,1 M (CĐ)* tương đương với 25,23 mg $C_{15}H_{12}N_2O_2$.

Bảo quản

Trong bao bì kín.

Loại thuốc

Thuốc chống động kinh.

Chế phẩm

Kem, thuốc mỡ.

VIÊN NÉN PHENYTOIN

Tabellae Phenytoini

Là viên nén hay viên nén bao phim chứa phenytoin natri. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng phenytoin natri, $C_{15}H_{11}N_2NaO_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

A. Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,5 g phenytoin natri, thêm 10 ml *nước (TT)*, lắc trong 10 min, lọc (dịch lọc A). Lấy 2 ml dịch lọc A, thêm vài giọt *dung dịch thủy ngân (II) clorid 5 % (TT)*, xuất hiện tủa trắng không tan trong *dung dịch amoniac 10 % (TT)*.

B. Lấy 0,5 ml dịch lọc A, cho bay hơi đến khô. Cắn thu được cho phản ứng ngọn lửa của ion natri (Phụ lục 8.1).

C. Trong phần Tạp chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) về vị trí, màu sắc và kích thước.

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Propan-2-ol - cloroform - amoniac 13,5 M (45 : 45 : 10).
Dung dịch thử (1): Lắc kỹ một lượng bột viên chứa 0,2 g phenytoin natri với 5 ml *methanol (TT)* làm ẩm trên cách thủy, lắc và lọc. Sử dụng dịch lọc.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml với *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (2) thành 20 ml với *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch benzophenon chuẩn 0,020 % trong *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (3): Dung dịch phenytoin natri chuẩn 0,4 % trong *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên, làm khô các vết bằng luồng không khí lạnh trong 2 min. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, sấy khô ở 80 °C trong 5 min và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (1), bất kỳ vết phụ nào tương ứng với benzophenon không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %) và bất kỳ vết phụ nào khác không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 500 ml nước.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, loại bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dịch lọc ở bước sóng 258 nm (Phụ lục 4.1) trong cốc đo dày 1 cm, dùng *nước* làm mẫu trắng. So sánh với dung dịch phenytoin natri chuẩn có nồng độ chính xác khoảng 0,2 mg/ml. Tính hàm lượng phenytoin natri, $C_{15}H_{11}N_2NaO_2$, đã hòa tan trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ $C_{15}H_{11}N_2NaO_2$ của dung dịch chuẩn.
Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng phenytoin natri so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng
Cân 20 viên (đã loại bỏ lớp vỏ bao, nếu là viên bao), tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,3 g phenytoin natri vào bình gạn, thêm 25 ml *nước (TT)*, lắc trong 10 min. Thêm 50 ml *ether (TT)* và 10 giọt *dung dịch xanh bromophenol (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)*, lắc mạnh, cho đến khi lớp nước có màu xám lam. Chuyển lớp nước vào bình nón nút mài, rửa lớp ether với 5 ml *nước*. Gộp dịch rửa vào lớp nước trong bình nón, thêm 20 ml *ether (TT)*, tiếp tục chuẩn độ với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)*, lắc mạnh, cho đến khi lớp nước có màu lục nhạt.

1 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 27,43 mg $C_{15}H_{11}N_2NaO_2$.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống động kinh.

Hàm lượng thường dùng
50 mg; 100 mg.

PHTHALYLSULFATHIAZOL
Phthalylsulfathiazolum



$C_{17}H_{13}N_3O_5S_2$ P.t.l: 403,4

Phthalylsulfathiazol là acid 2-[[4-(thiazol-2-ylsulfamoyl) phenyl]carbamoyl]benzoic, phải chứa từ 98,5 % đến 101,5 % $C_{17}H_{13}N_3O_5S_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc trắng ánh vàng. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong dimethylformamid, khó tan trong aceton và ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B, E.
Nhóm II: B, C, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của phthalylsulfathiazol chuẩn.
B. Lấy 1 g chế phẩm, thêm 8,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, đun sôi hồi lưu trong 30 min. Để nguội, thêm 17,5 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*. Lắc mạnh và lọc. Trung hòa dịch lọc bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*. Lọc, rửa tủa bằng nước. Kết tinh lại tủa trong nước và sấy khô tinh thể ở 100 °C đến 105 °C. Nhiệt độ nóng chảy của tinh thể thu được từ 200 °C đến 203 °C (Phụ lục 6.7).
C. Lấy 0,1 g chế phẩm cho vào một ống nghiệm, thêm 3 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* và 0,5 g *bột kẽm (TT)*. Khi được tạo thành làm đen *giấy tẩm chì (II) acetat (TT)*.
D. Lấy khoảng 0,1 g chế phẩm, thêm 0,5 g *resorcinol (TT)* và 0,3 ml *acid sulfuric (TT)*, đun nóng trên cách thủy cho đến khi hỗn hợp đồng nhất. Để nguội, thêm 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, lắc đều, hỗn hợp có màu đỏ nâu. Pha loãng 0,1 ml hỗn hợp thu được thành 25 ml bằng

nước. Dung dịch có huỳnh quang xanh lục đậm, mất đi khi acid hóa dung dịch.
E. Hòa tan khoảng 10 mg tinh thể thu được từ phản ứng định tính B trong 200 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. 2 ml dung dịch thu được cho phản ứng của amin thơm bậc nhất (Phụ lục 8.1) với kết tủa màu cam.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 20 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu VL_5 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid
Lấy 2,0 g chế phẩm, thêm 20 ml nước, lắc trong 30 min và lọc. Lấy 10 ml dịch lọc, thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* làm chỉ thị. Không được dùng quá 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* để làm chuyển màu của chỉ thị.

Sulfathiazol và các amin thơm bậc một
Hòa tan 5 mg chế phẩm trong hỗn hợp đã được làm lạnh đến 15 °C gồm 3,5 ml *nước*, 6 ml dung *dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và 25 ml *ethanol 96 % (TT)*. Nhúng ngay vào nước đá và thêm 1 ml *dung dịch natri nitrit 0,25 %*. Để yên 3 min, thêm 2,5 ml *dung dịch acid sulphamic 4 %* và để yên trong 5 min. Thêm 1 ml *dung dịch naphthylethylendiamin dihydroclorid 0,4 %* và pha loãng thành 50 ml với *nước*, thu được dung dịch thử.
Song song chuẩn bị dung dịch chuẩn: Lấy 1 ml dung dịch có chứa 10 mg sulfathiazol chuẩn và 0,5 ml *acid hydrocloric (TT)* trong 100 ml; thêm 2,5 ml *nước*, 6 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và 25 ml với *ethanol 96 % (TT)*. Tiến hành tương tự như với dung dịch thử.
Độ hấp thụ ánh sáng tại bước sóng 550 nm (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch chuẩn.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 2,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,00 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong 40 ml *dimethylformamid (TT)*, thêm 0,2 ml *dung dịch thymolphtalein (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* cho đến khi màu của chỉ thị chuyển sang màu xanh lam. Song song tiến hành mẫu trắng.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 20,17 mg $C_{17}H_{13}N_3O_5S_2$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng khuẩn.

Chế phẩm
Viên nén

VIÊN NÉN PHTHALYLSULFATHIAZOL
Tabellae Phthalylsulfathiazoli

Là viên nén chứa phthalylsulfathiazol.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng phthalylsulfathiazol, $C_{17}H_{13}N_3O_5S_2$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với hàm lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Chiết một lượng bột viên tương ứng với 1,5 g phthalylsulfathiazol với 60 ml *aceton (TT)* nóng, lọc và bốc hơi dịch lọc đến khô. Sấy cắn ở 105 °C, dùng cắn thu được để thử các phản ứng sau:
A. Cắn thu được phải cho phản ứng D quy định trong phần định tính của chuyên luận "Phthalylsulfathiazol".
B. Lấy 1 g cắn, thêm 8,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, đun sôi dưới sinh hàn hồi lưu trong 30 min. Để nguội và thêm 17,5 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*. Lắc kỹ và lọc. Trung hòa dịch lọc bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*. Lọc, rửa tủa bằng *nước*. Kết tinh lại bằng *nước* và sấy các tinh thể thu được ở 100 °C đến 105 °C. Hòa tan 10 mg tinh thể trong 200 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, 2 ml dung dịch thu được cho phản ứng định tính của amin thơm bậc nhất (Phụ lục 8.1) với tủa vàng hình thành.
C. Lấy 10 mg cắn, thêm 20 mg *phenol (TT)* và 3 giọt *acid sulfuric đậm đặc (TT)*, đun đến khi hỗn hợp có màu nâu. Để nguội, thêm 20 ml *nước* và kiềm hóa bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, có màu hồng xuất hiện (phản ứng phân biệt với sucinylsulfathiazol).

Sulfathiazol
Lắc kỹ một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với 7,5 mg phthalylsulfathiazol trong một hỗn hợp gồm 25 ml *ethanol 96 % (TT)*, 6 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và 3,5 ml *nước* đã được làm lạnh trước đến 15 °C rồi lọc. Làm lạnh ngay dịch lọc trong nước đá và thêm vào dịch lọc 1 ml *dung dịch natri nitrit 0,25 %*, trộn đều và để yên trong 3 min. Thêm 2,5 ml *dung dịch acid sulfamic 4 %*, để yên tiếp trong 5 min. Thêm 1 ml *dung dịch N-(1-naphthyl) ethylendiamin dihydroclorid 0,4 %* và pha loãng đến vừa đủ 50 ml với *nước*. Độ hấp thụ (Phụ

lục 4.1) của dung dịch thu được ở 550 nm không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch đối chiếu được chuẩn bị đồng thời, trong cùng điều kiện như sau: Dùng một hỗn hợp gồm 25 ml *ethanol 96 % (TT)*, 2 ml *nước*, 6 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và 1,5 ml dung dịch được chuẩn bị bằng cách hòa tan 10 mg sulfathiazol và 0,5 ml *acid hydrocloric đậm đặc (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml. Làm lạnh ngay hỗn hợp thu được trong nước đá, thêm vào hỗn hợp 1 ml *dung dịch natri nitrit 0,25 %*, trộn đều và để yên trong 3 min. Tiến hành như trên, bắt đầu từ "Thêm 2,5 ml *dung dịch acid sulfamic 4 %* ..."

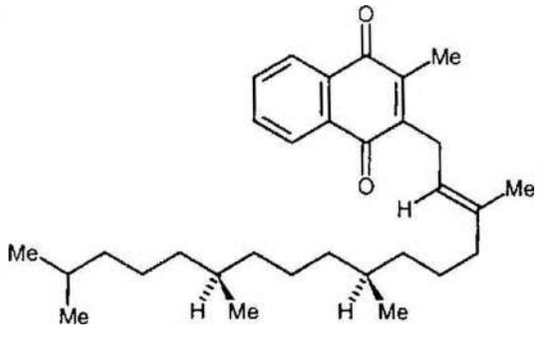
Định lượng
Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,5 g phthalylsulfathiazol, cho vào một bình cầu nhỏ, thêm 20 ml *acid hydrocloric đậm đặc (TT)* và 10 ml *nước* rồi đun sôi dưới ống sinh hàn hồi lưu trong 1 h. Dùng 20 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* chuyển toàn bộ lượng chất lỏng trong bình thủy phân sang một cốc dung tích 200 ml. Tiến hành chuẩn độ bằng nitrit (Phụ lục 10.4). 1 ml *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)* tương đương với 40,34 mg $C_{17}H_{13}N_3O_5S_2$.

Bảo quản
Đựng trong chai lọ nút kín. Để nơi khô, mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng khuẩn.

Hàm lượng thường dùng
500 mg.

PHYTOMENADION
Phytomenadionum
Vitamin K_1



$C_{31}H_{46}O_2$ P.t.l: 450,71

Phytomenadion là hỗn hợp của 2-methyl-3-[(2*E*)-(7*R*,11*R*)-3,7,11,15-tetramethylhexadec-2-enyl]naphthalen-1,4-dion (*trans*-phytomenadion), 2-methyl-3-[(2*Z*)-(7*R*,11*R*)-3,7,11,15-tetramethylhexadec-2-enyl]-naphthalen-1,4-dion (*cis*-phyto menadion) và 2,3-epoxy-2-methyl-3-[(2*E*)-(7*R*,11*R*)-3,7,11,15-tetramethyl hexadec-2-enyl]-2,3-dihydronaphthalen-1,4-dion (*trans*-epoxyphytomenadion). Chứa không quá 4,0 % *trans*-epoxyphytomenadion và không ít hơn 75,0 % *trans*-phytomenadion. Tổng của 3 thành phần không được ít hơn 97,0 % và không được nhiều hơn 103,0 %.

Tính chất
Chất lỏng dạng dầu nhớt, trong và màu vàng hoặc vàng cam, không mùi.
Dễ tan trong ether, iso octan, cloroform và dầu béo. Hơi tan trong ethanol 96 % và methanol, thực tế không tan trong nước. Nó bị phân hủy dần dần và bị sẫm mầu do ánh sáng. Chỉ số khúc xạ khoảng 1,526.

Định tính
Tiến hành nhanh chóng và tránh tác động của ánh sáng.
A. Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong *trimethylpentan (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong vùng từ bước sóng 275 nm đến 340 nm cho hấp thụ cực đại ở 327 nm và cực tiểu ở 285 nm. A (1 %; 1 cm) ở bước sóng cực đại phải từ 67 đến 73.
Pha loãng tiếp 10,0 ml dung dịch trên thành 50,0 ml với *trimethylpentan (TT)*. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong vùng từ bước sóng 230 nm đến 280 nm, cho 4 hấp thụ cực đại ở 243 nm, 249 nm, 261 nm và 270 nm.
B. Trong phần Menadion và các tạp chất liên quan khác, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải tương tự về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
C. Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 10 ml *methanol (TT)* và thêm 1 ml *dung dịch kali hydroxyd 20 % trong methanol*, màu xanh lục xuất hiện và trở nên tím đỏ khi đun nóng trong cách thủy ở 40 °C và sau đó chuyển sang màu nâu đỏ.

Độ trong của dung dịch
Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *trimethylpentan (TT)* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2).

Chỉ số acid
Không quá 2,0 (Phụ lục 7.2).
Dùng 2,00 g chế phẩm.

Menadion và các tạp chất liên quan khác
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Cyclohexan - toluen (20 : 80).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,40 g chế phẩm trong *cyclohexan (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml với *cyclohexan (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 40 mg phytomenadion chuẩn trong *cyclohexan (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (2) thành 20 ml bằng *cyclohexan (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 4,0 mg *menadion (TT)* trong *cyclohexan (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí trong 5 min. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm và phun dung dịch *acid phosphomolybdic 10 % trong ethanol (TT)*. Sấy bản mỏng ở 120 °C trong 5 min. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), bất cứ vết nào tương ứng menadion không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,2 %); bất cứ vết nào, khác vết chính và vết tương ứng với menadion, không được đậm màu hơn vết của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %). Bỏ qua bất cứ vết nào nằm dưới vết chính và không tách hoàn toàn khỏi vết chính.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Octanol - di-isopropyl ether - heptan (0,67 : 3,3 : 1000)
Dung dịch thử: Hòa tan 15,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với pha động.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 15,0 mg phytomenadion chuẩn trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 15,0 mg phytomenadion chuẩn và 4,0 mg *trans*-epoxyphytomenadion chuẩn trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi *spherical silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm) với lỗ xốp 8 nm.
Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 0,4 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch đối chiếu (2). Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính ít nhất bằng 50 % của thang đo.
Phép thử chỉ có giá trị khi thứ tự rửa giải của các pic là *trans*-epoxyphytomenadion, *cis*-phytomenadion và *trans*-phytomenadion. Tiến hành tiêm dung dịch đối chiếu (1) 6 lần. Phép định lượng chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic đồng phân *trans* nhỏ hơn 1,0 % và độ phân giải giữa pic tương ứng với *trans*-phytomenadion và *cis*-phytomenadion ít nhất là 2,5. Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1), tính toán nồng độ phần trăm của *trans*-phytomenadion, *cis*-phytomenadion và *trans*-epoxyphytomenadion theo các công thức sau:

$$\textit{Trans}\text{-phytomenadion} = \frac{m' \times A'_{trans} \times S_{trans}}{m \times S'_{trans}}$$

$$\textit{Cis}\text{-phytomenadion} = \frac{m' \times A'_{cis} \times S_{cis}}{m \times S'_{cis}}$$

$$\textit{Trans}\text{-epoxyphytomenadion} = \frac{m' \times A'_{epoxy} \times S_{epoxy}}{m \times S'_{epoxy}}$$

Trong đó:
m' là khối lượng (mg) chất chuẩn trong dung dịch đối chiếu (1);
m là khối lượng (mg) chế phẩm trong dung dịch thử;
A'_{trans} là hàm lượng (%) *trans*-phytomenadion trong phytomenadion chuẩn;
A'_{cis} là hàm lượng (%) *cis*-phytomenadion trong phytomenadion chuẩn;
A'_{epoxy} là hàm lượng (%) *trans*-epoxyphytomenadion trong phytomenadion chuẩn;
S_{trans} là diện tích pic tương ứng với đồng phân *trans* trong sắc ký đồ của dung dịch thử;
S_{cis} là diện tích pic tương ứng với đồng phân *cis* trong sắc ký đồ của dung dịch thử;
S_{epoxy} là diện tích pic tương ứng với đồng phân *trans*-epoxyphytomenadion trong sắc ký đồ của dung dịch thử;
S'_{trans} là diện tích pic tương ứng với đồng phân *trans* trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1);
S'_{cis} là diện tích pic tương ứng với đồng phân *cis* trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1);
S'_{epoxy} là diện tích pic tương ứng với đồng phân *trans*-epoxyphytomenadion trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc tương tự vitamin K.

Chế phẩm
Thuốc tiêm, viên nén.

VIÊN NÉN PHYTOMENADION
Tabellae Phytomenadioni

Là viên nén nhai hay ngậm chứa phytomenadion.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng phytomenadion, $C_{31}H_{46}O_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Lắc một lượng bột viên tương ứng với 50 mg phytomenadion với 50 ml *ethanol (TT)*, khoảng 1 h, để lắng. Lấy 5 ml dịch

trong cho vào bình định mức 50 ml, thêm *ethanol (TT)* đến định mức, lắc đều (dung dịch A). Phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch A trong khoảng bước sóng từ 230 nm đến 350 nm, phải có cực đại ở bước sóng 328 nm và cực tiểu ở bước sóng 292 nm.

Tiếp tục pha loãng một thể tích thích hợp dung dịch A với lượng *ethanol (TT)* vừa đủ để được dung dịch phytomenadion 0,001 %. Phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 230 nm đến 350 nm, phải có cực đại ở các bước sóng 245 nm, 249 nm, 263 nm và 271 nm, cực tiểu ở các bước sóng 256 nm và 266 nm.

Độ rã

Yêu cầu về độ rã không áp dụng cho viên nén phytomenadion.

Menadion

Không được quá 1,0 %

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: *Methanol - ether - cyclohexan* (1 : 20 : 80).

Dung dịch thử: Phân tán một lượng bột viên tương ứng với 50 mg phytomenadion trong 5 ml *ethanol (TT)* bằng cách lắc siêu âm khoảng 5 min, thêm 15 ml *2,2,4-trimethylpentan (TT)*, lắc khoảng 1 min, ly tâm và lấy lớp dung dịch trong ở trên.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch 0,0025 % menadion trong *2,2,4-trimethylpentan (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm 50 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản sắc ký ra để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, bất cứ vết phụ nào tương ứng với vết của menadion không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp *nước - ethanol 96 %* (5 : 95).

Dung dịch chuẩn: Dung dịch phytomenadion chuẩn 0,01 % trong pha động.

Dung dịch thử: Lấy 20 viên, loại bỏ lớp bao (nếu cần), cân tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 10 mg phytomenadion, thêm 5 ml *dung dịch amoniac 0,5 M (TT)*, lắc siêu âm khoảng 5 min. Thêm 90 ml *ethanol 96 % (TT)*, lắc siêu âm khoảng 10 min, lắc cơ học khoảng 10 min và thêm *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ 100,0 ml, ly tâm và lấy lớp dung dịch trong ở trên.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (20 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích đáp ứng từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2 %.

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

Tính hàm lượng phytomenadion, $C_{31}H_{46}O_2$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{31}H_{46}O_2$ của phytomenadion chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín và tránh ánh sáng.

Loại thuốc

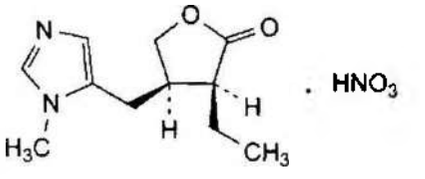
Vitamin (nhóm K).

Hàm lượng thường dùng

2 mg, 5 mg, 10 mg.

PILOCARPIN NITRAT

Pilocarpini nitras



$C_{11}H_{16}N_2O_2$. HNO_3 P.t.l: 271,3

Pilocarpin nitrat là (3*S*,4*R*)-3-ethyl-4-[(1-methyl-1*H*-imidazol-5-yl)methyl]-dihydrofuran-2(3*H*)-on nitrat, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{11}H_{16}N_2O_2.HNO_3$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng hay tinh thể không màu. Bị phân hủy dưới ánh sáng.

Dễ tan trong nước, hơi tan trong ethanol 96 %.

Chảy ở khoảng 174 °C kèm theo phân hủy.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, C, D.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của pilocarpin nitrat chuẩn.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Amoniac đậm đặc - methanol - methylen clorid (1 : 14 : 85).

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg pilocarpin nitrat chuẩn trong trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 15 cm. Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 10 min, để nguội. Phun *thuốc thử Dragendorff (TT)* lên bản mỏng. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương tự với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

C. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Góc quay cực riêng.

D. Chế phẩm cho phản ứng của nitrat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha ngay trước khi dùng.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu V_6 (Phụ lục 9.3; phương pháp 2).

pH

Từ 3,5 đến 4,5 (Phụ lục 6.2).

Dùng dung dịch S để đo.

Góc quay cực riêng

Từ +80° đến +83° tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Methanol - acetonitril - dung dịch tetrabutylamino dihydrophosphat 0,679 g/l được điều chỉnh đến pH 7,7 bằng dung dịch amoniac 2 M (55 : 60 : 885).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *nước*. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5,0 mg pilocarpin nitrat chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa tạp chất A) trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Thêm 0,1 ml *amoniac (TT)* vào 5 ml dung dịch thử và đun nóng trên cách thủy trong 30 min, để nguội và pha loãng thành 25 ml bằng *nước*. Pha loãng 3,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml bằng *nước*. Chủ yếu acid pilocarpic (tạp chất B) được tạo thành.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) có kích thước lỗ 10 nm và carbon chiếm 19 %.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.

Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của pilocarpin.

Thứ tự rửa giải: Tạp chất B, tạp chất C, tạp chất A, pilocarpin.

Thời gian lưu của pilocarpin khoảng 20 min.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất A và pic của pilocarpin ít nhất là 1,6.

Giới hạn:

Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1 %).

Tổng diện tích pic tạp chất A và B không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,5 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất trừ tạp chất A và B không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,4 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %). Bỏ qua pic của ion nitrat với thời gian lưu tương đối so với pilocarpin khoảng 0,3.

Ghi chú:

Tạp chất A: (3*R*,4*R*)-3-ethyl-4-[(1-methyl-1*H*-imidazol-5-yl) methyl]dihydrofuran-2(3*H*)-on (isopilocarpin).

Tạp chất B: Acid (2*S*,3*R*)-2-ethyl-3-(hydroxymethyl)-4-(1-methyl-1*H*-imidazol-5-yl)butanoic (acid pilocarpic).

Tạp chất C: Acid (2*R*,3*R*)-2-ethyl-3-(hydroxymethyl)-4-(1-methyl-1*H*-imidazol-5-yl)butanoic (acid isopilocarpic).

Clorid

Không được quá 70 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).

Dùng 15 ml dung dịch S để thử.

Sắt

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).

Dùng 10 ml dung dịch S để thử. Dùng 5 ml *dung dịch sắt mẫu 1 phần triệu Fe (TT)* và 5 ml *nước* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 30 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 27,13 mg $C_{11}H_{16}N_2O_2.HNO_3$.

Bảo quản

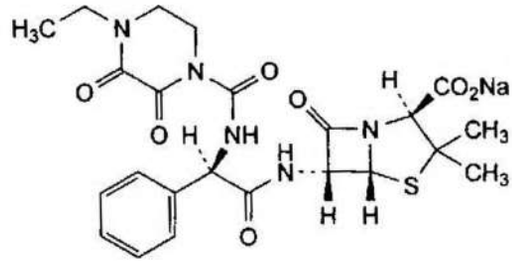
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kích thích hệ cholinergic. Điều trị glôcôm.

Chế phẩm
Dung dịch nhỏ mắt.
Ghi chú
Dạng muối pilocarpin hydroclorid có cùng tác dụng và công dụng như pilocarpin nitrat.

PIPERACILIN NATRI
Piperacillinum natricum



$C_{23}H_{26}N_5NaO_7S$ P.t.l: 539,5

Piperacilin natri là natri (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-[[(4-ethyl-2,3-dioxopiperazin-1-yl)carbonyl]amino]-2-phenylacetyl] amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0] heptan-2-carboxylat, phải chứa từ 95,0 % đến 102,0 % $C_{23}H_{26}N_5NaO_7S$, tính theo chế phẩm khan.
Chế phẩm bán tổng hợp từ một sản phẩm lên men.

Tính chất
Bột màu trắng hay gần như trắng, dễ hút ẩm.
Dễ tan trong nước và methanol, thực tế không tan trong ethyl acetat.

Định tính
A. Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *nước*, thêm 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và 5 ml *ethyl acetat (TT)*, khuấy rồi để yên 10 min trong nước đá. Lọc hút chân không qua phễu lọc thủy tinh xốp (cỡ 40). Lấy phần tinh thể, rửa với 5 ml *nước* và 5 ml *ethyl acetat (TT)*, sấy ở 60 °C trong 60 min. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của tinh thể thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của piperacilin chuẩn.
B. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và có độ hấp thụ ánh sáng ở bước sóng 430 nm không được quá 0,10 (Phụ lục 4.1).

pH
Dung dịch S phải có pH từ 5,0 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng
Từ +175° đến +190°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4). Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Trộn đều 576 ml *nước*, 200 ml *dung dịch natri dihydrophosphat (TT) 3,12 %* và 24 ml *dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd (TT) 8 %*, điều chỉnh đến pH 5,5 nếu cần bằng *dung dịch acid phosphoric loãng (TT)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*, thêm 200 ml *acetonitril (TT)*, lắc đều.
Pha động B: Trộn đều 126 ml *nước*, 200 ml *dung dịch natri dihydrophosphat 3,12 %* và 24 ml *dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 8 %*, điều chỉnh đến pH 5,5 nếu cần bằng *dung dịch acid phosphoric loãng (TT)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*, thêm 650 ml *acetonitril (TT)*, lắc đều.
Hỗn hợp dung môi: Acetonitril - dung dịch natri dihydrophosphat 3,12 % (25 : 75).
Dung dịch thử: Chuẩn bị ngay trước khi dùng, hòa tan 40,0 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 20,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25,0 mg piperacilin chuẩn trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 50,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 25,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Hút 1,0 ml dung dịch thu được pha loãng thành 50,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch phân giải: Hòa tan 10,0 mg piperacilin chuẩn và 10,0 mg ampicilin khan chuẩn (tạp chất A) trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 50,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột thép không gỉ (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (%)	Pha động B (%)
0 - t_R	88	12
t_R - (t_R + 30)	88 → 0	12 → 100
(t_R + 30) - (t_R + 45)	0 → 88	100 → 12

t_R là thời gian lưu của pic piperacilin trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2).
Nếu cần phải điều chỉnh thành phần pha động để đạt được độ phân giải theo yêu cầu thì phải áp dụng việc điều chỉnh ở thời điểm 0 của chương trình dung môi.
Tiến hành sắc ký các dung dịch đối chiếu (2), (3) và dung dịch phân giải với pha động đẳng dòng theo tỷ lệ ban đầu của chương trình dung môi. Tiến hành sắc ký dung dịch thử với chương trình pha động ghi trong bảng.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa pic tạp chất A và pic piperacilin không được nhỏ hơn 10, điều chỉnh tỷ lệ pha động A : Pha động B nếu cần. Hệ số phân bố khối lượng tính theo pic piperacilin phải từ 2,0 đến 3,0.
Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3): Tỷ số tín hiệu trên nhiễu của pic chính không được nhỏ hơn 3.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, không có pic tạp chất nào có diện tích lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (2 %).

N,N-Dimethylanilin
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16, phương pháp 1).

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm để thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Không được quá 2,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,500 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 0,07 IU/mg (Phụ lục 13.2).
Nếu chế phẩm được dùng để sản xuất các dạng thuốc tiêm mà không có phương pháp hữu hiệu loại bỏ nội độc tố vi khuẩn thì phải đáp ứng yêu cầu của phép thử này.

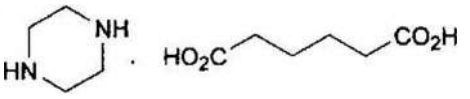
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A, pha động B, hỗn hợp dung môi, điều kiện sắc ký như mô tả ở mục Tạp chất liên quan.
Pha động: Pha động A - pha động B (88 : 12), điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.
Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 50,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch chuẩn: Dùng dung dịch đối chiếu (1) ở mục Tạp chất liên quan.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic trên sắc ký đồ của 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không lớn hơn 1,0 %.
Tiến hành sắc ký các dung dịch thử và dung dịch chuẩn.
Tính hàm lượng piperacilin natri, $C_{23}H_{26}N_5NaO_7S$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của piperacilin chuẩn, với hệ số hiệu chỉnh từ piperacilin sang piperacilin natri là 1,042.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín. Nếu chế phẩm vô khuẩn thì bảo quản trong đồ đựng kín, vô khuẩn.

Loại thuốc
Thuốc kháng sinh nhóm penicilin.

Chế phẩm
Bột pha tiêm.

PIPERAZIN ADIPAT
Piperazini adipas



$C_4H_{10}N_2.C_6H_{10}O_4$ P.t.l: 232,3

Piperazin adipat phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $C_4H_{10}N_2.C_6H_{10}O_4$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh trắng, chảy ở khoảng 250 °C kèm theo phân hủy. Tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của piperazin adipat chuẩn.
B. Trong phần Tạp chất liên quan, sau khi phun các dung dịch ninhydrin, vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (2) phải tương tự về màu sắc, vị trí, kích thước so với vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1).
C. Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 5 ml *acid hydrocloric (TT)* và chiết 3 lần, mỗi lần với 10 ml *ether (TT)*. Gộp dịch chiết và bốc hơi cho tới khô. Rửa cắn với 5 ml nước và sấy khô ở 100 °C đến 105 °C. Điểm chảy (Phụ lục 6.7) của cắn từ 150 °C đến 154 °C.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không đậm màu hơn màu mẫu N_8 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Amoniac đậm đặc - aceton (20 : 80) vừa mới pha.
Dung môi hòa tan: Ethanol - amoniac đậm đặc (2 : 3).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 6 ml *amoniac đậm đặc (TT)* và pha loãng thành 10 ml bằng *ethanol (TT)*.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng dung môi hòa tan.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,1 g piperazin adipat chuẩn trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 25 mg *ethylendiamin (TT)* trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 25 mg *triethylendiamin (TT)* trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 12,5 mg *triethylendiamin (TT)* trong 5,0 ml dung dịch thử (1) và pha loãng thành 50 ml bằng dung môi hòa tan.
Cách tiến hành: Chấm riêng rẽ lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Sấy bản mỏng ở 105 °C và phun lần lượt *dung dịch ninhydrin 0,3 % trong hỗn hợp acid acetic khan - butanol* (3 : 100), *dung dịch ninhydrin 0,15 % trong ethanol*. Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 10 min. Trên sắc ký đồ, bất kỳ vết phụ nào thu được từ dung dịch thử (1) không được đậm màu hơn vết thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,25 %). Phun lên bản mỏng *dung dịch iod 0,1 N (TT)* và để khoảng 10 min. Vết tương ứng với triethylendiamin thu được từ dung dịch thử (1) không được đậm màu hơn vết thu được từ dung dịch đối chiếu (3) (0,25 %). Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (4) cho 2 vết tách rõ ràng. Bỏ qua vết trên vạch xuất phát.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 12 ml dung dịch S thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 1,00 g chế phẩm.

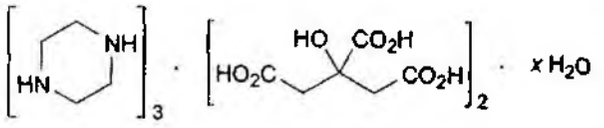
Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 10 ml *acid acetic khan (TT)* bằng cách đun nóng nhẹ và pha loãng thành 70 ml với cùng dung môi. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, dùng 0,25 ml *dung dịch 1-naphtholbenzein (TT)* làm chỉ thị, đến khi màu chuyển từ vàng nâu sang xanh lục.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 11,61 mg $C_4H_{10}N_2.C_6H_{10}O_4$.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc
Trị giun sán.

PIPERAZIN CITRAT
Piperazini citras



$(C_4H_{10}N_2)_3.2C_6H_8O_7$ (dạng khan) P.t.l: 643,0

Piperazin citrat phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $(C_4H_{10}N_2)_3.2C_6H_8O_7$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột cốm màu trắng, sau khi sấy khô ở 100 °C đến 105 °C chảy ở khoảng 190 °C. Dễ tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 % và ether.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của piperazin citrat chuẩn. Sấy khô chế phẩm và chất chuẩn ở 120 °C trong 5 h, tránh ẩm và đo phổ hồng ngoại ngay.
B. Trong phần Tạp chất liên quan, sau khi phun các dung dịch ninhydrin, vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải tương tự về màu sắc, vị trí và kích thước so với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
C. Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 5 ml *nước*, dung dịch thu được cho phản ứng của citrat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 1,25 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không đậm màu hơn màu của màu mẫu N_8 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G.*
Dung môi khai triển: *Amoniac đậm đặc - aceton* (20 : 80) vừa mới pha.
Dung môi hòa tan: Ethanol - amoniac đậm đặc (2 : 3).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 6 ml *amoniac đậm đặc (TT)* và pha loãng thành 10 ml bằng *ethanol (TT)*.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng dung môi hòa tan.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,1 g piperazin citrat chuẩn trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 25 mg *ethylendiamin (TT)* trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 25 mg *triethylendiamin (TT)* trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 12,5 mg *triethylendiamin (TT)* trong 5,0 ml dung dịch thử (1) và pha loãng thành 50 ml bằng dung môi hòa tan.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Sấy bản mỏng ở 105 °C và phun lần lượt *dung dịch ninhydrin 0,3 %* trong hỗn hợp *acid acetic khan - butanol* (3 : 100), *dung dịch ninhydrin 0,15 % trong ethanol*. Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 10 min.
Trên sắc ký đồ, bất kỳ vết phụ nào thu được từ dung dịch thử (1) không được đậm màu hơn vết thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,25 %).
Phun lên bản mỏng *dung dịch iod 0,1 N* và để khoảng 10 min. Vết tương ứng với triethylendiamin thu được từ dung dịch thử (1) không được đậm màu hơn vết thu được từ dung dịch đối chiếu (3). Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (4) cho 2 vết tách rõ ràng.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 12 ml dung dịch S thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Từ 10,0 % đến 14,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,300 g chế phẩm.

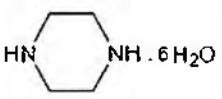
Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 10 ml *acid acetic khan (TT)* bằng cách đun nóng nhẹ và pha loãng thành 70 ml với cùng dung môi. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* dùng 0,25 ml *dung dịch 1-naphtholbenzein (TT)* làm chỉ thị, đến khi màu chuyển từ vàng nâu sang xanh lục.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 10,71 mg $(C_4H_{10}N_2)_3.2C_6H_8O_7$.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc
Trị giun sán.

PIPERAZIN HYDRAT
Piperazini hydras



$C_4H_{10}N_2.6H_2O$ P.t.l: 194,2

Piperazin hydrat phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $C_4H_{10}N_2.6H_2O$.

Tính chất
Tinh thể không màu, dễ chảy nước. Dễ tan trong nước và ethanol 96 %, rất khó tan trong ether.
Chảy ở khoảng 43 °C.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của piperazin hydrat chuẩn. Làm khô chế phẩm và chuẩn trên *phosphor pentoxyd (TT)*, trong chân không, trong 48 h. Nghiền thành bột, tránh hút nước, ép đĩa và ghi phổ ngay.
B. Trong phần Tạp chất liên quan, quan sát bản mỏng sau khi phun các dung dịch ninhydrin, vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải tương tự về vị trí, màu sắc và kích thước so với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
C. Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 5 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*, thêm 0,2 ml *benzoyl clorid (TT)*, trộn đều. Tiếp tục thêm từng phần 0,2 ml *benzoyl clorid (TT)* đến khi không còn tủa tạo thành. Lọc và rửa tủa nhiều lần với tổng cộng 10 ml *nước*. Hòa tan tủa trong 2 ml *ethanol 96 % (TT)* nóng, cho dung dịch này vào 5 ml *nước*. Để yên 4 h, lọc, rửa tinh thể bằng *nước* và sấy khô từ 100 °C đến 105 °C. Tinh thể chảy từ 191 °C đến 196 °C (Phụ lục 6.7).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được thẫm hơn màu mẫu N_8 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Dung dịch S phải có pH từ 10,5 đến 12,0 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Amoniac đậm đặc - aceton (20 : 80) vừa mới pha.
Dung môi hòa tan: Hỗn hợp *ethanol - amoniac đậm đặc* (2 : 3).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 6 ml *amoniac đậm đặc (TT)* và pha loãng thành 10 ml bằng *ethanol (TT)*.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng dung môi hòa tan.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,1 g *piperazin hydrat chuẩn (TT)* trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 25 mg *ethylendiamin (TT)* trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 25 mg *triethylendiamin (TT)* trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 12,5 mg *triethylendiamin (TT)* trong 5,0 ml dung dịch thử (1) và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Sấy bản mỏng ở 105 °C và phun lần lượt *dung dịch ninhydrin 0,3 %* trong hỗn hợp *acid acetic khan - butanol* (3 : 100), *dung dịch ninhydrin 0,15 % trong ethanol*. Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 10 min. Trên sắc ký đồ bất kỳ vết phụ nào thu được từ dung dịch thử (1) không được đậm màu hơn vết thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,25 %). Phun lên bản mỏng *dung dịch iod 0,1 N* và để khoảng 10 min. Vết tương ứng với *triethylendiamin (TT)* thu được từ dung dịch thử (1) không được đậm màu hơn vết thu được từ dung dịch đối chiếu (3). Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (4) cho 2 vết tách rõ ràng.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 12 ml dung dịch S tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

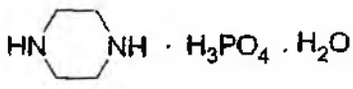
Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 80,0 mg chế phẩm trong 10 ml *acid acetic khan (TT)* bằng cách đun nóng nhẹ và pha loãng thành 70 ml với cùng dung môi. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, dùng 0,25 ml *dung dịch 1-naphtholbenzein (TT)* làm chỉ thị, đến khi màu chuyển từ vàng nâu sang xanh lục.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 9,705 mg $C_4H_{10}N_2.6H_2O$.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín và tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Trị giun sán.

PIPERAZIN PHOSPHAT
Piperazini phosphas



$C_4H_{10}N_2.H_3PO_4.H_2O$ P.t.l: 202,1

Piperazin phosphat phải chứa từ 98,5 % đến 100,5 % $C_4H_{10}N_2.H_3PO_4$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh trắng, không mùi hoặc gần như không mùi. Hơi tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Định tính
A. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 5 ml *nước*, thêm 0,5 g *natri hydrocarbonat (TT)*, 0,5 ml *dung dịch kali fericyanid 5 % (TT)* và 0,1 ml *thủy ngân (TT)*. Lắc mạnh 1 min và để yên 20 min. Màu đỏ dần dần xuất hiện.
B. Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*, vừa khuấy vừa thêm 1 ml *dung dịch natri nitrit 50 %* và làm lạnh trong nước đá khoảng 15 min, khuấy nếu cần thiết để tạo tủa kết tinh. Điểm chảy (Phụ lục 6.7) của tinh thể sau khi rửa bằng 10 ml nước đá và sấy khô ở 105 °C khoảng 159 °C.
C. Dung dịch của chế phẩm cho phản ứng của ion phosphat (Phụ lục 8.1).

pH
Dung dịch chế phẩm 1 % có pH từ 6,0 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong 20 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)*. Lấy 12 ml dung dịch này thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Từ 8,0 % đến 9,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,250 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 3,5 ml *dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT)* và 10 ml *nước*. Thêm 100 ml *dung dịch acid picric (TT)*, đun nóng trên cách thủy 15 min và để yên 1 h. Lọc qua phễu xốp G_4 và rửa tủa mỗi lần bằng 10 ml hỗn hợp đồng thể tích của *dung dịch bão hòa acid picric (TT)* và *nước*, đến khi nước rửa không còn phản ứng của ion sulfat. Rửa tủa 5 lần, mỗi lần với 10 ml *ethanol (TT)* và sấy đến khối lượng không đổi ở 100 °C đến 105 °C.
1 g cắn tương đương với 338,2 mg $C_4H_{10}N_2.H_3PO_4$.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc
Trị giun sán.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN PIPERAZIN PHOSPHAT
Tabellae Piperazini phosphatis

Là viên nén hoặc viên nén nhai chứa piperazin phosphat. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng piperazin phosphat, $C_4H_{10}N_2.H_3PO_4.H_2O$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Chiết một lượng bột viên chứa khoảng 1 g piperazin phosphat với 20 ml *nước*, lọc. Dịch lọc phải đáp ứng các phép thử sau:
A. Lấy 4 ml dịch lọc, vừa thêm 1 ml *acid hydrocloric (TT)* vừa khuấy đều. Tiếp tục thêm 1 ml *dung dịch natri nitrit 50 %* và làm lạnh trong nước đá 15 min, khuấy nếu cần để tạo tủa kết tinh. Điểm chảy (Phụ lục 6.7) của tủa kết tinh (sau khi đã rửa bằng 10 ml *nước* lạnh và sấy khô ở 105 °C) khoảng 159 °C.
B. Dịch lọc phải có phản ứng đặc trưng của phosphat (Phụ lục 8.1).

Độ rã (Phụ lục 11.6)
Chỉ tiêu độ rã không áp dụng cho viên nén nhai.

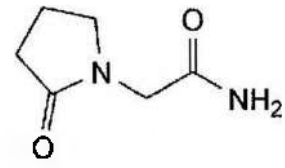
Định lượng
Cân 20 viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên có chứa khoảng 0,15 g piperazin phosphat lắc với 10 ml *nước* trong 1 h, lọc. Rửa cắn hai lần, mỗi lần với 10 ml *nước*. Gộp dịch chiết và dịch rửa, thêm 5 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* và 50 ml *dung dịch acid picric (TT)*, đun sôi, để yên vài giờ, lọc qua phễu thủy tinh xốp có số độ xốp là 4 và rửa cắn nhiều lần, mỗi lần bằng 10 ml dung dịch đồng thể tích của *dung dịch bão hòa acid picric (TT)* và *nước* đến khi nước rửa không còn phản ứng của ion sulfat. Rửa cắn 5 lần, mỗi lần với 10 ml *ethanol (TT)* và sấy cắn đến khối lượng không đổi ở nhiệt độ từ 100 °C đến 105 °C.
1 g cắn tương đương với 0,3714 g $C_4H_{10}N_2.H_3PO_4.H_2O$.

Bảo quản
Để nơi mát, trong bao bì kín.

Loại thuốc
Trị giun sán.

Hàm lượng thường dùng
300 mg tính theo piperazin.

PIRACETAM
Piracetamum



$C_6H_{10}N_2O_2$ P.t.l: 142,2

Piracetam là 2-(2-oxopyrrolidin-1-yl)acetamid, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_6H_{10}N_2O_2$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột màu trắng hoặc gần như trắng, đa hình. Dễ tan trong nước, tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của piracetam chuẩn. Nếu phổ hồng ngoại ở dạng rắn của chế phẩm và chuẩn có sự khác biệt, hòa tan riêng biệt chế phẩm và piracetam chuẩn trong ethanol 96 % (TT), bốc hơi dung môi trên cách thủy đến khô, ghi lại phổ của cắn mới thu được.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.1) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril (TT_1) - dung dịch dikali hydrophosphat 0,1 % (10 : 90). Điều chỉnh đến pH 6,0 bằng *dung dịch acid phosphoric 2 M (TT)*.
Hỗn hợp dung môi: Acetonitril (TT_1) - nước (10 : 90)
Dung dịch thử (1): Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 10,0 ml dung dịch thử (1) thành 50,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg chế phẩm và 10 µl *2-pyrrolidon (TT)* trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 50,0 mg piracetam chuẩn trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 205 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và (2).
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 8 lần thời gian lưu của piracetam.
Thời gian lưu tương đối so với piracetam (thời gian lưu khoảng 4 min): Tạp chất D khoảng 0,8; tạp chất A khoảng 1,15; tạp chất B khoảng 2,8; tạp chất C khoảng 6,3.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1): Độ phân giải giữa pic của piracetam với pic của tạp chất A ít nhất là 3,0 và hệ số đối xứng của pic piracetam không quá 2,0.
Giới hạn:
Tạp chất A, B, C, D: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).
Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Pyrrolidin-2-on (2-pyrrolidon).
Tạp chất B: Methyl (2-oxopyrrolidin-1-yl)acetat.
Tạp chất C: Ethyl (2-oxopyrrolidin-1-yl)acetat.
Tạp chất D: Acid (2-oxopyrrolidin-1-yl)acetic.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong 20 ml *nước*. Lấy 12 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (3).
Tính hàm lượng phần trăm của $C_6H_{10}N_2O_2$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (3) và hàm lượng của $C_6H_{10}N_2O_2$ trong piracetam chuẩn.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc hưng trí.

Chế phẩm
Nang, thuốc tiêm.

NANG PIRACETAM
Capsulae Piracetami

Là nang cứng có chứa piracetam.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng piracetam, $C_6H_{10}N_2O_2$, từ 93,0 % đến 107,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic piracetam trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
B. Lấy một lượng bột chế phẩm đã nghiền mịn tương ứng khoảng 0,5 g piracetam lắc kỹ với 10 ml *nước*, lọc. Lấy 2 ml dịch lọc thêm 1 giọt *dung dịch kali permanganat 5 % (TT)*. Sau đó thêm *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)* sẽ có màu tím chuyển sang xanh da trời và cuối cùng là màu xanh lá cây.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - nước (10 : 90).
Dung dịch thử: Cân thuốc trong 20 nang, tính khối lượng trung bình của thuốc trong một nang, trộn đều rồi nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột chế phẩm tương ứng khoảng 0,1 g piracetam hòa tan trong pha động vừa đủ 100 ml, lắc kỹ và lọc. Lấy chính xác 5,0 ml dịch lọc pha loãng đến 50,0 ml bằng pha động, trộn đều.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 100 mg piracetam chuẩn vào bình định mức 100 ml, thêm 60 ml pha động, lắc siêu âm để hòa tan, thêm pha động đến định mức, lắc đều. Pha loãng 5,0 ml dung dịch trên thành 50,0 ml bằng pha động, lắc đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Hiệu năng của cột xác định trên pic piracetam không được nhỏ hơn 2000 đĩa lý thuyết.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.

Tính hàm lượng piracetam, $C_6H_{10}N_2O_2$, trong nang dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_6H_{10}N_2O_2$ của piracetam chuẩn.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc hưng trí (cải thiện chuyển hóa của tế bào thần kinh).

Hàm lượng thường dùng
200 mg và 400 mg.

THUỐC TIÊM PIRACETAM
Injectio Piracetami

Là dung dịch vô khuẩn của piracetam trong nước để pha thuốc tiêm.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng piracetam, $C_6H_{10}N_2O_2$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic piracetam trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
B. Lấy một thể tích chế phẩm tương ứng khoảng 0,1 g piracetam, thêm 1 giọt *dung dịch kali permanganat 5 % (TT)*. Sau đó thêm 1 giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, trộn đều, sẽ có màu tím chuyển sang xanh da trời và cuối cùng là màu xanh lá cây.

pH
Từ 4,0 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động và *điều kiện sắc ký* thực hiện như mô tả ở mục Định lượng
Dung dịch thử: Hòa loãng một thể tích chế phẩm với pha động để được dung dịch có nồng độ piracetam khoảng 0,5 mg trong 1 ml.
Dung dịch đối chiếu: Hòa loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với pha động.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu, điều chỉnh độ nhạy của detector sao cho chiều cao pic chính bằng khoảng 10 % của thang đo. Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. Ghi lại sắc ký đồ với khoảng thời gian bằng 3 lần thời gian lưu của pic chính.
Tổng diện tích của tất cả các pic tạp trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử không được lớn hơn diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %).

Nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2)
Không được quá 0,04 EU trong 1 mg piracetam.

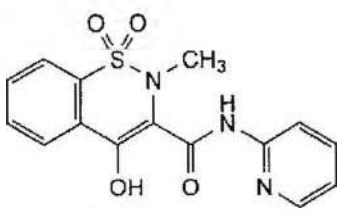
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - nước (10 : 90).
Dung dịch thử: Hòa loãng một thể tích chính xác chế phẩm trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,1 mg piracetam trong 1 ml.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 100 mg piracetam chuẩn vào bình định mức 100 ml, thêm 60 ml pha động, lắc siêu âm để hòa tan, thêm pha động đến định mức, lắc đều. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng pha động, lắc đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Hiệu năng của cột xác định trên pic piracetam không được nhỏ hơn 2000 đĩa lý thuyết. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic piracetam từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng piracetam, $C_6H_{10}N_2O_2$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_6H_{10}N_2O_2$ trong piracetam chuẩn.

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

Loại thuốc
Thuốc hưng trí (cải thiện chuyển hóa của tế bào thần kinh).

Hàm lượng thường dùng
Ống tiêm: 1 g/5 ml.

PIROXICAM
Piroxicamum



$C_{15}H_{13}N_3O_4S$ P.t.l: 331,4

Piroxicam là 4-hydroxy-2-methyl-*N*-(pyridin-2-yl)-2*H*-1,2-benzothiazin-3-carboxamid-1,1-dioxyd, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{15}H_{13}N_3O_4S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hay ngà vàng, đa hình. Thực tế không tan trong nước, tan trong methylen clorid, khó tan trong ethanol khan.

Định tính

Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của piroxicam chuẩn. Nếu phổ hồng ngoại ở dạng rắn của chế phẩm và piroxicam chuẩn khác nhau thì tiến hành hòa tan riêng biệt chế phẩm và chuẩn trong thể tích tối thiểu của *methylen clorid (TT)*, bốc hơi đến khô trên cách thủy và ghi lại phổ hồng ngoại của các cắn mới thu được.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.

Pha động: Acetonitril (TT_1) - dung dịch kali dihydrophosphat 0,681 % đã được điều chỉnh đến pH 3,0 bằng acid phosphoric (30 : 70).

Dung dịch thử: Hòa tan 75 mg chế phẩm trong *acetonitril (TT_1)*, làm ấm nhẹ nếu cần, và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 7 mg piroxicam chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa các tạp chất A, B, D, G và J) trong *acetonitril (TT_1)* và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 10,0 ml bằng *acetonitril (TT_1)*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng *acetonitril (TT_1)*.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *base-deactivated end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).

Nhiệt độ cột: 50 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 5 lần thời gian lưu của piroxicam.

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo piroxicam chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) để xác định pic của tạp chất A, B, D, G và J.

Thời gian lưu tương đối so với piroxicam (thời gian lưu khoảng 16 min): Tạp chất A khoảng 0,1; tạp chất D khoảng 0,6; tạp chất G khoảng 0,7; tạp chất B khoảng 0,8; tạp chất J khoảng 1,8.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất G và pic của tạp chất B ít nhất là 1,5.

Giới hạn:

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng nhân diện tích pic của tạp chất A với 0,6.

Tạp chất A, B, D, G, J: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu cần, không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).

Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,4 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,25 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: Pyridin-2-amin.

Tạp chất B: 4-hydroxy-*N*-(pyridin-2-yl)-2*H*-1,2-benzothiazin-3-carboxamid 1,1-dioxid.

Tạp chất C: 4-hydroxy-2-methyl-2*H*-1,2-benzothiazin-3-carboxamid 1,1-dioxid.

Tạp chất D: Methyl (1,1-dioxido-3-oxo-1,2-benzisothiazol-2(3*H*)-yl) acetat.

Tạp chất E: Ethyl (1,1-dioxido-3-oxo-1,2-benzisothiazol-2(3*H*)-yl)acetat.

Tạp chất F: 1-methylethyl (1,1-dioxido-3-oxo-1,2-benzisothiazol-2(3*H*)-yl)acetat.

Tạp chất G: Methyl 4-hydroxy-2*H*-1,2-benzothiazin-3-carboxylat 1,1-dioxid.

Tạp chất H: Ethyl 4-hydroxy-2*H*-1,2-benzothiazin-3-carboxylat 1,1-dioxid.

Tạp chất I: 1-methylethyl 4-hydroxy-2*H*-1,2-benzothiazin-3-carboxylat 1,1-dioxid.

Tạp chất J: Methyl 4-hydroxy-2-methyl-2*H*-1,2-benzothiazin-3-carboxylat 1,1-dioxid.

Tạp chất K: Ethyl 4-hydroxy-2-methyl-2*H*-1,2-benzothiazin-3-carboxylat 1,1-dioxid.

Tạp chất L: 1-methylethyl 4-hydroxy-2-methyl-2*H*-1,2-benzothiazin-3-carboxylat 1,1- dioxid.

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; trong chân không; 105 °C; 4 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2). Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 60 ml hỗn hợp đồng thể tích của *anhydrid acetic (TT)* và *acid acetic khan (TT)*.

Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 33,14 mg $C_{15}H_{13}N_3O_4S$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Ức chế cyclo-oxygenase (COX), giảm đau, chống viêm.

Chế phẩm
Viên nén, nang, thuốc tiêm, thuốc đạn.

NANG PIROXICAM
Capsulae Piroxicami

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

Hàm lượng piroxicam, $C_{15}H_{13}N_3O_4S$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Tạp chất liên quan, vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải có vị trí và màu sắc tương ứng với vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic piroxicam thu được từ sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* (nếu cần) để được dung dịch có nồng độ khoảng 10 µg/ml.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 10 mg piroxicam chuẩn cho vào bình định mức 100 ml, thêm 20 ml *methanol (TT)* để hòa tan, pha loãng bằng *nước cất* đến vạch, lắc đều. Lấy chính xác 10 ml dung dịch này cho vào bình định mức 100 ml khác, pha loãng bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* đến vạch, lắc đều.
Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thử và chuẩn ở bước sóng 242 nm (Phụ lục 4.1), cốc đo dày 1 cm. Dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng. Tính lượng piroxicam hòa tan trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{15}H_{13}N_3O_4S$ trong piroxicam chuẩn. Có thể lấy A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 242 nm là 352 để tính hàm lượng chất giải phóng được.
Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % (Q) piroxicam, $C_{15}H_{13}N_3O_4S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.
Ghi chú: Nếu vỏ nang ảnh hưởng đến kết quả phân tích, lấy hết bột thuốc trong 6 nang và hòa tan vỏ nang rỗng trong thể tích môi trường hòa tan đã qui định. Tiến hành thử như trên và tính hệ số hiệu chỉnh. Hệ số hiệu chỉnh không được lớn hơn 25 % hàm lượng ghi trên nhãn.

2-Pyridylamin
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Diethylamin - dicloromethan (1 : 8).
Dung dịch thử: Cân một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với 80 mg piroxicam, lắc kỹ với 25 ml *dicloromethan (TT)*, lọc và làm bay hơi dịch lọc tới khô bằng máy cất quay. Hòa tan cắn trong 2 ml *dicloromethan (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch 2-pyridylamin 0,010 % trong *dicloromethan (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, bất kỳ vết nào tương ứng với 2-pyridylamin phải không được có màu đậm hơn vết có được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,25 %).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Toluen - acid acetic (90 : 10).
Dung dịch thử (1): Hòa tan một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với 80 mg piroxicam trong 25 ml *dicloromethan (TT)*, lọc và làm bay hơi dịch lọc tới khô bằng máy cất quay. Hòa tan cắn trong 2 ml *dicloromethan (TT)*.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 20 ml với *dicloromethan (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch piroxicam chuẩn 0,20 % trong *dicloromethan (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2 ml dung dịch thử (2) thành 50 ml với *dicloromethan (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 7,5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết nào ngoài vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) phải không được có màu đậm hơn vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %). Bỏ qua vết nằm trên đường xuất phát.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - dung dịch đệm (60 : 40).

Dung dịch đệm: Trộn dung dịch (1) chứa 5,35 g *dinatri hydrophosphat (TT)* trong 100 ml *nước* vào dung dịch (2) chứa 7,72 g *acid citric (TT)* trong 400 ml *nước*, sau đó pha loãng bằng *nước* thành 1000 ml.
Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng khoảng 10 mg piroxicam vào bình định mức 200 ml, thêm 150 ml dung dịch *acid hydrocloric 0,01 M trong methanol (TT)*, siêu âm 30 min, làm nguội, thêm đến định mức với cùng dung môi, trộn đều và lọc.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng piroxicam chuẩn trong dung dịch *acid hydrocloric 0,01 M trong methanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ 0,005 %.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (30 cm × 3,9 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 242 nm.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Cách tiến hành: Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng piroxicam, $C_{15}H_{13}N_3O_4S$, có trong nang dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{15}H_{13}N_3O_4S$ của piroxicam chuẩn.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín , để nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng viêm không steroid.

Hàm lượng thường dùng
10 mg, 20 mg.

VIÊN NÉN PIROXICAM
Tabellae Piroxicami

Là viên nén chứa piroxicam. Viên có thể được bao phim hoặc bao đường.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng piroxicam, $C_{15}H_{13}N_3O_4S$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần thử Tạp chất liên quan, vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải có vị trí và màu sắc tương ứng với vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic piroxicam trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc và pha loãng dịch lọc với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 10 µg/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 242 nm, dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng piroxicam, $C_{15}H_{13}N_3O_4S$, theo A (1 %, 1 cm). Lấy 352 là giá trị A (1 %, 1cm) ở bước sóng 242 nm.
Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng piroxicam so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

2-Pyridylamin
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Diethylamin - dicloromethan (1 : 8).
Dung dịch thử: Cân một lượng bột viên tương ứng với 80 mg piroxicam, lắc kỹ với 25 ml *dicloromethan (TT)*, lọc và làm bay hơi dịch lọc tới khô bằng máy cất quay. Hòa tan cắn trong 2 ml *dicloromethan (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch 2-pyridylamin 0,010 % trong *dicloromethan (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, bất kỳ vết nào tương ứng với 2-pyridylamin phải không được có màu đậm hơn vết có được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,25 %).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Toluen - acid acetic (90 : 10).
Dung dịch thử (1): Hòa tan một lượng bột viên tương ứng với 80 mg piroxicam trong 25 ml *dicloromethan (TT)*, lọc và làm bay hơi dịch lọc tới khô bằng máy cất quay. Hòa tan cắn trong 2 ml *dicloromethan (TT)*.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 20 ml với *dicloromethan (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch piroxicam chuẩn 0,20 % trong *dicloromethan (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2 ml dung dịch thử (2) thành 50 ml với *dicloromethan (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 7,5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết nào ngoài vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) phải không được có màu đậm hơn vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %). Bỏ qua vết nằm trên đường xuất phát.

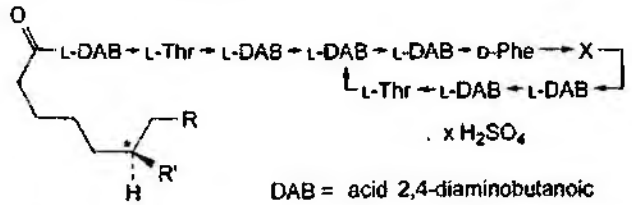
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - dung dịch đệm (60 : 40).
Dung dịch đệm: Trộn dung dịch (1) chứa 5,35 g *dinatri hydrophosphat (TT)* trong 100 ml *nước* vào dung dịch (2) chứa 7,72 g *acid citric (TT)* trong 400 ml *nước*, sau đó pha loãng bằng *nước* thành 1000 ml.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng khoảng 10 mg piroxicam vào bình định mức 200 ml, thêm 150 ml dung dịch *acid hydrocloric 0,01 M trong methanol (TT)*, siêu âm 30 min, làm nguội, thêm đến định mức với cùng dung môi, trộn đều và lọc.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng piroxicam chuẩn trong dung dịch *acid hydrocloric 0,01 M trong methanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ 0,005 %.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (30 cm × 3,9 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 242 nm.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Cách tiến hành: Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng piroxicam, $C_{15}H_{13}N_3O_4S$, có trong viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{15}H_{13}N_3O_4S$ của piroxicam chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng viêm không steroid.

Hàm lượng thường dùng
10 mg, 20 mg.

POLYMYXIN B SULFAT
Polymyxini B sulfas



Polymyxin	R	R'	X	Công thức phân tử	P.t.l
B1	CH_3	CH_3	L-Leu	$C_{56}H_{98}N_{16}O_{13}$	1204
B2	H	CH_3	L-Leu	$C_{55}H_{96}N_{16}O_{13}$	1190
B3	CH_3	H	L-Leu	$C_{55}H_{96}N_{16}O_{13}$	1190
B1-I	CH_3	CH_3	L-Ile	$C_{56}H_{98}N_{16}O_{13}$	1204

Polymyxin B là hỗn hợp muối sulfat của các polypeptid được tạo ra trong môi trường nuôi cấy của một số chủng *Paenibacillus polymyxa*, hoặc được tạo ra theo các cách thức khác, thành phần chính là polymyxin B1.

Hàm lượng
Tổng hàm lượng polymyxin B1, B2, B3 và B1-I: Không được dưới 80,0 %, tính theo chế phẩm đã làm khô.
Polymyxin B3: Không được quá 6,0 %, tính theo chế phẩm đã làm khô.
Polymyxin B1-I: Không được quá 15,0 %, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột màu trắng hay gần như trắng, hút ẩm. Tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: B, D.
Nhóm II: A, C, D.
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Nước - phenol (25 : 75).
Dung dịch thử: Hòa tan 5 mg chế phẩm trong 1 ml hỗn hợp đồng thể tích của *acid hydrocloric (TT)* và *nước*. Đun nóng ở 135 °C trong một ống nghiệm có nút kín trong 5 h. Bay hơi đến khô trên nồi cách thủy và tiếp tục đun nóng đến khi acid hydrocloric bay hơi hết. Hòa tan cắn trong 0,5 ml *nước*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg leucin chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 20 mg threonin chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 20 mg phenylalanin chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 20 mg serin chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành:
Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên thành các dải rộng 10 mm, sau đó đặt vào bình sắc ký sao cho bản mỏng không tiếp xúc với dung môi khai triển và bản mỏng được để thấm hơi dung môi trong ít nhất 12 h. Triển khai sắc ký với cùng dung môi đến khi dung môi đi được 12 cm. Sấy khô bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C, để nguội, sau đó phun lên bản mỏng *dung dịch ninhydrin (TT)*, sấy ở 110 °C trong 5 min.
Yêu cầu:
Sắc ký đồ của dung dịch thử cho các vết tương ứng với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), (2) và (3), nhưng không cho vết tương ứng với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4).
Sắc ký đồ của dung dịch thử cũng cho 1 vết có giá trị R_f rất thấp (acid 2,4-diaminobutyric).
B. Trong phần Định lượng, các pic của polymyxin B, polymyxin B2, polymyxin B3 and polymyxin B1-I trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương tự

với thời gian lưu của các pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
C. Hòa tan khoảng 2 mg chế phẩm trong 5 ml *nước*, thêm 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*. Vừa lắc vừa thêm từng giọt của 0,25 ml *dung dịch đồng sulfat 1 % (TT)*. Xuất hiện màu tím đỏ.
D. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của sulfat (Phụ lục 8.1).

pH
Từ 5,0 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).
Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Góc quay cực riêng
Từ -78° đến -90°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng tới 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch A: Hòa tan 4,46 g *natri sulfat khan (TT)* trong 900 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 2,3 bằng *dung dịch acid phosphoric 2 M (TT)* và pha loãng thành 1000 ml với *nước*.
Pha động: Acetonitril - dung dịch A (20 : 80).
Dung môi pha mẫu: Acetonitril - nước (20 : 80).
Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50,0 mg polymyxin B sulfat chuẩn trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml bằng dung môi pha mẫu.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *base-deactivated end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Nhiệt độ cột: 30 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 1,4 lần thời gian lưu của pic polymyxin B1.
Thời gian lưu tương đối so với polymyxin B1 (thời gian lưu bằng khoảng 35 min): Polymyxin B2 khoảng 0,5; polymyxin B3 khoảng 0,6; polymyxin B1-I khoảng 0,8.
Kiểm tra tính thích hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa hai pic polymyxin B2 và pic polymyxin B3 không được nhỏ hơn 3,0.
Giới hạn:
Với tạp chất bất kỳ không được quá 3,0 %.
Tổng tạp không được quá 17,0 %.
Bỏ qua các tạp chất có diện tích pic nhỏ hơn 0,7 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2).

Sulfat
Từ 15,5 % đến 17,5 %, tính theo chế phẩm đã làm khô.
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 100 ml *nước* và điều chỉnh đến pH 11 bằng *amoniac (TT)*. Thêm 10,0 ml *dung dịch bari clorid 0,1 M (CĐ)* và khoảng 0,5 mg *đỏ tía phthalein (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)*, khi dung dịch bắt đầu chuyển màu thêm 50 ml *ethanol 96 % (TT)*, tiếp tục chuẩn độ tới khi màu xanh tím biến mất.
1 ml *dung dịch bari clorid 0,1 M (CĐ)* tương ứng với 9,606 mg SO_4.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 6,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 60 °C; phosphor pentoxyd; áp suất không quá 670 Pa; 3 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,75 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Chất gây sốt
Nếu chế phẩm dự định để sản xuất thuốc tiêm mà không có thêm một qui trình thích hợp nào nhằm loại bỏ chất gây sốt, thì phải đáp ứng yêu cầu về chất gây sốt (Phụ lục 13.4). Với mỗi kilogram thể trọng thỏ, tiêm 1 ml dung dịch có chứa 1,5 mg chế phẩm trong 1 ml nước cất pha tiêm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) như mô tả trong phần Tạp chất liên quan với những thay đổi dưới đây.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).
Tính hàm lượng phần trăm polymyxin B3, polymyxin B1-I, và tổng các polymyxins B1, B2, B3 và B1-I theo công thức sau:

$$C_{Bi} = \frac{A_{Bi} \times m_2 \times D_{Bi}}{m_1 \times B_{Bi}}$$

Trong đó:
C_{Bi} là hàm lượng phần trăm của polymyxin B*i*,
A_{Bi} là diện tích pic của polymyxin B*i* trên sắc ký đồ của dung dịch thử,
m_1 là khối lượng chế phẩm thử (tính theo chế phẩm đã làm khô) trong dung dịch thử (mg),
B_{Bi} là diện tích pic của polymyxin B*i* trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1),
m_2 là khối lượng polymyxin B sulfat chuẩn trong dung dịch đối chiếu (1) (mg),
D_{Bi} là hàm lượng phần trăm polymyxin B*i* trong polymyxin B sulfat chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng. Nếu chế phẩm vô khuẩn, bảo quản trong bao bì kín và vô khuẩn.

Loại thuốc
Kháng sinh.

Chế phẩm
Mỡ tra mắt polymyxin và bacitracin.

POLYSORBAT 20

Polysorbatum 20

Polyoxyethylen

Polysorbat 20 là hỗn hợp các ester từng phần của các acid béo, chủ yếu của acid lauric (dodecanoic) với sorbitol (sorbital monolaurcrat) và các anhydrid của sorbitol đã được ethoxyl hóa với khoảng 20 phân tử ethylen oxyd cho mỗi phân tử sorbitol và các anhydrid của sorbitol.

Tính chất

Chất lỏng dạng dầu màu vàng hoặc vàng nâu, trong hoặc hơi đục. Tan trong nước, ethanol khan, ethyl acetat và methanol, thực tế không tan trong các dầu béo và parafin lỏng.

Tỷ trọng tương đối khoảng 1,10.

Độ nhớt khoảng 400 mPa·s ở 25 °C.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của polysorbat 20 chuẩn.

B. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Chỉ số hydroxyl.

C. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Chỉ số xà phòng hóa.

D. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Thành phần acid béo.

E. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 5 ml *methylen clorid (TT)*, thêm 0,1 g *kali thiocyanat (TT)* và 0,1 g *cobalt nitrat (TT)*. Khuấy bằng đũa thủy tinh. Dung dịch phải có màu xanh lam.

Chỉ số acid

Không được quá 2,0 (Phụ lục 7.2).

Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 50 ml hỗn hợp dung môi như đã được mô tả trong phụ lục 7.2.

Chỉ số hydroxyl

Từ 96 đến 108 (Phụ lục 7.4, phương pháp A).

Chỉ số xà phòng hóa

Từ 40 đến 50 (Phụ lục 7.7).

Dùng 4,0 g chế phẩm, thêm 15,0 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 M trong ethanol* (CĐ). Đun hồi lưu trong 60 min. Thêm 50 ml *ethanol 96 % (TT)* trước khi chuẩn độ.

Chỉ số peroxyd

Không được quá 10,0.

Cân 10,0 g chế phẩm cho vào cốc dung tích 100 ml, hòa tan bằng 20 ml *acid acetic băng (TT)*. Thêm 1 ml *dung dịch kali iodid bão hòa (TT)* trộn đều và để yên 1 min, thêm 50 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* và dùng khuấy từ. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Song song tiến hành một mẫu trắng, nếu kết quả chuẩn độ mẫu trắng vượt quá 0,1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)* thì đổi hóa chất và chuẩn độ lại.

Chỉ số peroxyd của chế phẩm được tính theo công thức sau:

$$\frac{(n_1 - n_2) \times M \times 1000}{m}$$

Trong đó:

n_1 là số ml *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)* đã dùng trong mẫu thử.

n_2 là số ml *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)* đã dùng trong mẫu trắng.

M là nồng độ mol của dung dịch natri thiosulfat (M).

m là lượng chế phẩm đem thử (g).

Thành phần acid béo (Phụ lục 12.9, phương pháp C)

Sử dụng hỗn hợp chuẩn như mô tả ở Bảng 12.9.2 để chuẩn bị dung dịch đối chiếu (a).

Điều kiện sắc ký:

Cột silica nung chảy, kích thước (30 m × 0,32 mm), được phủ *macrogol 20 000* (độ dày phim 0,5 µm).

Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký*.

Tốc độ: 50 cm/s.

Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 14	80 → 220
	14 - 54	220
Buồng tiêm		250
Detector		250

Detector: Ion hóa ngọn lửa.

Thể tích tiêm: 1 µl.

Giới hạn:

Thành phần của các acid béo trong chế phẩm:

Acid caproic: Không được quá 1,0 %.

Acid caprylic: Không được quá 10,0 %.

Acid capric: Không được quá 10,0 %.

Acid lauric: Từ 40,0 % đến 60,0 %.

Acid myristic: Từ 14,0 % đến 25,0 %.

Acid palmitic: Từ 7,0 % đến 15,0 %.

Acid stearic: Không được quá 7,0 %.

Acid oleic: Không được quá 11,0 %.

Acid linoleic: Không được quá 3,0 %.

Ethylen oxyd và dioxan (Phụ lục 10.15, phương pháp 1).

Ethylen oxyd: Không được quá 1 phần triệu.

Dioxan: Không được quá 10 phần triệu.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

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

Nước

Không được quá 3,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 1,00 g chế phẩm.

Tro toàn phần
Không được quá 0,25 % (Phụ lục 9.8, phương pháp 2).
Dùng 2,0 g chế phẩm.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chất diện hoạt không ion hóa.

POLYSORBAT 60
Polysorbatum 60

Polysorbat 60 là hỗn hợp các ester từng phần của các acid béo, chủ yếu của acid stearic 50 với sorbitol (sorbital monolaurerat) và các anhydrid của sorbitol đã được ethoxyl hóa với khoảng 20 phân tử ethylen oxyd cho mỗi phân tử sorbitol và các anhydrid của sorbitol.

Tính chất
Khối gel màu nâu hơi vàng, hóa lỏng ở trên 25 °C. Tan trong nước, ethanol khan, ethyl acetat và methanol, thực tế không tan trong các dầu béo và parafin lỏng.
Tỷ trọng tương đối khoảng 1,10.
Độ nhớt khoảng 400 mPa·s ở 30 °C.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của polysorbat 60 chuẩn.
B. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Chỉ số hydroxyl.
C. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Chỉ số xà phòng hóa.
D. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Thành phần acid béo.
E. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 5 ml *methylen clorid (TT)*, thêm 0,1 g *kali thiocyanat (TT)* và 0,1 g *cobalt nitrat (TT)*. Khuấy bằng đũa thủy tinh. Dung dịch phải có màu xanh lam.

Chỉ số acid
Không được quá 2,0 (Phụ lục 7.2).
Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 50 ml hỗn hợp dung môi như đã được mô tả trong phụ lục 7.2.

Chỉ số hydroxyl
Từ 81 đến 96 (Phụ lục 7.4, phương pháp A).

Chỉ số xà phòng hóa
Từ 45 đến 55 (Phụ lục 7.7).
Dùng 4,0 g chế phẩm, thêm 15,0 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 M trong ethanol* (CĐ). Đun hồi lưu trong 60 min. Thêm 50 ml *ethanol 96 % (TT)* trước khi định lượng.

Chỉ số peroxyd
Không được quá 10,0.

Cân 10,0 g chế phẩm cho vào cốc dung tích 100 ml, hòa tan bằng 20 ml *acid acetic băng (TT)*. Thêm 1 ml *dung dịch kali iodid bão hòa (TT)* trộn đều và để yên 1 min, thêm 50 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* và dùng khuấy từ. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Song song tiến hành một mẫu trắng, nếu kết quả chuẩn độ mẫu trắng vượt quá 0,1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)* thì đổi hóa chất và chuẩn độ lại.
Chỉ số peroxyd của chế phẩm được tính theo công thức sau:

$$\frac{(n_1 - n_2) \times M \times 1000}{m}$$

Trong đó:
n_1 là số ml *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)* đã dùng trong mẫu thử.
n_2 là số ml *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)* đã dùng trong mẫu trắng.
M là nồng độ mol của dung dịch natri thiosulfat (M).
m là lượng chế phẩm đem thử (g).

Thành phần acid béo (Phụ lục 12.9, phương pháp C)
Sử dụng hỗn hợp chuẩn như chỉ dẫn tại Bảng 12.9.1 để chuẩn bị dung dịch đối chiếu (a).
Điều kiện sắc ký:
Cột silica nung chảy, kích thước (30 m × 0,32 mm), được phủ *macrogol 20 000* (độ dày phim 0,5 µm).
Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký*.
Tốc độ dòng: 50 cm/s.
Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 14	80 → 220
	14 - 54	220
Buồng tiêm		250
Detector		250

Detector: Ion hóa ngọn lửa.
Thể tích tiêm: 1 µl.
Giới hạn:
Thành phần của các acid béo trong chế phẩm:
Acid stearic: Từ 40,0 % đến 60,0 %.
Tổng hàm lượng của acid palmitic và acid stearic không được nhỏ hơn 90,0 %.

Ethylen oxyd và dioxan (Phụ lục 10.15, phương pháp 1).
Ethylen oxyd: Không được quá 1 phần triệu.
Dioxan: Không được quá 10 phần triệu.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Dùng 2,0 g chế phẩm và tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Không được quá 3,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 1,00 g chế phẩm.

Tro toàn phần
Không được quá 0,25 % (Phụ lục 9.8, phương pháp 2).
Dùng 2,0 g chế phẩm.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chất diện hoạt không ion hóa.

POLYSORBAT 80
Polysorbatum 80

Polysorbat 80 là hỗn hợp các ester từng phần của các acid béo, chủ yếu của acid oleic với sorbitol và các anhydrid của sorbitol đã được ethoxyl hóa với khoảng 20 phân tử ethylen oxyd cho mỗi phân tử sorbitol và các anhydrid của sorbitol.

Tính chất
Chất lỏng dạng dầu màu vàng hoặc vàng nâu, trong hoặc hơi đục. Tan trong nước, ethanol khan, ethyl acetat và methanol, thực tế không tan trong các dầu béo và parafin lỏng.
Tỷ trọng tương đối khoảng 1,10.
Độ nhớt khoảng 400 mPa·s ở 25 °C.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của polysorbat 80.
B. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Chỉ số hydroxyl.
C. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Chỉ số xà phòng hóa.
D. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Thành phần acid béo.
E. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 5 ml *methylen clorid (TT)*, thêm 0,1 g *kali thiocyanat (TT)* và 0,1 g *cobalt nitrat (TT)*. Khuấy bằng đũa thủy tinh. Dung dịch phải có màu xanh.

Chỉ số acid
Không được quá 2,0 (Phụ lục 7.2).
Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 50 ml hỗn hợp dung môi như đã được mô tả trong phụ lục 7.2.

Chỉ số hydroxyl
Từ 65 đến 80 (Phụ lục 7.4, phương pháp A).

Chỉ số xà phòng hóa
Từ 45 đến 55 (Phụ lục 7.7).
Lấy 4,0 g chế phẩm, thêm 30,0 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol (CĐ)*. Đun hồi lưu trong 60 min. Thêm 50 ml *ethanol khan (TT)* trước khi tiến hành chuẩn độ.

Chỉ số peroxyd
Không được quá 10,0.
Cân 10,0 g chế phẩm cho vào cốc dung tích 100 ml, hòa tan bằng 20 ml *acid acetic băng (TT)*. Thêm 1 ml *dung dịch kali iodid bão hòa (TT)* trộn đều và để yên 1 min, thêm 50 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* và dùng khuấy từ. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Song song tiến hành một mẫu trắng.
Chỉ số peroxyd của chế phẩm được tính theo công thức sau:

$$\frac{(n_1 - n_2) \times M \times 1000}{m}$$

Trong đó:
n_1 là số ml *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)* đã dùng trong mẫu thử.
n_2 là số ml *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)* đã dùng trong mẫu trắng.
M là nồng độ mol của dung dịch natri thiosulfat (M).
m là lượng chế phẩm đem thử (g).

Thành phần acid béo (Phụ lục 12.9, phương pháp C)
Sử dụng hỗn hợp chuẩn như chỉ dẫn tại Bảng 12.9.3 để lập đường chuẩn.
Điều kiện sắc ký:
Cột silica nung chảy, kích thước (30 m × 0,32 mm), được phủ *macrogol 20 000* (độ dày phim 0,5 µm).
Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký*.
Tốc độ dòng: 50 cm/s.
Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 14	80 → 220
	14 - 54	220
Buồng tiêm		250
Detector		250

Detector: Ion hóa ngọn lửa.
Thể tích tiêm: 1 µl.
Giới hạn: Thành phần của các acid béo trong chế phẩm:
Acid myristic: Không được quá 5,0 %.
Acid palmitic: Không được quá 16,0 %.
Acid palmitoleic: Không được quá 8,0 %.
Acid stearic: Không được quá 6,0 %.
Acid oleic: Không được nhỏ hơn 58,0 %.
Acid linoleic: Không được quá 18,0 %.
Acid linolenic: Không được quá 4,0 %.

Ethylen oxyd và dioxan
Không được quá 1 phần triệu ethylen oxyd và không được quá 10 phần triệu dioxan.
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2, phương pháp tiêm pha hơi).
Dung dịch ethylen oxyd gốc: Pha loãng 0,5 ml dung dịch ethylen oxyd 5 % trong methylen clorid (đã sẵn có trên thị

trường) thành 50,0 ml bằng *nước* (Chú ý: Dung dịch ổn định trong 3 tháng nếu được bảo quản trong lọ có nắp bằng silicon được phủ bằng polytetrafluoroethylen ở -20 °C). Để nguội dung dịch về nhiệt độ phòng. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 250,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch dioxan gốc: Pha loãng 1,0 ml *dioxan (TT)* thành 200,0 ml bằng nước. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch acetaldehyd gốc: Cân khoảng 0,100 g *acetaldehyd (TT)* vào bình định mức 100 ml và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch chuẩn: Thêm 2,5 ml dung dịch dioxan gốc vào 6,0 ml dung dịch ethylen oxyd gốc và pha loãng thành 25,0 ml bằng nước.

Dung dịch thử (1): Cân 1,00 g chế phẩm trong lọ dùng cho sắc ký tiêm pha hơi dung tích 10 ml. Thêm 2,0 ml *nước*, đậy kín ngay bằng màng silicon phủ polytetrafluoroethylen và nắp nhôm, trộn đều cẩn thận.

Dung dịch thử (2): Cân 1,00 g chế phẩm trong lọ dùng cho sắc ký tiêm pha hơi dung tích 10 ml. Thêm 2,0 ml dung dịch chuẩn, đậy kín ngay bằng màng silicon phủ polytetrafluoroethylen và nắp nhôm, trộn đều cẩn thận.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2,0 ml dung dịch acetaldehyd gốc và 2,0 ml dung dịch ethylen oxyd gốc vào lọ dung tích 10 ml và đậy kín ngay bằng màng silicon phủ polytetrafluoroethylen và nắp nhôm, trộn đều cẩn thận.

Điều kiện sắc ký:

Cột silica nung chảy kích thước (50 m × 0,53 mm) được phủ *poly(dimethyl)(diphenyl)siloxan* (phim dày 0,5 µm).

Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký*.

Tốc độ dòng: 4,0 ml/min.

Tỷ lệ chia dòng: 1 : 3 : 5.

Điều kiện tiêm pha hơi tĩnh: Nhiệt độ cân bằng 80 °C, thời gian cân bằng 30 min.

Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 18	70 → 250
	18 - 23	250
Buồng tiêm		85
Detector		250

Detector: Ion hóa ngọn lửa.

Thể tích tiêm: 1,0 ml.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch thử (1), (2) và dung dịch đối chiếu.

Thời gian lưu tương đối so với ethylen oxyd (thời gian lưu khoảng 6,5 min): Acetaldehyd khoảng 0,9; dioxan khoảng 1,9.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu, độ phân giải giữa pic của acetaldehyd và pic của dioxan ít nhất là 2,0.

Hàm lượng ethylen oxyd được tính theo công thức sau:

$$\frac{2C_{EO} \times A_a}{A_b - A_a}$$

Trong đó:

C_{EO} là nồng độ ethylen oxyd (µg/ml) trong dung dịch thử (2).

A_a là diện tích pic ethylen oxyd thu được trên sắc ký đồ dung dịch thử (1).

A_b là diện tích pic ethylen oxyd thu được trên sắc ký đồ dung dịch thử (2).

Hàm lượng dioxan được tính theo công thức sau:

$$\frac{2 \times 1{,}03 \times C_D \times A_{a'}}{A_{b'} - A_{a'}}$$

Trong đó:

C_D là nồng độ dioxan (µl/ml) trong dung dịch thử (2).

1,03 là khối lượng riêng của dioxan (g/ml).

$A_{a'}$ là diện tích pic dioxan thu được trên sắc ký đồ dung dịch thử (1).

$A_{b'}$ là diện tích pic dioxan thu được trên sắc ký đồ dung dịch thử (2).

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

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

Nước

Không được quá 3,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 1,00 g chế phẩm.

Tro toàn phần

Không được quá 0,25 % (Phụ lục 9.8, phương pháp 2).

Dùng 2,0 g chế phẩm.

Bảo quản

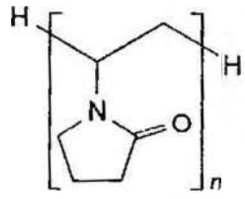
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chất diện hoạt không ion hóa.

POVIDON

Povidonum



$C_{6n}H_{9n-2}N_nO_n$

Povidon là α-hydro-ω-hydropoly[1-(2-oxopyrrolidin-1-yl)ethylen], chứa các polymer mạch thẳng của 1-ethenylpyrrolidin-2-on. Povidon phải chứa từ 11,5 %

đến 12,8 % nitơ (N; ng.t.l: 14,01) tính theo chế phẩm khan. Các dạng khác nhau của povidon được đặc trưng bởi độ nhớt của dung dịch, thể hiện qua giá trị K.

Tính chất

Bột hay mảnh nhỏ màu trắng hoặc trắng ánh vàng, dễ hút ẩm.

Dễ tan trong nước, ethanol 96 % và methanol, rất khó tan trong aceton.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, E.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của povidon chuẩn. Sấy khô chế phẩm ở 105 °C trong 6 h. Dùng 4 mg chế phẩm khô để chuẩn bị mẫu thử.

B. Thêm 10 ml *nước*, 5 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và 2 ml *dung dịch kali dicromat 10,6 % (TT)* vào 0,4 ml dung dịch S_1 (xem Độ trong và màu sắc của dung dịch). Xuất hiện tủa màu vàng cam.

C. Thêm 0,2 ml *dung dịch dimethylaminobenzaldehyd (TT_1)* và 0,1 ml *acid sulfuric (TT)* vào 1 ml dung dịch S_1. Màu hồng xuất hiện.

D. Thêm 5 ml *nước* và 0,2 ml *dung dịch iod 0,05 M (TT)* vào 0,1 ml dung dịch S_1. Màu đỏ xuất hiện.

E. Thêm 10 ml *nước* vào 0,5 g chế phẩm và lắc đều. Chế phẩm tan hoàn toàn.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* bằng cách cho từng phần nhỏ chế phẩm vào nước và dùng khuấy từ, pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S_1: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* bằng cách cho từng phần nhỏ chế phẩm vào nước và dùng khuấy từ, pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.1) và màu không đậm hơn dung dịch màu mẫu N_6, VN_6 hoặc $Đ_6$ (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH (Phụ lục 6.2).

Từ 3,0 đến 5,0 với chế phẩm có giá trị K ghi trên nhãn nhỏ hơn hoặc bằng 30.

Từ 4,0 đến 7,0 với chế phẩm có giá trị K ghi trên nhãn lớn hơn 30.

Dùng dung dịch S để đo.

Độ nhớt

Với chế phẩm có giá trị độ nhớt ghi trên nhãn nhỏ hơn hoặc bằng 18, dùng dung dịch chế phẩm 50 g/l để đo.

Với chế phẩm có giá trị độ nhớt ghi trên nhãn lớn hơn 18 và nhỏ hơn 95, dùng dung dịch chế phẩm 10 g/l để đo.

Với chế phẩm có giá trị độ nhớt ghi trên nhãn lớn hơn 95, dùng dung dịch chế phẩm 1 g/l để đo.

Để yên 1 h và đo độ nhớt (Phụ lục 6.3, phương pháp 1) của dung dịch ở 25 °C với thời gian chảy tối thiểu là 100 s. Tính giá trị K bằng công thức sau:

$$\frac{1,5\log_{10}\eta - 1}{0,15 + 0,003c} + \frac{\sqrt{300c\log_{10}\eta + (c + 1,5c\log_{10}\eta)^2}}{0,15c + 0,003c^2}$$

Trong đó:

c là nồng độ chế phẩm trong mẫu thử tính theo chế phẩm khan, g/100 ml.

η là độ nhớt động học của dung dịch chế phẩm so với độ nhớt động học của nước.

Yêu cầu:

Giá trị K của chế phẩm ghi trên nhãn nhỏ hơn hoặc bằng 15 phải đạt từ 85,0 % đến 115,0 % so với giá trị ghi trên nhãn.

Giá trị K của chế phẩm ghi trên nhãn hoặc khoảng giá trị K ghi trên nhãn có giá trị trung bình lớn hơn 15 phải đạt từ 90,0 % đến 108,0 % so với giá trị ghi trên nhãn hoặc giá trị trung bình của khoảng ghi trên nhãn.

Aldehyd

Không được quá 0,05 %, tính theo acetaldehyd.

Dung dịch thử: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *dung dịch đệm phosphat pH 9,0 (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Đậy kín và đun nóng 60 °C trong 1 h, sau đó để nguội.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,140 g *acetaldehyd amoni trimer trihydrat (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 200,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *dung dịch đệm phosphat pH 9,0 (TT)*.

Cách tiến hành: Dùng 3 cuvet có độ dày 1 cm. Cho vào cuvet thứ nhất 0,5 ml dung dịch thử; cuvet thứ hai 0,5 ml dung dịch đối chiếu, cuvet thứ ba 0,5 ml *nước* (mẫu trắng). Lần lượt thêm vào từng cuvet 2,5 ml *dung dịch đệm phosphat pH 9,0 (TT)* và 0,2 ml *dung dịch nicotinamid-adenin dinucleotid (TT)*. Trộn đều và đậy kín. Để yên ở 22 °C ± 2 °C trong 2 min đến 3 min. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của mỗi dung dịch ở bước sóng 340 nm, dùng *nước* làm mẫu trắng. Sau khi đo xong thêm vào mỗi cuvet 0,05 ml *dung dịch aldehyd dehydrogenase (TT)*, trộn đều, đậy kín và để yên ở 22 °C ± 2 °C trong 5 min. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của mỗi dung dịch ở bước sóng 340 nm, dùng *nước* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng aldehyd theo công thức:

$$\frac{(A_{t2} - A_{t1}) - (A_{b2} - A_{b1})}{(A_{s2} - A_{s1}) - (A_{b2} - A_{b1})} \times \frac{100\,000 \times C}{m}$$

Trong đó:

A_{t1} là độ hấp thụ của dung dịch thử trước khi thêm *dung dịch aldehyd dehydrogenase*.

A_{t2} là độ hấp thụ của dung dịch thử sau khi thêm *dung dịch aldehyd dehydrogenase*.

A_{s1} là độ hấp thụ của dung dịch đối chiếu trước khi thêm *dung dịch aldehyd dehydrogenase*.

A_{s2} là độ hấp thụ của dung dịch đối chiếu sau khi thêm *dung dịch aldehyd dehydrogenase*.

A_{b1} là độ hấp thụ của dung dịch mẫu trắng trước khi thêm *dung dịch aldehyd dehydrogenase*.
A_{b2} là độ hấp thụ của dung dịch mẫu trắng sau khi thêm *dung dịch aldehyd dehydrogenase*.
m là khối lượng chế phẩm (g) tính theo chế phẩm khan.
C là nồng độ (mg/ml) của acetaldehyd trong dung dịch đối chiếu, tính được bằng cách lấy lượng cân của *acetaldehyd amoni trimer trihydrat* nhân với 0,72.

Peroxyd

Không được quá 0,04 %, tính theo H_2O_2.
Dung dịch gốc: Hòa tan một lượng chế phẩm tương đương với 4,0 g chế phẩm khan trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử: Thêm 2 ml *dung dịch titan triclorid - acid sulfuric (TT)* vào 25,0 ml dung dịch gốc. Để yên trong 30 min.
Mẫu trắng: Thêm 2 ml *dung dịch acid sulfuric 13 %* (tt/tt) vào 25,0 ml dung dịch gốc.
Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử ở bước sóng 405 nm không được quá 0,35.

Hydrazin

Không được quá 1 phần triệu.
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.
Bản mỏng: Silica gel đã được silan hóa F_{254}.
Dung môi khai triển: Nước - methanol (1 : 2).
Dung dịch thử: Hòa tan một lượng chế phẩm tương đương với 2,5 g chế phẩm khan trong 25 ml *nước*. Thêm 0,5 ml *dung dịch salicylaldehyd 5 % trong methanol*. Trộn đều và đun nóng trong cách thủy ở 60 °C trong 15 min. Để nguội, thêm 2,0 ml *toluen (TT)*, lắc trong 2 min rồi ly tâm. Sử dụng lớp dịch phía trên.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 90 mg *salicylaldehyd azin (TT)* trong *toluen (TT)* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 100 ml bằng *toluen (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 3/4 chiều dài bản mỏng. Để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Giá trị R_f của salicylaldehyd azin khoảng 0,3. Vết tương ứng với salicylaldehyd azin trên sắc đồ của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu.

Acid formic

Không được quá 0,5 %.
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Pha loãng 5 ml *acid percloric (TT)* thành 1000 ml bằng *nước*.
Dung dịch thử: Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng với 2,0 g chế phẩm khan trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi (dung dịch thử gốc). Chuyển hỗn dịch trong nước của nhựa trao đổi ion acid mạnh dùng cho sắc ký cột vào cột có đường kính trong khoảng 0,8 cm để được lớp chất nhồi cao khoảng 20 mm và giữ lớp chất nhồi luôn ngập trong *nước*. Rót 5 ml *nước* vào cột và điều chỉnh tốc độ nhỏ giọt khoảng 20 giọt/phút. Khi mực nước hạ xuống gần tới lớp nhựa trao đổi ion acid mạnh thì rót dung dịch thử gốc vào cột. Bỏ 2 ml dịch rửa giải đầu, lấy 1,5 ml dịch tiếp theo dùng làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,100 g *acid formic khan (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *nước*.
Điều kiện sắc ký:
Cột dài (25 cm - 30 cm), đường kính trong 4 mm - 8 mm được nhồi pha tĩnh *nhựa trao đổi ion acid mạnh dùng cho cột sắc ký* (5 - 10 µm).
Nhiệt độ cột: 30 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: Điều chỉnh để thời gian lưu của acid formic khoảng 11 min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiêm dung dịch đối chiếu 6 lần, độ lệch chuẩn tương đối không được quá 2,0 %.
Giới hạn:
Acid formic: Diện tích pic acid formic trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn 10 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Tạp chất A

Không được quá 10 phần triệu.
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Acetonitril - nước* (10 : 90).
Dung dịch thử: Hòa tan một lượng chế phẩm tương đương với 0,250 g chế phẩm khan trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50,0 mg *1-vinylpyrrolidin-2-on (TT)* (tạp chất A) trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *methanol (TT)*. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg *1-vinylpyrrolidin-2-on (TT)* và 0,5 g *vinyl acetat (TT)* trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Tiền cột kích thước (2,5 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột: 40 °C.
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 235 nm.
Tốc độ dòng: Điều chỉnh sao cho thời gian lưu của pic tương ứng với tạp chất A khoảng 10 min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất

A với pic của vinyl acetat ít nhất là 2,0. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic tạp chất A của 6 lần tiêm dung dịch đối chiếu (1) không quá 2,0 %.
Sau khi tiêm dung dịch thử, đợi khoảng 2 min và rửa tiền cột bằng cách cho pha động chạy ngược chiều qua cột trong 30 min với tốc độ dòng như trên.
Giới hạn:
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của pic tạp chất A không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu (1).
Ghi chú:
Tạp chất A: 1-Ethenylpyrrolidin-2-on (1-vinylpyrrolidin-2-on).

Tạp chất B
Không được quá 3,0 %.
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Nước đã điều chỉnh đến pH 2,4 bằng *acid phosphoric (TT).*
Dung dịch thử: Hòa tan một lượng chế phẩm tương đương với 0,100 g chế phẩm khan trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,100 g *2-pyrrolidon (TT)* (tạp chất B) trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 3,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng *nước*.
Điều kiện sắc ký:
Tiền cột kích thước (2,5 cm × 3 mm) được nhồi *end-capped octadecylsilyl dùng cho sắc ký* (5 µm).
Cột kích thước (25 cm × 3 mm) được nhồi *end-capped octadecylsilyl dùng cho sắc ký* (5 µm).
Nhiệt độ cột: 30 °C.
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 205 nm.
Tốc độ dòng: Điều chỉnh sao cho thời gian lưu của pic tương ứng với tạp chất B khoảng 11 min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic tạp chất B của 6 lần tiêm dung dịch đối chiếu không quá 2,0 %.
Sau mỗi lần tiêm dung dịch thử, rửa tiền cột bằng cách cho pha động chạy ngược chiều qua cột trong 30 min với tốc độ dòng như trên.
Giới hạn:
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của pic tạp chất B không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc đồ của dung dịch đối chiếu.
Ghi chú:
Tạp chất B: Pyrrolidin-2-on (2-pyrrolidon).

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 2,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 4. Dùng 2,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,500 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Cân chính xác khoảng 0,100 g chế phẩm (*m* mg) vào bình đốt Kieldahl. Thêm 5 g hỗn hợp gồm 1 g *đồng sulfat (TT)*, 1 g *titan dioxyd (TT)*, 33 g *kali sulfat (TT)* và 3 viên bi thủy tinh. Tráng sạch lượng chế phẩm dính ở cổ bình bằng một lượng nhỏ nước. Thêm 7 ml *acid sulfuric (TT)* dọc theo thành bình và trộn đều bằng cách thỉnh thoảng xoay nhẹ bình. Đậy bình bằng phễu thủy tinh có cuống dài rồi đun nóng từ từ cho đến khi dung dịch có màu xanh ánh vàng và thành bình không còn chất chưa carbon hóa hết. Tiếp tục đun bình trong 45 min rồi làm lạnh. Hòa tan phần chất rắn bằng cách thêm từ từ 20 ml *nước*. Tiếp tục làm lạnh và lắp bình vào bộ cất kéo hơi nước. Thêm 30 ml *dung dịch natri hydroxyd 42 % (TT)* qua phễu. Tráng phễu bằng 10 ml *nước* rồi cất ngay bằng hơi nước. Hứng 80 ml đến 100 ml dịch cất vào bình có chứa 30 ml *dung dịch acid boric 4 % (TT)*, 3 giọt *dung dịch xanh bromocresol - đỏ methyl (TT)* và lượng nước đủ để làm ngập đầu của bộ phận ngưng tụ. Vào cuối quá trình cất, hạ thấp bình hứng sao cho đầu của bộ phận ngưng tụ cao hơn bề mặt của dung dịch acid. Tráng đầu cuối của bộ phận ngưng tụ với một lượng nhỏ *nước*.
Định lượng dịch cất bằng *dung dịch acid sulfuric 0,025 M (CĐ)* cho đến khi màu chuyển từ xanh lá cây sang xanh lam nhạt rồi chuyển sang đỏ tía ánh lục nhạt.
Song song tiến hành mẫu trắng.
1 ml *dung dịch acid sulfuric 0,025 M (CĐ)* tương đương với 0,7004 mg N.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

CÁC ĐẶC TÍNH LIÊN QUAN ĐẾN CÔNG DỤNG CỦA NGUYÊN LIỆU

Các đặc tính sau liên quan đến povidon dùng như chất trợ tan và chất ổn định trong các dạng bào chế lỏng.

Độ nhớt
Xác định độ nhớt động lực bằng nhớt kế mao quản với dung dịch 10 % (tính theo chế phẩm khô) ở 25 °C. Các giá trị điển hình được trình bày trong Bảng 1.

Khối lượng phân tử (xem Độ nhớt, được biểu thị bằng giá trị K)
Giá trị điển hình được trình bày trong Bảng 1.
Các đặc tính sau liên quan đến povidon dùng như chất kết dính trong viên và cốm.

Bảng 1: Khoảng độ nhớt điển hình và khoảng độ nhớt được biểu thị qua giá trị K.

	Khoảng độ nhớt (mPa·s)	Khối lượng phân tử: Độ nhớt biểu thị bằng giá trị K
Povidon K 12	1,3 - 2,3	11 - 14
Povidon K 17	1,5 - 3,5	16 - 18
Povidon K 25	3,5 - 5,5	24 - 27
Povidon K 30	5,5 - 8,5	28 - 32
Povidon K 90	300 - 700	85 - 95

POVIDON IOD

Povidonum iodinatum

Povidon iod là phức hợp của iod và povidon, phải chứa từ 9,0 % đến 12,0 % iod, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Điều chế

Sử dụng povidon đạt các tiêu chuẩn trong chuyên luận Povidon. Povidon dùng để điều chế povidon iod có thể có hàm lượng acid formic không được quá 2,0 % và hàm lượng nước không được quá 8,0 %.

Tính chất

Bột vô định hình màu nâu vàng hoặc nâu đỏ. Tan trong nước và ethanol 96 %, thực tế không tan trong aceton.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của povidon iod chuẩn.
B. Hòa tan 10 mg chế phẩm trong 10 ml *nước* và thêm 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)*. Màu xanh lam đậm xuất hiện.

pH

Từ 1,5 đến 5,0 (Phụ lục 6.2).
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*.

Iodid

Không được quá 6,0 %, tính theo chế phẩm đã làm khô.
Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong 100 ml *nước*. Thêm *natri metabisulfit (TT)* đến khi mất màu của iod. Thêm 25,0 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)*, 10 ml *acid nitric (TT)* và 5 ml *dung dịch sắt (III) amoni sulfat 10 % (TT)*. Định lượng bằng *dung dịch amoni thiocyanat 0,1 N (CĐ)*. Tiến hành song song mẫu trắng.
1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 12,69 mg tổng iod. Tính hàm lượng phần trăm của iodid trong chế phẩm bằng cách lấy hàm lượng phần trăm của iod toàn phần tính theo chế phẩm đã làm khô trừ đi hàm lượng phần trăm của iod xác định được từ phép Định lượng.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 8,0 % (Phụ lục 9.6).
(0,500 g; 105 °C; 3 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Chuyển 1,000 g chế phẩm vào bình cầu có nắp có chứa 150 ml *nước* và khuấy trong 1 h. Thêm 0,1 ml *dung dịch acid acetic loãng (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)*, dùng *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 12,69 mg iod.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Sát trùng.

Chế phẩm

Thuốc nhỏ mắt, thuốc súc miệng, dung dịch thuốc dùng ngoài.

DUNG DỊCH POVIDON IOD

Solutio Povidoni Iodini

Dung dịch povidon iod là dung dịch thuốc dùng ngoài chứa povidon iod.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Dung dịch thuốc" (Phụ lục 1.3) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng iod, I, từ 0,85 % đến 1,20 % (kl/tt).

Tính chất

Chất lỏng màu nâu thẫm.

Định tính

A. Pha loãng 1 ml chế phẩm với *nước* thành 20 ml. Lấy 1 ml dung dịch vừa pha loãng, thêm vào đó 1 ml dung dịch hỗn hợp gồm 1 ml *hồ tinh bột (TT)* và 9 ml *nước*, dung dịch có màu xanh thẫm.
B. Chuyển 10 ml chế phẩm vào bình nón 50 ml và phủ lên miệng bình miếng giấy lọc đã được tẩm 0,05 ml *hồ tinh bột (TT)*, giấy lọc không chuyển màu xanh trong 60 s.
C. Pha loãng 20 ml chế phẩm với *nước* thành 100 ml. Lấy 10 ml dung dịch này và thêm vào đó từng giọt *dung dịch natri thiosulfat 0,1 M* cho đến khi dung dịch mất màu của iod, để 5 ml cho thử nghiệm D. Lấy 5 ml dung dịch, thêm vào 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* và 5 ml *dung dịch kali dicromat 7,0 %*, xuất hiện tủa màu đỏ.
D. Lấy 5 ml dung dịch ở thử nghiệm C để lại, thêm 2 ml *dung dịch amoni cobalthiocyanat* (được chuẩn bị bằng cách hòa tan 3,75 g *cobalt nitrat (TT)* và 15 g *amoni thiocyanat (TT)* trong *nước* rồi thêm *nước* vừa đủ 100 ml, dung dịch pha dùng trong ngày) vừa mới acid hóa bằng *dung dịch acid hydrocloric 5 M (TT)*, dung dịch có tủa màu xanh lam.

pH
Từ 1,5 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Iodid
Không quá 0,6 % khi tiến hành theo phương pháp sau:
Pha loãng 5 ml dung dịch chế phẩm với *nước* thành 100 ml và thêm *natri metabisulfit (TT)* cho đến khi màu của iod biến mất. Thêm 25 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)*, 10 ml *acid nitric (TT)* và 5 ml *dung dịch sắt (III) amoni sulfat 10 % (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch amoni thiocyanat 0,1 N (CĐ)*. Tiến hành song song mẫu trắng trong cùng điều kiện.
1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 12,69 mg iod toàn phần.
Tính hàm lượng phần trăm iod toàn phần và trừ cho hàm lượng phần trăm của iod đã được xác định trong phần định lượng để thu được hàm lượng phần trăm của iodid.

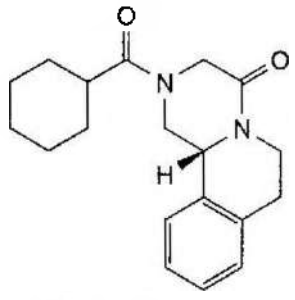
Định lượng
Lấy 10,0 ml chế phẩm, thêm 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 150 ml, chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,02 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,02 N (CĐ)* tương đương với 2,538 mg iod, I.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc bôi ngoài da chống nhiễm khuẩn.

Hàm lượng thường dùng
Dung dịch 10 %.

PRAZIQUANTEL
Praziquantelum



và đồng phân đối quang

$C_{19}H_{24}N_2O_2$ P.t.l: 312,4

Praziquantel là (11b*RS*)-2-(cyclohexylcarbonyl)-1,2,3,6,7,11b-hexahydro-4*H*-pyrazino[2,1-a] isoquinolin-4-on, phải chứa từ 97,5 % đến 102,0 % $C_{19}H_{24}N_2O_2$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng, đa hình. Rất khó tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 % và trong methylen clorid.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của praziquantel chuẩn. Nếu phổ hồng ngoại của chế phẩm và chuẩn khác nhau thì hòa tan riêng biệt 50 mg chế phẩm và 50 mg praziquantel chuẩn trong 2 ml *methanol (TT)*. Bốc hơi và làm khô cắn ở nhiệt độ 60 °C và dưới áp suất không quá 0,7 kPa. Ghi lại phổ hồng ngoại của các cắn mới thu được.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril (TT_1) - nước dùng cho sắc ký (45 : 55).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 40,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử (1) thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 40,0 mg praziquantel chuẩn trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 2 mg praziquantel chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa tạp chất A và B) trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (2) và (3).
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 4 lần thời gian lưu của praziquantel.
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo praziquantel chuẩn dùng để kiểm tra tính thích hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất A và tạp chất B.
Thời gian lưu tương đối so với praziquantel (thời gian lưu khoảng 10 min): Tạp chất A khoảng 0,6; tạp chất B khoảng 2,2.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất A với pic của praziquantel ít nhất là 3,0.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất B với 1,4.

Tạp chất A, B: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu cần, không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,2 %).
Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,5 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: (11b*RS*)-2-benzoyl-1,2,3,6,7,11b-hexahydro-4*H*-pyrazino[2,1-*a*]isoquinolin-4-on.
Tạp chất B: 2-(cyclohexylcarbonyl)-2,3,6,7-tetrahydro-4*H*-pyrazino[2,1-*a*]isoquinolin-4-on.
TạpchấtC:*N*-formyl-*N*-[2-oxo-2-(1-oxo-3,4-dihydroisoquinolin-2(1*H*)- yl)ethyl]cyclohexanecarboxamid.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; áp suất không quá 0,7 kPa; phosphor pentoxyd; 50 °C; 2 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (1).
Tính hàm lượng $C_{19}H_{24}N_2O_2$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic praziquantel thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng $C_{19}H_{24}N_2O_2$ của praziquantel chuẩn.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc trị giun sán.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN PRAZIQUANTEL
Tabellae Praziquanteli

Là viên nén chứa praziquantel.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng praziquantel, $C_{19}H_{24}N_2O_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Dung dịch chế phẩm trong phần thử độ hòa tan phải có phổ hấp thụ tử ngoại tương ứng với phổ của dung dịch praziquantel chuẩn và phải có một cực đại hấp thụ tại bước sóng 263 nm ± 1 nm.
B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic praziquantel trong sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* có chứa 2 mg *natri lauryl sulfat (TT)* trong 1 ml.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 60 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu, pha loãng dịch lọc thu được tới nồng độ thích hợp với môi trường hòa tan (nếu cần). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 263 nm ± 1 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. So sánh với dung dịch praziquantel chuẩn 0,06 % trong môi trường hòa tan. Tính lượng praziquantel, $C_{19}H_{24}N_2O_2$, hòa tan dựa vào các độ hấp thụ đo được và nồng độ $C_{19}H_{24}N_2O_2$ trong dung dịch chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng praziquantel so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - nước (60 : 40), điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng chính xác praziquantel chuẩn trong pha động để được dung dịch có nồng độ 0,18 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,15 g praziquantel cho vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml pha động, lắc siêu âm 5 min, thêm pha động đến định mức, lắc đều. Lọc. Pha loãng 3,0 ml dịch lọc thu được thành 25 ml bằng pha động, lắc đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.

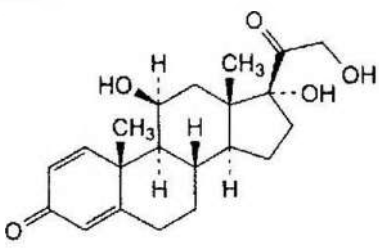
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng không được lớn hơn 1,5 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic trên sắc ký đồ của các lần tiêm lặp lại không lớn hơn 1,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng praziquantel, $C_{19}H_{24}N_2O_2$, trong viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{19}H_{24}N_2O_2$ của praziquantel chuẩn.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, ở nhiệt độ dưới 30 °C.

Loại thuốc
Thuốc trị giun sán.

Hàm lượng thường dùng
600 mg.

PREDNISOLON
Prednisolonum



$C_{21}H_{28}O_5$ P.t.l: 360,4

Prednisolon là 11β,17,21-trihydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion, phải chứa từ 96,5 % đến 102,0 % $C_{21}H_{28}O_5$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, đa hình, dễ hút ẩm. Rất khó tan trong nước, tan trong ethanol 96 % và methanol, hơi tan trong aceton và khó tan trong methylen clorid.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của prednisolon chuẩn. Nếu phổ hồng ngoại của chế phẩm và chuẩn khác nhau thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và chuẩn trong *aceton (TT)*, bốc hơi trên cách thủy đến khô và ghi lại phổ hồng ngoại của các cắn mới thu được.
B. Trong phần Định lượng: Pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải có thời gian lưu và diện tích pic tương tự với pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4).

Góc quay cực riêng
Từ +113° đến +119°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tiến hành tránh ánh sáng.
Pha động A: Nước.
Pha động B: Acetonitril - methanol (50 : 50).
Hỗn hợp dung môi: Acetonitril - nước (40 : 60).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 10 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg prednisolon chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa tạp chất A, B và C) trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg prednisolon chuẩn dùng để định tính pic (chứa tạp chất F và J) trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 25,0 mg prednisolon chuẩn trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (3 µm).
Nhiệt độ cột: 40 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 14	60	40
14 - 20	60 → 20	40 → 80
20 - 25	20	80

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1), (2) và (3).
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo prednisolon chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) để xác định pic của tạp chất A, B và C. Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo prednisolon chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất F và J.
Thời gian lưu tương đối so với prednisolon (thời gian lưu khoảng 12 min): Tạp chất F khoảng 0,7; tạp chất B khoảng 0,9; tạp chất A khoảng 1,05; tạp chất J khoảng 1,5; tạp chất C khoảng 1,7.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), tỷ số đỉnh - hõm (H_p/H_v) ít nhất là 3; trong đó H_p là chiều cao đỉnh pic tạp chất A so với đường nền và H_v là chiều cao tính từ đường nền lên đến đáy hõm giữa pic tạp chất A và pic prednisolon.

Giới hạn:

Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 10 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1,0 %).

Tạp chất F: Diện tích pic tạp chất F không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,5 %).

Tạp chất B, C, J: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,3 %).

Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,10 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 15 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1,5 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: 11β,17,21-trihydroxypregn-4-en-3,20-dion (hydrocortison).

Tạp chất B: 17,21-dihydroxypregna-1,4-dien-3,11,20-trion (prednison).

Tạp chất C: 11β,17-dihydroxy-3,20-dioxopregna-1,4-dien-21-yl acetat (prednisolon acetat).

Tạp chất D: 6β,11β,17,21-tetrahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion (6β- hydroxyprednisolon).

Tạp chất E: 11β,14α,17,21-tetrahydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion (14α- hydroxyprednisolon).

Tạp chất F: 11α,17,21-trihydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion (11-*epi*-prednisolon).

Tạp chất G: 11β,17,20β,21-tetrahydroxypregna-1,4-dien-3-on (20β-hydroxyprednisolon).

Tạp chất H: 11β,17,21-trihydroxypregna-1,4,6-trien-3,20-dion (Δ^6-prednisolon).

Tạp chất I: 11β,21-dihydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion (17 -deoxyprednisolon).

Tạp chất J: 17,21-dihydroxypregna-1,4-dien-3,20-dion (11 - deoxyprednisolon).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(0,500 g; 105 °C).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.

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

Tính hàm lượng phần trăm của $C_{21}H_{28}O_5$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (4) và hàm lượng của $C_{21}H_{28}O_5$ trong prednisolon chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Corticosteroid.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN PREDNISOLON

Tabellae Prednisoloni

Là viên nén chứa prednisolon.

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

Hàm lượng của prednisolon, $C_{21}H_{28}O_5$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

A. Lắc một lượng bột viên với *aceton (TT)*, lọc và bay hơi dịch lọc đến khô. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được phải phù hợp với phổ đối chiếu của prednisolon.

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

Bản mỏng: Kieselguhr G được xử lý bằng cách đặt bản mỏng khô vào bình có chứa hỗn hợp *formamid - aceton* (1 : 9). Để dung môi chạy hết chiều dài bản mỏng, lấy bản mỏng ra và để bay hơi hết dung môi. Sử dụng bản mỏng trong vòng 2 h.

Dung môi khai triển: Cloroform.

Dung môi hòa tan: Cloroform - methanol (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 25 mg cắn thu được ở phép thử A hòa tan trong 10 ml dung môi hòa tan.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg prednisolon chuẩn trong 10 ml dung môi hòa tan.

Dung dịch đối chiếu (2): Hỗn hợp đồng thể tích dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cùng chiều chạy dung môi như khi xử lý bản mỏng đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí và sấy bản mỏng 15 min ở 120 °C, phun lên bản mỏng nóng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT)*. Sấy tiếp bản mỏng ở 120 °C thêm 10 min. Để nguội. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày và ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương tự về vị trí, màu sắc dưới ánh sáng ban ngày, huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại ở 365 nm, và kích thước với vết chính thu được từ dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) chỉ cho 1 vết.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Trong bình định mức 1000 ml, trộn 220 ml *tetrahydrofuran (TT)* với 700 ml *nước*, trộn đều cẩn thận

và để cho cân bằng. Pha loãng thành 1000,0 ml bằng *nước* và trộn đều.
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng 10 mg prednisolon với 25 ml *methanol (TT)* trong 10 min và lắc siêu âm trong 2 min. Lọc và rửa phễu lọc 2 lần, mỗi lần bằng 10 ml *methanol (TT)*. Tập trung dịch lọc và dịch rửa, bốc hơi đến khô bằng cất quay trong cách thủy ấm. Hòa tan cắn thu được trong 10 ml *tetrahydrofuran (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng dung dịch *tetrahydrofuran (TT)* 50 % (tt/tt).
Dung dịch phân giải: Hòa tan 2 mg prednisolon chuẩn và 2 mg hydrocortison chuẩn trong pha động để được 100,0 ml.
Mẫu trắng: Dung dịch *tetrahydrofuran (TT)* 50 % (tt/tt).
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm), Cột Alltima C18 là thích hợp.
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 254 nm.
Nhiệt độ cột: 45 °C.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Cân bằng cột bằng pha động khoảng 30 min.
Tiêm dung dịch phân giải. Khi sắc ký đồ ghi được trong điều kiện trên thì thời gian lưu của prednisolon khoảng 14 min và của hydrocortison khoảng 15,5 min. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic prednisolon và pic hydrocortison ít nhất là 2,2. Nếu cần thiết, có thể điều chỉnh tỉ lệ của tetrahydrofuran trong pha động.
Tiêm lần lượt theo thứ tự mẫu trắng, dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. Tiến hành sắc ký trong khoảng thời gian gấp 4,5 lần thời gian lưu của pic chính.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào ngoài pic chính không được lớn hơn diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (1 %). Tổng diện tích của các pic phụ không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (3 %). Bỏ qua các pic phụ có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu và các pic có thời gian lưu là 3 min hoặc nhỏ hơn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc.
Tiến hành xác định lượng prednisolon hòa tan bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, điều kiện sắc ký như mô tả ở phần Định lượng.
So sánh với dung dịch chuẩn prednisolon pha trong *nước* có nồng độ tương đương, có thể dùng một lượng nhỏ *methanol (TT)* (không quá 5 % thể tích) để hòa tan chuẩn trước khi hòa loãng với *nước*.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng prednisolon, $C_{21}H_{28}O_5$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

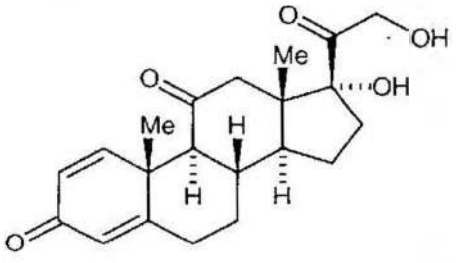
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - nước (58 : 42).
Dung dịch chuẩn: Dung dịch chứa 0,005 % prednisolon chuẩn và 0,0075 % dexamethason chuẩn (nội chuẩn) trong hỗn hợp *methanol - nước* (58 : 42).
Dung dịch thử (1): Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 5 mg prednisolon vào bình định mức 100 ml, thêm 58 ml *methanol (TT)* lắc trong 10 min, thêm *nước* đến định mức, lắc đều, lọc.
Dung dịch thử (2): Tiến hành như dung dịch thử (1) nhưng thêm 10 ml dung dịch dexamethason 0,075 % trong *methanol (TT)* (nội chuẩn) và 48 ml *methanol (TT)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (20 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ phân giải giữa hai pic prednisolon và dexamethason phải lớn hơn 2,5. Số đĩa lý thuyết tính trên pic prednisolon, phải lớn hơn 15000/m.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và các dung dịch thử.
Tính hàm lượng prednisolon, $C_{21}H_{28}O_5$, có trong viên dựa vào tỷ lệ diện tích pic prednisolon và dexamethason thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử (2) và hàm lượng $C_{21}H_{28}O_5$ của prednisolon chuẩn.

Bảo quản
Trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Corticosteroid.

Hàm lượng thường dùng
5 mg.

PREDNISON
Prednisonum



$C_{21}H_{26}O_5$ P.t.l: 358,4

Prednison là 17,21-dihydroxypregna-1,4-dien-3,11,20-trion; phải chứa từ 97,0 % đến 103,0 % $C_{21}H_{26}O_5$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh đa hình, trắng hay gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 % và methylen clorid.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: C, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của prednison chuẩn. Nếu hai phổ có sự khác nhau thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và chất chuẩn trong thể tích tối thiểu *aceton (TT)*, bốc hơi dung môi trên cách thủy đến khô, lấy các cắn ghi phổ lại.

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Nước - methanol - ether - methylen clorid (1,2 : 8 : 15 : 77).

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (1 : 9) và pha loãng thành 10 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg prednison chuẩn trong hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (1 : 9) và pha loãng thành 20 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg betamethason chuẩn trong dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí và kích thước với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT)*, sấy ở nhiệt độ 120 °C trong 10 min hay đến khi xuất hiện vết, để nguội và quan sát dưới ánh sáng thường và tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc dưới ánh sáng thường, huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại và kích thước với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (2) cho hai vết tách rõ ràng.

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Nước - methanol - ether - methylen clorid (1,2 : 8 : 15 : 77).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 25 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml bằng cùng dung môi (dung dịch A). Pha loãng 2 ml dung dịch A thành 10 ml bằng *methylen clorid (TT)*.

Dung dịch thử (2): Lấy 0,4 ml dung dịch A cho vào một ống thủy tinh (100 mm × 20 mm) có nút mài hay có nắp polytetrafluoroethylen và làm bay hơi dung môi bằng cách đun nóng nhẹ dưới luồng khí nitrogen. Thêm 2 ml *dung dịch acid acetic 15 %* (tt/tt) và 50 mg *natri bismuthat (TT)*. Đậy nút ống và lắc hỗn dịch bằng máy lắc cơ học 1 h trong điều kiện tránh ánh sáng. Thêm tiếp 2 ml *dung dịch acid acetic 15 %* (tt/tt) và lọc vào bình gạn 50 ml, rửa phễu lọc hai lần, mỗi lần với 5 ml *nước*. Lắc dịch lọc trong với 10 ml *methylen clorid (TT)*. Rửa lớp dung môi hữu cơ với 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, sau đó bằng *nước* hai lần, mỗi lần với 5 ml. Loại nước bằng *natri sulfat khan (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg prednison chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml bằng cùng dung môi (dung dịch B). Pha loãng 2 ml dung dịch B thành 10 ml bằng *methylen clorid (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (2): Chuẩn bị giống dung dịch thử (2) nhưng thay 0,4 ml dung dịch A bằng 0,4 ml dung dịch B.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (1); 50 µl dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (2), chấm hai dung dịch cuối từng lượng nhỏ một để được những vết nhỏ. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của các dung dịch thử phải giống về vị trí và kích thước với vết trên sắc ký đồ của các dung dịch đối chiếu tương ứng. Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT)*, sấy ở nhiệt độ 120 °C trong 10 min hay đến khi xuất hiện vết, để nguội và quan sát dưới ánh sáng thường và tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của các dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc dưới ánh sáng thường, huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại và kích thước với vết trên sắc ký đồ của các dung dịch đối chiếu tương ứng. Các vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (2) có R_f cao hơn hẳn R_f của các vết trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (1).

D. Cho khoảng 2 mg chế phẩm vào 2 ml *acid sulfuric (TT)* và lắc để hòa tan. Trong vòng 5 min, màu vàng xuất hiện cùng với huỳnh quang xanh lam dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Đổ dung dịch này vào 10 ml *nước* và lắc đều, màu bị nhạt dần nhưng huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại không bị mất đi.

Góc quay cực riêng

Từ +167° đến +175°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,125 g chế phẩm trong *dioxan (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi để đo.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Trong bình định mức 1000 ml, trộn 100 ml *acetonitril (TT)* với 200 ml *methanol (TT)* và 650 ml *nước*, để yên cho cân bằng, thêm *nước* đến vạch và lắc đều.

Pha động B: Acetonitril (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml bằng cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *methanol (TT).*
Dung dịch phân giải: Hòa tan 2 mg prednison chuẩn và 2 mg prednisolon chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột: 45 °C.
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 2,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Ghi chú
0	100	0	Đẳng dòng.
25	100	0	Bắt đầu gradient tuyến tính.
40	40	60	Kết thúc sắc ký, chuyển sang 100 B.
41	0	100	Bắt đầu chạy với B.
46	0	100	Kết thúc chạy với B, quay lại chạy 100 A.
47	100	0	Bắt đầu cân bằng cột với A.
52 = 0	100	0	Kết thúc cân bằng cột, bắt đầu mũi tiêm tiếp theo.

Cân bằng cột ít nhất 30 min với pha động B, sau đó 5 min với pha động A. Để tiến hành mũi tiêm tiếp theo dùng điều kiện đã ghi trong bảng trên từ phút 40,0 đến phút 52,0. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu không dưới 50 % thang đo.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, thời gian lưu của pic prednison khoảng 19 min và của pic prednisolon khoảng 23 min. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic prednison và pic prednisolon ít nhất là 2,7. Nếu cần điều chỉnh nồng độ acetonitril trong pha động A.
Tiêm mẫu trắng là *methanol (TT),* dung dịch thử và dung dịch đối chiếu.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:
Diện tích của bất kỳ vết phụ nào ngoài vết chính không được lớn hơn 0,25 lần diện tích của pic chính của dung dịch đối chiếu (0,25 %).
Tổng diện tích của các pic phụ không được lớn hơn 0,75 lần diện tích của pic chính của dung dịch đối chiếu (0,75 %).
Bỏ qua các pic ứng với pic của mẫu trắng và pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích của pic chính của dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(0,500 g; 100 °C đến 105 °C).

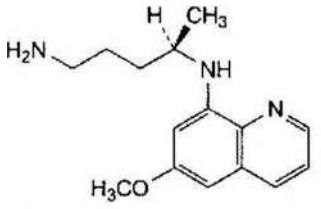
Định lượng
Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *ethanol 96 % (TT).* Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 238 nm.
Tính hàm lượng $C_{21}H_{26}O_5$ theo A (1 %, 1 cm), lấy 425 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở 238 nm.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Corticosteroid.

Chế phẩm
Viên nén.

PRIMAQUIN DIPHOSPHAT
Primaquini diphosphas



và đồng phân đối quang . 2 H_3PO_4

$C_{15}H_{21}N_3O.2H_3PO_4$ P.t.l: 455,3

Primaquin diphosphat là (4*RS*)-N^4-(6-methoxyquinolin-8-yl)pentan-1,4-diamin bisphosphat, phải chứa từ 98,5 % đến 101,5 % $C_{15}H_{21}N_3O.2H_3PO_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu da cam. Tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %.
Chảy ở khoảng 200 °C kèm theo phân hủy.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của primaquin diphosphat chuẩn. Chuẩn bị mẫu đo dạng đĩa nén.
Hòa tan riêng biệt 0,1 g chế phẩm và 0,1 g chất chuẩn trong 5 ml *nước,* thêm 2 ml *dung dịch amoniac 2 M (TT),*

5 ml *methylen clorid (TT)* và lắc. Làm khan lớp *methylen clorid* bằng 0,5 g *natri sulfat khan (TT)*. Chuẩn bị mẫu trắng dùng 0,3 g *kali bromid (TT)*. Nhỏ từng giọt một 0,1 ml lớp methylen clorid lên đĩa, để methylen clorid bốc hơi hết giữa các lần nhỏ, rồi làm khô đĩa ở 50 °C trong 2 min.

B. Phương pháp đo quang phổ hấp thụ UV-VIS (Phụ lục 4.1).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 15 mg chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử (1) thành 50,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*.

Phổ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thử (1) trong khoảng bước sóng từ 310 nm đến 450 nm phải cho 2 cực đại hấp thụ ở 332 nm và 415 nm. Độ hấp thụ riêng ở các cực đại này lần lượt là từ 45 đến 52 và từ 27 đến 35.

Phổ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thử (2) trong khoảng bước sóng từ 215 nm đến 310 nm phải cho 3 cực đại hấp thụ ở 225 nm, 265 nm và 282 nm. Độ hấp thụ riêng ở các cực đại này lần lượt là từ 495 đến 515, từ 335 đến 350 và từ 330 đến 345.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4). Tiến hành càng nhanh càng tốt trong điều kiện tránh ánh sáng. Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.

Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.

Dung môi khai triển: *Amoniac đậm đặc - methanol - methylen clorid* (1 : 40 : 60).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong 5 ml *nước* và pha loãng thành 10 ml bằng *methanol (TT)*. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng hỗn hợp đồng thể tích của *methanol (TT)* và *nước*.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20 mg primaquin diphosphat chuẩn trong 5 ml *nước* và pha loãng thành 10 ml bằng *methanol (TT)*.

Cách tiến hành: Rửa bản mỏng trước bằng dung môi khai triển. Để bản mỏng khô ngoài không khí. Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên và triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và kích thước so với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

D. Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 5 ml *nước*, thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* và chiết 2 lần, mỗi lần với 5 ml *methylen clorid (TT)*. Lớp nước, sau khi đã acid hóa bằng *acid nitric (TT)*, phải cho phản ứng (B) của phosphat (Phụ lục 8.1).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Amoniac đậm đặc - methanol - hexan - methylen clorid* (0,1 : 10 : 45 : 45).

Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi. Thêm 0,2 ml *amoniac đậm đặc (TT)* vào 1,0 ml dung dịch thu được và lắc với 10,0 ml pha động. Dùng lớp dịch trong ở phía dưới.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50 mg primaquin diphosphat chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi. Thêm 0,2 ml *amoniac đậm đặc (TT)* vào 1,0 ml dung dịch thu được và lắc với 10,0 ml pha động. Dùng lớp dịch trong ở phía dưới.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 3,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 10,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (20 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *silica gel dùng cho sắc ký* (10 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 261 nm.

Tốc độ dòng: 3,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian ít nhất gấp 2 lần thời gian lưu của primaquin.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), pic ngay trước pic chính có diện tích pic bằng khoảng 6 % so với diện tích pic chính; độ phân giải giữa pic ở ngay trước pic chính và pic chính ít nhất là 2,0. Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), tỉ số tín hiệu trên nhiễu ít nhất là 5 đối với pic chính.

Giới hạn:

Tổng diện tích pic của tất cả các pic tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (3,0 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,2 %).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 105 °C).

Định lượng

Hòa tan 0,2000 g chế phẩm trong 40 ml *acid acetic khan (TT)* bằng cách đun nóng nhẹ. Để nguội và chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). 1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 22,77 mg $C_{15}H_{21}N_3O.2H_3PO_4$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Chống sốt rét.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN PRIMAQUIN DIPHOSPHAT

Tabellae Primaquini diphosphas

Là viên nén chứa primaquin diphosphat.

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

Hàm lượng primaquin diphosphat, $C_{15}H_{21}N_3O.2H_3PO_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

A. Lắc kỹ một lượng bột viên tương ứng với 10 mg primaquin diphosphat với 5 ml *nước*, lọc. Thêm vào dịch lọc thu được 1 ml dung dịch *ceri amoni sulfat 5 % trong acid nitric loãng*, dung dịch có màu tím đậm.

B. Lắc kỹ một lượng bột viên tương ứng với 50 mg primaquin diphosphat với 5 ml *nước*, lọc. Thêm vào dịch lọc thu được 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, lọc. Trung tính hóa dịch lọc bằng *dung dịch acid nitric loãng (TT)*, dung dịch thu được cho phản ứng đặc trưng của phosphat (Phụ lục 8.1).

C. Lắc kỹ một lượng bột viên với *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ primaquin diphosphat khoảng 15 µg/ml, lọc. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dịch lọc thu được phải có cực đại hấp thụ ở bước sóng 265 nm và 282 nm.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 60 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu; pha loãng với môi trường hòa tan (nếu cần). Xác định hàm lượng primaquin diphosphat được hòa tan bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). So sánh với dung dịch primaquin diphosphat chuẩn có nồng độ tương đương pha trong môi trường hòa tan.

Pha động: Methanol - dung dịch natri pentansulfonat (có thể điều chỉnh tỷ lệ cho thích hợp).

Dung dịch natri pentansulfonat: Hòa tan 961 mg *natri pentansulfonat (TT)* và 1 ml *acid acetic băng (TT)* vào 400 ml *nước*, trộn đều, lọc.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (30 cm × 3,9 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic trên sắc ký đồ từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 3,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Tính hàm lượng primaquin diphosphat, $C_{15}H_{21}N_3O.2H_3PO_4$, được hòa tan trong mỗi viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{15}H_{21}N_3O.2H_3PO_4$ của primaquin diphosphat chuẩn.

Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng primaquin diphosphat so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 min.

Định lượng

Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,2 g primaquin diphosphat vào một cốc có mỏ, thêm 50 ml *nước* và khoảng 5 ml *acid hydrocloric (TT)*. Tiến hành chuẩn độ bằng *dung dịch natri nitrit 0,05 M (CĐ)* theo Phương pháp chuẩn độ bằng nitrit (Phụ lục 10.4).

1 ml *dung dịch natri nitrit 0,05 M (CĐ)* tương đương với 22,77 mg $C_{15}H_{21}N_3O.2H_3PO_4$.

Bảo quản

Trong bao bì kín tránh ánh sáng, để nơi khô mát.

Loại thuốc

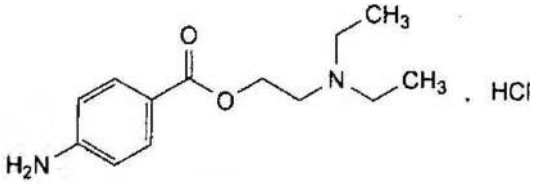
Chống sốt rét.

Hàm lượng thường dùng

13,2 mg primaquin diphosphat (tương ứng với 7,5 mg primaquin base).

PROCAIN HYDROCLORID

Procaini hydrochloridum



$C_{13}H_{20}N_2O_2.HCl$ P.t.l: 272,8

Procain hydroclorid là 2-(diethylamino)ethyl-4-amino benzoat hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{13}H_{20}N_2O_2.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Tinh thể không màu hay bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng. Rất tan trong nước, tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B, E.

Nhóm II: B, C, D, E, F.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của procain hydroclorid chuẩn.

B. Điểm chảy từ 154 °C đến 158 °C (Phụ lục 6.7).

C. Thêm 0,5 ml *acid nitric bốc khói (TT)* vào 5 mg chế phẩm, bốc hơi tới khô trên cách thủy. Để nguội rồi hòa tan cặn trong 5 ml *aceton (TT)*, thêm 1 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,1 M trong ethanol (TT)*. Chỉ có màu đỏ nâu xuất hiện.

D. Thêm 2 ml *nước*, 0,5 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* vào 0,2 ml dung dịch S (xem Độ trong và màu sắc của dung dịch), lắc đều và thêm 1 ml dung dịch *kali permanganat (TT)* 0,1 %. Màu biến mất ngay.

E. Chế phẩm cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).
F. Pha loãng 1 ml dung dịch S thành 100 ml bằng *nước*. 2 ml dung dịch thu được cho phản ứng đặc trưng của amin thơm bậc nhất (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 50 ml bằng cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Từ 5,0 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).
Pha loãng 4 ml dung dịch S thành 10 ml bằng *nước không có carbon dioxyd (TT)*.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi khai triển: *Acid acetic băng - hexan - dibutyl ether* (4 : 16 : 80).
Dung dịch thử: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10 ml bằng cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50 mg *acid 4-aminobenzoic (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 100 ml bằng cùng dung môi. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng *nước*.
Cách tiến hành: Chấm riêng rẽ lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm, lấy bản mỏng ra và sấy khô ở 100 °C đến 105 °C trong 10 min. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (0,05 %). Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử nằm trên đường xuất phát.

Kim loại nặng
Không được quá 5 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi, lọc. Lấy 10 ml dịch lọc tiến hành theo phương pháp 5. Dùng 5 ml *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,00 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong 50 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*, thêm 3 g *kali bromid (TT)*. Làm lạnh trong nước đá và chuẩn độ chậm bằng *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo ampe (Phụ lục 10.1).
1 ml *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)* tương đương với 27,28 mg $C_{13}H_{20}N_2O_2$.HCl.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Gây tê tại chỗ.

Chế phẩm
Thuốc tiêm.

THUỐC TIÊM PROCAIN HYDROCLORID
Injectio Procaini hydrochloridi

Là dung dịch vô khuẩn của procain hydroclorid trong nước để pha thuốc tiêm.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng procain hydroclorid, $C_{13}H_{20}N_2O_2$.HCl, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu.

Định tính
A. Bay hơi đến khô một thể tích chế phẩm tương đương với 30 mg procain hydroclorid trên cách thủy. Tiếp tục làm khô cắn trong bình hút ẩm với silica gel trong 18 h. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của procain hydroclorid chuẩn.
B. Hòa tan 10 mg cắn thu được ở mục A trong 1 ml *nước*, thêm 1 giọt *acid hydrocloric (TT)* và 1 giọt *dung dịch natri nitrit 10 % (TT)*, sau 1 min đến 2 min thêm 1 ml *dung dịch 2-naphtol trong kiềm (TT)*, lắc đều, sẽ có tủa màu đỏ.
C. Chế phẩm phải cho phản ứng của clorid (Phụ lục 8.1).

pH
Từ 3,0 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).

Acid 4-aminobenzoic
Không được quá 1,2 %.
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel H* và *natri carboxymethylcellulose*.
Dung môi khai triển: *Benzen - acid acetic băng - aceton - methanol* (14 : 1 : 1 : 4).
Dung dịch thử: Pha loãng chế phẩm trong *ethanol (TT)* để được dung dịch có chứa 2,5 mg procain hydroclorid trong 1 ml.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch *acid 4-aminobenzoic (TT)* trong *ethanol (TT)* chứa 30 µg trong 1 ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng để khô ngoài không khí và phun *dung dịch*

p-dimethylamino benzaldehyd (hỗn hợp của 100 ml *dung dịch p-dimethylamino benzaldehyd 2 % trong ethanol (TT)* và 5 ml *acid acetic băng (TT)*). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, vết tương ứng với acid 4-aminobenzoic không được đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

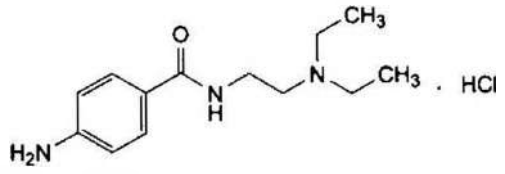
Định lượng
Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương đương với 0,2 g procain hydroclorid, thêm 50 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*, 3 g *kali bromid (TT)*. Làm lạnh trong nước đá đến nhiệt độ khoảng 10 °C đến 15 °C. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri nitrit 0,05 M (CĐ)* (Phụ lục 10.4). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch natri nitrit 0,05 M (CĐ)* tương đương với 13,64 mg $C_{13}H_{20}N_2O_2$.HCl.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Gây tê tại chỗ, gây tê cột sống.

Hàm lượng thường dùng
1 %, 2 %, 5 %.

PROCAINAMID HYDROCLORID
Procainamidi hydrochloridum



$C_{13}H_{21}N_3O$. HCl P.t.l: 271,8

Procainamid hydroclorid là 4-amino-*N*-[2-(diethyl-amino) ethyl]-benzamid hydroclorid, phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $C_{13}H_{21}N_3O$.HCl, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hay vàng rất nhạt, dễ hút ẩm.
Rất tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %, khó tan trong aceton, thực tế không tan trong ether.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của procainamid hydroclorid chuẩn.
B. Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được từ bước sóng 220 nm đến 350 nm cho một cực đại hấp thụ ở bước sóng 273 nm. A (1 %, 1 cm) ở bước sóng cực đại phải từ 580 đến 610.
C. Điểm chảy: 166 °C đến 170 °C (Phụ lục 6.7).
D. Pha loãng 1 ml dung dịch S thành 5 ml bằng *nước*. Dung dịch thu được cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).
E. Pha loãng 1 ml dung dịch S thành 2 ml bằng *nước*. 1 ml dung dịch thu được cho phản ứng của amin thơm bậc nhất (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn màu mẫu N_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Dung dịch S phải có pH từ 5,6 đến 6,3 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan
Không được quá 0,5 %.
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi khai triển: *Acid acetic băng - nước - butanol* (15 : 30 : 60).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 200 ml bằng *ethanol 96 % (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 12 cm. Để khô bản mỏng trong luồng không khí lạnh. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ, bất kỳ vết phụ nào của dung dịch thử cũng không được đậm màu hơn vết của dung dịch đối chiếu.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm và tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 50 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*, thêm 3 g *kali bromid (TT)*, làm lạnh

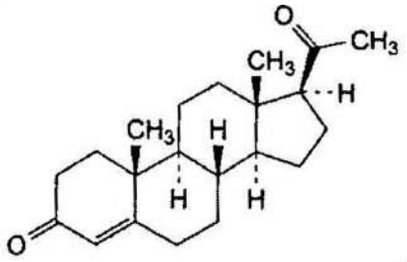
trong nước đá và chuẩn độ chậm bằng *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo ampe (Phụ lục 10.1).
1 ml *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)* tương đương với 27,18 mg $C_{13}H_{21}N_3O.HCl$.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống loạn nhịp tim.

Chế phẩm
Thuốc tiêm, viên nén.

PROGESTERON
Progesteronum



$C_{21}H_{30}O_2$ P.t.l: 314,5

Progesteron là pregn-4-en-3,20-dion, phải chứa từ 97,0 % đến 103,0 % $C_{21}H_{30}O_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Tinh thể không màu hay bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, đa hình.
Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong ethanol, hơi tan trong aceton và dầu béo.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của progesteron chuẩn. Nếu phổ hồng ngoại ở trạng thái rắn của chế phẩm và chuẩn khác nhau thì hòa tan riêng rẽ chế phẩm và progesteron chuẩn trong *ethanol (TT)*, bốc hơi đến khô và ghi lại phổ hồng ngoại của các cắn mới thu được.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Ethyl acetat - methylen clorid (33 : 66).
Hỗn hợp dung môi: Methylen clorid - methanol (9 : 1).
Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg progesteron chuẩn trong hỗn hợp dung môi tan và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 3/4 chiều dài bản mỏng, để bản mỏng khô ngoài không khí rồi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương tự về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric trong ethanol (TT)*, sấy ở 120 °C trong 15 min, để nguội rồi quan sát dưới dưới ánh sáng ban ngày và ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương tự về vị trí và kích thước dưới ánh sáng ban ngày và huỳnh quang dưới ánh sáng tử ngoại 365 nm khi so với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Góc quay cực riêng
Từ +186° đến +194°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *ethanol (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Nước.
Pha động B: Acetonitril (TT).
Dung dịch thử: Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2,0 mg progesteron chuẩn và 2,0 mg tạp chất C chuẩn của progesteron trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *methanol (TT)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel hình cầu dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 241 nm.
Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 20	50	50
20 - 27	50 → 20	50 → 80
27 - 45	20	80
45 - 50	50	50

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất C và pic của progesteron ít nhất là 1,5.
Giới hạn:
Tạp chất bất kỳ: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 0,8 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,8 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: Pregna-4,14-dien-3,20-dion.

Tạp chất B: (20*S*)-20-hydroxypregn-4-en-3-on.

Tạp chất C: (20*R*)-20-hydroxypregn-4-en-3-on.

Tạp chất D: (20*S*)-3-oxopregn-4-en-20-yl acetat.

Tạp chất E: (20*R*)-3-oxopregn-4-en-20-yl acetat.

Tạp chất F: 21-(cyclohex-1-enyl)pregn-4-en-3,20-dion.

Tạp chất G: 21-(cyclohexyliden)pregn-4-en-3,20-dion.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(0,500 g; 105 °C; 2 h).

Định lượng

Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 250,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng *ethanol 96 % (TT)*. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 241 nm.

Tính hàm lượng $C_{21}H_{30}O_2$ trong chế phẩm theo giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 241 nm là 535.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Hormon sinh dục nữ progestin.

Chế phẩm

Thuốc tiêm dạng dầu để tiêm bắp, nang mềm, gel bôi âm đạo.

NANG MỀM PROGESTERON

Molles capsulae Progesteroni

Là nang mềm chứa progesteron.

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

Hàm lượng progesteron, $C_{21}H_{30}O_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

Chèn một miếng bông thủy tinh vào đáy của cột sắc ký có chiều dài khoảng 20 cm và đường kính khoảng 2,5 cm. Trộn đều 8 ml *nitromethan (TT)* với khoảng 7 g *silica gel dùng cho sắc ký cột* trong một cốc có mỏ 150 ml cho đến khi đồng nhất, chuyển khối silica gel này vào trong cột sắc ký, dùng một đũa thủy tinh thích hợp gõ nhẹ để nén khối silica gel. Đặt một miếng bông thủy tinh lên trên bề mặt khối silica gel. Hòa tan một lượng dịch chứa trong nang với *n-heptan (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ progesteron khoảng 1 mg/ml. Chuyển 4 ml dung dịch trên vào cột sắc ký đã nhồi, rót từ từ 300 ml *n-heptan (TT)* qua cột, loại bỏ khoảng 120 ml dịch sắc ký ban đầu. Tập trung dịch sắc ký còn lại vào trong một cốc có mỏ 250 ml. Bốc hơi dung môi dưới dòng khí nitrogen trên nồi cách thủy đến khi còn khoảng 50 ml, chuyển dung dịch còn lại vào cốc có mỏ 100 ml và bốc hơi dung môi đến khô. Loại bỏ hoàn toàn vết n-heptan bằng cách thêm 1 ml *methanol (TT)* và bốc hơi đến khô. Để khô cắn trong bình hút ẩm chứa silica gel trong 4 h.

Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của progesteron chuẩn được điều chế như trên.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Ethanol 96 % - nước* (11 : 9).

Dung dịch thử. Cân chính xác một lượng thuốc trong nang tương đương khoảng 100 mg progesteron vào bình định mức 100 ml, thêm 20 ml *tetrahydrofuran (TT)* để hòa tan, thêm *ethanol 96 % (TT)* đến định mức. Hút chính xác 8,0 ml dung dịch trên vào bình định mức 100 ml và pha loãng bằng *ethanol 96 % (TT)* đến định mức, lắc đều.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg progesteron chuẩn vào bình định mức 50 ml, thêm 10 ml *tetrahydrofuran (TT)* để hòa tan, thêm *ethanol 96 % (TT)* đến vạch. Hút chính xác 8,0 ml dung dịch trên vào bình định mức 100 ml và pha loãng bằng *ethanol 96 % (TT)* đến định mức, lắc đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống:

Tiến hành sắc ký với dimethyl sulfoxid và xác định thời gian lưu t_o của pic chất không lưu giữ này. Tiến hành sắc ký dung dịch chuẩn và ghi lại sắc ký đồ. Thừa số dung lượng k' đối với progesteron không được ít hơn 2,0, hệ số đối xứng không được lớn hơn 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic đáp ứng từ các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %

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

Tính hàm lượng progesteron, $C_{21}H_{30}O_2$, trong nang dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{21}H_{30}O_2$ của progesteron chuẩn.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Hormon progestin.

Hàm lượng thường dùng

100 mg, 200 mg.

THUỐC TIÊM PROGESTERON
Injectio Progesteroni

Thuốc tiêm progesteron là dung dịch vô khuẩn của progesteron trong dung môi thích hợp.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng progesteron, $C_{21}H_{30}O_2$, phải đạt từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu.

Định tính
Chèn một miếng bông thủy tinh vào đáy của cột sắc ký có chiều dài khoảng 20 cm và đường kính khoảng 2,5 cm. Trộn đều 8 ml *nitromethan (TT)* với khoảng 7 g silica gel dùng cho sắc ký cột trong một cốc có mỏ 150 ml cho đến khi đồng nhất, chuyển khối silica gel này vào trong cột sắc ký, dùng một đũa thủy tinh thích hợp gõ nhẹ để nén khối silica gel. Đặt một miếng bông thủy tinh lên trên bề mặt khối silica gel. Pha loãng một lượng dung dịch chế phẩm với *n-heptan (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ progesteron khoảng 1 mg/ml. Chuyển 4 ml dung dịch trên vào cột sắc ký đã nhồi, rót từ từ 300 ml *n-heptan (TT)* qua cột, loại bỏ khoảng 120 ml dịch sắc ký ban đầu. Tập trung dịch sắc ký còn lại vào trong một cốc có mỏ 250 ml. Bốc hơi dung môi dưới dòng khí nitrogen trên nồi cách thủy đến khi còn khoảng 50 ml, chuyển dung dịch còn lại vào cốc có mỏ 100 ml và bốc hơi dung môi đến khô. Loại bỏ hoàn toàn vết n-heptan bằng cách thêm 1 ml *methanol (TT)* và bốc hơi đến khô. Để khô cắn trong bình hút ẩm chứa silica gel trong 4 h.
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của progesteron chuẩn được điều chế như trên.

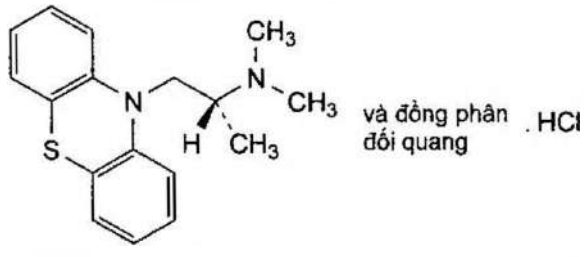
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)
Pha động: *Ethanol 96 % - nước* (11 : 9).
Dung dịch thử: Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương đương khoảng 100 mg progesteron vào bình định mức 100 ml, thêm 20 ml *tetrahydrofuran (TT)* để hòa tan, thêm *ethanol 96 % (TT)* đến định mức. Hút chính xác 8,0 ml dung dịch trên vào bình định mức 100 ml và pha loãng bằng *ethanol 96 % (TT)* đến định mức, lắc đều.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg progesteron chuẩn vào bình định mức 50 ml, thêm 10 ml *tetrahydrofuran (TT)* để hòa tan, thêm *ethanol 96 % (TT)* đến định mức, trộn đều. Hút chính xác 8,0 ml dung dịch trên vào bình định mức 100 ml và pha loãng bằng *ethanol 96% (TT)* đến định mức, trộn đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột: 40 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dimethyl sulfoxid và xác định thời gian lưu t_o của pic chất không lưu giữ này. Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn và ghi lại pic đáp ứng. Thừa số dung lượng k' đối với progesteron không được ít hơn 2,0, hệ số đối xứng không được lớn hơn 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic đáp ứng từ các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng progesteron, $C_{21}H_{30}O_2$, dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{21}H_{30}O_2$ của progesteron chuẩn.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Hormon progestin.

Hàm lượng thường dùng
50 mg/ml.

PROMETHAZIN HYDROCLORID
Promethazini hydrochloridum



$C_{17}H_{20}N_2S$. HCl P.t.l: 320,9

Promethazin hydroclorid là (2*RS*)-*N*,*N*-dimethyl-1-(10*H*-phenothiazin-10-yl)propan-2-amin hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{17}H_{20}N_2S$. HCl, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc hơi vàng nhạt. Rất tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 % và methylen clorid.
Chảy ở khoảng 222 °C, kèm theo phân hủy.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của promethazin hydroclorid chuẩn.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Kieselguhr*. Nhúng bản mỏng ngập 5 mm trong dung dịch chứa *phenoxyethanol (TT)* 10 % (tt/tt) và *macrogol 300 (TT)* 50 g/l trong *aceton (TT)*, để dung môi chạy lên ít nhất 17 cm. Lấy ra và dùng bản mỏng ngay.
Dung môi khai triển: Hỗn hợp gồm 50 ml *ether dầu hỏa (50 °C đến 70 °C) (TT)* và 1 ml *diethylamin (TT)* đã được trung hòa bằng *phenoxyethanol (TT)* (thêm 3 ml đến 4 ml *phenoxyethanol (TT)* vào hỗn hợp dung môi trên, lắc, gạn và sử dụng lớp chất lỏng phía trên).
Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong *cloroform (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20 mg promethazin hydroclorid chuẩn trong *cloroform (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra đặt dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm trong vài phút rồi quan sát. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương tự về vị trí, màu huỳnh quang và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
Phun dung dịch *acid sulfuric (TT)* 10 % (tt/tt) trong *ethanol 96 % (TT)*, màu của vết chính trên sắc ký đồ dung dịch thử phải giống với màu của vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu và bền trong ít nhất 20 min.
C. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 3 ml *nước*, thêm từng giọt 1 ml *acid nitric đậm đặc (TT)*, tủa xuất hiện và nhanh chóng hòa tan tạo ra dung dịch màu đỏ, chuyển sang màu vàng cam và sau đó là màu vàng. Đun nóng, dung dịch chuyển thành màu vàng cam và xuất hiện tủa màu đỏ cam.
D. Chế phẩm phải cho phản ứng (B) của clorid (Phụ lục 8.1).

pH

Từ 4,0 đến 5,0 (Phụ lục 6.2).
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Đo ngay sau khi pha.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tiến hành tránh ánh sáng và chuẩn bị các dung dịch trước khi dùng.
Pha động: Methanol - acetonitril - dung dịch đệm pH 7,0 (20 : 30 : 50).
Dung dịch đệm pH 7,0: Dung dịch *kali dihydrophosphat (TT)* 3,4 g/l đã được điều chỉnh đến pH 7,0 bằng *dung dịch kali hydroxyd 2 M (TT)*.
Hỗn hợp dung môi: Triethylamin - methanol (1 : 1000).
Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2,5 mg promethazin chuẩn dùng để định tính pic (chứa tạp chất A, B và C) trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5,0 mg tạp chất D chuẩn của promethazin trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 100 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* có các nhóm liên kết phân cực (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2,5 lần thời gian lưu của promethazin.
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo promethazin chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) để xác định pic của tạp chất A, B và C. Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của tạp chất D.
Thời gian lưu tương đối so với promethazin (thời gian lưu khoảng 18 min): Tạp chất D khoảng 0,2; tạp chất C khoảng 0,5; tạp chất B khoảng 1,4; tạp chất A khoảng 1,8.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất B và pic của tạp chất A ít nhất là 2,0. Sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) phải tương tự sắc ký đồ cung cấp kèm theo promethazin chuẩn dùng để định tính pic.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất A với 0,5.
Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B không được lớn hơn 8 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,8 %).
Tạp chất C: Diện tích pic tạp chất C không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A đã hiệu chỉnh không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).
Tạp chất D: Diện tích pic tạp chất D không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %).
Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).
Tổng diện tích của tất cả các pic tạp chất không được lớn hơn 12 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,2 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Phenothiazin.
Tạp chất B: (2*RS*)-*N*,*N*-dimethyl-2-(10*H*-phenothiazin-10-yl) propan-1-amin (isopromethazin).

Tạp chất C: (2*RS*)-*N*-methyl-1-(10*H*-phenothiazin-10-yl)propan-2-amin.
Tạp chất D: (2*RS*)-*N,N*-dimethyl-1-(10*H*-phenothiazin-10-yl)propan-2-amin *S*-oxyd.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 1,0 g trong 5 ml *nước*, thêm 5 ml *aceton (TT)* và 5 ml *dung dịch đệm acetat pH 3,5 (TT)*, lọc.
Lấy dịch lọc tiến hành thử theo Phương pháp 5. Dùng 5 ml *dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 5,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* và 50 ml *ethanol 96 % (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Đọc thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tiêu thụ giữa 2 điểm uốn.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 32,09 mg $C_{17}H_{21}ClN_2S$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Đối kháng thụ thể histamin H_1 (chống dị ứng),

Chế phẩm
Viên nén, thuốc tiêm, siro, kem bôi da.

KEM PROMETHAZIN HYDROCLORID
Cremoris Promethazini hydrochloridi

Là kem bôi da chứa promethazin hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc mềm dùng trên da và niêm mạc" (Phụ lục 1.12) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng promethazin hydroclorid, $C_{17}H_{20}N_2S.HCl$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Kem màu trắng đục, thể chất mềm, mịn, đồng nhất.

Định tính
A. Chuyển một lượng chế phẩm tương ứng với khoảng 50 mg promethazin hydroclorid, vào cốc có mỏ dung tích 100 ml. Thêm 25 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*, làm nóng trong cách thủy ở 60 °C, lắc siêu âm 5 min. Làm lạnh trong nước đá 30 min, lọc, chuyển dịch lọc vào bình gạn dung tích 100 ml. Thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* và 4 ml *carbon disulfid (TT)*, lắc kỹ trong 2 min. Lấy lớp dịch chiết carbon disulfide, ly tâm (nếu cần) và lọc qua giấy lọc khô để thu được dung dịch trong. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của dung dịch thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của dung dịch promethazin hydroclorid chuẩn được chuẩn bị như sau: Hòa tan 50 mg promethazin hydroclorid chuẩn trong 25 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* và chuyển vào bình gạn dung tích 100 ml. Thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* và 4 ml *carbon disulfid (TT)*, lắc kỹ trong 2 min. Lấy lớp dịch chiết carbon disulfid, ly tâm (nếu cần) và lọc qua giấy lọc khô để thu được dung dịch trong.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic promethazin hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Pha động: *Nước đã được điều chỉnh đến pH 2,3 bằng acid acetic băng - methanol* (55 : 45). Điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng chế phẩm, tương ứng với khoảng 10 mg promethazin hydroclorid, vào cốc có mỏ dung tích 100 ml. Thêm khoảng 30 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, làm nóng trong cách thủy ở 60 °C và siêu âm khoảng 3 min. Lặp lại quá trình hòa tan trên thêm hai lần nữa, mỗi lần với 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Chuyển toàn bộ dung dịch trong cốc vào bình định mức dung tích 50 ml, tráng rửa cốc bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và gộp dịch rửa vào bình định mức. Để nguội và thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* vừa đủ đến vạch, trộn đều. Làm lạnh trong nước đá trong khoảng 30 min. Lọc qua giấy lọc và bỏ dịch lọc đầu, sau đó để dịch lọc về nhiệt độ phòng. Hút chính xác 5,0 ml dịch lọc trên vào bình định mức 50 ml và pha loãng bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* vừa đủ đến vạch, trộn đều.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch promethazin hydroclorid chuẩn 0,002 % trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký:
Tiến hành sắc ký lặp lại 6 lần đối với dung dịch chuẩn, phép thử chỉ có giá trị khi: số đĩa lý thuyết của cột, tính theo pic promethazin hydroclorid, không dưới 3000; độ

phân giải giữa pic promethazin hydroclorid và pic tạp (có thời gian lưu tương đối khoảng 1,1 - 1,2) ít nhất là 2,0; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic promethazin hydroclorid không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt các dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng phần trăm promethazin hydroclorid, $C_{17}H_{20}N_2S.HCl$, trong chế phẩm so với lượng ghi trên nhãn, dựa theo diện tích pic promethazin hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{17}H_{20}N_2S.HCl$ đã biết của promethazin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản
Nơi khô mát, trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng histamin, chống dị ứng.

Hàm lượng thường dùng
2 %.

SIRÔ PROMETHAZIN HYDROCLORID
Sirupi Promethazini hydrochloridi

Là sirô thuốc chứa promethazin hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Sirô thuốc" (Phụ lục 1.4) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng promethazin hydroclorid, $C_{17}H_{20}N_2S.HCl$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Chuyển một lượng sirô, tương ứng với khoảng 25 mg promethazin hydroclorid vào bình gạn 250 ml. Thêm 10 ml *amoniac (TT)* và chiết 2 lần, mỗi lần với 40 ml *cloroform (TT)*. Gộp các dịch chiết cloroform, rửa với 25 ml *nước* và loại nước bằng *natri sulfat khan (TT)*. Bốc hơi dịch chiết cloroform đến khô trên cách thủy. Phổ hấp thụ hồng ngoại của cắn thu được (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của promethazin.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic promethazin hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Pha động: *Dung dịch đệm pH 2,3 - methanol* (40 : 60). Điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.
Dung dịch đệm pH 2,3: Thêm 2 ml *triethylamin (TT)* vào 1000 ml *nước*, chỉnh pH đến 2,3 bằng *acid acetic băng (TT)*.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng sirô, tương ứng với khoảng 10 mg promethazin hydroclorid, vào bình định mức 50 ml và pha loãng bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* vừa đủ đến vạch, trộn đều. Hút chính xác 5,0 ml dung dịch trên vào bình định mức 50 ml và pha loãng bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* vừa đủ đến vạch, trộn đều. Lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch promethazin hydroclorid chuẩn 0,002 % trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký lặp lại 6 lần đối với dung dịch chuẩn, phép thử chỉ có giá trị khi số đĩa lý thuyết của cột, tính theo pic promethazin hydroclorid, không dưới 3000 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic promethazin hydroclorid không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt các dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng phần trăm promethazin hydroclorid, $C_{17}H_{20}N_2S.HCl$, trong chế phẩm so với lượng ghi trên nhãn, dựa theo diện tích pic promethazin hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, khối lượng riêng (g/ml) của sirô và hàm lượng $C_{17}H_{20}N_2S.HCl$ đã biết của promethazin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng histamin (chống dị ứng) và giảm đau.

Hàm lượng thường dùng
6,25 mg/5 ml và 25 mg/5 ml.

VIÊN NÉN PROMETHAZIN HYDROCLORID
Tabellae Promethazini hydrochloridi

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

Hàm lượng promethazin hydroclorid, $C_{17}H_{20}N_2S.HCl$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lấy một lượng bột viên tương ứng với 40 mg promethazin hydroclorid, thêm 10 ml *nước* và 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*. Lắc đều và chiết với 15 ml *ether (TT)*. Rửa lớp ether với 5 ml *nước*. Lọc dịch chiết ether qua *natri sulfat khan (TT)*, bay hơi dịch chiết ether. Hòa cắn thu được trong 0,4 ml *cloroform (TT)*. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ

lục 4.2) của dung dịch thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của promethazin.
B. Lấy một lượng bột viên tương đương với khoảng 5 mg promethazin hydroclorid, thêm 5 ml *acid sulfuric (TT)* và để yên 5 min, xuất hiện màu đỏ.
C. Hòa tan một lượng bột viên tương đương 0,2 g promethazin hydroclorid trong 2 ml *nước*, lọc. Bão hòa dịch lọc thu được bằng *kali carbonat (TT)*. Chiết 2 lần, mỗi lần với 10 ml *ether (TT)*. Bay hơi dịch chiết đến khô, hòa tan cắn trong 2 ml *methanol (TT)*. Rót dung dịch thu được vào một dung dịch chứa 0,4 g *acid picric (TT)* trong 10 ml *methanol (TT)* ở nhiệt độ 50 °C. Để nguội, dùng đũa thủy tinh cọ vào thành ống nghiệm để tạo tủa, để yên 3 h đến 4 h và lọc. Các tinh thể thu được, sau khi rửa bằng *methanol (TT)* và làm khô, có nhiệt độ nóng chảy khoảng 160 °C (Phụ lục 6.7).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một dịch hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu và pha loãng dịch lọc với *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* để được dung dịch có nồng độ thích hợp. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 249 nm, dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng promethazin hydroclorid, $C_{17}H_{20}N_2S.HCl$, theo A (1 %, 1 cm). Lấy 910 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 249 nm.
Yêu cầu: Không được ít hơn 80 % (Q) lượng promethazin hydroclorid so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

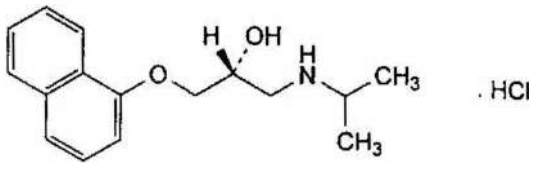
Định lượng
Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Cân 20 viên (đã loại bỏ lớp bao, nếu cần), tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng khoảng 25 mg promethazin hydroclorid, chuyển vào một cối nhỏ, thêm 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và nghiền kỹ. Dùng 100 ml *nước* chuyển vào bình định mức 250 ml, lắc 15 min và thêm *nước* đến định mức. Trộn đều, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Lấy chính xác 5 ml dịch lọc chuyển vào bình định mức 100 ml, thêm 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và thêm *nước* đến định mức, trộn đều. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 249 nm ± 1 nm, mẫu trắng là *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*.
Tính hàm lượng promethazin hydroclorid, $C_{17}H_{20}N_2S.HCl$, theo A (1 %, 1 cm). Lấy 910 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 249 nm.

Bảo quản
Trong bao bì kín ở nơi khô mát.

Loại thuốc
Kháng histamin (thụ thể H_1).

Hàm lượng thường dùng
15 mg và 25 mg.

PROPRANOLOL HYDROCLORID
Propranololi hydrochloridum



và đồng phân đối quang

$C_{16}H_{21}NO_2.HCl$ P.t.l: 295,8

Propranolol hydroclorid là (2*RS*)-1-[(1-methylethyl)amino]-3-(naphthalen-1-yloxy)propan-2-ol hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{16}H_{21}NO_2.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột màu trắng hay gần như trắng. Tan trong nước và trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của propranolol hydroclorid chuẩn.
B. Điểm chảy từ 163 °C đến 166 °C (Phụ lục 6.7).
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Amoniac 18 M - methanol (1 : 99).
Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong 1 ml *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg propranolol hydroclorid chuẩn trong 1 ml *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Sấy khô bản mỏng ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C và phun *dung dịch anisaldehyd (TT)*. Sấy bản mỏng ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C đến khi các vết hiện rõ (khoảng 10 min đến 15 min). Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
D. Chế phẩm cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn màu của dung dịch màu chuẩn số 6 trong dãy dung dịch chuẩn có gam màu gần với gam màu của dung dịch chế phẩm nhất (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 20 ml bằng cùng dung môi. Thêm 0,2 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)* và 0,2 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*, dung dịch có màu đỏ. Thêm 0,4 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)*, dung dịch có màu vàng.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 1,6 g *natri laurylsulfat (TT)* và 0,31 g *tetrabutylamoni dihydrophosphat (TT)* trong hỗn hợp gồm 1 ml *acid sulfuric (TT)*, 450 ml *nước* và 550 ml *acetonitril (TT)*, điều chỉnh đến pH 3,3 bằng *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10,0 mg propranolol hydroclorid chuẩn dùng kiểm tra hiệu năng cột trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 292 nm.
Thời gian cân bằng cột ít nhất là 30 min.
Tốc độ dòng: 1,8 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 7 lần thời gian lưu của propranolol.
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo propranolol hydroclorid chuẩn dùng kiểm tra hiệu năng cột để xác định pic của tạp chất A.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), pic tạp chất A và pic propranolol phải tách nhau đến đường nền.
Giới hạn:
Tạp chất bất kỳ: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,4 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: (2*RS*)-3-(naphthalen-1-yloxy)propan-1,2-diol (dẫn chất diol).
Tạp chất B: 1,1'-[(1-methylethyl)imino]bis[3-(naphthalen-1-yloxy)propan-2-ol] (dẫn chất tertiary amin).
Tạp chất C: 1,3-bis(naphthalen-1-yloxy)propan-2-ol (dẫn chất bis-ether).

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong hỗn hợp *nước - methanol* (15 : 85) và pha loãng thành 20 ml với cùng hỗn hợp dung môi. Lấy 12 ml dung dịch thu được thử theo phương pháp 2. Chuẩn bị dung dịch chì mẫu 1 phần triệu bằng cách pha loãng *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb (TT)* với hỗn hợp *nước - methanol* (15 : 85).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 25 ml *ethanol 96 % (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 29,58 mg $C_{16}H_{22}ClNO_2$.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Chẹn beta-adrenergic.

Chế phẩm
Thuốc tiêm, viên nén.

VIÊN NÉN PROPRANOLOL
Tabellae Propranololi

Là viên nén chứa propranolol hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng propranolol hydroclorid, $C_{16}H_{21}NO_2.HCl$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lắc một lượng bột viên tương ứng với 0,1 g propranolol hydroclorid với 20 ml *nước*, lọc. Kiềm hóa dịch lọc bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* và chiết với *ether (TT)* 3 lần, mỗi lần với 10 ml. Rửa dịch chiết ether bằng *nước* đến khi nước rửa hết kiềm. Lọc dịch chiết qua *natri sulfat khan (TT)*, để bay hơi dịch chiết đến khô và sấy cắn ở 50 °C, áp suất 2 kPa trong 1 h. Phổ hấp thụ hồng ngoại

(Phụ lục 4.2) của cắn thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của propranolol.
B. Trong phần Định lượng, phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử trong khoảng 230 nm đến 350 nm có hai cực đại hấp thụ ở 290 nm và 319 nm, có một vai ở 306 nm.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hỗn hợp gồm 1,15 g *natri dodecyl sulfat (TT)*, 10 ml hỗn hợp dung dịch *acid sulfuric (TT) - nước* (1 : 9), 20 ml *dung dịch tetrabutylamoni dihydrophosphat 1,7 %*, 370 ml *nước* và 600 ml *acetonitril (TT)*, điều chỉnh pH đến 3,3 bằng dung dịch *natri hydroxyd 2 M (TT)*.
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng 100 mg propranolol hydroclorid với 100 ml *methanol (TT)* và lọc.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 500,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (20 cm × 5 mm) được nhồi *end-capped octadecylsilyl silica gel* (5 µm). Cột Hypersil ODS là thích hợp.
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 292 nm.
Tốc độ dòng: 1,8 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Cân bằng cột bằng pha động khoảng 30 min.
Tiêm dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. Tiến hành sắc ký trong khoảng thời gian gấp 5 lần thời gian lưu của pic chính. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào ngoài pic chính không được lớn hơn diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (0,2 %). Tổng diện tích của các pic phụ không được lớn hơn 4 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (0,8 %).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 1000 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Nếu cần, pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ propranolol hydroclorid khoảng 10 µg/ml - 30 µg/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch ở bước sóng cực đại khoảng 290 nm trong cốc đo dày 1 cm, dùng môi trường hòa tan làm mẫu trắng. Tính hàm lượng propranolol hydroclorid, $C_{16}H_{21}NO_2$.HCl, đã hòa tan trong mỗi viên theo A (1 %, 1 cm). Lấy 206 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 290 nm.
Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng propranolol hydroclorid so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)
Lấy 1 viên vào bình định mức 50 ml, thêm 1 ml *nước*, lắc tới khi viên rã hoàn toàn, thêm 30 ml *methanol (TT)*, lắc trong 10 min, pha loãng với *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc với *methanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ propranolol hydroclorid khoảng 20 µg/ml. Tiếp tục tiến hành như mô tả ở mục Định lượng, bắt đầu từ "Đo độ hấp thụ của dung dịch...".

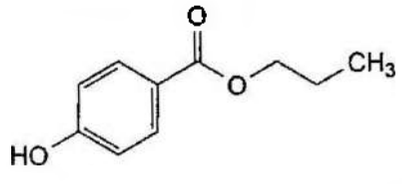
Định lượng
Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 20 mg propranolol hydroclorid vào bình định mức 100 ml, thêm 2 ml *nước*, lắc trong 5 min. Thêm *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 50,0 ml với *methanol (TT)*. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 290 nm, trong cốc đo dày 1 cm, so với mẫu trắng là *methanol (TT)*.
Tính hàm lượng propranolol hydroclorid, $C_{16}H_{21}NO_2$.HCl, trong viên theo A (1 %, 1 cm). Lấy 206 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 290 nm.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chẹn beta-adrenergic.

Hàm lượng thường dùng
10 mg; 20 mg; 40 mg.

PROPYL PARAHYDROXYBENZOAT
Propylis parahydroxybenzoas
Propylparaben, Nipasol M



$C_{10}H_{12}O_3$ P.t.l: 180,2

Propyl parahydroxybenzoat là propyl 4-hydroxybenzoat, phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{10}H_{12}O_3$.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng. Rất khó tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 % và trong methanol.

Định tính
Chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B.
Nhóm II: B, C.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của propyl parahydroxybenzoat chuẩn.
B. Điểm chảy từ 96 °C đến 99 °C (Phụ lục 6.7).
C.Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Octadecylsilyl silica gel F_{254}.
Dung môi khai triển: Acid acetic băng - nước - methanol (1 : 30 : 70).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *aceton (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng *aceton (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg propyl para hydroxy benzoat chuẩn trong *aceton (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg ethyl parahy droxy benzoat chuẩn trong 1 ml dung dịch thử (1) và pha loãng thành 10 ml bằng *aceton (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (1) và (2). Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 2/3 chiều dài bản mỏng. Để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải giống về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách rõ rệt.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn màu của dung dịch màu mẫu VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid
Lấy 2 ml dung dịch S, thêm 3 ml *ethanol 96 % (TT)*, 5 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* và 0,1 ml *dung dịch lục bromocresol (TT_1)*. Dung dịch thu được phải chuyển sang màu xanh lam khi thêm không quá 0,1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch kali dihydrophosphat 0,68 % - methanol (35 : 65).
Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong 2,5 ml *methanol (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng pha động. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg *acid 4-hydroxybenzoic (TT)* (tạp chất A), 5 mg *ethyl parahydroxybenzoat (TT)* (tạp chất C), 5 mg chế phẩm trong pha động, pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 50,0 mg propyl parahydroxybenzoat chuẩn trong 2,5 ml *methanol (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml bằng pha động. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 20,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 272 nm.
Tốc độ dòng: 1,3 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và (3).
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2,5 lần thời gian lưu của propyl parahydroxybenzoat.
Thời gian lưu tương đối so với propyl parahydroxybenzoat (thời gian lưu khoảng 4,5 min): Tạp chất A khoảng 0,3; tạp chất C khoảng 0,7.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất C và pic của propyl parahydroxybenzoat ít nhất là 3,0.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng nhân diện tích pic của tạp chất A với 1,4.
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A đã hiệu chỉnh không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,5 %).
Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,5 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1,0 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid 4-hydroxybenzoic.
Tạp chất B: Methyl 4-hydroxybenzoat (methylparahydroxybenzoat).
Tạp chất C: Ethyl 4-hydroxybenzoat (ethylparahydroxybenzoat).
Tạp chất D: Butyl 4-hydroxybenzoat (butylparahydroxybenzoat).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

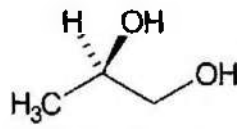
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (2). Tính hàm lượng phần trăm của $C_{10}H_{12}O_3$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (2) và hàm lượng của $C_{10}H_{12}O_3$ trong propyl parahydroxybenzoat chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Chất bảo quản kháng khuẩn.

PROPYLEN GLYCOL

Propylenglycolum



và đồng phân đối quang

$C_3H_8O_2$ P.t.l: 76,1

Propylen glycol là (*RS*)-propan-1,2-diol.

Tính chất

Chất lỏng nhớt, trong suốt, không màu, dễ hút ẩm. Có thể trộn lẫn với nước và với ethanol 96 %.

Định tính

A. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử Tỷ trọng tương đối.

B. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử Chỉ số khúc xạ.

C. Điểm sôi: Từ 184 °C đến 189 °C (Phụ lục 6.8).

D. Thêm 5 ml *pyridin (TT)* và 2 g *nitrobenzoyl clorid (TT)* đã được nghiền mịn vào 0,5 ml chế phẩm. Đun sôi trong 1 min và rót vào 15 ml *nước* lạnh, vừa cho vừa lắc đều. Lọc, rửa tủa với 20 ml *dung dịch bão hòa natri hydrocarbonat (TT)* sau đó rửa với *nước* và sấy khô. Hòa tan cắn trong *ethanol 80 % (TT)* sôi và lọc nóng. Khi để nguội, các tinh thể được tạo thành, sau khi sấy khô ở 100 °C đến 105 °C, tinh thể thu được nóng chảy ở 121 °C đến 128 °C (Phụ lục 6.7).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Chế phẩm phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tỷ trọng tương đối

Từ 1,035 đến 1,040 (Phụ lục 6.5).

Chỉ số khúc xạ

Từ 1,431 đến 1,433 (Phụ lục 6.1).

Giới hạn acid

Thêm 40 ml *nước* và 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)* vào 10 ml chế phẩm. Dung dịch thu được có màu vàng ánh xanh. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* cần để làm chuyển màu của chỉ thị sang xanh lam không được quá 0,05 ml.

Chất oxy hóa

Thêm 5 ml *nước*, 2 ml *dung dịch kali iodid (TT)* và 2 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)* vào 10 ml chế phẩm trong một bình nút mài và để yên tránh ánh sáng trong 15 min. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,05 N (CĐ)*, dùng 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị. Lượng *dung dịch natri thiosulfat 0,05 N (CĐ)* tiêu thụ không được quá 0,2 ml.

Chất khử

Thêm 1 ml *dung dịch amoniac loãng (TT)* vào 1 ml chế phẩm và đun nóng trong cách thủy ở 60 °C trong 5 min. Dung dịch không được có màu vàng. Thêm ngay vào dung dịch 0,15 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 M (TT)* và để yên trong 5 min. Dung dịch không được thay đổi về mặt cảm quan.

Kim loại nặng

Không được quá 5 phần triệu (kl/tt) (Phụ lục 9.4.8).

Trộn 4 ml chế phẩm với 16 ml *nước*. Lấy 12 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Không được quá 0,2 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 5,00 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Đốt 50 g chế phẩm cho đến khi chế phẩm cháy và tro hóa. Để nguội. Làm ẩm cắn bằng *acid sulfuric (TT)* và nung. Lặp lại các bước trên cho đến khi cắn thu được có khối lượng không đổi. Khối lượng cắn không được quá 5 mg.

Công dụng

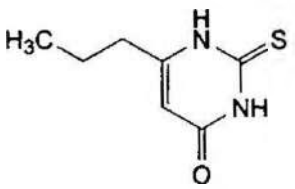
Tá dược.

Bảo quản

Trong bao bì kín.

PROPYLTHIOURACIL

Propylthiouracillum



$C_7H_{10}N_2OS$ P.t.l: 170,2.

Propylthiouracil là 2,3-dihydro-6-propyl-2-thioxopyrimidin-4(1*H*)-on, phải chứa từ 98,0 % đến 100,5 % $C_7H_{10}N_2OS$, tính theo chế phẩm đã sấy khô.

Tính chất

Tinh thể hay bột kết tinh màu trắng hay gần trắng. Rất khó tan trong nước và ether, hơi tan trong ethanol 96 %, tan trong các dung dịch kiềm hydroxyd.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của propylthiouracil

chuẩn. Chuẩn bị đĩa để đo bằng cách dùng 1 mg chế phẩm và 0,3 g *kali bromid (TT)*.
B. Điểm chảy: 217 °C đến 221 °C (Phụ lục 6.7).
C. Trong phần Thioure và tạp chất liên quan, khi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm trước khi đặt vào bình bão hòa hơi iod, vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (2) phải có vị trí và kích thước giống với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
D. Cho 8 ml *nước brom (TT)* vào 20 mg chế phẩm và lắc trong vài phút. Đun đến khi dung dịch mất màu, để nguội và lọc. Thêm vào dịch lọc 2 ml *dung dịch bari clorid 6,1 % (TT)*, tủa trắng tạo thành. Tủa này không bị biến thành màu tím khi thêm 5 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*.

Thioure và tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Acid acetic băng - isopropanol - cloroform (0,1 : 6 : 50).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg propylthiouracil chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 50 mg *thioure* trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 100 ml bằng *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 100 ml bằng *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Để bản mỏng vào bình bão hòa hơi iod trong 10 min. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (1), vết tương ứng với vết thioure không được đậm màu hơn màu của vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %), bất kỳ vết phụ nào ngoài vết chính và vết thioure không được đậm màu hơn màu của vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1,0 %).

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm thử theo phương pháp 6. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Thêm 30 ml *nước* và 30,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* vào 0,300 g chế phẩm. Đun sôi và lắc đến khi tan hoàn toàn. Thêm 50 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)*, vừa thêm vừa khuấy, đun sôi nhẹ 5 min và để nguội. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* đã tiêu thụ là tổng thể tích của 30,0 ml đã cho vào ban đầu và thể tích tiêu thụ khi chuẩn độ.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 8,511 mg $C_7H_{10}N_2OS$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng giáp.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN PROPYLTHIOURACIL
Tabellae Propylthiouracili

Là viên nén chứa propylthiouracil.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng propylthiouracil, $C_7H_{10}N_2OS$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lắc kỹ một lượng bột viên đã nghiền mịn tương đương với khoảng 50 mg propylthiouracil với 20 ml *methanol (TT)*. Lọc và bốc hơi dịch lọc trên cách thủy đến khô. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của propylthiouracil chuẩn.
B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic propylthiouracil trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ hòa tan
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng một thể tích dịch lọc với *nước* (nếu cần) để có được nồng độ propylthiouracil khoảng 5 µg/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 274 nm, trong cốc đo dày 1 cm, dùng *nước* làm mẫu trắng. So sánh với dung dịch chuẩn propylthiouracil có nồng độ tương đương pha trong *nước*.

Tính lượng propylthiouracil, $C_7H_{10}N_2OS$, đã hòa tan trong mỗi viên dựa vào các độ hấp thụ đo được và nồng độ propylthiouracil của dung dịch chuẩn.
Yêu cầu: Không được ít hơn 85 % (Q) lượng propylthiouracil, $C_7H_{10}N_2OS$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

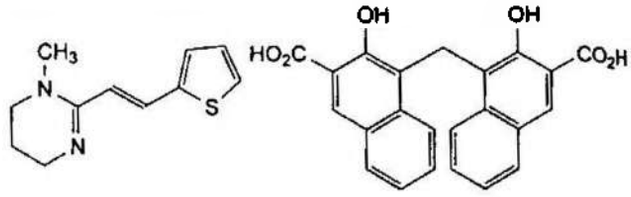
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)
Dung dịch đệm phosphat 0,025 M: Cân chính xác 3,40 g *kali dihydrophosphat (TT)* vào trong một cốc có mỏ dung tích 1000 ml, thêm 500 ml *nước*, khuấy cho tan hoàn toàn, điều chỉnh đến pH 4,6 bằng *acid phosphoric (TT)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml, trộn đều, lọc.
Pha động: Dung dịch đệm phosphat 0,025 M - acetonitril (80 : 20).
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 25 mg propylthiouracil chuẩn vào bình định mức 50 ml, thêm 5 ml *methanol (TT)*, siêu âm trong 5 min để hòa tan, thêm 25 ml *nước* và lắc trong 15 min, thêm *nước* đến vạch, lắc đều. Lấy chính xác 10 ml dịch trên cho vào bình định mức 100 ml và pha loãng bằng *nước* đến định mức, lắc đều.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương đương với khoảng 50 mg propylthiouracil vào bình định mức 100 ml, thêm 10 ml *methanol (TT)*, siêu âm trong 5 min để hòa tan, thêm 50 ml *nước* và lắc trong 20 min, thêm *nước* đến định mức. Lắc đều, lọc. Lấy chính xác 10 ml dịch lọc thu được cho vào bình định mức 100 ml và pha loãng bằng *nước* đến vạch, lắc đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 272 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, hiệu năng của cột được xác định từ pic propylthiouracil, số đĩa lý thuyết không được nhỏ hơn 3500, hệ số đối xứng thu được từ pic propylthiouracil không được lớn hơn 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic trên sắc ký đồ từ các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Tính hàm lượng propylthiouracil, $C_7H_{10}N_2OS$, dựa vào diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_7H_{10}N_2OS$ trong propylthiouracil chuẩn.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng giáp.

Hàm lượng thường dùng
25 mg, 50 mg.

PYRANTEL PAMOAT
Pyranteli pamoatum
Pyrantel embonat



$C_{34}H_{30}N_2O_6S$ P.t.l: 594,7

Pyrantel pamoat là 1-methyl-2-[(*E*)-2-(thiophen-2-yl) ethenyl]-1,4,5,6-tetrahydropyrimidin hydrogen 4,4'- methylenbis (3-hydroxynaphthalen-2-carboxylat), phải chứa từ 98,0 % đến 102 % $C_{34}H_{30}N_2O_6S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột màu vàng nhạt hoặc vàng. Tan trong dimethyl sulfoxyd, thực tế không tan trong nước và methanol.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại của chế phẩm (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của pyrantel pamoat chuẩn.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng và tuyệt đối tránh ánh sáng trong quá trình thực hiện phép thử.
Hỗn hợp dung môi: Trộn đều 5 thể tích *acid acetic băng (TT)*, 5 thể tích *nước* và 2 thể tích *diethylamin (TT)* trong điều kiện lạnh.
Pha động: Hỗn hợp dung môi - acetonitril dùng trong phương pháp sắc ký (72 : 928).
Dung dịch thử: Hòa tan 80 mg chế phẩm trong 7 ml hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 100,0 ml bằng *acetonitril (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10,0 mg tạp chất A chuẩn của pyrantel trong hỗn hợp dung môi, thêm 2,5 ml dung dịch thử và pha loãng thành 50,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 200,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh A (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 288 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 4 lần thời gian lưu của pyrantel.
Thời gian lưu tương đối so với pyrantel (thời gian lưu khoảng 11 min): Acid embonic khoảng 0,5; tạp chất A khoảng 1,3; tạp chất B khoảng 1,8 (tạp chất A cũng làm tăng diện tích pic embonat).

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của pyrantel và pic của tạp chất A ít nhất là 4,0.

Giới hạn:

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng nhân diện tích pic của tạp chất B với 0,4.

Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).

Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B đã hiệu chỉnh không được lớn hơn 0,4 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).

Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất trừ tạp chất A và B, không được lớn hơn 0,6 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: 1-methyl-2-[(*Z*)-2-(thiophen-2-yl)ethenyl]-1,4,5,6-tetrahydropyrimidin.

Tạp chất B: (*E*)-*N*-[3-(methylamino)propyl]-3-(thiophen-2-yl) prop-2-enamid.

Clorid

Không được quá 360 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).

Thêm 10 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* và 30 ml *nước* vào 0,46 g chế phẩm, đun nóng trên cách thủy 5 min. Để nguội, thêm *nước* vừa đủ 50 ml, trộn đều và lọc. Lấy 15 ml dịch lọc để thử.

Sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.4.14).

Thêm 2,5 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* vào 0,50 g chế phẩm, thêm *nước cất* vừa đủ 50 ml, đun nóng trên cách thủy 5 min. Lắc trong 2 min, để nguội và lọc.

Sắt

Không được quá 75 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).

Nung 0,66 g chế phẩm ở 800 °C ± 50 °C trong 2 h. Hòa tan cắn thu được trong 2,5 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* bằng cách đun nóng nhẹ trong 10 min. Để nguội và pha loãng thành 50 ml bằng *nước*.

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm thử theo phương pháp 4. Dùng 2,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; trong chân không, 60 °C; 3 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Thêm 10 ml *anhydrid acetic (TT)* và 50 ml *acid acetic băng (TT)* vào 0,450 g chế phẩm, vừa đun vừa khuấy ở 50 °C trong 10 min, để nguội (dung dịch thu được không trong). Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Tiến hành mẫu trắng trong cùng điều kiện.

1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương 59,47 mg $C_{34}H_{30}N_2O_6S$.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc trị giun.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN PYRANTEL PAMOAT

Tabellae Pyranteli pamoati

Là viên nén bao phim chứa pyrantel pamoat.

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

Hàm lượng pyrantel, $C_{11}H_{14}N_2S$, từ 93,0 % đến 107,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

A. Lấy một lượng chế phẩm tương đương 40 mg pyrantel pamoat, thêm 20 ml hỗn hợp *dioxan - dung dịch amoniac 0,1 %* (1 : 1), lắc để hòa tan pyrantel pamoat, lọc. Dịch lọc thu được làm các phép thử sau:

Lấy 5 ml dịch lọc thêm 2 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*, xuất hiện kết tủa vàng.

Bốc hơi 10 ml dịch lọc đến cắn, thêm vào cắn 1 ml *acid sulfuric (TT)*, lắc, xuất hiện màu đỏ.

B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của 2 pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải tương đương với thời gian lưu của hai pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) trong điều kiện tránh ánh sáng.

Pha động: Acetonitril - nước - acid acetic băng - diethylamin (94 : 2,5 : 2,5 : 1). Điều chỉnh tỷ lệ pha động nếu cần.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng

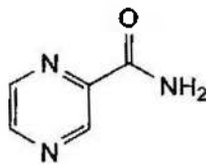
bột viên hòa tan trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ pyrantel pamoat khoảng 80 µg/ml, lọc.
Dung dịch chuẩn: Cân một lượng pyrantel pamoat chuẩn hòa tan trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ tương ứng dung dịch thử, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh A (5 µm đến 10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 288 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn với thời gian chạy tối thiểu phải gấp 2,5 lần thời gian lưu của pic pyrantel. Hiệu năng của cột được xác định từ pic đáp ứng của pyrantel trong dung dịch chuẩn, số đĩa lý thuyết của cột không được nhỏ hơn 8000. Thời gian lưu tương đối của pic pyrantel là 1 và của pic acid pamoic khoảng 0,6. Độ phân giải giữa pic pyrantel và pic acid pamoic không được nhỏ hơn 10. Hệ số đuôi của pic pyrantel không được quá 1,3. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic trên sắc ký đồ từ các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 1,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng pyrantel, $C_{11}H_{14}N_2S$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic pyrantel thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{11}H_{14}N_2S$ của pyrantel pamoat chuẩn.
1 mg pyrantel pamoat tương ứng với 0,347 mg pyrantel base.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc trị giun.

Hàm lượng thường dùng
300 mg.

PYRAZINAMID
Pyrazinamidum



$C_5H_5N_3O$ P.t.l: 123,1

Pyrazinamid là pyrazin-2-carboxamid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_5H_5N_3O$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, đa hình.
Hơi tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 % và methylen clorid.

Định tính
Có thể chọn một trong 2 nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của pyrazinamid chuẩn. Nếu phổ hấp thụ của chế phẩm và chuẩn khác nhau thì tiến hành hòa tan riêng rẽ chế phẩm và chuẩn trong *ethanol 96 % (TT)* bốc hơi đến khô và ghi lại phổ của các cắn mới thu được.
B. Điểm chảy từ 188 °C đến 191 °C (Phụ lục 6.7).
C. Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi (dung dịch A).
Pha loãng 1,0 ml dung dịch A thành 10 ml bằng *nước*. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong vùng từ 290 nm đến 350 nm, dung dịch chế phẩm có cực đại hấp thụ ở bước sóng 310 nm.
Pha loãng 2,0 ml dung dịch A thành 100,0 ml bằng *nước*. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong vùng từ 230 nm đến 290 nm, dung dịch chế phẩm có cực đại hấp thụ ở bước sóng 268 nm với độ hấp thụ riêng tương ứng với cực đại này từ 640 đến 680.
D. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 5 ml *nước*. Thêm 1 ml *dung dịch sắt (II) sulfat (TT_2)*, dung dịch chuyển thành màu vàng cam. Thêm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*, dung dịch chuyển thành màu xanh lam đậm.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Thêm 0,05 ml *dung dịch phenolphtalein (TT_1)* và 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)* vào 25 ml dung dịch S. Dung dịch thu được có màu đỏ. Thêm 1,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*. Dung dịch thành không màu. Thêm tiếp 0,15 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)*. Dung dịch lại có màu đỏ.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.
Pha động: Hòa tan 6,80 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 800 ml *nước*, thêm 1,84 g *natri hydroxyd (TT)*, điều chỉnh đến pH 3,0 bằng *dung dịch acid phosphoric loãng (TT)* và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*, thêm 10,0 ml *acetonitril (TT)* và 1,0 ml *tetrahydrofuran (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *nước*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg *pyrazin-2-carbonitril (TT)* (tạp chất B) trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng *nước*. Lấy 5,0 ml dung dịch thu được, thêm 5,0 ml dung dịch thử và pha loãng thành 25,0 ml bằng *nước*.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).

Nhiệt độ cột: 30 °C.

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

Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 40 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 4 lần thời gian lưu của pyrazinamid.

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất B.

Thời gian lưu tương đối so với pyrazinamid (thời gian lưu khoảng 5 min): Tạp chất B khoảng 1,6.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của pyrazinamid và pic của tạp chất B ít nhất là 4,0.

Giới hạn:

Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).

Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,03 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: Acid pyrazin-2-carboxylic.

Tạp chất B: Pyrazin-2-carbonitril.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Hỗn hợp dung môi: *Nước - ethanol 96 %* (50 : 50).

Lấy 0,25 g chế phẩm thử theo phương pháp 8. Dùng 0,25 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 2,00 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 50 ml *anhydrid acetic (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 12,31 mg $C_5H_5N_3O$.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc chống lao.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN PYRAZINAMID

Tabellae Pyrazinamidi

Là viên nén chứa pyrazinamid.

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

Hàm lượng pyrazinamid, $C_5H_5N_3O$, phải từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

A. Lắc một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,25 g pyrazinamid với 20 ml *ethanol (TT)*, lọc, bốc hơi dịch lọc tới khô và sấy cắn ở 105 °C trong 30 min. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của pyrazinamid.

B. Lắc một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg pyrazinamid với 50 ml *nước* và lọc. Pha loãng 1 ml dịch lọc thành 100 ml với *nước*. Phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở trong khoảng từ 230 nm đến 350 nm phải có 2 cực đại ở bước sóng 268 nm và 310 nm.

C. Đun sôi một lượng bột viên tương ứng với khoảng 20 mg pyrazinamid với 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 5 M (TT)*, sẽ có mùi amoniac bay ra.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 45 min.

Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc. Pha loãng dịch lọc với *nước* để có nồng độ khoảng 10 µg pyrazinamid trong 1 ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 268 nm, dùng nước làm mẫu trắng. So sánh với dung dịch pyrazinamid chuẩn có nồng độ tương đương pha trong nước. Tính lượng pyrazinamid, $C_5H_5N_3O$, được hòa tan từ các độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_5H_5N_3O$ trong pyrazinamid chuẩn.

Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng pyrazinamid so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Tạp chất liên quan
Không được quá 0,2 %.
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Acid acetic băng - nước - n-butanol (20 : 20 : 60).
Dung dịch thử: Lắc kỹ một lượng bột viên tương ứng với 0,1 g pyrazinamid với 50 ml hỗn hợp *cloroform - methanol* (9 : 1), lọc, bốc hơi dịch lọc trên cách thủy đến khô và hòa tan cặn trong hỗn hợp dung môi trên thành 10 ml.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 thể tích dung dịch thử thành 500 thể tích bằng hỗn hợp *cloroform - methanol* (9 : 1).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí và quan sát ngay dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử cũng không được đậm màu hơn vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

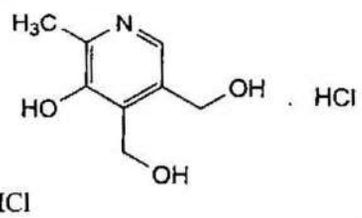
Định lượng
Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,1 g pyrazinamid cho vào bình định mức 500 ml, thêm 200 ml *nước*, để yên 10 min, thỉnh thoảng lắc, sau đó lắc siêu âm trong 10 min rồi thêm *nước* đến định mức. Lắc đều, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc với *nước* thành 100,0 ml, trộn đều. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 268 nm, dùng nước làm mẫu trắng. So sánh với dung dịch pyrazinamid chuẩn có nồng độ tương đương pha trong cùng dung môi. Tính hàm lượng pyrazinamid, $C_5H_5N_3O$, trong viên từ các độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_5H_5N_3O$ trong pyrazinamid chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, ở nhiệt độ không quá 30 °C.

Loại thuốc
Thuốc chống lao.

Hàm lượng thường dùng
500 mg.

PYRIDOXIN HYDROCLORID
Pyridoxini hydrochloridum
Vitamin B_6



$C_8H_{11}NO_3.HCl$ P.t.l: 205,6

Pyridoxin hydroclorid là (5-hydroxy-6-methylpyridin-3,4-diyl)dimethanol hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_8H_{11}NO_3.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %.
Chảy ở khoảng 205 °C kèm theo phân hủy.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của pyridoxin hydroclorid chuẩn.
B. Dung dịch A: Pha loãng 1,0 ml dung dịch S (xem Độ trong và màu sắc của dung dịch) thành 50,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Dung dịch B: Pha loãng 1,0 ml dung dịch A thành 100,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Dung dịch C: Pha loãng 1,0 ml dung dịch A thành 100,0 ml bằng *dung dịch đệm phosphat 0,025 M (TT)*.
Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch B trong khoảng bước sóng từ 250 nm đến 350 nm có một cực đại hấp thụ ở bước sóng từ 288 nm đến 296 nm. Độ hấp thụ riêng tương ứng với cực đại hấp thụ từ 425 đến 445.
Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch C trong khoảng bước sóng từ 220 nm đến 350 nm có hai cực đại hấp thụ, một cực đại ở bước sóng từ 248 nm đến 256 nm và một cực đại ở bước sóng từ 320 nm đến 327 nm. Độ hấp thụ riêng tương ứng với các cực đại hấp thụ lần lượt là 175 đến 195 và 345 đến 365.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Amoniac - methylen clorid - tetrahydrofuran - aceton (9 : 13 : 13 : 65).
Dung dịch thử: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1 ml thu được thành 10 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,10 g pyridoxin hydroclorid chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký trong bình không bão hòa dung môi đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí. Phun dung dịch *natri carbonat (TT)* 5 % trong hỗn hợp *ethanol 96 % - nước* (30 : 70). Để khô ngoài không khí, phun dung dịch *dicloroquinonclorimid (TT)* 0,1 % trong *ethanol 96 % (TT)* và quan sát ngay. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
D. Dung dịch S cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn dung dịch màu mẫu V_7 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Từ 2,4 đến 3,0 (Phụ lục 6.2).
Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 2,72 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 900 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 3,0 bằng *dung dịch acid phosphoric loãng (TT)* và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*.
Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *nước*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 2,5 mg tạp chất A chuẩn của pyridoxin và 2,5 mg *4-deoxypyridoxin hydroclorid* (tạp chất B) trong *nước* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng *nước*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *base-deactivated end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 5 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2,5 lần thời gian lưu của pyridoxin.
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất A và B.
Thời gian lưu tương đối so với pyridoxin (thời gian lưu khoảng 12 min): Tạp chất A khoảng 1,7; tạp chất B khoảng 1,9.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất A và pic của tạp chất B ít nhất là 1,5.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất B với 1,5.
Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B đã hiệu chỉnh không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,15 %).
Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 6-methyl-1,3-dihydrofuro[3,4-c]pyridin-7-ol.
Tạp chất B: 5-(hydroxymethyl)-2,4-dimethylpyridin-3-ol.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 12 ml dung dịch S tiến hành thử theo Phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Để tránh nhiệt độ cao quá trong môi trường phản ứng, khi chuẩn độ phải luôn khuấy đều và dừng ngay khi đạt điểm kết thúc.
Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong 5 ml *acid formic khan (TT)*, thêm 50 ml *anhydrid acetic (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Song song tiến hành mẫu trắng.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 20,56 mg $C_8H_{11}NO_3.HCl$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Vitamin nhóm B.

Chế phẩm
Viên nén, nang, thuốc tiêm.

THUỐC TIÊM PYRIDOXIN HYDROCLORID
Injectio Pyridoxini hydrochloridi
Thuốc tiêm vitamin B_6

Là dung dịch vô khuẩn của pyridoxin hydroclorid trong nước để pha thuốc tiêm.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng pyridoxin hydroclorid, $C_8H_{11}NO_3.HCl$, từ 95,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu.

Định tính
Dung dịch A: Lấy một thể tích chế phẩm tương ứng với khoảng 100 mg pyridoxin hydroclorid, pha loãng với *nước* thành 100 ml.
A. Trong phần Định lượng, phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử phải có hấp thụ cực đại ở khoảng 290 nm.
B. Pha loãng 1 ml dung dịch A với *nước* thành 10 ml. Lấy 1 ml dung dịch thu được, thêm 2 ml *dung dịch natri acetat 20 % (TT)*,1 ml *nước* và 1 ml *dung dịch 2,6-dicloroquinon clorimid 0,5 % trong ethanol*, lắc đều. Xuất hiện màu xanh lam, phai nhanh và chuyển sang đỏ. Lặp lại phép thử trên, thay 1 ml *nước* bằng 1 ml *dung dịch acid boric 4 %*, không có màu xanh xuất hiện.
C. Lấy 1 ml dung dịch A, thêm 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, xuất hiện màu đỏ. Thêm từng giọt *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*, màu đỏ phai dần.

pH
Từ 2,5 đến 4,0 (Phụ lục 6.2).

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 0,4 EU/mg pyridoxin hydroclorid (Phụ lục 13.2).

Định lượng
Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương ứng với khoảng 0,1 g pyridoxin hydroclorid, pha loãng với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* thành 500,0 ml, lắc đều. Lấy 5,0 ml dung dịch, pha loãng với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* thành 100,0 ml, lắc đều. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 290 nm, trong cốc đo dày 1 cm, so với mẫu trắng là *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Tính hàm lượng pyridoxin hydroclorid, $C_8H_{11}NO_3.HCl$, trong thuốc tiêm theo A (1 %, 1 cm). Lấy 430 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 290 nm.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Vitamin nhóm B.

Hàm lượng thường dùng
2,5 %; 5,0 % và 10,0 %.

VIÊN NÉN PYRIDOXIN HYDROCLORID
Tabellae Pyridoxini hydrochloridi
Viên nén vitamin B_6

Là viên nén chứa pyridoxin hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng pyridoxin hydroclorid, $C_8H_{11}NO_3.HCl$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Dung dịch A: Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg pyridoxin hydroclorid, thêm 50 ml *nước (TT)*, lắc kỹ, lọc.
A. Trong phần Định lượng, phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử phải có hấp thụ cực đại ở khoảng 290 nm.
B. Pha loãng 1 ml dung dịch A với *nước* thành 10 ml. Lấy 1 ml dung dịch thu được, thêm 2 ml *dung dịch natri acetat 20 % (TT)*,1 ml *nước* và 1 ml *dung dịch 2,6-dicloroquinon clorimid 0,5 % trong ethanol*, lắc đều. Xuất hiện màu xanh lam, phai nhanh và chuyển sang đỏ. Lặp lại phép thử trên, thay 1 ml *nước* bằng 1 ml *dung dịch acid boric 4 %*, không có màu xanh xuất hiện.
C. Lấy 1 ml dung dịch A, thêm 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, xuất hiện màu đỏ. Thêm từng giọt *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*, màu đỏ phai dần.

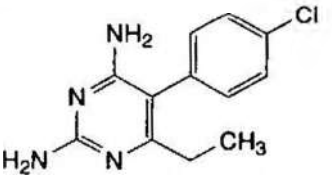
Định lượng
Cân 20 viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 25 mg pyridoxin hydroclorid, thêm 50 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, đun cách thủy 15 min, thỉnh thoảng lắc. Để nguội, pha loãng với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* thành 100,0 ml, lắc đều. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Lấy 5,0 ml dịch lọc, pha loãng với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* thành 100,0 ml, lắc đều. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 290 nm, trong cốc đo dày 1 cm, so với mẫu trắng là *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tính hàm lượng pyridoxin hydroclorid, $C_8H_{11}NO_3.HCl$, trong viên theo A (1 %, 1 cm). Lấy 430 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 290 nm.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Vitamin nhóm B.

Hàm lượng thường dùng
25 mg; 50 mg.

PYRIMETHAMIN
Pyrimethaminum



$C_{12}H_{13}ClN_4$ P.t.l: 248,7

Pyrimethamin là 5-(4-clorophenyl)-6-ethylpyrimidin-2,4-diamin, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{12}H_{13}ClN_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu gần như trắng hoặc tinh thể không màu. Thực tế không tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của pyrimethamin chuẩn.
B. Nhiệt độ nóng chảy: 239 °C đến 243 °C (Phụ lục 6.7).
C. Hòa tan 0,14 g chế phẩm trong *ethanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Tiếp tục pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Phổ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch trong khoảng từ bước sóng 250 nm đến 300 nm có một cực đại tại 272 nm và một cực tiểu tại 261 nm. Độ hấp thụ riêng tại cực đại có giá trị từ 310 đến 330.
D. Trong phần Tạp chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí và kích thước.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch được chuẩn bị ngay trước khi dùng.
Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (1 : 3) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Dung dịch S: Lắc 1,0 g chế phẩm với 50 ml *nước* trong 2 min, lọc.
Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 0,05 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)*. Dung dịch không màu. Không quá 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)* cần thêm vào để làm chuyển màu chỉ thị sang màu hồng. Thêm 0,4 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* và 0,05 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)* làm chỉ thị. Dung dịch phải có màu đỏ hoặc màu da cam.

Tạp chất liên quan
Không được quá 0,25 %.
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Cloroform - propanol - acid acetic băng - toluen (4 : 8 : 12 : 76).
Các dung dịch được chuẩn bị ngay trước khi dùng.
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong hỗn hợp *methanol - cloroform* (1 : 9) và pha loãng thành 25 ml với cùng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng hỗn hợp *methanol - cloroform* (1 : 9).
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,1 g pyrimethamin chuẩn trong hỗn hợp *methanol - cloroform* (1 : 9) và pha loãng thành 100 ml với cùng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử (1) thành 200 ml bằng hỗn hợp *methanol - cloroform* (1 : 9). Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 10 ml với cùng hỗn hợp dung môi.
Cách tiến hành:
Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm. Làm khô bản mỏng ngoài không khí. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng đèn tử ngoại 254 nm. Trên sắc ký đồ dung dịch thử (1), bất kỳ vết phụ nào không được có màu đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Sulfat
Không được quá 80 phần triệu (Phụ lục 9.4.14).
Dùng 15 ml dung dịch S. Dung dịch đối chiếu gồm 2,5 ml *dung dịch sulfat mẫu 10 phần triệu* SO_4 *(TT)* và 12,5 ml *nước*.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(0,50 g; 100 °C đến 105 °C; 4 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

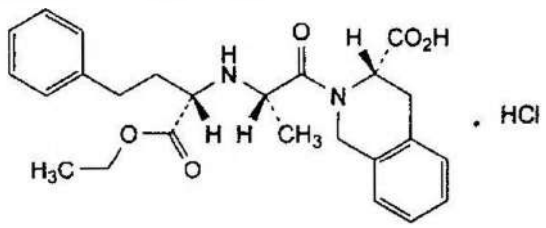
Định lượng
Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 25 ml *acid acetic khan (TT)* bằng cách đun nóng nhẹ. Để nguội, chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 24,87 mg $C_{12}H_{13}ClN_4$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống sốt rét.

Chế phẩm
Viên nén.

QUINAPRIL HYDROCLORID
Quinaprili hydrochloridum



$C_{25}H_{31}ClN_2O_5$ P.t.l: 475,0

Quinapril hydroclorid là acid (3*S*)-2-[(2*S*)-2-[[(1*S*)-1-(ethoxycarbonyl)-3-phenylpropyl]amino]propanoyl]-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-carboxylic hydroclorid, phải chứa từ 98,5 % đến 101,5 % $C_{25}H_{31}ClN_2O_5$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột màu trắng hay gần như trắng hoặc hồng nhạt, hút ẩm. Dễ tan trong nước và ethanol 96 %, rất khó tan trong aceton.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của quinapril hydroclorid chuẩn.

B. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Góc quay cực riêng.

C. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Góc quay cực riêng

Từ +14,4° đến +16,6°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4). Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất đồng phân không đối quang

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.

Pha động: Trộn 260 ml *tetrahydrofuran (TT)* với 740 ml dung dịch mới pha có chứa 0,80 g *natri octansulfonat (TT)* và 2,13 g *amoni dihydrophosphat (TT)* đã được điều chỉnh đến pH 4,5 bằng *acid phosphoric (TT)*.

Hỗn hợp dung môi: Điều chỉnh 500 ml pha động đến pH 6,5 bằng *amoniac (TT)*.

Dung dịch thử: Hòa tan 100 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan quinapril chuẩn dùng để định tính pic (chứa tạp chất G, H và I) có trong một lọ chuẩn trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Nhiệt độ cột: 25 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 3,5 lần thời gian lưu của quinapril.

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo quinapril chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất G, H và I.

Thời gian lưu tương đối so với quinapril (thời gian lưu khoảng 18 min): Tạp chất G khoảng 0,9; tạp chất H khoảng 1,2; tạp chất I khoảng 1,3.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất G và pic của quinapril ít nhất là 1,5. Tỷ số đỉnh - hõm (Hp/Hv) ít nhất là 2,0; trong đó Hp là chiều cao đỉnh pic tạp chất H so với đường nền và Hv là chiều cao tính từ đường nền lên đến đáy hõm phân tách giữa pic tạp chất H và pic quinapril.

Giới hạn:

Tạp chất G, H và I: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,15 %).

Ghi chú:

Tạp chất G: Acid (3*R*)-2-[(2*S*)-2-[[(1*S*)-1-(ethoxycarbonyl)-3-phenylpropyl]amino]propanoyl]-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-carboxylic.

Tạp chất H: Acid (3*R*)-2-[(2*S*)-2-[[(1*R*)-1-(ethoxycarbonyl)-3-phenylpropyl]amino]propanoyl]-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-carboxylic.

Tạp chất I: Acid (3*S*)-2-[(2*S*)-2-[[(1*R*)-1-(ethoxycarbonyl)-3-phenylpropyl]amino]propanoyl]-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-carboxylic.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Acetonitril (TT$_1$) - dung dịch natri dodecyl sulfat 5,77 g/l được điều chỉnh đến pH 2,2 bằng acid phosphoric* (48 : 52).

Hỗn hợp dung môi: *Acetonitril (TT$_1$) - dung dịch amoni dihydrophosphat 2,88 g/l được chỉnh đến pH 6,5 bằng dung dịch amoniac loãng* (40 : 60).

Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan quinapril chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa tạp chất A, C, D, E và G) có trong một lọ chuẩn trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Để tạo tạp chất M, hòa tan 250 mg chế phẩm trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi. Để dung dịch thu được dưới đèn tử ngoại trong 2,5 h sau đó bay hơi dung môi. Hòa tan 40 mg cặn trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (15 cm × 3,9 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).

Nhiệt độ cột: 30 °C.

Nhiệt độ buồng tiêm mẫu: 5 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 214 nm.

Tốc độ dòng: 1,4 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của quinapril.

Pyrimethamin là 5-(4-clorophenyl)-6-ethylpyrimidin-2,4-diamin, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{12}H_{13}ClN_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu gần như trắng hoặc tinh thể không màu. Thực tế không tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của pyrimethamin chuẩn.

B. Nhiệt độ nóng chảy: 239 °C đến 243 °C (Phụ lục 6.7).

C. Hòa tan 0,14 g chế phẩm trong *ethanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Tiếp tục pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Phổ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch trong khoảng từ bước sóng 250 nm đến 300 nm có một cực đại tại 272 nm và một cực tiểu tại 261 nm. Độ hấp thụ riêng tại cực đại có giá trị từ 310 đến 330.

D. Trong phần Tạp chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí và kích thước.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch được chuẩn bị ngay trước khi dùng.

Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (1 : 3) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Dung dịch S: Lắc 1,0 g chế phẩm với 50 ml *nước* trong 2 min, lọc.

Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 0,05 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)*. Dung dịch không màu. Không quá 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)* cần thêm vào để làm chuyển màu chỉ thị sang màu hồng. Thêm 0,4 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* và 0,05 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)* làm chỉ thị. Dung dịch phải có màu đỏ hoặc màu da cam.

Tạp chất liên quan

Không được quá 0,25 %.

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Cloroform - propanol - acid acetic băng - toluen (4 : 8 : 12 : 76).

Các dung dịch được chuẩn bị ngay trước khi dùng.

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong hỗn hợp *methanol - cloroform* (1 : 9) và pha loãng thành 25 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng hỗn hợp *methanol - cloroform* (1 : 9).

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,1 g pyrimethamin chuẩn trong hỗn hợp *methanol - cloroform* (1 : 9) và pha loãng thành 100 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử (1) thành 200 ml bằng hỗn hợp *methanol - cloroform* (1 : 9). Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 10 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Cách tiến hành:

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm. Làm khô bản mỏng ngoài không khí. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng đèn tử ngoại 254 nm. Trên sắc ký đồ dung dịch thử (1), bất kỳ vết phụ nào không được có màu đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Sulfat

Không được quá 80 phần triệu (Phụ lục 9.4.14).

Dùng 15 ml dung dịch S. Dung dịch đối chiếu gồm 2,5 ml *dung dịch sulfat mẫu 10 phần triệu SO_4 (TT)* và 12,5 ml *nước*.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(0,50 g; 100 °C đến 105 °C; 4 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 25 ml *acid acetic khan (TT)* bằng cách đun nóng nhẹ. Để nguội, chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 24,87 mg $C_{12}H_{13}ClN_4$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

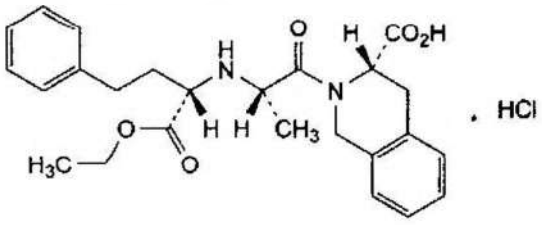
Thuốc chống sốt rét.

Chế phẩm

Viên nén.

QUINAPRIL HYDROCLORID

Quinaprili hydrochloridum



$C_{25}H_{31}ClN_2O_5$ P.t.l: 475,0

Quinapril hydroclorid là acid (3*S*)-2-[(2*S*)-2-[[(1*S*)-1-(ethoxycarbonyl)-3-phenylpropyl]amino]propanoyl]-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-carboxylic hydroclorid, phải chứa từ 98,5 % đến 101,5 % $C_{25}H_{31}ClN_2O_5$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột màu trắng hay gần như trắng hoặc hồng nhạt, hút ẩm. Dễ tan trong nước và ethanol 96 %, rất khó tan trong aceton.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của quinapril hydroclorid chuẩn.

B. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Góc quay cực riêng.

C. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Góc quay cực riêng

Từ +14,4° đến +16,6°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4). Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất đồng phân không đối quang

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.

Pha động: Trộn 260 ml *tetrahydrofuran (TT)* với 740 ml dung dịch mới pha có chứa 0,80 g *natri octansulfonat (TT)* và 2,13 g *amoni dihydrophosphat (TT)* đã được điều chỉnh đến pH 4,5 bằng *acid phosphoric (TT)*.

Hỗn hợp dung môi: Điều chỉnh 500 ml pha động đến pH 6,5 bằng *amoniac (TT)*.

Dung dịch thử: Hòa tan 100 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan quinapril chuẩn dùng để định tính pic (chứa tạp chất G, H và I) có trong một lọ chuẩn trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Nhiệt độ cột: 25 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 3,5 lần thời gian lưu của quinapril.

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo quinapril chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất G, H và I.

Thời gian lưu tương đối so với quinapril (thời gian lưu khoảng 18 min): Tạp chất G khoảng 0,9; tạp chất H khoảng 1,2; tạp chất I khoảng 1,3.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất G và pic của quinapril ít nhất là 1,5. Tỷ số đỉnh - hõm (Hp/Hv) ít nhất là 2,0; trong đó Hp là chiều cao đỉnh pic tạp chất H so với đường nền và Hv là chiều cao tính từ đường nền lên đến đáy hõm phân tách giữa pic tạp chất H và pic quinapril.

Giới hạn:

Tạp chất G, H và I: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,15 %).

Ghi chú:

Tạp chất G: Acid (3*R*)-2-[(2*S*)-2-[[(1*S*)-1-(ethoxycarbonyl)-3-phenylpropyl]amino]propanoyl]-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-carboxylic.

Tạp chất H: Acid (3*R*)-2-[(2*S*)-2-[[(1*R*)-1-(ethoxycarbonyl)-3-phenylpropyl]amino]propanoyl]-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-carboxylic.

Tạp chất I: Acid (3*S*)-2-[(2*S*)-2-[[(1*R*)-1-(ethoxycarbonyl)-3-phenylpropyl]amino]propanoyl]-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-carboxylic.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril (TT_1) - dung dịch natri dodecyl sulfat 5,77 g/l được điều chỉnh đến pH 2,2 bằng acid phosphoric (48 : 52).

Hỗn hợp dung môi: Acetonitril (TT_1) - dung dịch amoni dihydrophosphat 2,88 g/l được chỉnh đến pH 6,5 bằng dung dịch amoniac loãng (40 : 60).

Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan quinapril chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa tạp chất A, C, D, E và G) có trong một lọ chuẩn trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Để tạo tạp chất M, hòa tan 250 mg chế phẩm trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi. Để dung dịch thu được dưới đèn tử ngoại trong 2,5 h sau đó bay hơi dung môi. Hòa tan 40 mg cặn trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (15 cm × 3,9 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).

Nhiệt độ cột: 30 °C.

Nhiệt độ buồng tiêm mẫu: 5 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 214 nm.

Tốc độ dòng: 1,4 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của quinapril.

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo quinapril chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất A, C, D, E và G. Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của tạp chất M. Thời gian lưu tương đối so với quinapril (thời gian lưu khoảng 12 min): Tạp chất A khoảng 0,1; tạp chất C khoảng 0,3; tạp chất D khoảng 0,4; tạp chất M khoảng 0,7; tạp chất G + H khoảng 0,9; tạp chất E khoảng 2,3.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất C và pic của tạp chất D ít nhất là 1,5; độ phân giải giữa pic của tạp chất G và pic của quinapril ít nhất là 1,5.

Giới hạn:

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất E với 1,5.

Tạp chất C, D: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).

Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).

Tạp chất E, M: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu cần, không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,15 %).

Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 10 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %); bỏ qua pic của tạp chất G + H.

Ghi chú:

Tạp chất A: Acid (3*S*)-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-carboxylic.

Tạp chất B: Acid (2*S*)-2-[[(1*S*)-1-(ethoxycarbonyl)-3-phenylpropyl] amino]propanoic.

Tạp chất C: Acid (3*S*)-2-[(2*S*)-2-[[(1*S*)-1-carboxy-3-phenylpropyl] amino]propanoyl]-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-carboxylic.

Tạp chất D: Ethyl (2*S*)-2-[(3*S*,11a*S*)-3-methyl-1,4-dioxo-1,3,4,6,11,11ahexahydro-2*H*-pyrazino[1,2-*b*]isoquinolin-2-yl]-4-phenylbutanoat.

Tạp chất E: Acid (3*S*)-2-[(2*S*)-2-[[(1*S*)-3-cyclohexyl-1- (ethoxy carbonyl)propyl]amino]propanoyl]-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-carboxylic.

Tạp chất J: Acid (1*R*,3*S*)-2-[(2*S*)-2-[[(1*S*)-1-(ethoxycarbonyl)-3-phenylpropyl] (hydroxy)amino]propanoyl]-1-hydroxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-carboxylic.

Tạp chất M: Acid (1*R*,3*S*)-2-[(2*S*)-2-[[(1*S*)-1-(ethoxycarbonyl)-3-phenylpropyl]amino]propanoyl]-1-hydroperoxy-1,2,3,4-tetrahydroisoquinolin-3-carboxylic.

Kim loại nặng

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

Dung môi: Dimethyl sulfoxid (TT).

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo Phương pháp 8. Dùng 2,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu. Nếu chế phẩm kết tủa sau khi thêm *đệm acetat pH 3,5 (TT)* thì pha loãng thành 100 ml bằng *dimethyl sulfoxyd (TT)*, chế phẩm lại tan hoàn toàn. Làm tương tự đối với dung dịch đối chiếu.

Nước

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,500 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan khoảng 0,200 g chế phẩm trong 50 ml *nước*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 23,75 mg $C_{25}H_{31}ClN_2O_5$.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng, nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.

Loại thuốc

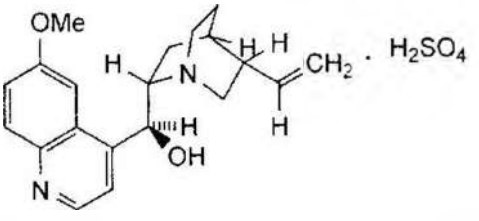
Ức chế men chuyển angiotensin.

Chế phẩm

Viên nén.

QUINIDIN BISULFAT

Quininidini bisulfas



$C_{20}H_{24}N_2O_2.H_2SO_4$ P.t.l: 422,5

Quinidin bisulfat là (8*R*,9*S*)-6'-methoxycinchonan-9-ol hydrosulfat, phải chứa từ 98,5 % đến 101,5 % $C_{20}H_{24}N_2O_2 . H_2SO_4$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Tinh thể không màu, không mùi hoặc gần như không mùi. Dễ tan trong nước và ethanol 96 %, thực tế không tan trong ether.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: *Diethylamin - ether - toluen* (15 : 36 : 60).
Dung dịch thử: Dung dịch chế phẩm 1,0 % trong *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch quinindin sulfat chuẩn 1,0 % trong *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch chứa 1,0 % của quinidin sulfat chuẩn và 1,0 % quinin sulfat chuẩn trong *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 4 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, làm khô bằng luồng không khí trong 15 min và chạy sắc ký nhắc lại. Sấy khô bản mỏng ở 105 °C trong 30 min, để nguội và phun *thuốc thử iodoplatinat (TT)*. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương tự về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách rõ ràng.
B. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử pH.
C. Chế phẩm phải cho phản ứng đặc trưng của sulfat (Phụ lục 8.1).

pH
Từ 2,6 đến 3,6 (Phụ lục 6.2).
Dùng dung dịch chế phẩm 1 % để đo.

Góc quay cực riêng
Từ +246° đến +258°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).
Dùng dung dịch chế phẩm 2 % trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* để đo, dùng ống đo dài 2 dm.

Các alcaloid cinchona khác
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 3,0 g *hexylamin (TT)* trong 700 ml *nước*, điều chỉnh pH đến 2,8 bằng *dung dịch acid phosphoric 1 M (TT)*, thêm 60 ml *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*.
Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong 5 ml pha động, đun nóng nhẹ nếu cần, pha loãng thành 10 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg quinin sulfat chuẩn trong 5 ml pha động, đun nóng nhẹ nếu cần, pha loãng thành 10 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 20 mg quinidin sulfat chuẩn trong 5 ml pha động, đun nóng nhẹ nếu cần, pha loãng thành 10 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (3): Hỗn hợp đồng thể tích của dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (2).
Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 10,0 ml với pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với pha động.
Dung dịch đối chiếu (5): Hòa tan 10 mg *thioure* trong pha động và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (Hypersil ODS 5 µm là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 250 nm khi tiến hành sắc ký dung dịch đối chiếu (5) và ở bước sóng 316 nm khi tiến hành sắc ký cho các dung dịch khác.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu (2) và (5). Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), hệ số phân bố khối lượng của quinidin từ 3,5 đến 4,5, V_0 được tính từ pic thioure thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5), nếu cần điều chỉnh nồng độ acetonitril trong pha động.
Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu (1), (2), (3) và (4). Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), có pic của quinidin và pic của dihydroquinin với thời gian lưu tương đối so với quinin khoảng 1,4.
Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), có hai pic quinindin và dihydroquinidin với thời gian lưu tương đối so với quinidin khoảng 1,2.
Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), có 4 pic quinin, dihydroquinin, quinindin và dihydroquinidin được xác định bằng cách so sánh với thời gian lưu của các pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (1) và (2).
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic của quinin và pic của quinidin ít nhất là 1,5 và độ phân giải giữa pic của quinin và pic của dihydroquinidin ít nhất là 1,0. Tỉ số tín hiệu trên nhiễu ít nhất là 5 đối với pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4).
Tiến hành sắc ký dung dịch thử với thời gian gấp 2,5 lần thời gian lưu của pic chính.
Giới hạn:
Tính hàm lượng phần trăm các tạp chất bằng phương pháp chuẩn hóa diện tích. Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,2 %).
Dihydroquinidin: Không được quá 15 %.
Các tạp chất rửa giải ra trước quinindin: Với mỗi tạp chất, không được quá 5 %.
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, không được quá 2,5 %.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 1).

Nước
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 1 g chế phẩm.

Cation chuẩn độ được
Phải từ 75,3 % đến 79,6 %, tính theo chế phẩm khan, được xác định bằng phương pháp sau: Thêm vào dung dịch nước đã thu được trong phần Định lượng 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)*.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 16,32 mg $[C_{20}H_{26}N_2O_2]^{2+}$

Định lượng
Hòa tan 0,450 g chế phẩm trong 15 ml *nước*. Thêm 25 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* và chiết bằng

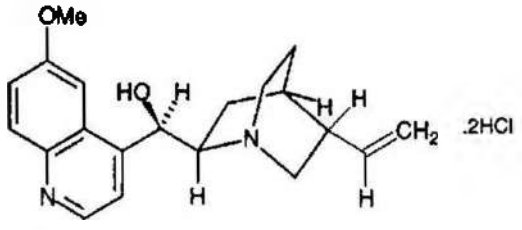
cloroform (TT) 3 lần, mỗi lần 25 ml. Tập trung dịch chiết cloroform. Rửa dịch chiết cloroform mỗi lần bằng 20 ml *nước*. Gộp các dịch nước thu được để đem thử cation chuẩn độ được. Làm khan dịch chiết cloroform bằng *natri sulfat khan (TT)*, bốc hơi tới khô ở áp suất 2 kPa, hòa tan cặn trong 50 ml *acid acetic khan (TT)*. Tiến hành chuẩn độ theo phương pháp định lượng trong môi trường khan (Phụ lục 10.6, phương pháp 1), dùng *dung dịch tím tinh thể (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 21,13 mg $C_{20}H_{24}N_2O_2.H_2SO_4$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống loạn nhịp tim.

Chế phẩm
Viên nén.

QUININ DIHYDROCLORID
Quinini dihydrochloridum



$C_{20}H_{24}N_2O_2.2HCl$ P.t.l: 397,3

Quinin dihydroclorid là (8*S*,9*R*)-6'-methoxycinchonan-9-ol dihydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{20}H_{24}N_2O_2.2HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột trắng hay gần như trắng. Rất tan trong nước, tan trong ethanol 96 %.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Diethylamin - ether - toluen (15 : 36 : 60).
Dung dịch thử: Dung dịch chế phẩm 1,0 % trong *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch quinin sulfat chuẩn 1,0 % trong *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch chứa 1,0 % của mỗi quinidin sulfat chuẩn và quinin sulfat chuẩn trong *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng rẽ lên bản mỏng 4 µl của mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí 15 min và chạy sắc ký nhắc lại. Sau đó sấy khô bản mỏng ở 105 °C trong 30 min, để nguội và phun *thuốc thử iodoplatinat (TT)*. Vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc và kích thước với vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách rõ ràng.
B. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử pH.
C. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

pH
pH của dung dịch chế phẩm 3,0 % từ 2,0 đến 3,0 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng
Từ -223° đến -229°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Dùng dung dịch chế phẩm 3,0 % trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* để đo.

Bari
Thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* vào 15 ml dung dịch chế phẩm 2,0 %. Dung dịch thu được vẫn phải trong ít nhất trong vòng 15 min.

Sulfat
Không được quá 0,12 % (Phụ lục 9.4.14).
Dùng 0,125 g chế phẩm.

Các alcaloid cinchona khác
Yêu cầu và tiến hành thử theo phép thử Các alcaloid cinchona khác trong chuyên luận Quinin bisulfat.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 3,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 1).

Cation chuẩn độ được
Phải từ 79,7 % đến 84,2 %, tính theo chế phẩm đã làm khô.
Hòa tan 0,4 g chế phẩm trong 10 ml *nước*, thêm 40 ml *methanol (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* dùng *dung dịch phenolphtalein (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 16,32 mg $[C_{20}H_{26}N_2O_2]^{2+}$.

Định lượng
Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 50 ml *acid acetic khan (TT)* và 20 ml *anhydrid acetic (TT)*, thêm 10 ml *dung dịch thủy ngân (II) acetat (TT)*. Định lượng bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, dùng *dung dịch tím tinh thể (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương 19,87 mg $C_{20}H_{24}N_2O_2.2HCl$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống sốt rét.

Chế phẩm
Thuốc tiêm.

THUỐC TIÊM QUININ DIHYDROCLORID
Injectio Quinini dihydrochloridi

Là dung dịch vô khuẩn của quinin dihydroclorid trong nước để pha thuốc tiêm.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng của quinin dihydroclorid, $C_{20}H_{24}N_2O_2.2HCl$ từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, gần như không màu tới màu vàng nhạt nhưng không được đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu được chuẩn bị bằng cách pha loãng 10 ml *dung dịch kali dicromat 0,80 mg/ml* bằng *nước* vừa đủ 20 ml.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Diethylamin - aceton - toluen (10 : 20 : 80).
Dung dịch thử: Lấy 1 thể tích chế phẩm có chứa khoảng 0,5 g quinin dihydroclorid, chiết với 50 ml hỗn hợp *cloroform - ethanol 96 %* (2 : 1). Lấy lớp dung môi hữu cơ và lọc.
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch quinin sulfat chuẩn 1,0 % trong hỗn hợp *cloroform - ethanol 96 %* (2 : 1).
Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch có chứa 1,0 % mỗi chất chuẩn quinidin sulfat và quinin sulfat trong hỗn hợp *cloroform - ethanol 96 %* (2 : 1).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 2 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Phun *dung dịch acid sulfuric 0,05 M trong ethanol*, sau đó phun *thuốc thử Dragendorff (TT).*
Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí, màu sắc và kích thước. Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết chính tách biệt rõ ràng.
B. Lấy 0,5 ml chế phẩm, thêm 0,5 ml *dung dịch acid nitric 16 % (TT)* và 0,5 ml *dung dịch bạc nitrat 5 % (TT)* sẽ có tủa trắng lớn nhỏn. Tủa này tan trong *dung dịch amoniac 6 M (TT).*

pH
Không được dưới 2,5 (Phụ lục 6.2).

Các alcaloid cinchona khác
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, điều kiện sắc ký, dung dịch đối chiếu (3), dung dịch đối chiếu (4), cách tiến hành như mô tả trong phép thử Các alcaloid cinchona khác của chuyên luận "Quinin bisulfat".
Dung dịch thử: Pha loãng chế phẩm với pha động để thu được dung dịch có nồng độ 0,2 % quinin dihydroclorid.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg chất chuẩn quinin sulfat (đun nóng nhẹ nếu cần) trong 5 ml pha động và pha loãng thành 10 ml với pha động .
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 20 mg chất chuẩn quinidin sulfat (đun nóng nhẹ nếu cần) trong 5 ml pha động và pha loãng thành 10 ml với pha động.

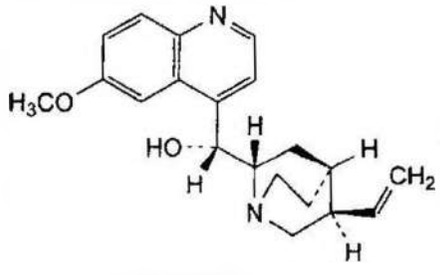
Định lượng
Phương pháp chuẩn độ trong môi trường khan (Phụ lục 10.6).
Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương ứng với 0,6 g quinin dihydrochlorid, thêm 20 ml *nước* và 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 5 M (TT)*, chiết 3 lần, mỗi lần với 25 ml *cloroform (TT)*. Gộp các dịch chiết cloroform và rửa với 20 ml *nước*. Làm khan dịch chiết cloroform với *natri sulfat khan (TT)* và làm bay hơi ở áp suất 2 kPa tới khô. Hòa tan cắn với 50 ml *acid acetic khan (TT)*. Thêm 20 ml *anhydrid acetic (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, dùng *dung dịch tím tinh thể (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 19,87 mg $C_{20}H_{24}N_2O_2.2HCl$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống sốt rét.

Nồng độ thường dùng
25 %, 50 %.
Chú ý: Cần pha loãng trước khi tiêm và có thể tiêm tĩnh mạch chậm theo chỉ dẫn của bác sĩ.

QUININ HYDROCLORID
Quinini hydrochloridum



. HCl . $2H_2O$

$C_{20}H_{24}N_2O_2.HCl.2H_2O$ P.t.l: 396,9

Quinin hydroclorid là (*R*)-[(2*S*,4*S*,5*R*)-5-ethenyl-1-azabicyclo [2.2.2]oct-2-yl](6-methoxyquinolin-4-yl)methanol hydroclorid,

phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{20}H_{24}N_2O_2.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Tinh thể hình kim ống ánh không màu, màu trắng hoặc gần như trắng, mịn, thường tụ thành đám.

Tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %.

Định tính

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

Bản mỏng: *Silica gel G.*

Dung môi khai triển: *Diethylamin - ether - toluen* (10 : 24 : 40).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,10 g quinin sulfat chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng rẽ lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Làm khô bản mỏng bằng luồng không khí trong 15 min và chạy sắc ký nhắc lại. Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 30 min, để nguội và phun *thuốc thử iodoplatinat (TT)*. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương tự về vị trí, màu sắc và kích thước so với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Hòa tan 10 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Lấy 5 ml dung dịch thu được, thêm 0,2 ml *nước brom (TT)* và 1 ml *dung dịch amoniac 2 M (TT)*, màu xanh lục xuất hiện.

C. Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong 3 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* và thêm *nước* thành 100 ml. Xuất hiện huỳnh quang xanh lam đậm khi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở 366 nm. Huỳnh quang này sẽ biến mất gần như hoàn toàn khi thêm 1 ml *acid hydrocloric (TT)*.

D. Chế phẩm phải cho phản ứng của clorid (Phụ lục 8.1).

E. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử pH.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* được chuẩn bị từ *nước cất* và pha loãng thành 50 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu của dung dịch màu mẫu V_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Từ 6,0 đến 6,8 (Phụ lục 6.2).

Pha loãng 10 ml dung dịch S thành 20 ml bằng *nước không có carbon dioxyd (TT)*.

Góc quay cực riêng

Từ -245° đến -258°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi để thử.

Các alcaloid cinchona khác

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Sử dụng phương pháp chuẩn hóa.

Pha động: Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 3,0 g *hexylamin (TT)* trong 700 ml *nước*, điều chỉnh pH đến 2,8 bằng *dung dịch acid phosphoric 1 M (TT)*, thêm 60 ml *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*.

Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong 5 ml pha động, đun nóng nhẹ nếu cần, pha loãng thành 10 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg quinin sulfat chuẩn trong 5 ml pha động, đun nóng nhẹ nếu cần, pha loãng thành 10 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 20 mg quinidin sulfat chuẩn (tạp chất A) trong 5 ml pha động, đun nóng nhẹ nếu cần, pha loãng thành 10 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (3): Trộn đều 1 ml dung dịch đối chiếu (1) và 1 ml dung dịch đối chiếu (2).

Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 10,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (5): Hòa tan 10 mg *thioure (TT)* trong pha động và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (15 cm đến 25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 - 10 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 250 nm ghi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5) và ở bước sóng 316 nm để ghi sắc ký đồ của các dung dịch khác.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2,5 lần thời gian lưu của quinin.

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) để xác định pic của quinin và tạp chất C. Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của các tạp chất A và pic dihydroquinidin. Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), pic của tạp chất A, quinin, dihydroquinidin và tạp chất C được xác định bằng cách so sánh thời gian lưu với pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và (2).

Thời gian lưu tương đối so với quinin của tạp chất C khoảng 1,4.

Thời gian lưu tương đối so với tạp chất A của dihydroquinidin khoảng 1,5.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic của quinin và pic của tạp chất A ít nhất là 3,0 và độ phân giải giữa pic của dihydroquinidin và pic của quinin ít nhất là 2,0. Tỷ số tín hiệu trên nhiễu ít nhất là 4 đối với pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4).

Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), hệ số phân bố khối lượng của tạp chất A từ 3,5 đến 4,5, t_R được tính

từ pic thioure thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5), điều chỉnh nồng độ acetonitril trong pha động (nếu cần).

Giới hạn:

Tạp chất C: Không được quá 10 %.

Các tạp chất rửa giải trước quinin: Với mỗi tạp chất, không được quá 5 %.

Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, không được quá 2,5 %.

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,2 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: (*S*)-[(2*R*,4*S*,5*R*)-5-ethenyl-1-azabicyclo[2.2.2]oct-2-yl](6-methoxyquinolin-4-yl)methanol (quinidin).

Tạp chất B: (*R*)-[(2*S*,4*S*,5*R*)-5-ethenyl-1-azabicyclo[2.2.2]oct-2-yl] (quinolin-4-yl)methanol (cinchonidin).

Tạp chất C: (*R*)-[(2*S*,4*S*,5*R*)-5-ethyl-1-azabicyclo[2.2.2]oct-2-yl](6-methoxyquinolin-4-yl)methanol (dihydroquinin).

Bari

Thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* vào 15 ml dung dịch S, để yên 15 min, dung dịch thu được không được đục hơn hỗn hợp gồm 15 ml dung dịch S và 1 ml *nước cất*.

Sulfat

Không được quá 0,05 % (Phụ lục 9.4.14).

Lấy 15 ml dung dịch S tiến hành thử.

Mất khối lượng do làm khô

Từ 6,0 % đến 10,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 50 ml *ethanol 96 % (TT)* và thêm 5,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Đọc thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tiêu thụ giữa 2 điểm uốn.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 36,09 mg $C_{20}H_{24}N_2O_2$.HCl.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

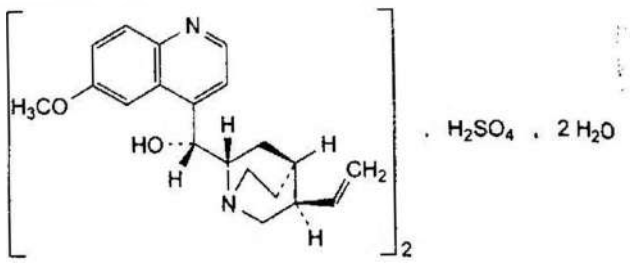
Chống sốt rét.

Chế phẩm

Viên nén.

QUININ SULFAT

Quinini sulfas



$(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2.H_2SO_4.2H_2O$ P.t.l: 783,0

Quinin sulfat là bis[(*R*)-[(2*S*,4*S*,5*R*)-5-ethenyl-1-azabicyclo [2.2.2]oct-2-yl](6-methoxyquinolin-4-yl)methanol]sulfat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2.H_2SO_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, hoặc tinh thể hình kim không màu, mịn. Khó tan trong nước, hơi tan trong nước sôi và ethanol 96 %.

Định tính

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

Bản mỏng: *Silica gel G.*

Dung môi khai triển: *Diethylamin - ether - toluen* (10 : 24 : 40).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,10 g quinin sulfat chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng làm khô trong luồng không khí 15 min và chạy sắc ký nhắc lại. Sau đó làm khô bản mỏng ở 105 °C trong 30 min, để nguội và phun *thuốc thử iodoplatinat (TT)*. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương tự về vị trí, màu sắc và kích thước so với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Hòa tan khoảng 5 mg chế phẩm trong 5 ml *nước*. Thêm 0,2 ml *nước brom (TT)* và 1 ml *dung dịch amoniac 2 M (TT)*, màu xanh lục xuất hiện.

C. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 3 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* và pha loãng thành 100 ml với *nước*. Huỳnh quang màu xanh lam đậm xuất hiện khi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở 366 nm, huỳnh quang này sẽ biến mất khi thêm 1 ml *acid hydrocloric (TT)*.

D. Hòa tan khoảng 45 mg chế phẩm trong 5 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*. Dung dịch thu được cho phản ứng A của sulfat (Phụ lục 8.1).

E. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử pH.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn dung dịch màu mẫu VL_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Từ 5,7 đến 6,6 (Phụ lục 6.2).
Dùng hỗn dịch chế phẩm 10 g/l trong *nước* để đo,

Góc quay cực riêng
Từ -237° đến -245°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Dùng dung dịch S để đo.

Các alcaloid cinchona khác
Yêu cầu và tiến hành thử theo phép thử Các alcaloid cinchona khác trong chuyên luận Quinin hydroclorid.

Mất khối lượng do làm khô
Từ 3,0 % đến 5,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 10 ml *cloroform (TT)* và 20 ml *anhydrid acetic (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 24,90 mg $(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2.H_2SO_4$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống sốt rét.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN QUININ SULFAT
Tabellae Quinini sulfatis

Là viên nén chứa quinin sulfat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng quinin sulfat, $(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2.H_2SO_4.2H_2O$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Diethylamin - aceton - toluen (10 : 20 : 80).
Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên đã nghiền mịn có chứa khoảng 0,1 g quinin sulfat, lắc kỹ với 10 ml hỗn hợp *cloroform - ethanol 96 %* (2 : 1).
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch quinin sulfat chuẩn 1,0 % trong hỗn hợp *cloroform - ethanol 96 %* (2 : 1).
Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch có chứa 1,0 % mỗi chất chuẩn quinidin sulfat và quinin sulfat trong hỗn hợp *cloroform - ethanol 96 %* (2 : 1).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 2 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí. Phun *dung dịch acid sulfuric 0,05 M trong ethanol*, sau đó phun *thuốc thử Dragendorff (TT)*. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí, màu sắc và kích thước. Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết chính tách biệt rõ ràng.
B. Lắc kỹ một lượng bột viên có chứa 0,25 g quinin sulfat với 25 ml hỗn hợp *cloroform - ethanol 96 %* (2 : 1) và lọc. Làm bay hơi dịch lọc tới khô và rửa cắn còn lại với 10 ml *ether (TT)*. Sấy khô cắn ở nhiệt độ 60 °C và áp suất không quá 15 Pa trong 2 h. pH của hỗn dịch 1,0 % cắn trong *nước* đo được phải từ 5,7 đến 6,6.
C. Lắc kỹ một lượng bột viên có chứa 0,1 g quinin sulfat với 20 ml *nước* và lọc. Dịch lọc cho phản ứng đặc trưng của ion sulfat (Phụ lục 8.1).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Lấy một phần môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M* (nếu cần) để có nồng độ quinin sulfat khoảng 35 µg/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 348 nm, trong cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan.
Tính hàm lượng quinin sulfat, $(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2.H_2SO_4.2H_2O$, trong viên theo A (1 %, 1 cm). Lấy 136 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng cực đại 348 nm.
Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng quinin sulfat so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Các alcaloid cinchona khác
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, điều kiện sắc ký, dung dịch đối chiếu (3), dung dịch đối chiếu (4), cách tiến hành như mô tả trong phép thử Các alcaloid cinchona khác của chuyên luận "Quinin bisulfat".
Dung dịch thử: Cân chính xác 1 lượng bột viên tương ứng với 50 mg quinin sulfat, thêm 20 ml pha động. Đun nóng nhẹ để hòa tan hoàn toàn hoạt chất. Làm nguội, pha loãng với pha động thành 25,0 ml và lọc.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg chất chuẩn quinin sulfat (đun nóng nhẹ nếu cần) trong 5 ml pha động và pha loãng thành 10 ml với pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 20 mg chất chuẩn quinidin sulfat (đun nóng nhẹ nếu cần) trong 5 ml pha động và pha loãng thành 10 ml với pha động.

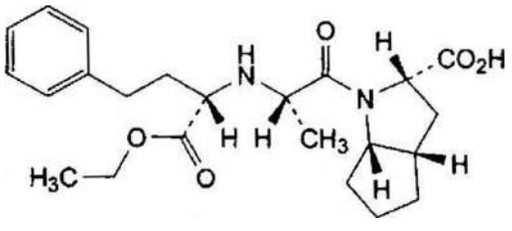
Định lượng
Tiến hành phương pháp chuẩn độ trong môi trường khan (Phụ lục 10.6).
Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền nhỏ thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,4 g quinin sulfat, thêm 40 ml *anhydrid acetic (TT)*, đun nóng để hòa tan hoàn toàn hoạt chất. Làm nguội rồi chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, dùng *dung dịch tím tinh thể (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 26,10 mg $(C_{20}H_{24}N_2O_2)_2.H_2SO_4.2H_2O$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống sốt rét.

Hàm lượng thường dùng
250 mg, 500 mg.

RAMIPRIL
Ramiprilum



$C_{23}H_{32}N_2O_5$ P.t.l: 416.5

Ramipril là acid (2*S*,3a*S*,6a*S*)-1-[(*S*)-2-[[(*S*)-1-(ethoxycarbonyl)-3-phenylpropyl]amino]propanoyl]octahydrocyclo penta[*b*]pyrrol-2-carboxylic, phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $C_{23}H_{32}N_2O_5$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hay gần như trắng.
Hơi tan trong nước, dễ tan trong methanol.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của ramipril chuẩn.
B. Phải đáp ứng phép thử Góc quay cực riêng.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực riêng
Từ +32,0° đến +38,0°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong hỗn hợp dung môi gồm 14 thể tích *dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT)* và 86 thể tích *methanol (TT)* vừa đủ 25,0 ml.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.4).
Pha động A: Hòa tan 2,0 g *natri perclorat (TT)* trong hỗn hợp gồm 0,5 ml *triethylamin (TT)* và 800 ml *nước*, điều chỉnh về pH 3,6 bằng *acid phosphoric (TT)*, sau đó thêm 200 ml *acetonitril (TT)*, trộn đều.
Pha động B: Hòa tan 2,0 g *natri perclorat (TT)* trong hỗn hợp gồm 0,5 ml *triethylamin (TT)* và 300 ml *nước*, điều chỉnh về pH 2,6 bằng *acid phosphoric (TT)*, sau đó thêm 700 ml *acetonitril (TT)*, trộn đều.
Dung dịch thử: Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 20,0 ml với cùng pha động.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg của từng tạp chất A chuẩn của ramipril, tạp chất B chuẩn của ramipril, tạp chất C chuẩn của ramipril và tạp chất D chuẩn của ramipril trong 5 ml dung dịch thử và pha loãng thành 10,0 ml bằng pha động B.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động B. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml bằng pha động B.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 10,0 ml bằng pha động B.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 µm).
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 210 nm.
Nhiệt độ cột: 65 °C.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Ghi chú
0 - 6	90	10	Đẳng dòng
6 - 7	90 → 75	10 → 25	Tuyến tính
7 - 20	75 → 65	25 → 35	Tuyến tính
20 - 30	65 → 25	35 → 75	Tuyến tính
30 - 40	25	75	Đẳng dòng
40 - 45	25 → 90	75 → 10	Tuyến tính
45 - 55	90	10	Cân bằng lại

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Cân bằng cột bằng hỗn hợp gồm 90 % pha động A và 10 % pha động B với thời gian ít nhất là 35 min. Trong trường hợp không thu được

đường nền thích hợp, thì sử dụng triethylamin có độ tinh khiết cao hơn. Tiêm dung dịch đối chiếu (3). Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho phải xuất hiện pic trên sắc ký đồ. Tiêm lần lượt các dung dịch đối chiếu (1), dung dịch đối chiếu (2) và dung dịch thử. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa các pic tương ứng với tạp chất A và ramipril trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) ít nhất là 3,0; pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (3) có tỉ lệ tín hiệu/nhiễu ít nhất bằng 3; hệ số đối xứng của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử từ 0,8 đến 2,0.

Thời gian lưu của tạp chất A khoảng 14 min, ramipril khoảng 18 min, tạp chất B khoảng 22 min, toluen khoảng 24 min, tạp chất C khoảng 26 min và tạp chất D khoảng 28 min.

Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, diện tích của pic tương ứng với tạp chất C được nhân với hệ số hiệu chỉnh là 2,4.

Giới hạn:

Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử: Diện tích của các pic tương ứng với tạp chất A, tạp chất B, tạp chất C và tạp chất D không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %); diện tích của bất cứ pic nào khác với pic chính và các pic tạp chất A, B, C và D không được lớn hơn 0,2 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %); tổng diện tích các pic, trừ pic chính, không được lớn hơn 2 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (3).

Ghi chú:

Tạp chất A (ramipril methyl ester): Acid (2*S*, 3a*S*, 6a*S*)-1-[(*S*)-2-[[(*S*)-1-(methoxycarbonyl)-3-phenylpropyl]amino]propanoyl] octahydrocyclopenta[*b*]- pyrrol-2-carboxylic.

Tạp chất B (ramipril isopropyl ester): Acid (2*S*, 3a*S*, 6a*S*)-1-[(*S*)-2-[[(*S*)-1-[(1-methylethoxy)carbonyl]-3-phenyl-propyl]amino] propanoyl]octahydrocyclopenta[*b*]pyrrol-2-carboxylic.

Tạp chất C (hexahydroramipril): Acid (2*S*, 3a*S*, 6a*S*)1-[(*S*)-2-[[(*S*)-3-cyclohexyl-1-(ethoxycarbonyl)propyl]amino] propanoyl]octahydrocyclopenta[*b*]pyrrol-2-carboxylic.

Tạp chất D (ramipril diketopiperazin): Ethyl (2*S*)-2-[(3*S*, 5a*S*, 8a*S*, 9a*S*)-3-methyl-1,4-dioxodecahydro-2*H*-cyclopenta[4,5]pyrrolo[1,2-a] pyrazin-2-yl]-4-phenylbutanoat.

Paladi

Không được quá 20 phần triệu.

Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong hỗn hợp dung môi gồm 0,3 thể tích *acid nitric (TT)* và 99,7 thể tích *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Các dung dịch đối chiếu: Pha loãng *dung dịch paladi mẫu 0,5 phần triệu Pd (TT)* với hỗn hợp dung môi gồm 0,3 thể tích *acid nitric (TT)* và 99,7 thể tích *nước* để thu được các dung dịch có chứa 0,02 µg, 0,03 µg và 0,05 µg paladi/ml, sử dụng các dung dịch này ngay sau khi pha.

Dung dịch mẫu trắng: Hòa tan 0,150 g *magnesi nitrat (TT)* trong hỗn hợp dung môi gồm 0,3 thể tích *acid nitric (TT)* và 99,7 thể tích *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Cách tiến hành: Tiêm lần lượt 20 µl của các dung dịch thử, dung dịch chuẩn và 10 µl dung dịch mẫu trắng. Đo độ hấp thụ ở 247,6 nm sử dụng đèn cathod rỗng paladi làm nguồn bức xạ, lò graphit và dải truyền quang thích hợp là 1 nm.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; trong chân không hoàn toàn; 60 °C; 4 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong 25 ml *methanol (TT)* và thêm 25 ml *nước*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2), song song tiến hành mẫu trắng.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 41,65 mg $C_{23}H_{32}N_2O_5$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Điều trị cao huyết áp, suy tim.

Chế phẩm

Nang, viên nén.

VIÊN NÉN RAMIPRIL

Tabellae Ramiprili

Là viên nén chứa ramipril.

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

Hàm lượng ramipril, $C_{23}H_{32}N_2O_5$, từ 90,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

Lắc một lượng bột viên tương đương với khoảng 25 mg ramipril với 50 ml *aceton (TT)*, ly tâm trong 10 min, lọc lớp dịch trong ở trên qua màng lọc 0,45 µm. Bốc hơi dịch lọc trên cách thủy đến khô, sau đó sấy cắn ở 60 °C trong 3 h. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của ramipril.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 500 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.

Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, Điều kiện sắc ký, Cách tiến hành thực hiện như mô tả ở mục Định lượng.
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, bỏ 5 ml dịch lọc đầu. Pha loãng nếu cần với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ ramipril khoảng 2,5 µg/ml.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch ramipril chuẩn 0,00025 % trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*
Tính lượng ramipril hòa tan trong mỗi viên từ diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{23}H_{32}N_2O_5$ trong ramipril chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng ramipril, $C_{23}H_{32}N_2O_5$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2).
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, Điều kiện sắc ký và *Cách tiến hành* thực hiện như mô tả ở mục Định lượng.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch ramipril chuẩn 0,025 % trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*
Dung dịch thử: Lấy một viên, thêm 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, lắc siêu âm 10 min và pha loãng bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ ramipril 0,025 %. Ly tâm hoặc lọc để được dung dịch trong.

Định lượng
Viên có hàm lượng ramipril bằng hoặc lớn hơn 2 mg
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Trộn đều 420 thể tích *acetonitril (TT)* và 580 thể tích dung dịch chứa 1,4 % *natri perclorat (TT)* và 0,58 % *acid phosphoric (TT)* đã được chỉnh đến pH 2,5 bằng *triethylamin (TT).* Điều chỉnh pH của hỗn hợp đến 2,1 bằng *acid phosphoric (TT).*
Dung dịch chuẩn: Dung dịch ramipril chuẩn 0,025 % trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 25 mg ramipril vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và lắc siêu âm 10 min, thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (12,5 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm), Nucleosil 100 - C18 là phù hợp.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng ramipril, $C_{23}H_{32}N_2O_5$, trong mỗi viên từ diện tích pic ramipril trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{23}H_{32}N_2O_5$ trong ramipril chuẩn.

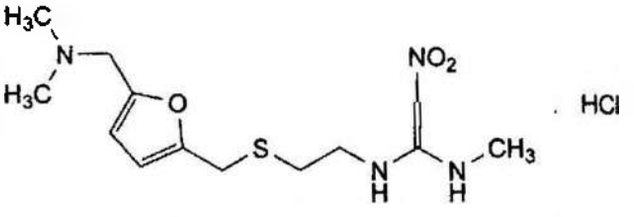
Viên có hàm lượng ramipril nhỏ hơn 2 mg
Lấy giá trị trung bình của kết quả định lượng 10 viên trong phép thử Độ đồng đều hàm lượng.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống tăng huyết áp.

Hàm lượng thường dùng
1,25 mg, 2,5 mg, 5 mg.

RANITIDIN HYDROCLORID
Ranitidini hydrochloridum



$C_{13}H_{22}N_4O_3S.HCl$ P.t.l: 350,9

Ranitidin hydroclorid là *N*-[2-[[[5-[(dimethylamino)methyl] furan-2-yl]methyl]sulfanyl]ethyl]-*N'*-methyl- 2-nitroethen-1,1-diamin hydroclorid, phải chứa từ 98,5 % đến 101,5 % $C_{13}H_{22}N_4O_3S.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc vàng nhạt, đa hình.
Dễ tan trong nước, hơi tan hay khó tan trong ethanol khan, rất khó tan trong methylen clorid.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của ranitidin hydroclorid chuẩn. Nếu phổ hấp thụ của chế phẩm và chuẩn khác nhau thì hòa tan riêng rẽ 10 mg chế phẩm và 10 mg ranitidin hydroclorid chuẩn trong 0,5 ml *methanol (TT)* trong cối mã não, bốc hơi đến khô dưới luồng khí *nitrogen (TT).* Sấy cắn trong chân không trong 30 min, thêm 3 giọt *parafin lỏng (TT)* vào cắn và nghiền đến khi thành hỗn hợp bột nhão có màu trắng đục, nén hỗn hợp thu được vào giữa hai đĩa trong suốt và ghi phổ mới.
B. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn dung dịch màu mẫu VN_5 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Từ 4,5 đến 6,0 (Phụ lục 6.2).
Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: *Acetonitril - dung dịch đệm* (2 : 98).
Pha động B: *Acetonitril - dung dịch đệm* (22 : 78).
Dung dịch đệm: Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 950 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 7,1 bằng *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)* và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*.
Dung dịch thử: Hòa tan 13 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 6,5 mg tạp chất A chuẩn của ranitidin trong pha động A và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động A.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan tạp chất J chuẩn của ranitidin có trong một lọ chuẩn trong 1,0 ml dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu (4): Để tạo tạp chất D và H, Hòa tan 6,5 mg chế phẩm trong 2,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* và đun nóng đến 60 °C trong 5 min, rồi pha loãng thành 50,0 ml bằng pha động A.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *octadecylsilyl amorphous organosilica polymer* (3,5 µm).
Nhiệt độ cột: 35 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 10	100 → 0	0 → 100
10 - 15	0	100

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1), (2), (3) và mẫu trắng là pha động A.
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo tạp chất A chuẩn của ranitidin dùng và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất A. Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của tạp chất J. Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của tạp chất D và H.
Thời gian lưu tương đối so với ranitidin (thời gian lưu khoảng 7 min): Tạp chất H khoảng 0,1; tạp chất G khoảng 0,2; tạp chất F khoảng 0,4; tạp chất B khoảng 0,5; tạp chất C khoảng 0,6; tạp chất E khoảng 0,7; tạp chất D khoảng 0,8; tạp chất J khoảng 0,9; tạp chất I khoảng 1,3; tạp chất A khoảng 1,7.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic của tạp chất J và pic của ranitidin ít nhất là 1,5. Sắc ký đồ của mẫu trắng không được có bất kỳ pic nào có cùng thời gian với pic của tạp chất A trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (1).
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất J với 2.
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).
Tạp chất B, C, D, E, F, G, H, I, J: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu cần, không được lớn hơn 0,2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).
Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,1 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất trừ tạp chất A không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: *N,N'*-bis[2-[[[5-[(dimethylamino)methyl]furan-2-yl]methyl]sulfanyl]ethyl]-2- nitroethen-1,1-diamin.
Tạp chất B: 2-[[[5-[(dimethylamino)methyl]furan-2- yl]methyl] sulfanyl]ethanamin.
Tạp chất C: *N*-[2-[[[5-[(dimethylamino)methyl]furan-2-yl] methyl] sulfinyl]ethyl]-*N'*-methyl-2- nitroethen-1,1-diamin.
Tạp chất D: *N*-[2-[[[5-[(dimethylamino)methyl]furan-2-yl] methyl]sulfanyl]ethyl]-2-nitroacetamid.
Tạp chất E: *N*-[2-[[[5-[(dimethyloxidoamino)methyl]furan-2-yl] methyl]sulfanyl]ethyl]-*N'*-methyl-2-nitroethen-1,1-diamin.
Tạp chất F: [5-[(dimethylamino)methyl]furan-2-yl]methanol.
Tạp chất G: 3-(methylamino)-5,6-dihydro-2*H*-1,4-thiazin-2-on-oxim.
Tạp chất H: *N*-methyl-2-nitroacetamid.
Tạp chất I: 2,2'-methylenbis[*N*-[2-[[[5-[(dimethylamino)methyl] furan-2-yl]methyl]sulfanyl]ethyl]-*N'*-methyl-2-nitroethen-1,1-diamin].
Tạp chất J: 1,1'-*N*-[methylenbis(sulfandiylethylen)]bis(*N'*-methyl-2-nitroethen-1,1-diamin).
Tạp chất K: *N*-methyl-1-methylthio-2-nitroethenamin.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm để thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,75 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 60 °C; trong chân không).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,280 g chế phẩm trong 35 ml *nước*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 35,09 mg $C_{13}H_{23}ClN_4O_3S$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng thụ thể H_2-histamin; điều trị loét dạ dày.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN RANITIDIN
Tabellae Ranitidini

Là viên nén bao phim chứa ranitidin hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng ranitidin, $C_{13}H_{22}N_4O_3S$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Tạp chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải tương ứng về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic ranitidin hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
C. Lắc một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,1 g ranitidin với 2 ml *nước* và lọc. Dịch lọc phải cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi triển khai: Nước - amoniac 18 M - 2-propanol - ethyl acetat (2 : 4 : 15 : 25).
Dung dịch thử (1): Lắc một lượng bột viên tương ứng với 0,45 g ranitidin với 20 ml *methanol (TT)*, lọc (giấy lọc Whatman số 1 là thích hợp).
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50 mg ranitidin hydroclorid chuẩn trong 20 ml *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 200 ml bằng *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 20 ml bằng *methanol (TT)*, lấy 3 ml dung dịch này pha loãng thành 50 ml bằng *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (1) thành 20 ml bằng *methanol (TT)*, lấy 1 ml dung dịch này pha loãng thành 50 ml bằng *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (5): Chứa 0,10 % tạp chất ranitidin B chuẩn trong *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (6): Chứa 0,10 % tạp chất ranitidin B chuẩn trong dung dịch thử (1).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được ít nhất khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí, đặt bản mỏng vào bình chứa hơi iod đến khi xuất hiện các vết trên bản mỏng.
Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) không được đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %), không có quá 1 vết đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (3) (0,3 %) và không có quá 3 vết đậm màu hơn vết trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (4) (0,1 %). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6) có 2 vết tương ứng với ranitidin và tạp chất ranitidin B tách ra rõ ràng.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)
Pha động: Dung dịch amoni acetat 0,1 M - methanol (15 : 85).
Dung dịch chuẩn: Dung dịch ranitidin hydroclorid chuẩn 0,0112 % trong pha động.
Dung dịch thử: Cho 10 viên chế phẩm vào bình định mức 500 ml, thêm 400 ml pha động lắc cho các viên rã hoàn toàn (khoảng 15 min) thêm pha động đến định mức, lắc đều, lọc (giấy lọc Whatman GF/C là thích hợp). Pha loãng dịch lọc bằng pha động để được dung dịch có nồng độ 0,01 % ranitidin.
Dung dịch phân giải: Chứa 0,0112 % ranitidin hydroclorid chuẩn và 0,0002 % dimethyl{5-[2-(1-methyl-amino-2-nitrovinylamino)ethylsulfinylmethyl]furfuryl}amin chuẩn trong pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 322 nm.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích đáp ứng từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn 2 %. Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, trên sắc ký đồ thu được của dung dịch phân giải pic ranitidin phải tách rõ so với pic của dimethyl{5-[2-(1-methylamino-2-nitrovinylamino)ethyl sulfinylmethyl]furfuryl}amin chuẩn.
Tiến hành sắc ký lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng ranitidin, $C_{13}H_{22}N_4O_3S$, có trong viên dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{13}H_{22}N_4O_3S$ của ranitidin hydroclorid chuẩn.

Hệ số chuyển đổi từ ranitidin hydroclorid ($C_{13}H_{22}N_4O_3S.HCl$) sang ranitidin ($C_{13}H_{22}N_4O_3S$) là 0,8961.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Đối kháng thụ thể Histamin H_2.

Hàm lượng thường dùng
150 mg, 300 mg.

RETINOL (VITAMIN A) TỔNG HỢP ĐẬM ĐẶC DẠNG BỘT

Vitamini synthetici densati A pulvis

Retinol tổng hợp đậm đặc dạng bột được điều chế bằng cách phân tán ester tổng hợp của retinol trong chất nền gelatin hoặc gôm arabic hoặc chất thích hợp khác. Chế phẩm có thể chứa chất ổn định thích hợp như chất chống oxy hóa.
Hàm lượng vitamin A trong chế phẩm phải từ 95,0 % đến 115,0 % so với hàm lượng ghi trên nhãn (không được ít hơn 250 000 IU/g).

Tính chất
Bột màu hơi vàng, thường dưới dạng hạt có kích thước gần như đồng nhất. Thực tế không tan trong nước, trương nở hoặc tạo thành nhũ tương phụ thuộc vào công thức điều chế.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* F_{254}.
Dung môi khai triển: *Ether - cyclohexan* (20 : 80).
Dung dịch thử: Cho vào ống nghiệm nút mài có dung tích 20 ml một lượng chế phẩm tương ứng với khoảng 17 000 IU vitamin A. Thêm khoảng 20 mg *bromelains (TT)*, 2 ml *nước* và khoảng 150 µl *2-propanol (TT)*, lắc tròn nhẹ nhàng trong 2 min đến 5 min trong cách thủy ở 60 °C đến 65 °C. Làm nguội đến dưới 30 °C và thêm 5 ml *2-propanol (TT)* có chứa 1 g/l *butylhydroxytoluen (TT)*. Lắc mạnh trong 1 min, để yên trong vài phút và sử dụng lớp dung dịch phía trên.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch 10 mg/ml các chất chuẩn ester của retinol (tương đương khoảng 3,3 IU mỗi ester trong 1 µl) trong *2-propanol (TT)* có chứa 1 g/l *butyl hydroxytoluen (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 3 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai ngay trong bình sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để khô bản mỏng trong không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu có các vết riêng rẽ tương ứng với các ester. Thứ tự rửa giải từ dưới lên trên là: Retinol acetat, retinol propionat và retinol palmitat. Thành phần của dung dịch thử được xác định bằng cách so sánh vết chính hoặc các vết trên sắc ký đồ của dung dịch thử với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Định lượng
Tiến hành theo phương pháp 4 (Phụ lục 10.10).

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng. Khi đã mở nên sử dụng chế phẩm càng nhanh càng tốt. Nếu chế phẩm chưa sử dụng hết ngay nên bảo quản bằng khí trơ.

Nhãn
Nhãn phải ghi:
Số đơn vị quốc tế (IU) trong 1 g.
Tên của ester hay các ester.
Tên của tá dược chính hay các tá dược đã dùng và tên của bất kỳ các chất ổn định đã được thêm vào.

Loại thuốc
Vitamin A.

Chế phẩm
Nang mềm.

RETINOL (VITAMIN A) TỔNG HỢP ĐẬM ĐẶC DẠNG DẦU

Vitaminum A syntheticum densatum oleosum

Retinol tổng hợp đậm đặc dạng dầu được điều chế từ ester tổng hợp của retinol và được pha loãng hoặc không pha loãng bằng dầu thực vật thích hợp. Chế phẩm có thể chứa chất ổn định thích hợp như chất chống oxy hóa.
Hàm lượng vitamin A trong chế phẩm phải từ 95,0 % đến 110,0 % so với hàm lượng ghi trên nhãn (không được ít hơn 500 000 IU/g).

Tính chất
Chất lỏng dạng dầu, màu vàng hay vàng nâu. Thực tế không tan trong nước, tan hay tan một phần trong ethanol khan, trộn lẫn được với dung môi hữu cơ. Dung dịch có hàm lượng cao có thể kết tinh một phần.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* F_{254}.
Dung môi khai triển: *Ether - cyclohexan* (20 : 80).
Dung dịch thử: Chuẩn bị dung dịch chế phẩm có nồng độ khoảng 3,3 IU vitamin A trong 1 µl *cyclohexan (TT)* có chứa 0,1 % *butylhydroxytoluen (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Chuẩn bị dung dịch các chất chuẩn ester của retinol 0,1 % (tương đương khoảng 3,3 IU mỗi ester trong 1 µl) trong *cyclohexan (TT)* có chứa 0,1 % *butylhydroxytoluen (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 3 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai ngay trong bình sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để khô bản mỏng trong không

khí và quan sát dưới ánh sáng từ ngoại ở bước sóng 254 nm. Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu có các vết riêng biệt tương ứng với các ester. Thứ tự rửa giải từ dưới lên trên là: Retinol acetat, retinol propionat và retinol palmitat. Thành phần của dung dịch thử được xác định bằng cách so sánh vết chính hoặc các vết trên sắc ký đồ của dung dịch thử với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Chỉ số acid
Không được quá 2,0 (Phụ lục 7.2).
Dùng 2,0 g chế phẩm.

Chỉ số peroxyd
Không được quá 10,0 (Phụ lục 7.6, phương pháp A).

Định lượng
Trong quá trình định lượng, nếu xảy ra sự kết tinh một phần thì có thể hòa tan lại chế phẩm bằng cách đun nóng ở 65 °C nhưng tránh đun nóng kéo dài.
Tiến hành theo phương pháp 1 hoặc 4 (Phụ lục 10.10).

Bảo quản
Trong bao bì kín, đổ đầy, tránh ánh sáng.
Khi đã mở nên sử dụng chế phẩm càng nhanh càng tốt. Nếu chế phẩm chưa sử dụng hết ngay nên bảo quản bằng khí trơ.

Nhãn
Nhãn phải ghi:
Số đơn vị quốc tế (IU) trong 1 g.
Tên của ester hay các ester.
Tên của bất kỳ các chất ổn định đã được thêm vào.
Phương pháp tạo lại dung dịch trong trường hợp chế phẩm bị kết tinh.

Loại thuốc
Vitamin A.

Chế phẩm
Nang mềm.

NANG MỀM VITAMIN A
Molles capsulae Vitamini A

Là nang mềm chứa dung dịch vitamin A trong dầu tinh chế thích hợp.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng vitamin A, từ 90,0 % đến 120,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Nang mềm chứa dầu trong suốt, màu đồng nhất.

Định tính
A. Trong phần Định lượng:
Nếu tiến hành bằng phương pháp đo quang thì phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử phải có cực đại đáp ứng yêu cầu của phép định lượng.
Nếu tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao thì sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải cho một pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.
B. Pha loãng một lượng dầu trong nang với *cloroform (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 10 IU/ml đến 20 IU/ml. Lấy 1 ml dung dịch thu được, thêm 2 ml *dung dịch antimony triclorid (TT)*, xuất hiện màu xanh không bền.

Định lượng
Tiến hành như mô tả trong Phụ lục 10.10. Định lượng vitamin A.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Vitamin.

Hàm lượng thường dùng
2000 IU; 5000 IU.

NANG MỀM VITAMIN A VÀ D
Molles capsulae Vitamini A et D

Là nang mềm chứa vitamin A và vitamin D_3.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng vitamin A và vitamin D_3, từ 90,0 % đến 120,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Nang mềm, bên trong chứa dầu trong suốt, màu đồng nhất.

Định tính
A. Trong phần Định lượng vitamin A (Phụ lục 10.10):
Nếu tiến hành bằng phương pháp đo quang thì phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử phải có cực đại đáp ứng yêu cầu của phép định lượng.
Nếu tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao, thì sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải có một pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic vitamin A trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn.
B. Pha loãng một lượng dầu chứa trong nang với *cloroform (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ vitamin A khoảng 10 IU/ml đến 20 IU/ml. Lấy 1 ml dung dịch, thêm 2 ml *dung dịch stibi triclorid (TT)*, xuất hiện màu xanh không bền.
C. Trong phần Định lượng vitamin D_3, sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải cho một pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.

Định lượng

Định lượng vitamin A (Phụ lục 10.10)

Tiến hành như mô tả trong Phụ lục 10.10. Định lượng vitamin A.

Định lượng vitamin D_3

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3), trong điều kiện tránh ánh sáng.

Pha động: *Methanol - ethyl acetat - nước* (90 : 7 : 3).

Dung dịch chuẩn: Dung dịch vitamin D_3 (colecalciferol) chuẩn trong *ethanol (TT)*, có nồng độ chính xác khoảng 20 IU/ml.

Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của thuốc trong nang, trộn đều. Cân chính xác một lượng dầu chứa trong nang tương ứng với 500 IU vitamin D_3 vào bình định mức 25 ml. Thêm khoảng 20 ml *ethanol (TT)*, lắc kỹ để hòa tan (nếu cần, trước khi thêm ethanol có thể cho thêm 1 ml *ethyl acetat (TT)* để hòa tan hết dầu). Thêm *ethanol (TT)* đến định mức, lắc đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm đến 10 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 265 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 100 µl.

Cách tiến hành:

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

Tính hàm lượng vitamin D_3 trong nang dựa vào diện tích (hay chiều cao) pic vitamin D_3 thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và nồng độ vitamin D_3 của dung dịch chuẩn.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

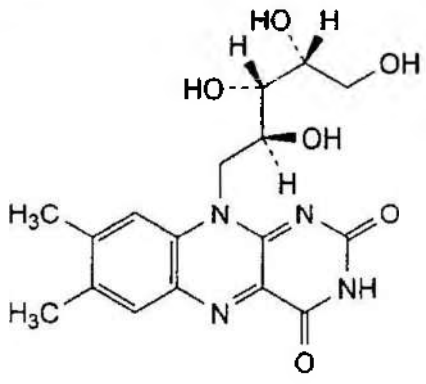
Vitamin.

Hàm lượng thường dùng

Vitamin A 5000 IU và vitamin D 400 IU.

RIBOFLAVIN

Riboflavinum



$C_{17}H_{20}N_4O_6$ P.t.l: 376,4

Riboflavin là 7,8-dimethyl-10-[(2*S*,3*S*,4*R*)-2,3,4,5-tetra hydroxypentyl]benzo[*g*]pteridin-2,4(3*H*,10*H*)-dion, phải chứa từ 97,0 % đến 103,0 % $C_{17}H_{20}N_4O_6$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tiêu chuẩn này áp dụng cho riboflavin được sản xuất bằng phương pháp lên men.

Tính chất

Bột tinh thể màu vàng đến vàng cam, đa hình. Rất khó tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Dung dịch chế phẩm bị hỏng khi tiếp xúc với ánh sáng đặc biệt khi có mặt kiềm.

Định tính

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

Bản mỏng: *Silica gel* (dày 2 µm - 10 µm).

Dung môi khai triển: *Nước*.

Dung dịch thử: Phân tán 25 mg chế phẩm trong 10 ml *nước*, lắc 5 min và lọc hỗn dịch để loại bỏ các thành phần không tan.

Dung dịch đối chiếu: Phân tán 25 mg riboflavin chuẩn trong 10 ml *nước*, lắc 5 min và lọc hỗn dịch để loại bỏ các thành phần không tan.

Cách tiến hành:

Sau mỗi lần chấm, làm khô bằng không khí mát rồi chấm tiếp. Vết 1: Chấm 2 µl *methylen clorid (TT)* rồi chấm tiếp 2 µl dung dịch thử. Vết 2: Chấm 2 µl *methylen clorid (TT)* rồi chấm tiếp 2 µl dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 6 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử Góc quay cực riêng.

C. Hòa tan 1 mg chế phẩm trong 100 ml *nước*. Dung dịch có màu vàng xanh nhạt khi có ánh sáng truyền qua và có huỳnh quang xanh vàng đậm khi có ánh sáng phản chiếu. Huỳnh quang mất đi khi thêm acid vô cơ hay kiềm.

Góc quay cực riêng

Từ -115° đến -135°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Dùng dung dịch chế phẩm 0,5 % trong *dung dịch natri hydroxyd 0,05 M không có carbonat* và đo trong vòng 30 min sau khi pha.

Độ hấp thụ ánh sáng

Pha loãng 25 ml dung dịch cuối cùng trong phần Định lượng với 25 ml *nước* .

Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được có cực đại hấp thụ ở bước sóng 223 nm, 267 nm, 373 nm và 444 nm. Tỷ lệ giữa độ hấp thụ ở bước sóng 373 nm và 267 nm phải từ 0,31 đến 0,33 và tỷ lệ giữa độ hấp thụ ở bước sóng 444 nm và 267 nm phải từ 0,36 đến 0,39.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng và tránh ánh sáng.

Pha động A: *Acid phosphoric - nước* (1 : 1000).

Pha động B: *Acetonitril (TT)*.

Dung dịch A: Dung dịch *natri acetat (TT)* 1,36 %.

Dung dịch thử: Siêu âm hòa tan 0,120 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 100 ml bằng dung dịch A.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 10,0 ml bằng dung dịch A. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng dung dịch A.

Dung dịch đối chiếu (2): Siêu âm hòa tan riboflavin chuẩn dùng để định tính pic (chứa tạp chất C và D) có trong một lọ chuẩn trong 1,0 ml hỗn hợp pha động B - pha động A (1 : 9).

Dung dịch đối chiếu (3): Để tạo thành tạp chất A và B, hòa tan 10 mg chế phẩm trong 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,5 M (TT)*. Để dưới ánh sáng ban ngày 1,5 h. Thêm 0,5 ml *acid acetic (TT)* và pha loãng thành 100 ml bằng *nước*.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 267 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 5	90	10
5 - 20	90 → 80	10 → 20
20 - 25	80	20
25 - 35	80 → 50	20 → 50
35 - 45	50	50

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo riboflavin chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất C và D.

Thời gian lưu tương đối so với riboflavin (thời gian lưu khoảng 16 min): Tạp chất C khoảng 0,2; tạp chất D khoảng 0,5; tạp chất A khoảng 1,4; tạp chất B khoảng 1,9.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic của tạp chất A và pic của tạp chất B ít nhất là 5. Sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) phải giống với sắc ký đồ được cung cấp kèm theo riboflavin chuẩn dùng để định tính pic.

Giới hạn:

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất A với 0,7; tạp chất B với 1,4; tạp chất C với 2,3; tạp chất D với 1,4.

Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A đã hiệu chỉnh không được lớn hơn 0,25 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,025 %).

Tạp chất B, C, D: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).

Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).

Tổng diện tích của tất cả các pic tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).

Bỏ qua những pic (trừ pic tạp chất A) có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: 7,8,10-trimethylbenzo[*g*]pteridin-2,4(3*H*,10*H*)-dion (lumiflavin).

Tạp chất B: 7,8-dimethylbenzo[*g*]pteridin-2,4(1*H*,3*H*)-dion.

Tạp chất C: 6,7-dimethyl-8-[(2*S*,3*S*,4*R*)-2,3,4,5-tetrahydroxypentyl]pteridin-2,4(3*H*,8*H*)- dion.

Tạp chất D: 8-(hydroxymethyl)-7-methyl-10-[(2*S*,3*S*,4*R*)-2,3,4,5-tetrahydroxypentyl]benzo[*g*]pteridin-2,4(3*H*,10*H*)-dion.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng lượng chế phẩm sau khi thử chỉ tiêu Mất khối lượng do làm khô.

Định lượng

Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.

Chuyển 65,0 mg chế phẩm vào bình định mức 500 ml màu nâu, thấm ướt chế phẩm hoàn toàn bằng 5 ml *nước*, thêm 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, lắc để hòa tan. Ngay sau khi chế phẩm tan hoàn toàn, thêm 100 ml *nước* và 2,5 ml *acid acetic băng (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 500,0 ml. Hút 20,0 ml dung dịch thu được, thêm 3,5 ml dung dịch *natri acetat (TT)* 1,4 % và thêm *nước* vừa đủ 200,0 ml. Đo độ hấp thụ của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 444 nm.

Tính hàm lượng riboflavin, $C_{17}H_{20}N_4O_6$, theo A (1 %, 1 cm), lấy 328 là giá trị A (1 %, 1 cm) của riboflavin ở bước sóng 444 nm.

Bảo quản

Trong bao bì kín và tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Vitamin nhóm B.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN RIBOFLAVIN

Tabellae Riboflavini

Viên nén vitamin B_2

Là viên nén chứa riboflavin.

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

Hàm lượng riboflavin, $C_{17}H_{20}N_4O_6$, từ 90,0 % đến 115,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 1 mg riboflavin, thêm 100 ml *nước*, lắc kỹ, lọc. Dịch lọc có màu lục vàng nhạt và có huỳnh quang lục vàng đậm. Huỳnh quang mất đi khi thêm dung dịch kiềm hay acid vô cơ.

Định lượng

Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 10 mg riboflavin, thêm hỗn hợp gồm 5 ml *acid acetic băng (TT)* và 100 ml *nước*, đun cách thủy 1 h, lắc liên tục. Thêm 50 ml *nước*, để nguội, thêm 30 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* và lắc liên tục, pha loãng với *nước* thành 1000,0 ml, lắc đều. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dịch lọc ở bước sóng cực đại khoảng 444 nm, trong cốc đo dày 1 cm. Tính hàm lượng riboflavin, $C_{17}H_{20}N_4O_6$, trong viên theo A (1 %, 1 cm). Lấy 328 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 444 nm.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

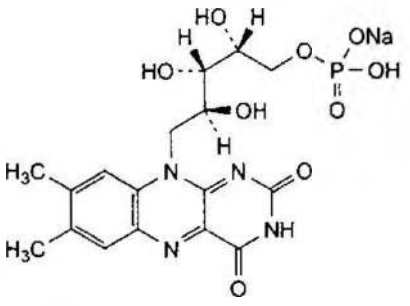
Vitamin nhóm B.

Hàm lượng thường dùng

2 mg.

RIBOFLAVIN NATRI PHOSPHAT

Riboflavini natrii phosphas



$C_{17}H_{20}N_4NaO_9P$ P.t.l: 478,3

Riboflavin natri phosphat là một hỗn hợp chứa thành phần chủ yếu là riboflavin 5'-(natri hydrophosphat) và các riboflavin natri monophosphat khác, phải chứa từ 73,0 % đến 79,0 % riboflavin ($C_{17}H_{20}N_4O_6$; P.t.l: 376,4), tính theo chế phẩm đã làm khô. Chế phẩm chứa nước.

Tính chất

Bột kết tinh màu vàng hay vàng cam, hút ẩm.

Tan trong nước, rất khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính

A. Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT)*. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở dải bước sóng từ 230 nm đến 350 nm, dung dịch có cực đại hấp thụ ở bước sóng 266 nm với giá trị A (1 %, 1 cm) từ 580 đến 640.

B. Trong phần Tạp chất liên quan, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu và diện tích tương tự với thời gian lưu và diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

C. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* và pha loãng thành 100 ml bằng cùng dung môi. Để 1 ml dung dịch thu được dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm trong 5 min, thêm một lượng *acid acetic (TT)* vừa đủ để acid hóa dung dịch, dùng chỉ thị là *giấy quỳ xanh (TT)* và lắc với 2 ml *methylen clorid (TT)*. Lớp dưới phải có huỳnh quang vàng.

D. Cho 10 ml *acid nitric (TT)* vào 0,5 g chế phẩm, bốc hơi trên cách thủy đến khô. Nung cắn đến trắng, hòa tan cắn trong 5 ml *nước* và lọc. Dịch lọc cho phản ứng (A) của natri và phản ứng (B) của phosphat (Phụ lục 8.1).

pH

Từ 5,0 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Góc quay cực riêng

Từ +38,0° đến +43,0°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong 18,2 ml *dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml bằng *nước* để đo.

Tạp chất E

Cho 10 ml *methylen clorid (TT)* vào 35 mg chế phẩm và lắc trong 5 min, lọc. Dịch lọc không được có màu đậm hơn dung dịch màu mẫu VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Ghi chú

Tạp chất E: 7,8,10-trimethylbenzo[g]pteridin-2,4(3*H*,10*H*)-dion (lumiflavin).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tiến hành tránh ánh sáng.

Pha động: Methanol - dung dịch kali dihydrophosphat 0,735 % (15 : 85).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 50 ml *nước* và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 8,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 60 mg riboflavin chuẩn (tạp chất D) trong 1 ml *acid hydrocloric (TT)* và pha loãng thành 250,0 ml bằng *nước*. Pha loãng 4,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 0,100 g riboflavin natri phosphat chuẩn trong 50 ml *nước* và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 8,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 266 nm.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Thể tích tiêm: 100 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký đến khi pic riboflavin được rửa giải hoàn toàn.
Thời gian lưu tương đối so với riboflavin 5'-monophosphat (thời gian lưu khoảng 20 min): Tạp chất A khoảng 0,2; tạp chất B khoảng 0,3; tạp chất C khoảng 0,5; riboflavin 3'-monophosphat khoảng 0,7; riboflavin 4'-monophosphat khoảng 0,9; tạp chất D khoảng 2.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của riboflavin 4'-monophosphat và pic của riboflavin 5'-monophosphat ít nhất là 1,5.
Tính hàm lượng phần trăm của riboflavin tự do (tạp chất D) và của riboflavin trong các dạng riboflavin diphosphat (tạp chất A, B và C) từ diện tích của các pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử và lượng riboflavin tự do trong dung dịch đối chiếu (1).
Giới hạn:
Tạp chất D: Không được quá 6,0 % (tính theo chế phẩm đã làm khô).
Tổng tạp chất A, B và C: Không được quá 6,0 % (tính theo chế phẩm đã làm khô).
Ghi chú:
Tạp chất A: Riboflavin 3',4'-diphosphat.
Tạp chất B: Riboflavin 3',5'-diphosphat.
Tạp chất C: Riboflavin 4',5'-diphosphat.
Tạp chất D: Riboflavin.

Phosphat vô cơ
Không được quá 1,5 %.
Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi (dung dịch A). Lấy 5 ml dung dịch A, thêm 10 ml *nước*, 5 ml *dung dịch đệm đồng sulfat pH 4,0 (TT)*, 2 ml *dung dịch amoni molybdat 3 %*, 1 ml dung dịch mới pha chứa 2 % *4-methylaminophenol sulfat (TT)* và 5 % *natri metabisulfit (TT)*, 1 ml *dung dịch acid percloric 3 %* (tt/tt) và thêm *nước* vừa đủ 25,0 ml.
Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong vòng 15 min ở bước sóng 800 nm, chuẩn bị mẫu trắng tương tự như trên nhưng không có chế phẩm.
Độ hấp thụ đo được không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch đối chiếu được chuẩn bị tương tự dung dịch thử dùng 15 ml *dung dịch phosphat mẫu 5 phần triệu PO_4 (TT)* thay cho 5 ml dung dịch A và 10 ml *nước*.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Cân 2,0 g chế phẩm vào chén nung, thêm từng giọt một 2 ml *acid nitric (TT)* và 0,25 ml *acid sulfuric (TT)*. Đun nóng cẩn thận đến khi khói trắng bay ra, nung. Chiết cắn đã để nguội hai lần, mỗi lần với 2 ml *acid hydrocloric (TT)*. Bốc hơi dịch chiết tới khô. Hòa tan cắn thu được trong 2 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)* và pha loãng thành 20 ml bằng *nước*. Lấy 12 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng 10 ml *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

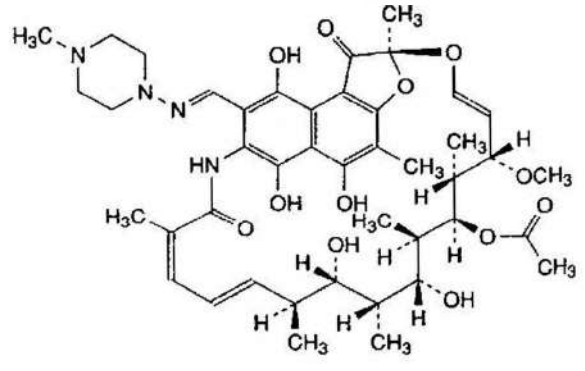
Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 8,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C; áp suất không quá 0,7 kPa; 5 h).

Định lượng
Tiến hành định lượng tránh ánh sáng.
Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 150 ml *nước*, thêm 2 ml *acid acetic băng (TT)* và thêm *nước* thành 1000,0 ml. Lấy 10,0 ml dung dịch thu được, thêm 3,5 ml dung dịch *natri acetat (TT)* 1,4 % và thêm *nước* thành 50,0 ml. Đo độ hấp thụ của dung dịch thu được (Phụ lục 4.1) ở bước sóng cực đại 444 nm.
Tính hàm lượng riboflavin, $C_{17}H_{20}N_4O_6$, theo A (1 %, 1 cm), lấy 328 là giá trị A (1 %, 1 cm) của riboflavin ở bước sóng 444 nm.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Chế phẩm
Thuốc tiêm vitamin B hỗn hợp.

RIFAMPICIN
Rifampicinum



$C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ P.t.l: 823

Rifampicin là (2*S*,12*Z*,14*E*,16*S*,17*S*,18*R*,19*R*,20*R*,21*S*,22*R*,23*S*,24*E*)-5,6,9,17,19-pentahydroxy-23-methoxy-2,4,12,16,18,20,22-heptamethyl-8-[[(4-methylpiperazin-1-yl)imino]methyl]-1,11-dioxo-1,2 hydro-2,7-(epoxypentadeca[1,11,13]trienimino) naphto[2,1-*b*]furan-21-yl acetat, là kháng sinh bán tổng hợp từ rifamycin SV, phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu nâu đỏ hoặc đỏ nâu. Khó tan trong nước, khó tan trong aceton và ethanol 96 %, tan trong methanol.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của rifampicin chuẩn. Chuẩn bị mẫu thử thành bột nhão trong *parafin lỏng (TT)*.

B. Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 50 ml *methanol (TT)*, pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 50 ml với *dung dịch đệm phosphat pH 7,4 (TT)*. Phổ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng từ bước sóng 220 nm đến 500 nm có 4 cực đại hấp thụ tại bước sóng 237 nm, 254 nm, 334 nm và 475 nm. Tỷ số giữa độ hấp thụ tại bước sóng 334 nm và độ hấp thụ tại 475 nm bằng khoảng 1,75.

C. Lắc 25 mg chế phẩm với 25 ml *nước* trong 5 min, lọc. Lấy 5 ml dịch lọc, thêm 1 ml dung dịch *amoni persulfat (TT) 10 %* trong *dung dịch đệm phosphat pH 7,4 (TT)* và lắc trong vài phút. Màu của dung dịch chuyển từ vàng cam sang đỏ tím và không xuất hiện tủa.

pH

pH của hỗn dịch chế phẩm 1,0 % trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* phải từ 4,5 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp gồm 35 thể tích *acetonitril (TT)*, 65 thể tích dung dịch có chứa 0,1 % (tt/tt) *acid phosphoric (TT)*, 0,19 % *natri perclorat (TT)*. 0,59 % *acid citric (TT)* và 2,09 % *kali dihydrophosphat (TT)*.

Dung môi pha mẫu: Hỗn hợp *dung dịch acid citric 1 M* - dung *dịch kali dihydrophosphat 1 M - dung dịch dikali hydrophosphat 1 M - acetonitril - nước* (10 : 23 : 77 : 250 : 640).

Dung dịch thử: Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với dung môi pha mẫu.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20,0 mg rifampicin quinon chuẩn trong *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Hút 1,0 ml dung dịch thu được, thêm 1,0 ml dung dịch thử và pha loãng thành 100,0 ml với dung môi pha mẫu.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (12 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại tại bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch đối chiếu, điều chỉnh thang đo sao cho chiều cao của 2 pic ít nhất phải bằng một nửa toàn thang đo. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa hai pic ít nhất là 4,0 (điều chỉnh tỷ lệ acetonitril trong pha động nếu cần).

Tiêm dung dịch thử và tiến hành sắc ký với thời gian rửa giải ít nhất gấp hai lần thời gian lưu của rifampicin.

Giới hạn: Trên sắc ký đồ dung dịch thử:

Diện tích pic tương ứng với rifampicin quinon không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic của rifampicin quinon trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (1,5 %).

Diện tích của bất kỳ pic phụ nào khác không được lớn hơn diện tích pic của rifampicin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %) và tổng diện tích các pic này không được lớn hơn 3,5 lần diện tích pic của rifampicin trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (3,5 %).

Bỏ qua các pic của dung môi và các pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic của rifampicin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 80 °C; áp suất không quá 670 Pa; 4 h).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 2,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với *dung dịch đệm phosphat pH 7,4 (TT)*. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) tại cực đại hấp thụ 475 nm, dùng *dung dịch đệm phosphat pH 7,4 (TT)* làm mẫu trắng.

Tính hàm lượng $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ theo A (1 %, 1 cm), lấy 187 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở 475 nm.

Bảo quản

Trong bao bì kín và trong khí nitơ, tránh ánh sáng, nhiệt độ không được quá 25 °C.

Loại thuốc

Thuốc chống lao.

Chế phẩm

Viên nén, nang.

NANG RIFAMPICIN
Capsulae Rifampicini

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

Hàm lượng rifampicin, $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lắc một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với 0,15 g rifampicin với 5 ml *cloroform (TT)*. Lọc, bốc hơi dịch lọc đến khô. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của rifampicin.
B. Phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở phần Định lượng trong khoảng bước sóng từ 220 nm đến 500 nm phải có 4 cực đại hấp thụ ở các bước sóng 237 nm, 254 nm, 334 nm và 475 nm.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - dung dịch đệm (35 : 65).
Dung dịch đệm: Dung dịch chứa 0,1 % (tt/tt) *acid phosphoric (TT)*, 0,19 % *natri perclorat (TT)*, 0,59 % *acid citric (TT)* và 2,09 % *kali dihydrophosphat (TT)*.
Chuẩn bị các dung dịch sau ngay trước khi dùng.
Hỗn hợp dung môi: Dung dịch acid citric 21,01 % - dung dịch kali dihydrophosphat 13,61 % - dung dịch dikali hydrophosphat 17,42 % - acetonitril - nước (10 : 23 : 77 : 250 : 640).
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột thuốc trong nang tương ứng với 200 mg rifampicin với 100 ml *acetonitril (TT)*, ly tâm. Pha loãng 5 ml dịch trong ở trên thành 50 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch có chứa 0,02 % rifampicin trong *acetonitril (TT)*. Hút chính xác 1 ml dung dịch này và pha loãng thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch phân giải: Dung dịch có chứa 0,01 % rifampicin chuẩn và 0,01 % rifampicin quinon chuẩn trong *acetonitril (TT)*. Pha loãng 5 ml dung dịch này thành 50 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Nhiệt độ cột: 30 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic chính rifampicin và rifampicin quinon trên sắc ký đồ thu được tối thiểu là 4,0; hệ số đối xứng của rifampicin không lớn hơn 2,0; số đĩa lý thuyết không dưới hơn 2000. Điều chỉnh tỷ lệ acetonitril trong pha động nếu cần.
Thời gian lưu tương đối theo thứ tự lần lượt là 1,0; 0,55; 1,25 và 3,56 cho các pic rifampicin, rifampicin quinon, rifampicin N-oxid và 3-formylrifamycin SV.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu.
Giới hạn: Để tính hàm lượng các tạp chất, chia diện tích các pic tương ứng với các hệ số đáp ứng sau: rifampicin quinon là 1,19; rifampicin N-oxid là 1,03 và 3-formylrifamycin SV là 1,25.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, pic tương ứng rifampicin quinon không được có diện tích lớn hơn 4 lần diện tích của pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4,0 %); diện tích của pic tương ứng với rifampicin N-oxyd không được lớn hơn 1,5 lần diện tích của pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,5 %); diện tích của pic tương ứng 3-formylrifamycin SV không được lớn hơn diện tích của pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %). Diện tích của bất kỳ pic phụ nào khác không được lớn hơn diện tích pic thu được trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan qui định, Lấy một phần dịch hòa tan lọc, bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng nếu cần với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở cực đại 336 nm, cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng rifampicin, $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$, được hòa tan từ nang theo A (1 %, 1 cm). Lấy 263 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở cực đại 336 nm.
Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng rifampicin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng
Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang, trộn đều. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với 0,1 g rifampicin, chuyển vào bình định mức 100 ml và lắc kỹ với 80 ml *methanol (TT)*. Thêm *methanol (TT)* đến định mức, lắc đều và lọc. Lấy chính xác 2 ml dịch lọc pha loãng thành 100,0 ml bằng *đệm phosphat chuẩn pH 7,4 (TT)*. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 475 nm, dùng *đệm phosphat chuẩn pH 7,4 (TT)* làm mẫu trắng. Tính lượng rifampicin, $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$, trong nang theo A (1 %, 1 cm). Lấy 187 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở cực đại 475 nm.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống lao.

Hàm lượng thường dùng
150 mg; 300 mg.

VIÊN NÉN RIFAMPICIN
Tabellae Rifampicini

Là viên nén bao phim chứa rifampicin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng rifampicin, $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lắc một lượng bột viên đã loại bỏ vỏ bao và nghiền mịn tương ứng 0,15 g rifampicinvới 5 ml *cloroform (TT)*. Lọc, bốc hơi dịch lọc đến khô. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được phải phù hợp với phổ đối chiếu của rifampicin.
B. Phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở phần Định lượng trong khoảng bước sóng từ 220 nm đến 500 nm phải có 4 cực đại hấp thụ ở 237 nm, 254 nm, 334 nm và 475 nm.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - dung dịch đệm (35 : 65).
Dung dịch đệm: Dung dịch chứa 0,1 % (tt/tt) *acid phosphoric (TT)*, 0,19 % *natri perclorat (TT)*, 0,59 % *acid citric (TT)* và 2,09 % *kali dihydrophosphat (TT)*.
Chuẩn bị các dung dịch sau ngay trước khi dùng.
Hỗn hợp dung môi: Dung dịch acid citric 21,01 % - dung dịch kali dihydrophosphat 13,61 % - dung dịch dikali hydrophosphat 17,42 % - acetonitril - nước (10 : 23 : 77 : 250 : 640).
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên đã loại bỏ vỏ bao tương ứng với 200 mg rifampicin với 100 ml *acetonitril (TT)*, ly tâm. Pha loãng 5 ml dịch trong ở trên thành 50 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch có chứa 0,02 % rifampicin trong *acetonitril (TT)*. Hút chính xác 1 ml dung dịch này và pha loãng thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch phân giải: Dung dịch có chứa 0,01 % rifampicin chuẩn và 0,01 % rifampicin quinon chuẩn trong *acetonitril (TT)*. Pha loãng 5 ml dung dịch này thành 50 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Nhiệt độ cột: 30 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic chính rifampicin và rifampicin quinon trên sắc ký đồ thu được tối thiểu là 4,0; hệ số đối xứng của rifampicin không lớn hơn 2,0; số đĩa lý thuyết không dưới hơn 2000. Điều chỉnh tỷ lệ acetonitril trong pha động nếu cần.
Thời gian lưu tương đối theo thứ tự lần lượt là 1,0; 0,55; 1,25 và 3,56 cho các pic rifampicin, rifampicin quinon, rifampicin N-oxid và 3-formylrifamycin SV.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu.
Giới hạn: Để tính hàm lượng các tạp chất, chia diện tích các pic tương ứng với các hệ số đáp ứng sau: rifampicin quinon là 1,19; rifampicin N-oxid là 1,03 và 3-formylrifamycin SV là 1,25.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, pic tương ứng rifampicin quinon không được có diện tích lớn hơn 4 lần diện tích của pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4,0 %); diện tích của pic tương ứng với rifampicin N-oxyd không được lớn hơn 1,5 lần diện tích của pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,5 %); diện tích của pic tương ứng 3-formylrifamycin SV không được lớn hơn diện tích của pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %). Diện tích của bất kỳ pic phụ nào khác không được lớn hơn diện tích pic thu được trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc và bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc với dung dịch đệm phosphat [được chuẩn bị bằng cách hòa tan 3,02 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 6,2 g *dikali hydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 7,0 bằng *acid phosphoric (TT)*] để thu được dung dịch có nồng độ 20 µg/ml. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 475 nm, dùng dung dịch đệm phosphat làm mẫu trắng. Tính lượng rifampicin, $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$, được hòa tan từ viên theo A (1 %, 1 cm). Lấy 187 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở cực đại 475 nm.
Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % (Q) lượng rifampicin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng
Loại bỏ vỏ bao của 20 viên. Cân xác định khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 0,1 g rifampicin, chuyển vào bình định mức 100 ml và lắc kỹ với 80 ml *methanol (TT)*. Thêm *methanol (TT)* đến định mức, lắc đều và lọc. Lấy chính xác 2 ml dịch lọc pha loãng thành 100,0 ml bằng

đệm phosphat chuẩn pH 7,4 (TT). Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 475 nm, dùng *đệm phosphat chuẩn pH 7,4 (TT)* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng rifampicin, $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$, trong viên theo A (1 %, 1 cm). Lấy 187 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở cực đại 475 nm.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống lao.

Hàm lượng thường dùng
150 mg, 300 mg.

NANG RIFAMPICIN VÀ ISONIAZID
Capsulae Rifampicini et Isoniazidi

Là nang cứng chứa rifampicin và isoniazid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục I.13) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng rifampicin, $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$, từ 90,0 % đến 130,0 %, so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng isoniazid, $C_6H_7N_3O$, từ 90,0 % đến 110,0 %, so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi khai triển: *Aceton - acid acetic băng* (100 : 1).
Dung dịch thử: Lắc kỹ một lượng bột thuốc trong nang đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 120 mg rifampicin với 20 ml *methanol (TT)* và lọc. Pha loãng dịch lọc với đồng thể tích *aceton (TT)* và trộn đều.
Dung dịch đối chiếu (1): Chuẩn bị dung dịch rifampicin chuẩn có nồng độ 6 mg/ml trong *methanol (TT)*. Pha loãng dung dịch trên với đồng thể tích *aceton (TT)* và trộn đều.
Dung dịch đối chiếu (2): Chuẩn bị dung dịch isoniazid chuẩn có nồng độ 3 mg/ml trong *methanol (TT)*. Pha loãng dung dịch trên với đồng thể tích *aceton (TT)* và trộn đều.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.
Hai vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và (2) về vị trí, màu sắc và kích thước.
B. Trong phần Định lượng, hai pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của hai pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Dung dịch đệm phosphat: Hòa tan 15,3 g *dikali hydrophosphat (TT)* và 80,0 g *kali dihydrophosphat (TT)* vào bình định mức 1 L, hòa tan và pha loãng bằng *nước cất* vừa đủ đến định mức.
Dung dịch chuẩn gốc isoniazid: Cân chính xác khoảng 66 mg isoniazid chuẩn vào bình định mức 100 ml. Hòa tan và pha loãng bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* đến định mức, trộn đều.
Dung dịch chuẩn gốc hỗn hợp: Cân chính xác khoảng 66 mg rifampicin chuẩn vào bình định mức 200 ml, hòa tan trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và trộn đều. Thêm chính xác 50,0 ml dung dịch chuẩn gốc isoniazid và thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* đến định mức, trộn đều. (*Dung dịch chuẩn gốc hỗn hợp được chuẩn bị ngay trước khi thử và được đặt trong bồn cách thủy của máy thử độ hòa tan cùng thời điểm bắt đầu và được lấy ra khi kết thúc phép thử độ hòa tan, cùng lúc với việc hút mẫu thử*).
Định lượng rifampicin hòa tan
Dung dịch chuẩn: Hút chính xác 5,0 ml dung dịch chuẩn gốc hỗn hợp và 10,0 ml dung dịch đệm phosphat vào bình định mức 50 ml, thêm *nước cất* đến định mức, trộn đều (*Dung dịch này được sử dụng ngay hoặc trong vòng không quá 3 h*).
Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc và bỏ dịch lọc đầu, để dịch lọc cân bằng về nhiệt độ phòng trong khoảng 10 min. Hút chính xác 5,0 ml dịch lọc và 10,0 ml dung dịch đệm phosphat vào bình định mức 50 ml, thêm *nước cất* đến định mức, trộn đều (*Dung dịch này được sử dụng ngay hoặc trong vòng không quá 3 h*).
Cách tiến hành: Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử và dung dịch chuẩn ở bước sóng cực đại khoảng 475 nm, với mẫu trắng được chuẩn bị như sau: Hút chính xác 5,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và 10,0 ml dung dịch đệm phosphat vào bình định mức 50 ml, thêm *nước cất* đến định mức, trộn đều.
Tính hàm lượng rifampicin, $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$, hòa tan so với lượng ghi trên nhãn dựa vào độ hấp thụ của dung dịch chuẩn và dung dịch thử và hàm lượng $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ của rifampicin chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng rifampicin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.
Định lượng isoniazid hòa tan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Nước - dung dịch đệm phosphat - methanol* (850 : 100 : 50).
Dung dịch chuẩn: Sử dụng dung dịch chuẩn trong mục định lượng rifampicin hòa tan.
Dung dịch thử: Sử dụng dung dịch thử trong mục định lượng rifampicin hòa tan.

Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (30 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Tiến hành: Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng isoniazid, $C_6H_7N_3O$, hòa tan căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_6H_7N_3O$ của isoniazid chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng isoniazid, $C_6H_7N_3O$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 3,0 % (Phụ lục 9.6).
Cân chính xác khoảng 100 mg bột thuốc vào bình sấy nắp đậy có mao quản và sấy trong chân không ở 60 °C trong 3 h.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm: Hòa tan 1,4 g *dinatri hydrophosphat (TT)* trong 1 L *nước cất* và điều chỉnh tới pH 6,8 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung môi A: *Acetonitril - dung dịch đệm* (4 : 96).
Dung môi B: *Acetonitril - dung dịch đệm* (55 : 45).
Pha động: Hỗn hợp của dung môi A và dung môi B theo phần điều kiện sắc ký.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng cân chính xác của rifampicin chuẩn và isoniazid chuẩn trong hỗn hợp của *dung dịch đệm - methanol* (96 : 4) để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,16 mg/ml rifampicin và 0,08 mg/ml isoniazid (Dung dịch này được sử dụng trong vòng 10 min).
Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình bột thuốc trong nang và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc, tương ứng với khoảng 16 mg rifampicin và 8 mg isoniazid vào bình định mức 100 ml, thêm 90 ml dung dịch đệm và lắc siêu âm 10 min. Để dung dịch cân bằng về nhiệt độ và pha loãng bằng dung dịch đệm vừa đủ đến vạch và trộn đều, lọc (Dung dịch này được sử dụng trong vòng 2 h).
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 238 nm.
Chương trình gradient dung môi:

Thời gian (min)	Dung môi A (%)	Dung môi B (%)	Ghi chú
0	100	0	Cân bằng cột
0 - 5	100	0	Đẳng dòng
5 - 6	100 → 0	0 → 100	Gradient
6 - 15	0	100	Đẳng dòng

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống:
Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn và ghi lại sắc đồ: thời gian lưu tương đối khoảng 2,6 đối với rifampicin và 1,0 đối với isoniazid. Phép thử chỉ có giá trị khi số đĩa lý thuyết, tính cho pic rifampicin, không dưới 50 000 và tính cho pic isoniazid, không dưới 6000; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic của các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng rifampicin, $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$, và isoniazid, $C_6H_7N_3O$, có trong một đơn vị chế phẩm căn cứ vào diện tích pic thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng các chất chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín. Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống lao.

Hàm lượng thường dùng
Rifampicin 300 mg và isoniazid 150 mg.

VIÊN NÉN RIFAMPICIN, ISONIAZID VÀ PYRAZINAMID

Tabellae Rifampicini, Isoniazidi et Pyrazinamidi

Là viên nén bao phim chứa rifampicin, isoniazid và pyrazinamid. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu chung trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây.

Hàm lượng rifampicin, $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$, từ 90,0 % đến 100,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng isoniazid, $C_6H_7N_3O$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng pyrazinamid, $C_5H_5N_3O$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: *Aceton - acid acetic băng* (100 : 1).
Dung dịch đối chiếu rifampicin: Pha dung dịch của rifampicin chuẩn trong *methanol (TT)* có nồng độ khoảng 2,5*R* mg/ml (*R* là tỉ lệ lượng ghi trên nhãn của rifampicin và isoniazid trong viên). Pha loãng dung dịch thu được với đồng thể tích *aceton (TT)*.
Dung dịch đối chiếu isoniazid: Pha dung dịch của isoniazid chuẩn trong *methanol (TT)* có nồng độ khoảng 2,5 mg/ml. Pha loãng dung dịch thu được với đồng thể tích *aceton (TT)*.
Dung dịch đối chiếu pyrazinamid: Pha dung dịch của pyrazinamid chuẩn trong *methanol (TT)* có nồng độ

khoảng 2,5*P* mg/ml (*P* là tỉ lệ lượng ghi trên nhãn của pyrazinamid và isoniazid trong viên). Pha loãng dung dịch thu được với đồng thể tích *aceton (TT)*.
Dung dịch thử: Cân một lượng bột viên (đã bỏ lớp bao phim và nghiền thành bột mịn) tương đương với 50 mg isoniazid, thêm 20 ml *methanol (TT)*, lắc kỹ trong 5 min để hòa tan. Lọc. Pha loãng dịch lọc với đồng thể tích *aceton (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng rẽ lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch *đối chiếu* và dung dịch thử. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 chiều dài bản mỏng. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.
Trên sắc ký đồ thu được, dung dịch thử cho 3 vết chính có vị trí, màu sắc và kích thước tương ứng với các vết chính thu được từ các dung dịch *đối chiếu* rifampicin, isoniazid và pyrazinamid.
B. Trong phần Định lượng, sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử cho 3 pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic rifampicin, isoniazid và pyrazinamid thu được từ sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Mất khối lượng do làm khô
Không quá 3,0 % (Phụ lục 9.6).
Dùng 1,000 g bột viên, 60 °C, trong chân không, 3 h.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dịch dạ dày giả (TT)* không có pepsin.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 30 min.
Định lượng rifampicin hòa tan
Dung dịch chuẩn gốc: Cân chính xác lượng rifampicin chuẩn, isoniazid chuẩn và pyrazinamid chuẩn tương đương với lượng ghi trên nhãn của mỗi hoạt chất trong 1/4 viên vào bình định mức 250 ml. Thêm khoảng 200 ml môi trường hòa tan, lắc siêu âm để hòa tan, pha loãng vừa đủ đến vạch với môi trường hòa tan. Đặt bình dung dịch này vào bồn thử độ hòa tan cùng thời điểm khi cho viên thử vào cốc hòa tan và lấy bình ra cùng thời điểm hút mẫu thử.
Dung dịch chuẩn: Pha loãng dung dịch chuẩn gốc với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ rifampicin khoảng 0,03 mg/ml.
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan qui định, hút dịch hòa tan, lọc. Pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ rifampicin khoảng 0,03 mg/ml.
Cách tiến hành: Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch chuẩn và dung dịch thử ở bước sóng 475 nm, dùng môi trường hòa tan làm mẫu trắng, sử dụng cốc đo dày 1 cm. Từ độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng chuẩn, tính lượng rifampicin trong viên hòa tan, so với lượng ghi trên nhãn.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng rifampicin, $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Định lượng isoniazid và pyrazinamid hòa tan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Nước - dung dịch kali dihydrophosphat 1 M - acetonitril (860 : 100 : 40)
Dung dịch chuẩn: Hút 3,0 ml dung dịch chuẩn gốc ở mục Định lượng rifampicin hòa tan vào bình định mức 20 ml, thêm 3 ml *dung dịch dikali hydrophosphat 1 M* và thêm pha động vừa đủ đến định mức, lắc đều.
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan qui định, hút dịch hòa tan, lọc. Hút 3,0 ml dịch lọc vào bình định mức 20 ml, thêm 3 ml *dung dịch dikali hydrophosphat 1 M* và thêm pha động vừa đủ đến định mức, lắc đều, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ phân giải giữa pic isoniazid và pic pyrazinamid không nhỏ hơn 4. Hệ số đối xứng của pic isoniazid và pic pyrazinamid không lớn hơn 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic từ các lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Từ diện tích các pic của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_6H_7N_3O$ trong isoniazid chuẩn và hàm lượng $C_5H_5N_3O$ trong pyrazinamid chuẩn, tính lượng isoniazid và pyrazinamid trong viên hòa tan.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng isoniazid, $C_6H_7N_3O$, và 75 % (Q) lượng pyrazinamid, $C_5H_5N_3O$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm: Hòa tan 1,4 g *dinatri hydrophosphat (TT)* trong 1 L *nước*, điều chỉnh đến pH 6,8 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Pha động A: Dung dịch đệm - acetonitril (96 : 4).
Pha động B: Acetonitril - dung dịch đệm (55 : 45).
Dung dịch chuẩn: Pha dung dịch chuẩn hỗn hợp của rifampicin chuẩn, isoniazid chuẩn và pyrazinamid chuẩn trong hỗn hợp *dung dịch đệm - methanol* (96 : 4) có nồng độ chính xác tương ứng lần lượt với khoảng 0,08*R* mg/ml, 0,08 mg/ml và 0,08*P* mg/ml (*R* là tỉ lệ lượng ghi trên nhãn của rifampicin và isoniazid trong viên. *P* là tỉ lệ lượng ghi trên nhãn của pyrazinamid và isoniazid trong viên). Dung dịch thu được sử dụng trong vòng 10 min.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, loại bỏ lớp bao phim nếu cần, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 8 mg isoniazid vào bình định mức 100 ml. Thêm 4 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm 5 min. Tiếp tục thêm khoảng 80 ml dung dịch đệm và lắc siêu âm 10 min để hòa tan. Pha loãng với

dung dịch đệm vừa đủ đến vạch, trộn đều và lọc. Dung dịch thu được sử dụng trong vòng 2 h.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ đặt ở bước sóng 238 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Điều kiện rửa giải
0	100	0	Cân bằng cột
0 - 5	100	0	Đẳng dòng
5 - 6	100 → 0	0 → 100	Gradient tuyến tính
6 - 15	0	100	Đẳng dòng

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Trên sắc ký đồ thu được, thời gian lưu tương đối của các pic isoniazid, pyrazinamid và rifampicin khoảng 0,7, 1,0 và 1,8. Độ phân giải giữa hai pic isoniazid và pyrazinamid không nhỏ hơn 4. Hệ số đối xứng của các pic isoniazid, pyrazinamid và rifampicin không lớn hơn 2,0. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic của các lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.

Từ diện tích các pic của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ trong rifampicin chuẩn, hàm lượng $C_6H_7N_3O$ trong isoniazid chuẩn và hàm lượng $C_5H_5N_3O$ trong pyrazinamid chuẩn, tính hàm lượng rifampicin, isoniazid và pyrazinamid trong viên.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

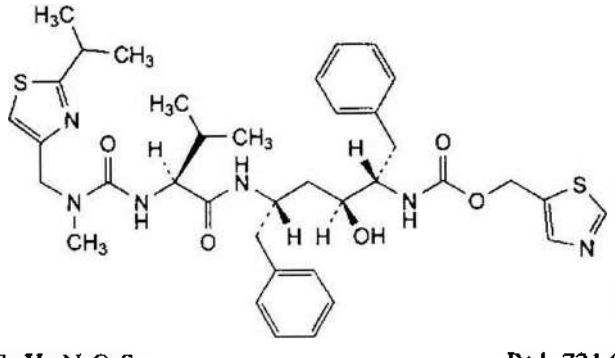
Thuốc chống lao.

Hàm lượng thường dùng

Viên nén bao phim chứa 150 mg rifampicin, 75 mg isoniazid, 400 mg pyrazinamid; hoặc 120 mg rifampicin, 50 mg isoniazid, 300 mg pyrazinamid.

RITONAVIR

Ritonavirum



$C_{37}H_{48}N_6O_5S_2$ P.t.l: 721,0

Ritonavir là thiazol-5-ylmethyl [(1*S*,2*S*,4*S*)-1-benzyl-2-hydroxy-4-[[(2*S*)-3-methyl-2-[[methyl[[2-(1-methylethyl) thiazol-4-yl]methyl]carbamoyl]amino]butanoyl]amino]-5-phenylpentyl]carbamat, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{37}H_{48}N_6O_5S_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột màu trắng hoặc gần như trắng, đa hình.

Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong methanol và dicloromethan, hơi tan trong aceton và rất khó tan trong acetonitril.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của ritonavir chuẩn.

Nếu phổ hồng ngoại của mẫu thử và mẫu chuẩn khác nhau thì tiến hành hòa tan riêng rẽ chế phẩm và ritonavir chuẩn trong một lượng tối thiểu *methanol (TT)*, kết tinh bằng cách thêm vừa đủ *nước* từng giọt một, lọc và để bay hơi dung môi trong khoảng 1 h rồi ghi phổ hồng ngoại mới.

B. Phổ hấp thụ tử ngoại của dung dịch chế phẩm nồng độ 40 µg/ml trong *methanol (TT)* đo trong khoảng từ bước sóng 220 nm đến 280 nm (Phụ lục 4.1) phải cho một cực đại hấp thụ ở bước sóng 240 nm. Độ hấp thụ riêng tại cực đại có giá trị từ 116 đến 128.

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Dicloromethan - acetonitril - methanol - amoniac (67 : 20 : 10 : 3).

Dung dịch thử: Hòa tan và pha loãng chế phẩm trong *methanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ 5 mg/ml.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan và pha loãng ritonavir chuẩn trong *methanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ 5 mg/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản sắc ký ra và làm khô bằng một dòng khí mát, sau đó kiểm tra dưới ánh sáng đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, hình dạng và kích thước.

Góc quay cực riêng

Từ +7° đến +10°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4). Dùng dung dịch chế phẩm 20,0 mg/ml trong *methanol (TT)*, đo ở 20 °C.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm phosphat pH 4,0: Hòa tan 7,8 g *natri dihydrophosphat (TT)* và 1,88 g *natri hexansulfonat (TT)* trong 800 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 4,0 bằng *dung dịch*

acid phosphoric 10 % (TT) và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*.
Pha động A: Acetonitril - dung dịch đệm phosphat pH 4,0 - nước (35 : 28 : 37).
Pha động B: Acetonitril - dung dịch đệm phosphat pH 4,0 - nước (70 : 28 : 2).
Dung dịch thử: Dung dịch chế phẩm có nồng độ 0,5 mg/ml trong pha động A.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng dung dịch thử bằng pha động A để được dung dịch có nồng độ 0,5 µg/ml.
Dung dịch đối chiếu (2): Hút 5 ml dung dịch thử, thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric 50 % (TT)*, đun trong cách thủy trong 20 min.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi *base-deactivated octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Nhiệt độ cột: ở 35 °C
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 240 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Ghi chú
0 - 20	70	30	Đẳng dòng
20 - 30	70 → 0	30 → 100	Thay đổi tuyến tính
30 - 40	0	100	Đẳng dòng
40 - 45	0 → 70	100 → 30	Thay đổi tuyến tính
45 - 50	70	30	Đẳng dòng - cân bằng lại

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic chính (thời gian lưu khoảng 22 min) và pic có thời gian lưu tương đối so với pic chính khoảng 0,8 không được nhỏ hơn 3,5; độ phân giải giữa pic chính và pic có thời gian lưu tương đối so với pic chính khoảng 1,5 không được nhỏ hơn 9,0. Nếu cần, điều chỉnh tỷ lệ acetonitril trong cả pha động A và pha động B hoặc điều chỉnh chương trình dung môi.
Tiến hành sắc ký lần lượt với mẫu trắng là pha động A, dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch thử.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử:
Diện tích pic của bất kỳ tạp chất nào không được lớn hơn lớn hơn 3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).
Không được có quá hai pic tạp chất có diện tích lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Không được có quá 4 pic tạp chất có diện tích lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).
Tổng diện tích của tất cả các pic tạp chất không được lớn hơn 10 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %).
Bỏ qua các pic tạp chất có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C; 2 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

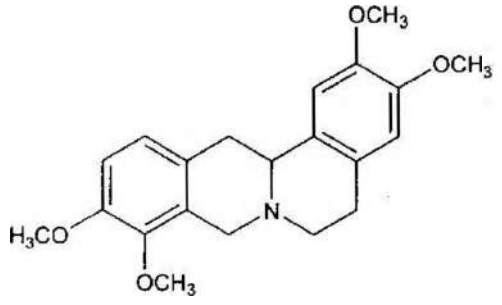
Định lượng
Cân chính xác khoảng 0,25 g chế phẩm, hòa tan trong 30 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 36,05 mg $C_{37}H_{48}N_6O_5S_2$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Ức chế enzym protease, kháng virus HIV.

Chế phẩm
Nang.

ROTUNDIN
Rotundinum
L-Tetrahydropalmatin



$C_{21}H_{25}NO_4$ P.t.l : 355,43

Rotundin là 5,8,13,13*a*-tetrahydro-2,3,9,10-tetramethoxy-6*H*-dibenzo[*a*,*g*] quinolizin, phải chứa từ 98,5 % đến 102,0 % $C_{21}H_{25}NO_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Tinh thể màu trắng hay hơi vàng, không mùi, không vị. Bị chuyển thành màu vàng khi tiếp xúc với ánh sáng hoặc nhiệt. Tan trong cloroform, hơi tan trong ethanol và ether, không tan trong nước, dễ tan trong acid sulfuric loãng.
Điểm chảy từ 141 °C đến 144 °C (Phụ lục 6.7).

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của rotundin chuẩn.
B. Trong phần Định lượng: Thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử tương tự thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
C. Dung dịch S: Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 10 ml *nước* và 1 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)*.
Thêm 1 giọt *dung dịch kali dicromat 5 % (TT)* vào 2 ml dung dịch S, tủa vàng xuất hiện.
Thêm 1 giọt *dung dịch natri clorid bão hòa (TT)* vào 2 ml dung dịch S, tủa trắng xuất hiện.
Thêm 1 giọt *dung dịch kali fericyanid 5 % (TT)* vào 2 ml dung dịch S, tủa vàng xuất hiện, tủa này dần dần chuyển sang màu xanh lá rồi cuối cùng là màu xanh lam khi đun nóng nhẹ.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 0,15 g chế phẩm trong 5 ml *dung dịch acid sulfuric 5 % (TT)*. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu VL_4 (Phụ lục 9.3, phương pháp 1).

Góc quay cực riêng
Từ -290° đến -300°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Dùng dung dịch chế phẩm có nồng độ 8 mg/ml trong *ethanol 96 % (TT)* để đo ở nhiệt độ 25 °C.

Độ hấp thụ riêng
Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch chế phẩm có nồng độ 30 µg/ml trong *dung dịch acid sulfuric 0,5 % (TT)* ở bước sóng 281 nm. Giá trị A (1 %,1 cm) phải từ 150 đến 160.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - dung dịch đệm (65 : 35).
Dung dịch đệm: Hỗn hợp dung dịch gồm *dung dịch kali dihydrophosphat 0,05 M(TT)* và *dung dịch natri heptansulfonat 0,05 M (TT)* (1 : 1) và chứa 0,2 % *triethylamin (TT)*, điều chỉnh đến pH 6,5 ± 0,05 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong 10 ml *methanol (TT)*, siêu âm 5 min và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 200,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu, điều chỉnh sao cho độ cao của pic chính ở 25 % thang đo. Tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột không được ít hơn 2500 tính theo pic của rotudin.
Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của pic chính.
Giới hạn:
Tổng diện tích của tất cả các pic tạp chất trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %).

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8, phương pháp 3).
Dùng cắn sau nung ở phép thử Tro sulfat. Dùng *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,00 g ; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 1).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong 10 ml *methanol (TT)*, siêu âm 5 min và pha loãng thành 50,0 ml bằng pha động. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 25 mg rotundin chuẩn trong 10 ml *methanol (TT)*, siêu âm 5 min và pha loãng thành 50,0 ml bằng pha động. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng pha động.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Số đĩa lý thuyết của cột trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu không được nhỏ hơn 2500, tính theo pic của rotundin.
Tính hàm lượng phần trăm của $C_{21}H_{25}NO_4$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu và hàm lượng của $C_{21}H_{25}NO_4$ trong rotundin chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc an thần.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN ROTUNDIN
Tabellae Rotundini

Là viên nén chứa rotundin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng rotundin, $C_{21}H_{25}NO_4$, từ 93,0 % đến 107,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lấy một lượng bột viên tương ứng với 0,1 g rotundin, thêm 10 ml *nước* và 1 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)*, lắc để hòa tan, lọc. Dịch lọc làm các phản ứng sau:
Thêm vào 2 ml dịch lọc 1 giọt *dung dịch kali dicromat 5 % (TT)*, xuất hiện tủa vàng.
Thêm vào 2 ml dịch lọc 1 giọt *dung dịch natri clorid bão hòa (TT)*, xuất hiện tủa trắng.
Thêm vào 2 ml dịch lọc 1 giọt *dung dịch kali fericyanid 5 % (TT)*, xuất hiện tủa vàng, màu tủa chuyển dần sang xanh lục sau đó sang xanh lam khi đun nóng nhẹ.
B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic rotundin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
C. Nghiền lượng bột viên tương ứng 90 mg rotundin với 20 ml *ether (TT)*, lọc, bốc hơi dịch lọc đến khô. Sấy cắn trong chân không ở nhiệt độ 80 °C trong 3 h. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của rotundin chuẩn.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 20 mg rotundin vào bình định mức dung tích 100 ml, thêm 10 ml *methanol (TT)* và lắc siêu âm 5 min để hòa tan, pha loãng bằng pha động đến vạch, lắc đều và lọc.
Dung dịch đối chiếu: Hút 1,0 ml dung dịch thử vào bình định mức 100 ml, pha loãng bằng pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Tiến hành sắc ký với các điều kiện như phần Định lượng, với thời gian chạy sắc ký bằng hai lần thời gian lưu của pic chính.
Yêu cầu: Tổng diện tích của các pic tạp thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,0 %).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc và pha loãng dịch lọc hai lần với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* nếu là viên có hàm lượng 60 mg. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 281 nm, trong cốc đo dày 1 cm, dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng rotundin, $C_{21}H_{25}NO_4$, theo A (1 %, 1 cm). Lấy 155 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 281 nm.
Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % (Q) lượng rotundin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm pH 6,5: Hỗn hợp *dung dịch kali dihydrophosphat 0,05 M* và *dung dịch natri heptansulfonat 0,05 M* (1 : 1) có chứa 0,2 % *triethylamin (TT)*, điều chỉnh pH đến 6,5 ± 0,05 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Pha động: Dung dịch đệm pH 6,5 - methanol (35 :65). Có thể điều chỉnh tỉ lệ nếu cần.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 25 mg rotundin vào bình định mức dung tích 50 ml, thêm 10 ml *methanol (TT)* và lắc siêu âm 5 min để hòa tan, pha loãng bằng pha động đến vạch, lắc đều và lọc. Hút 5,0 ml dịch lọc vào bình định mức 50 ml, pha loãng bằng pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác 25 mg rotundin chuẩn và tiến hành tương tự dung dịch thử.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Số đĩa lý thuyết của cột tính trên pic rotundin không được ít hơn 2500. Hệ số đối xứng thu được từ pic chính rotundin không được lớn hơn 2 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic trong 6 lần tiêm lặp lại không được quá 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng, $C_{21}H_{25}NO_4$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic của rotundin trong dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{21}H_{25}NO_4$ của rotundin chuẩn.

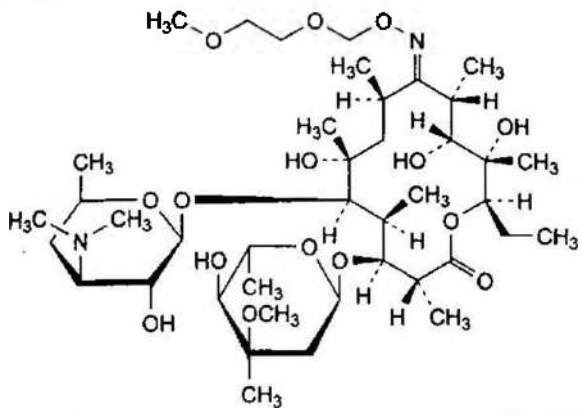
Bảo quản
Để trong đồ đựng kín, ở nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
An thần, an dịu.

Hàm lượng thường dùng
30 mg và 60 mg.

ROXITHROMYCIN

Roxithromycinum



$C_{41}H_{76}N_2O_{15}$ P.t.l: 837,0

Roxithromycin là (3*R*,4*S*,5*S*,6*R*,7*R*,9*R*,11*S*,12*R*,13*S*,14*R*)-4-[(2,6-dideoxy-3-*C*-methyl-3-*O*-methyl-α-L-*ribo*-hexopyranosyl)oxy]-14-ethyl-7,12,13-trihydroxy-10-[(E)-[(2-methoxyethoxy)methoxy]imino]-3,5,7,9,11,13-hexomethyl-6-[[3,4,6-trideoxy-3-(dimethylamino)-β-D-*xylo*-hexapyranosyl]oxy]oxacyclotetradecan-2-on, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{41}H_{76}N_2O_{15}$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng, đa hình. Rất khó tan trong nước, dễ tan trong aceton, ethanol 96 % và methylen clorid. Khó tan trong dung dịch acid hydrocloric loãng.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của roxithromycin chuẩn. Nếu phổ có sự khác biệt, đo lại phổ của dung dịch chế phẩm và chất chuẩn có nồng độ 9,0 % trong *methylen clorid (TT)*.

B. Trong phần Định lượng, trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) phải cho pic chính có thời gian lưu tương ứng với pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực riêng

Từ -93° đến -96°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong *aceton (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Acetonitril - dung dịch amoni dihydrophosphat 5,97 % đã được chỉnh đến pH 4,3 bằng *dung dịch natri hydroxyd loãng* (26 : 74).

Pha động B: Nước - acetonitril (30 : 70).

Dung môi pha mẫu: Acetonitril - dung dịch amoni dihydrophosphat 4,86 % đã được chỉnh đến pH 5,3 bằng *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* (30 : 70).

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 50,0 mg roxithromycin chuẩn trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

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

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 20,0 mg roxithromycin để xác định tính phù hợp của hệ thống trong dung môi pha mẫu, pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 1,0 ml *toluen (TT)* thành 100,0 ml với *acetonitril (TT)*. Pha loãng 0,2 ml dung dịch thu được thành 200,0 ml với dung môi pha mẫu.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là hạt hình cầu *end-capped octadecylsilyl silica gel* (5 µm) với kích thước lỗ xốp 10 nm và lượng carbon khoảng 19 %.

Nhiệt độ cột: 15 °C.

Detector quang phổ tử ngoại tại bước sóng 205 nm.

Thể tích tiêm: 20 µl, duy trì nhiệt độ buồng tiêm ở 8 °C.

Tốc độ dòng: 1,1 ml/min.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 50	100	0
50 - 51	100 → 90	0 → 10
51 - 80	90	10
80 - 81	90 → 100	10 → 0
81 - 100	100	0

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

Thời gian lưu tương đối so với roxithromycin (thời gian lưu khoảng 22 min): Tạp chất G {erythromycin 9-(*E*)-[*O*-[[(2-methoxyethoxy) methoxy] methyl]oxim]} khoảng 1,15.

Tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (3), tỷ số đỉnh - hõm (H_p/H_v) ít nhất là 2,0, trong đó: H_p là chiều cao đỉnh pic tạp chất G; H_v là chiều cao của đáy hõm phân tách pic tạp chất G và pic roxithromycin.

Giới hạn: Trên sắc ký đồ dung dịch thử:

Tạp chất G: Diện tích pic tạp chất G không được lớn hơn diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %).

Từng tạp chất có diện tích pic không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).

Tổng diện tích các pic tạp chất không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (2) (3,0 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %). Bỏ qua pic của toluen (dùng dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic toluen).

Kim loại nặng
Không quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong hỗn hợp *nước - aceton* (15 : 85), pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Lấy 12 ml dung dịch thử tiến hành theo phương pháp 2. Chuẩn bị mẫu đối chiếu bằng cách pha loãng *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb (TT)* với hỗn hợp *nước - aceton* (15 : 85) để được dung dịch chì 1 phần triệu.

Nước
Không được quá 3,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,200 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như ở phần Tạp chất liên quan với một số thay đổi như sau:
Kích thước cột: 25 cm × 4,6 mm.
Pha động: Acetonitril - dung dịch amoni dihydrophosphat 4,91 % đã được điều chỉnh đến pH 5,3 bằng dung dịch natri hydroxyd loãng (307 : 693).
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Cách tiến hành: Tiêm dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và (3).
Thời gian lưu của roxithromycin khoảng 12 min.
Tính phù hợp hệ thống: Tỷ số đỉnh - hõm (H_p/H_v) ít nhất phải bằng 1,5; trong đó H_p là chiều cao đỉnh pic tạp chất G; H_v là chiều cao của đáy hõm phân tách pic tạp chất G và pic roxithromycin trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (3).
Tính toán hàm lượng của $C_{41}H_{76}N_2O_{15}$ dựa vào diện tích pic chính của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).

Bảo quản
Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm macrolid.

Chế phẩm
Viên nén, thuốc bột.

BỘT PHA HỖN DỊCH ROXITHROMYCIN
Pulveres Roxithromycini ad suspensionum peroralum

Là thuốc bột dùng để pha hỗn dịch uống chứa roxithromycin. Có thể có thêm các tá dược thích hợp tạo mùi vị, tạo màu, chất bảo quản, chất ổn định hỗn dịch....
Hỗn dịch tạo thành sau khi pha theo hướng dẫn trên nhãn thuốc phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Hỗn dịch thuốc" (Phụ lục 1.5).
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc bột" (Phụ lục 1.7) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng roxithromycin, $C_{41}H_{76}N_2O_{15}$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột khô tơi, không bị ẩm, vón, màu sắc đồng nhất.

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

Giới hạn kiềm
Cân chính xác một lượng chế phẩm tương ứng với 15 mg roxithromycin, thêm 10 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, lắc kỹ, pH của hỗn dịch thu được từ 7,0 đến 9,0 (Phụ lục 6.2).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 2,0 % (Phụ lục 9.6).
Cân chính xác khoảng 1,0 g chế phẩm, sấy ở 80 °C trong chân không đến khối lượng không đổi.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch đệm acetat pH 5,5* (sử dụng 600 ml cho gói có hàm lượng 50 mg, 500 ml cho gói có hàm lượng 25 mg)
Dung dịch đệm acetat pH 5,5: Hòa tan 5,44 g *natri acetat (TT)* trong 1000 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 5,5 bằng *acid acetic băng (TT)*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành:
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động và *điều kiện sắc ký* thực hiện như trong phần Định lượng với thể tích tiêm là 50 µl.
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc (bỏ dịch lọc đầu).
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng roxithromycin chuẩn, hòa tan trong môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,08 mg/ml (0,05 mg/ml cho gói có hàm lượng 25 mg).
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng roxithromycin, $C_{41}H_{76}N_2O_{15}$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động:Dung dịch amoni dihydrophosphat 0,067 M được chỉnh đến pH 6,5 bằng triethylamin - acetonitril (65 : 35).
Dung dịch phân giải: Hòa tan một lượng roxithromycin chuẩn và erythromycin chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ mỗi chất khoảng 1,0 mg/ml.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng roxithromycin chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,5 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân 20 gói, tính khối lượng trung bột thuốc trong gói, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 50 mg roxithromycin vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml pha động và lắc siêu âm 20 min. Pha loãng bằng pha động đến định mức, lắc đều, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống:
Tiến hành sắc ký đối với dung dịch phân giải, dung dịch chuẩn.
Trên sắc ký đồ thu được, thời gian lưu của roxithromycin khoảng 14 min.
Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic roxithromycin và erythromycin không nhỏ hơn 15,0; Độ phân giải giữa pic roxithromycin và pic tạp (thời gian lưu tương đối khoảng 0,95) không nhỏ hơn 1,0; Độ phân giải giữa pic roxithromycin và pic tạp (thời gian lưu tương đối khoảng 1,2) không nhỏ hơn 2,0; Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic roxithromycin từ các lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của roxithromycin chuẩn, tính hàm lượng roxithromycin, $C_{41}H_{76}N_2O_{15}$, có trong một đơn vị chế phẩm.

Bảo quản
Trong bao bì kín. Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng sinh nhóm macrolid.

Hàm lượng thường dùng
25 mg; 50 mg và 75 mg.

VIÊN NÉN ROXITHROMYCIN
Tabellae Roxithromycini

Là viên nén bao phim chứa roxithromycin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén", mục "Viên bao" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng roxithromycin, $C_{41}H_{76}N_2O_{15}$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

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

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch đệm acetat pH 5,5* (sử dụng 600 ml cho viên có hàm lượng 50 mg).
Dung dịch đệm acetat pH 5,5: Hòa tan 5,44 g *natri acetat (TT)* trong 1000 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 5,5 bằng *acid acetic băng (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động và *điều kiện sắc ký* thực hiện như trong phần Định lượng với thể tích tiêm là 50 µl.
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc (bỏ dịch lọc đầu).
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng roxithromycin chuẩn, hòa tan trong môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,16 mg/ml (0,08 mg/ml cho viên có hàm lượng 75 mg và 50 mg).
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng roxithromycin, $C_{41}H_{76}N_2O_{15}$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, dung dịch phân giải, điều kiện sắc ký: Tiến hành theo phần Định lượng.
Dung dịch thử: Lấy 10 viên, bóc bỏ lớp bao phim và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 100 mg roxithromycin vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml pha động và lắc siêu âm 20 min. Pha loãng bằng pha động đến định mức, lắc đều, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử bằng pha động đến vừa đủ 100,0 ml.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký đối với dung dịch đối chiếu. Điều chỉnh độ nhạy sao cho chiều cao của pic chính trên sắc ký đồ không được dưới 20 % của thang đo.
Tiến hành sắc ký đối với dung dịch thử, ghi sắc ký đồ trong khoảng thời gian gấp 4 lần thời gian lưu của pic roxithromycin. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic phụ nào không được lớn hơn 1,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1,5 %), tổng diện tích tất cả các pic tạp không được lớn hơn 4,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký của dung dịch đối chiếu (4,5 %). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,1 %) và bỏ qua các pic tá dược có thời gian lưu tương đối nhỏ hơn hoặc bằng 0,3.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch amoni dihydrophosphat 0,067 M được chỉnh đến pH 6,5 bằng triethylamin - acetonitril (65 : 35).

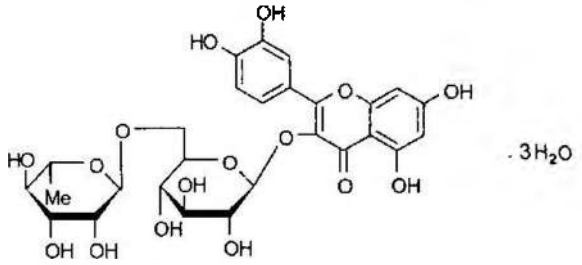
Dung dịch phân giải: Hòa tan một lượng roxithromycin chuẩn và erythromycin chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ mỗi chất khoảng 1,0 mg/ml.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng roxithromycin chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 1,0 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên (đã loại bỏ lớp bao phim nếu cần) và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg roxithromycin vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml pha động và lắc siêu âm 20 min. Pha loãng bằng pha động đến định mức, lắc đều, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống:
Tiến hành sắc ký đối với dung dịch phân giải, dung dịch chuẩn.
Trên sắc ký đồ thu được, thời gian lưu của roxithromycin khoảng 14 min.
Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic roxithromycin và erythromycin không nhỏ hơn 15,0; Độ phân giải giữa pic roxithromycin và pic tạp (thời gian lưu tương đối khoảng 0,95) không nhỏ hơn 1,0; Độ phân giải giữa pic roxithromycin và pic tạp (thời gian lưu tương đối khoảng 1,2) không nhỏ hơn 2,0; Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic roxithromycin từ các lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của roxithromycin chuẩn, tính hàm lượng roxithromycin, $C_{41}H_{76}N_2O_{15}$, có trong một đơn vị chế phẩm.

Bảo quản
Trong bao bì kín. Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng sinh nhóm macrolid.

Hàm lượng thường dùng
50 mg; 75 mg; 150 mg.

RUTIN
Rutinum
Rutosid, vitamin P



$C_{27}H_{30}O_{16}.3H_2O$ P.t.l: 665,0

Rutin là 3,3',4',5,7-pentahydroxyflavon 3-rutinosid, một glucosid chiết được từ nụ hoa cây Hòe (*Sophora japonica* L.), họ Đậu (Fabaceae), hoặc từ nhiều cây khác thuộc các họ thực vật khác nhau, phải chứa từ 95,0 % đến 101,0 % $C_{27}H_{30}O_{16}$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh màu vàng hay vàng lục.
Tan trong methanol và trong các dung dịch hydroxyd kiềm, hơi tan trong ethanol, thực tế không tan trong nước và dicloromethan.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của rutin chuẩn.
B. Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 250,0 ml với cùng dung môi, lọc nếu cần. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng *methanol (TT)*. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) trong khoảng từ bước sóng 210 nm đến 450 nm, dung dịch phải cho hai cực đại hấp thụ ở 257 nm và 358 nm. Độ hấp thụ riêng ở bước sóng cực đại 358 nm phải từ 305 đến 330, tính theo chế phẩm khan.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G.*
Dung môi khai triển: *N-butanol - acid acetic khan - nước - methyl ethyl ceton - ethyl acetat* (5 : 10 : 10 : 30 : 50).
Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 25 mg rutin chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí. Phun lên bản mỏng hỗn hợp gồm 7,5 ml *dung dịch kali fericyanid 1 % (TT)* và 2,5 ml *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)*. Quan sát bản mỏng trong vòng 10 min. Vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử tương ứng về vị trí, màu sắc và

kích thước với vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu.
D. Hòa tan 10 mg chế phẩm trong 5 ml *ethanol 96 % (TT)*. Thêm 1 g *kẽm (TT)* và 2 ml *dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT)*, sẽ xuất hiện màu đỏ.

Tạp chất hấp thụ ánh sáng
Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 40 ml *2-propanol (TT)*. Lắc trong 15 min và pha loãng thành 50,0 ml bằng *2-propanol (TT)*, lọc. Độ hấp thụ của dịch lọc ở các bước sóng trong khoảng từ 450 nm đến 800 nm không được quá 0,10.

Các chất không tan trong methanol
Không được quá 3 %.
Lắc 2,5 g chế phẩm với 50 ml *methanol (TT)* ở 20 °C đến 25 °C trong 15 min. Lọc qua phễu lọc thủy tinh có độ xốp 1,6 đã được sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 15 min và để nguội trong bình hút ẩm rồi cân bì. Rửa phễu lọc 3 lần với 20 ml *methanol (TT)*. Sấy phễu lọc ở 100 °C đến 105 °C trong 30 min. Để nguội trong bình hút ẩm và cân. Khối lượng cặn thu được không được quá 75 mg.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Hỗn hợp gồm 5 thể tích *tetrahydrofuran (TT)* và 95 thể tích *dung dịch natri dihydrophosphat 1,56 %* đã được điều chỉnh đến pH 3,0 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Pha động B: Hỗn hợp gồm 40 thể tích *tetrahydrofuran (TT)* và 60 thể tích *dung dịch natri dihydrophosphat 1,56 %* đã được điều chỉnh đến pH 3,0 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong 20 ml *methanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động B.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10,0 mg rutin chuẩn trong 10,0 ml *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 50,0 ml bằng pha động B.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Nhiệt độ cột: 30 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 10	50 → 0	50 → 100
10 - 15	0	100
15 - 16	0 → 50	100 → 50
16 - 20	50	50

Thời gian lưu tương đối của các tạp chất so với rutin (thời gian lưu khoảng 7 min) như sau: Tạp chất B (kaempferol 3-rutinosid) khoảng 1,1; tạp chất A (isoquercitrosid) khoảng 1,2; tạp chất C (quercetin) khoảng 2,5.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic rutin và pic tạp chất B ít chất là 2,5.
Xác định vị trí các tạp chất bằng cách so sánh với sắc ký đồ thu được của rutin chuẩn.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất với các hệ số hiệu chỉnh tương ứng: Tạp chất A là 0,8 và tạp chất C là 0,5.
Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử:
Tạp chất A, B, C: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu cần, không được lớn hơn diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (2 %).
Tổng diện tích của tất cả các pic tạp chất, không được lớn hơn 2 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (4 %).
Bỏ qua tất cả các pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).

Nước
Từ 7,5 % đến 9,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,100 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 20 ml *dimethylformamid (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch tetrabutylamonihydroxyd 0,1 M (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch tetrabutylamonihydroxyd 0,1 M (CĐ)*, tương đương với 30,53 mg $C_{27}H_{30}O_{16}$.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Bảo vệ thành mạch.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN RUTIN
Tabellae Rutini

Là viên nén chứa rutin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng rutin, $C_{27}H_{30}O_{16}.3H_2O$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

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

B. Lấy một lượng bột viên tương đương với khoảng 0,05 g rutin, thêm 20 ml *ethanol 90 %* nóng. Lắc kỹ để hòa tan rutin. Lọc. Lấy 2 ml dịch lọc, thêm vài giọt *acid hydrocloric đậm đặc (TT)* và một lượng nhỏ *kẽm bột (TT)*. Dung dịch chuyển sang màu đỏ.

Lấy 2 ml dịch lọc, thêm vài giọt *dung dịch sắt (III) clorid 3 %* sẽ xuất hiện màu nâu hơi lục.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Methanol - dung dịch đệm phosphat pH 3,0 - tetrahydrofuran (10 : 70 : 20).

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg rutin chuẩn vào trong bình định mức 50 ml, hòa tan và pha loãng bằng *methanol (TT)* đến định mức, trộn đều. Pha loãng 2.0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng pha động, trộn đều.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg rutin chuyển vào trong 1 bình định mức 50 ml, thêm 35 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm 15 min và thêm *methanol (TT)* đến định mức, trộn đều, lọc qua giấy lọc, bỏ phần dịch lọc đầu. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng pha động, trộn đều.

Điều kiện sắc ký :

Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Nhiệt độ cột : 40 °C

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic rutin trong 6 lần tiêm lặp lại nhỏ hơn 2,0 %.

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

Tính hàm lượng rutin, $C_{27}H_{30}O_{16}.3H_2O$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{27}H_{30}O_{16}.3H_2O$ trong rutin chuẩn.

Bảo quản

Đựng trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Hàm lượng thường dùng

20 mg, 50 mg, 100 mg.

VIÊN NÉN RUTIN VÀ ACID ASCORBIC

Tabellae Rutini et Acidi ascorbici

Viên nén Rutin C

Là viên nén bao đường có chứa đồng lượng rutin và acid ascorbic.

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

Hàm lượng rutin, $C_{27}H_{30}O_{16}.3H_2O$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng acid ascorbic, $C_6H_8O_6$, từ 90,0 % đến 120,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

Cân một lượng bột viên đã loại bỏ lớp bao tương ứng với 0,2 g acid ascorbic, thêm 20 ml *nước*, lắc kỹ trong 5 min, lọc. Cắn để định tính rutin, dịch lọc (A) để định tính acid ascorbic.

A. Rửa cắn ở trên 3 lần, mỗi lần với 10 ml *nước*. Chuyển giấy lọc cùng cắn vào cốc có mỏ, thêm 10 ml *ethanol (TT)* nóng, khuấy kỹ, lọc (dịch lọc B). Lấy 3 ml dịch lọc B, thêm 5 giọt *acid hydrocloric (TT)* và khoảng 10 mg *kẽm bột (TT)*, màu của dung dịch chuyển dần sang đỏ.

B. Lấy 5 ml dịch lọc B, thêm 1 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 3 % (TT)* xuất hiện màu nâu hơi lục.

C. Lấy 5 ml dịch lọc A, thêm 0,5 ml *dung dịch bạc nitrat 2 % (TT)*, để yên sẽ xuất hiện tủa xám đen.

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi triển khai: Ethanol - nước (120 : 20).

Dung dịch thử: Lấy 5 ml dịch lọc A, pha loãng thành 10 ml với *nước*.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch acid ascorbic đối chiếu 0,5 %.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và màu sắc với vết chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu.

Định lượng

Cân 20 viên đã loại bỏ lớp bao, cân xác định khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn.

Định lượng rutin

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Methanol - dung dịch đệm phosphat pH 3,0 - tetrahydrofuran (10 : 70 : 20).

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg rutin chuẩn vào trong bình định mức 50 ml, hòa tan và pha loãng bằng *methanol (TT)* đến định mức, trộn đều. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng pha động, trộn đều.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg rutin chuyển vào trong 1 bình định

mức 50 ml, thêm 35 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm 15 min và thêm *methanol (TT)* đến định mức, trộn đều, lọc qua giấy lọc, bỏ phần dịch lọc đầu. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng pha động, trộn đều.

Điều kiện sắc ký :

Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Nhiệt độ cột : 40 °C

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic rutin trong 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.

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

Tính hàm lượng rutin, $C_{27}H_{30}O_{16}.3H_2O$, trong một viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{27}H_{30}O_{16}.3H_2O$ của rutin chuẩn.

Định lượng acid ascorbic

Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 100 mg acid ascorbic, thêm 50 ml hỗn hợp gồm *nước* mới đun sôi để nguội và *dung dịch acid acetic 1 M (TT)* (10 : 1), lắc kỹ. Thêm 1ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* và định lượng bằng *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)* cho đến khi xuất hiện màu xanh lam bền vững ít nhất trong 30 s.

1 ml *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)* tương đương với 8,806 mg $C_6H_8O_6$.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng, tránh để tiếp xúc với kim loại.

Loại thuốc

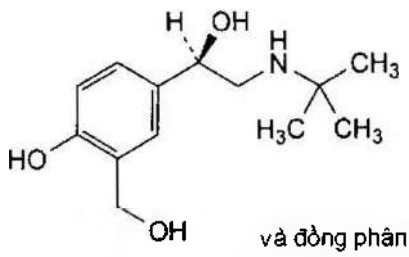
Bảo vệ thành mạch.

Hàm lượng thường dùng

Rutin 50 mg, acid ascorbic 50 mg.

SALBUTAMOL

Salbutamolum



và đồng phân đối quang

$C_{13}H_{21}NO_3$ P.t.l: 239,3

Salbutamol là (1*RS*)-2-[(1,1-dimethylethyl)amino]-1-[4-hydroxy-3-(hydroxymethyl)phenyl]ethanol, phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $C_{13}H_{21}NO_3$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột tinh thể trắng hay gần như trắng. Hơi tan trong nước, tan trong ethanol 96 %.

Chảy ở khoảng 155 °C kèm theo phân hủy.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của salbutamol chuẩn.

B. Hòa tan 80,0 mg chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 1 % (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 % (TT)*. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong dải bước sóng từ 230 nm đến 350 nm phải cho cực đại hấp thụ ở 276 nm. A (1 %, 1 cm) ở bước sóng cực đại phải từ 66 đến 75.

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

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Amoniac đậm đặc - nước - ethyl acetat - 2-propanol - methyl isobutyl ceton* (3 : 18 : 35 : 45 : 50).

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg salbutamol chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 3/4 chiều dài bản mỏng. Để khô bản mỏng ngoài không khí và phun lên bản mỏng dung dịch *3-methylbenzothiazolin-2-on hydrazon hydrochlorid (TT)* 0,1 % trong *methanol (TT)* 90 % (tt/tt), sau đó phun dung dịch *kali fericyanid (TT)* 2 % trong hỗn hợp *amoniac đậm đặc - nước* (1 : 3), sau đó phun dung dịch *methylbenzothiazolon hydrazon hydroclorid (TT)* 0,1 % trong *methanol (TT)* 90 % (tt/tt).

Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

D. Hòa tan 10 mg chế phẩm trong 50 ml dung dịch *natri tetraborat (TT)* 2 %, thêm 1 ml dung dịch *4-aminophenazon (TT)* 3 %, 10 ml *methylen clorid (TT)* và 10 ml dung dịch *kali fericyanid (TT)* 2 %, lắc đều và để yên cho tách lớp. Lớp methylen clorid phải có màu đỏ cam.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu VN_5 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực
Từ -0,10° đến +0,10° (Phụ lục 6.4).
Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - dung dịch đệm pH 3,65 (22 : 78).
Dung dịch đệm pH 3.65: Dung dịch chứa 2,87 g/l *natri heptansulfonat (TT)* và 2,5 g/l *kali dihydrophosphat (TT)* được điều chỉnh đến pH 3,65 bằng *dung dịch acid phosphoric loãng (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2,0 mg salbutamol chuẩn, 2 mg tạp chất B chuẩn của salbutamol, 3,0 mg tạp chất D chuẩn của salbutamol, 3,0 mg tạp chất F chuẩn của salbutamol và 3,0 mg tạp chất G chuẩn của salbutamol trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml bằng pha động. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan tạp chất I chuẩn của salbutamol có trong 1 lọ chuẩn trong 1,0 ml pha động.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 3,9 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm) với diện tích bề mặt riêng 335 m^2/g và kích thước lỗ xốp 10 nm, carbon chiếm 11,7 %.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 25 lần thời gian lưu của salbutamol.
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) để xác định pic của tạp chất B, D, F và G. Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của các tạp chất I.
Thời gian lưu tương đối so với salbutamol (thời gian lưu khoảng 2 min): Tạp chất B khoảng 1,3; tạp chất A khoảng 1,7; tạp chất C khoảng 2,0; tạp chất D khoảng 2,7; tạp chất H khoảng 3,0; tạp chất E khoảng 3,1; tạp chất G khoảng 4,1; tạp chất F khoảng 6,2; tạp chất I khoảng 23,2.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của salbutamol và pic của tạp chất B ít nhất là 3,0.
Giới hạn:
Tạp chất D: Diện tích pic tạp chất D không được lớn hơn diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).
Tạp chất F: Diện tích pic tạp chất F không được lớn hơn diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).
Tạp chất G: Diện tích pic tạp chất G không được lớn hơn diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).
Tạp chất A, B, C, E, H, I: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic salbutamol thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).
Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic salbutamol trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Tổng các tạp chất không được quá 1,0 %.
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 5-[(1*RS*)-2-[(1,1-dimethylethyl)amino]-1-methoxy ethyl]-2- hydroxyphenyl]methanol.
Tạp chất B: (1*RS*)-2-[(1,1-dimethylethyl)amino]-1-(4-hydroxy phenyl)ethanol.
Tạp chất C: (1*RS*)-2-[(1,1-dimethylethyl)amino]-1-(4-hydroxy-3-methylphenyl)ethanol.
Tạp chất D: 5-[(1*RS*)-2-[(1,1-dimethylethyl)amino]-1-hydroxy ethyl]-2-hydroxybenzaldehyd.
Tạp chất E: (1*RS*)-2-[benzyl(1,1-dimethylethyl)amino]-1-[4-hydroxy-3-(hydroxymethyl)phenyl]ethanol.
Tạp chất F: 1,1'-[oxybis[methylene(4-hydroxy-1,3-phenylen)]] bis[2-[(1,1-dimethylethyl)amino]ethanol].
Tạp chất G: 2-[benzyl(1,1-dimethylethyl)amino]-1-[4-hydroxy-3-(hydroxymethyl)phenyl]ethanon.
Tạp chất H: 4-[2-[(1,1-dimethylethyl)amino]ethyl]-2-methylphenol.
Tạp chất I: (1*RS*)-2-[(1,1-dimethylethyl)amino]-1-[4-(benzyloxy)-3-(hydroxymethyl)phenyl]ethanol.

Tạp chất J
Không được quá 0,2 %.
Hòa tan 50,0 mg trong dung dịch *acid hydrocloric (TT)* 0,1 % và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. Độ hấp thụ của dung dịch thu được ở bước sóng 310 nm không được lớn hơn 0,10.
Ghi chú:
Tạp chất J: 2-[(1,1-dimethylethyl)amino]-1-[4-hydroxy-3-(hydroxy methyl)phenyl]ethanon (salbutamon).

Bor
Không được quá 50 phần triệu.
Dung dịch thử: Thêm 5 ml dung dịch chứa *natri carbonat khan (TT)* 1,3 % và *kali carbonat (TT)* 1,7 % vào 50 mg chế phẩm. Bốc hơi trên cách thủy đến khô và sấy khô ở 120 °C. Nung cẩn nhanh đến khi vô cơ hóa hoàn toàn, để nguội và thêm 0,5 ml *nước*, 3,0 ml dung dịch *curcumin (TT)* 0,125 % trong *acid acetic băng (TT)* mới pha. Đun nóng nhẹ để hòa tan hoàn toàn, để nguội và thêm 3,0 ml hỗn hợp được điều chế bằng cách thêm từ từ và khuấy đều 5 ml *acid sulfuric (TT)* vào 5 ml *acid acetic băng (TT)*. Trộn đều và để yên 30 min, pha loãng thành 100,0 ml bằng *ethanol 96 % (TT)*, lọc và dùng dịch lọc.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,572 g *acid boric (TT)* trong 1000,0 ml *nước*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này

thành 100,0 ml bằng *nước*. Lấy 2,5 ml dung dịch thu được, thêm 5 ml dung dịch chứa *natri carbonat khan (TT)* 1,3 % và *kali carbonat (TT)* 1,7 % và tiến hành tiếp tục như dung dịch thử.
Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu ở bước sóng cực đại khoảng 555 nm. Độ hấp thụ của dung dịch thử không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

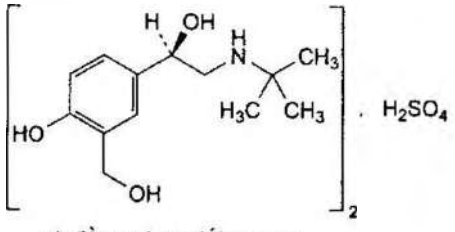
Định lượng
Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 30 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 23,93 mg $C_{13}H_{21}NO_3$.

Bảo quản
Trong bao bì kín và tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kích thích $beta_2$ giao cảm, thuốc giãn phế quản.

Chế phẩm
Thuốc hít, khí dung.

SALBUTAMOL SULFAT
Salbutamoli sulfas



và đồng phân đối quang

$(C_{13}H_{21}NO_3)_2.H_2SO_4$ P.t.l.: 576,7

Salbutamol sulfat là bis[(1*RS*)-2-[(1,1-dimethylethyl)amino]-1-[4-hydroxy-3- (hydroxymethyl) phenyl]ethanol] sulfat, phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $(C_{13}H_{21}NO_3)_2.H_2SO_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hay gần như trắng.
Dễ tan trong nước, thực tế không tan hoặc rất khó tan trong ethanol 96 % và trong methylen clorid.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: B, E
Nhóm II: A, C, D, E
A. Hòa tan 80,0 mg chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 1 % (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml với cùng dung môi. Đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 230 nm đến 350 nm, dung dịch phải có cực đại hấp thụ ở bước sóng 276 nm. Độ hấp thụ riêng ở cực đại hấp thụ phải từ 55 đến 64.
B. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của salbutamol sulfat chuẩn.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel.
Dung môi khai triển: Amoniac - nước - ethyl acetat - 2-propanol - methyl isobutyl keton (3 : 18 : 35 : 45 : 50)
Dung dịch thử: Hòa tan 12 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với *nước*.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 12 mg salbutamol sulfat chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 10 ml bằng cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 18 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch methylbenzothiazolon hydrazon hydroclorid 0,1 %* trong *methanol 90 %*, tiếp theo là *dung dịch kali fericyanid 2 %* trong hỗn hợp gồm *amoniac 18 M (TT)* và *nước* (1 : 3), phun tiếp *dung dịch methylbenzothiazolon hydrazon hydroclorid 0,1 %* trong *methanol 90 %*.
Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, kích thước và màu sắc.
D. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 50 ml *dung dịch dinatri tetraborat 2 %*. Thêm 1 ml *dung dịch aminopyrazolon 3 %*, 10 ml *methylen clorid (TT)* và 10 ml *dung dịch kali fericyanid 2 %*. Lắc mạnh và để cho tách lớp, màu đỏ cam xuất hiện trong lớp methylen clorid.
E. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của sulfat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không đậm hơn màu của dung dịch màu mẫu VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực
Từ -0,10° đến +0,10° (Phụ lục 6.4).
Xác định trên dung dịch S.

Giới hạn acid - kiềm
Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 0,15 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)* và 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (CĐ)*,

dung dịch có màu vàng. Dung dịch chuyển sang màu đỏ khi thêm không quá 0,4 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (CĐ)*.

Tạp chất J

Không được quá 0,2 %.

Hòa tan 60,0 mg chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 %*, pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch ở bước sóng 310 nm không được lớn hơn 0,10.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp gồm 22 thể tích *acetonitril (TT)* và 78 thể tích dung dịch đệm phosphat pH 3,65 [dung dịch có chứa 0,287 % *natri heptansulfonat* và 0,25 % *kali dihydrophosphat* được điều chỉnh đến pH 3,65 bằng dung dịch *acid phosphoric loãng (TT)*].

Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với pha động.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2,4 mg salbutamol sulfat chuẩn; 2,0 ml tạp chất B chuẩn; 3,0 mg tạp chất D chuẩn; 3,0 mg tạp chất F chuẩn và 3,0 mg tạp chất G chuẩn của salbutamol trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với pha động. Pha loãng 2,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml với pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan tạp chất I chuẩn của salbutamol trong 1 ống chuẩn bằng 1 ml pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (15 cm × 3,9 mm) được nhồi pha tĩnh là các hạt hình cầu *end-capped octylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm) có diện tích bề mặt riêng 335 m^2/g, kích thước lỗ xốp 10 nm và tỷ lệ carbon của mạch liên kết chiếm 11,7 %.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Thời gian chạy: 25 lần thời gian lưu của salbutamol.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiêm dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic salbutamol và pic tạp chất B không được nhỏ hơn 3,0.

Thời gian lưu tương đối của các tạp chất so với salbutamol (thời gian lưu khoảng 1,9 min): tạp B là 1,3; tạp A là 1,7; tạp C là 2,0: tạp D là 2,7; tạp H là 3,0; tạp E là 3,1; tạp G là 4,1; tạp F là 6,2 và tạp I là 23,2.

Dùng dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic tạp I.

Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích của các pic tương ứng với các tạp D, tạp F và tạp G không được lớn hơn diện tích pic tương ứng của các tạp D, tạp F, tạp G trong dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).

Diện tích của mỗi pic tương ứng với tạp A, B, C, E, H, I không được lớn hơn 1,5 lần diện tích của pic salbutamol trong dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).

Tổng hàm lượng các tạp chất không được lớn hơn 1,0 %, bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn hoặc bằng 0,25 lần diện tích pic salbutamol trong dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A : [5-[(1*RS*)-2-[(1,1-dimethylethyl)amino]-1-methoxy ethyl]-2-hydroxyphenyl]methanol.

Tạp chất B : (1*RS*)-2-[(1,1-dimethylethyl)amino]-1- (4-hydroxy phenyl)ethanol.

Tạp chất C: (1*RS*)-2-[(1,1-dimethylethyl)amino]-1-(4-hydroxy-3-methylphenyl)ethanol.

Tạp chất D: 5-[(1*RS*)-2-[(1,1-dimethylethyl)amino]-1-hydroxy ethyl]-2-hydroxybenzaldehyd.

Tạp chất E: (1*RS*)-2-[benzyl(1,1-dimethylethyl)amino]-1-[4-hydroxy-3-(hydroxymethyl) phenyl]ethanol.

Tạp chất F: 1,1'-[oxybis[methylene(4-hydroxy-1,3-phenylene)]] bis[2-[(1,1-dimethylethyl)amino] ethanol].

Tạp chất G: 2-[benzyl(1,1-dimethylethyl)amino]-1-[4-hydroxy-3-(hydroxymethyl)phenyl]ethanon.

Tạp chất H: 4-[2-[(1,1-dimethylethyl)amino]ethyl]-2-methylphenol.

Tạp chất I: (1*RS*)-2-[(1,1-dimethylethyl)amino]-1-[3-(hydroxy methyl)-4-benzyloxyphenyl] ethanol.

Tạp chất J: 2-[(1,1-dimethylethyl)amino]-1-[4-hydroxy-3-(hydroxy methyl)phenyl]ethanon (salbutamon).

Bor

Không được quá 50 phần triệu.

Dung dịch thử: Lấy 50 mg chế phẩm, thêm 5 ml dung dịch có chứa 1,3 % *natri carbonat khan* và 1,7 % *kali carbonat*. Làm bay hơi tới cắn trên cách thủy và sấy khô ở 120 °C. Nung nhanh cắn đến khi các chất hữu cơ bị phá hủy hoàn toàn, để nguội, thêm 0,5 ml nước và 3,0 ml *dung dịch curcumin 0,125 %* trong *acid acetic băng (TT)* mới pha. Đun nóng cắn thận đến khi tan hoàn toàn, để nguội và thêm 3,0 ml hỗn hợp mới pha bằng cách thêm từ từ (vừa thêm vừa khuấy) 5 ml *acid sulfuric (TT)* vào 5 ml *acid acetic băng (TT)*. Trộn đều rồi để yên 30 min. Pha loãng thành 100,0 ml với *ethanol 96 % (TT)*, lọc và dùng dịch lọc làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,572 g *acid boric (TT)* trong 1000,0 ml *nước*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml với *nước*. Lấy 2,5 ml dung dịch, thêm 5 ml dung dịch có chứa 1,3 % *natri carbonat khan* và 1,7 % *kali carbonat* rồi tiến hành như đối với dung dịch thử, bắt đầu từ "Làm bay hơi tới cắn trên cách thủy và sấy khô ở 120 °C..."

Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu ở bước sóng cực đại khoảng 555 nm. Độ hấp thụ của dung dịch thử không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong 5 ml *acid formic khan (TT)*, thêm 35 ml *acid acetic khan(TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch*

acid percloric 0,1 N (CĐ). Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương ứng với 57,67 mg $(C_{13}H_{21}NO_3)_2H_2SO_4$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kích thích thụ thể beta$_2$ giao cảm, giãn phế quản.

Chế phẩm
Viên nén, thuốc tiêm, thuốc hít, khí dung.

VIÊN NÉN SALBUTAMOL
Tabellae Salbutamoli

Là viên nén chứa salbutamol sulfat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng salbutamol, $C_{13}H_{21}NO_3$, từ 92,5 % đến 107,5 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lắc một lượng bột viên tương ứng với 2,5 mg salbutamol với 50 ml *dung dịch natri tetraborat 2 %*. Thêm 1 ml *dung dịch aminopyrazolon 3 %*, 10 ml *dung dịch kali fericyanid 2 %* và 10 ml *cloroform (TT)*. Lắc đều và để phân lớp, lớp cloroform có màu đỏ cam.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 4.4).
Tiến hành như phần Tạp chất liên quan, chấm 2 µl mỗi dung dịch sau:
Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên tương ứng với 10 mg salbutamol, thêm 10 ml *methanol 80 % (tt/tt)*, khuấy kỹ, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 12 mg salbutamol sulfat chuẩn trong 10 ml *methanol 80 % (tt/tt)*.
Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về màu sắc, kích thước và giá trị R_f.
C. Lắc một lượng bột viên tương ứng với 4 mg salbutamol với 10 ml *nước*, lọc. Dịch lọc phải cho phản ứng của ion sulfat (Phụ lục 8.1).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 4.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Ethyl acetat - propan-2-ol - nước - amoniac 13,5 M (50 : 30 : 16 : 4)
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với 10 mg salbutamol với 1 ml *nước* trong 15 phút. Ly tâm gạn lấy phần dịch trong.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch salbutamol sulfat chuẩn nồng độ 0,0060 % trong *nước*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 20 µl mỗi dung dịch lên bản mỏng. Sau khi triển khai sắc ký, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng, đặt bản mỏng trong bình bão hòa hơi *diethylamin (TT)* trong vài phút. Lấy ra, phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfanilic diazo hóa (TT)*. Bất kỳ vết nào ngoài vết chính có trong sắc ký đồ của dung dịch thử phải không được đậm hơn vết thu được trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu, bỏ qua vết màu hồng ở gần điểm xuất phát.

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với pha động và điều kiện sắc ký như phần Định lượng.
Dung dịch thử: Cho một viên thuốc vào một bình định mức dung tích 25 ml, thêm khoảng 20 ml pha động, lắc đến khi viên rã hoàn toàn, thêm pha động đến định mức, lắc đều, lọc.
Dung dịch chuẩn: Pha dung dịch chuẩn salbutamol sulfat trong pha động có nồng độ tương đương với nồng độ của dung dịch thử.

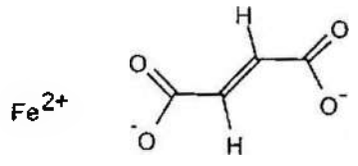
Định lượng
Viên có hàm lượng salbutamol 2 mg hoặc ít hơn: Lấy giá trị trung bình của kết quả 10 lần thử nghiệm trong xác định độ đồng đều hàm lượng.
Viên có hàm lượng trên 2 mg thì tiến hành như sau:
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch natri dihydrophosphat pH 3,1 - methanol (85 : 15).
Dung dịch natri dihydrophosphat pH 3,1: Hòa tan 11,04 g *natri dihydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*, chỉnh đến pH 3,1 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch chứa salbutamol sulfat chuẩn trong pha động có nồng độ 96 µg/ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 4 mg salbutamol vào bình định mức 50 ml, thêm khoảng 40 ml pha động, lắc để hòa tan và thêm pha động đến định mức. Lắc đều, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 276 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, số đĩa lý thuyết, tính trên pic salbutamol sulfat, phải lớn hơn 3000.
Tiến hành sắc ký lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng salbutamol, $C_{13}H_{21}NO_3$, có trong viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{13}H_{21}NO_3$ trong salbutamol sulfat chuẩn. Hệ số chuyển đổi từ salbutamol sulfat sang salbutamol là 0,83.

Bảo quản
Đóng trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kích thích thụ thể beta$_2$ giao cảm, giãn phế quản.

Hàm lượng thường dùng
2 mg, 4 mg, 8 mg.

SẮT FUMARAT
Ferrosi fumaras



$C_4H_2FeO_4$ P.t.l: 169,9

Sắt fumarat là sắt (II) (E)-butendioat, phải chứa từ 93,0 % đến 101,0 % $C_4H_2FeO_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột mịn, màu da cam đỏ hay nâu đỏ. Khó tan trong nước, rất khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Acid formic khan - methylen clorid - butanol - heptan (12 : 16 : 32 : 44).
Dung dịch thử: Thêm 25 ml hỗn hợp đồng thể tích *acid hydrocloric (TT)* và *nước* vào 1,0 g chế phẩm, đun nóng trên cách thủy 15 min. Để nguội và lọc. Dùng dịch lọc để thử phép thử C. Rửa cặn bằng 50 ml hỗn hợp *dung dịch acid hydrocloric 2 M - nước* (1 : 9). Sấy khô cặn ở 100 °C đến 105 °C. Hòa tan 20 mg cặn trong *aceton (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20 mg acid fumaric chuẩn trong *aceton (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 5 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký trong bình không bão hòa dung môi đến khi dung môi đi được 10 cm. Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 15 min và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ, vết chính của dung dịch thử phải giống vị trí và kích thước với vết chính của dung dịch đối chiếu.
B. Trộn 0,5 g chế phẩm với 1 g *resorcin (TT)*. Cho 0,5 g hỗn hợp trên vào chén nung, thêm 0,15 ml *acid sulfuric (TT)* và đun nóng nhẹ tạo thành khối dẻo màu đỏ thẫm. Cho cẩn thận khối dẻo trên vào 100 ml *nước*, màu vàng da cam xuất hiện và dung dịch không có huỳnh quang.
C. Dịch lọc ở phép thử A phải cho phản ứng của ion sắt (II) (Phụ lục 8.1).

Sulfat
Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.4.14).
Đun nóng 0,15 g chế phẩm với 8 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và 20 ml *nước*. Làm lạnh trong nước đá, lọc và pha loãng dịch lọc thành 30 ml bằng *nước*. Dùng 15 ml dung dịch thu được để thử.

Arsen
Không được quá 5 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).
Trộn 1,0 g chế phẩm với 15 ml *nước* và 15 ml *acid sulfuric (TT)*. Làm nóng để kết tủa hoàn toàn acid fumaric. Để nguội và thêm 30 ml *nước*, lọc, rửa tủa bằng *nước*. Tập trung dịch lọc và nước rửa, thêm *nước* để được 100 ml. Lấy 20 ml dung dịch thu được để thử theo phương pháp A.

Ion sắt (III)
Không được quá 2,0 %.
Trong bình nón nút mài, hòa tan 3,0 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 10 ml *acid hydrocloric (TT)* và 100 ml *nước* bằng cách đun nhanh tới sôi. Để sôi 15 s. Làm nguội nhanh, thêm 3 g *kali iodid (TT)*, đậy bình và để chỗ tối 15 min. Thêm 2 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* và chuẩn độ iod giải phóng bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)*. Song song làm mẫu trắng. Hiệu số giữa thể tích dung dịch chuẩn độ tiêu thụ bởi mẫu thử và mẫu trắng là thể tích dung dịch chuẩn độ bị iod giải phóng bởi ion sắt (III) tiêu thụ.
1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 5,585 mg ion sắt (III).
Dung dịch S: Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 10 ml *acid hydrocloric không có chì (TT)* và 80 ml *nước*, đun nóng nhẹ nếu cần. Để nguội, lọc và pha loãng thành 100 ml bằng *nước*.

Cadmi
Không được quá 10 phần triệu.
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Dung dịch S.
Dung dịch chuẩn: Các dung dịch chuẩn được chuẩn bị bằng cách pha loãng từ *dung dịch cadmi mẫu 0,1 % Cd (TT)* bằng *dung dịch acid hydrocloric không có chì 10 % (tt/tt)*.
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 228,8 nm, dùng đèn cathod rỗng cadmi làm nguồn phát xạ và ngọn lửa không khí - acetylen.

Crom
Không được quá 200 phần triệu.
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Dung dịch S.
Dung dịch chuẩn: Các dung dịch chuẩn được chuẩn bị bằng cách pha loãng từ *dung dịch crom mẫu 0,1 % Cr (TT)* bằng *dung dịch acid hydrocloric không có chì 10 % (tt/tt)*.
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 357,9 nm, dùng đèn cathod rỗng crom làm nguồn phát xạ và ngọn lửa không khí - acetylen.

Chì
Không được quá 20 phần triệu.
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Dung dịch S.
Dung dịch chuẩn: Các dung dịch chuẩn được chuẩn bị bằng cách pha loãng từ *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* bằng *dung dịch acid hydrocloric không có chì 10 % (tt/tt)*.
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 283,3 nm, dùng đèn cathod rỗng chì làm nguồn phát xạ và ngọn lửa không khí - acetylen.

Thủy ngân
Không được quá 1 phần triệu.
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Dung dịch S.
Dung dịch chuẩn: Các dung dịch chuẩn được chuẩn bị bằng cách pha loãng từ *dung dịch thủy ngân mẫu 10 phần triệu Hg (TT)* bằng *dung dịch acid hydrocloric không có chì 25 % (tt/tt)*.
Theo sự hướng dẫn của nhà sản xuất thiết bị, cho 5 ml dung dịch S hay 5 ml các dung dịch chuẩn vào bình phản ứng của bộ phận hóa hơi lạnh, thêm 10 ml *nước* và 1 ml *dung dịch thiếc (II) clorid (TT_1)*.
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 253,7 nm, dùng đèn cathod rỗng thủy ngân làm nguồn phát xạ.

Nickel
Không được quá 200 phần triệu.
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Dung dịch S.
Dung dịch chuẩn: Các dung dịch chuẩn được chuẩn bị bằng cách pha loãng từ *dung dịch nickel mẫu 10 phần triệu Ni (TT)* bằng *dung dịch acid hydrocloric không có chì 10 % (tt/tt)*.
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 232 nm, dùng đèn cathod rỗng nickel làm nguồn phát xạ và ngọn lửa không khí - acetylen.

Kẽm
Không được quá 500 phần triệu.
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Dùng dung dịch pha loãng 10 lần của dung dịch S để thử.
Dung dịch chuẩn: Các dung dịch chuẩn được chuẩn bị bằng cách pha loãng từ *dung dịch kẽm mẫu 10 phần triệu Zn (TT)* bằng *dung dịch acid hydrocloric không có chì 1 % (tt/tt)*.
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 213,9 nm, dùng đèn cathod rỗng kẽm làm nguồn phát xạ và ngọn lửa không khí - acetylen.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Định lượng
Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong 7,5 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* bằng cách đun nóng nhẹ. Để nguội và thêm 25 ml *nước*, 0,1 ml *dung dịch feroin sulfat (TT)*. Chuẩn độ ngay lập tức bằng *dung dịch ceri sulfat 0,1 M (CĐ)* đến khi màu chuyển từ đa cam sang lục lam nhạt.
1 ml *dung dịch ceri sulfat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 16,99 mg $C_4H_2FeO_4$.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Phòng và điều trị thiếu máu thiếu sắt.

Chế phẩm
Viên nén, nang, viên phối hợp acid folic.

VIÊN NÉN SẮT FUMARAT VÀ ACID FOLIC
Tabellae Ferrosi fumaratis et Acidi folici

Là viên nén bao phim chứa sắt fumarat và acid folic.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén", mục "Viên bao" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng sắt fumarat, $C_4H_2FeO_4$, từ 90,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng acid folic, $C_{19}H_{19}N_7O_6$, từ 90,0 % đến 115,0 % so với lượng ghi trên nhãn.
Chú ý: Tiến hành các phép thử trong điều kiện tránh ánh sáng.

Định tính
A. Trong phần Định lượng acid folic, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng thời gian lưu với pic acid folic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Cân một lượng bột viên tương ứng khoảng 0,8 g sắt fumarat, thêm 25 ml hỗn hợp đồng thể tích *acid hydrocloric (TT)* và *nước*, đun trên cách thủy 15 min, để nguội và lọc. Giữ cắn cho phép thử C. Dịch lọc phải cho các phản ứng của sắt (II) (Phụ lục 8.1).
C. Rửa cắn thu được trong phép thử B bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,2 M (TT)*, mỗi lần với 5 ml, cho đến khi dịch lọc không còn màu vàng và sấy khô ở 105 °C. Lắc kỹ khoảng 0,1 g cắn thu được với 2 ml *dung dịch natri carbonat 10 % (TT)* và thêm 2 giọt đến 3 giọt *dung dịch kali permanganat 5 % (TT)*. Màu nâu sẽ xuất hiện ngay lập tức.

Sắt (III)
Không được quá 5,0 % trong sắt fumarat.
Cân chính xác một lượng bột viên chứa khoảng 1,5 g sắt fumarat vào bình nón nút mài, thêm hỗn hợp gồm 100 ml *nước* và 10 ml *acid hydrocloric (TT)*, lắc kỹ và đun nhanh tới sôi. Để sôi 15 s, làm nguội nhanh, thêm 3 g *kali iodid*

(TT), đậy nắp, để yên trong chỗ tối 15 min và chuẩn độ iod giải phóng bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)*, dùng *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị.
Song song tiến hành một mẫu trắng trong cùng điều kiện. Hiệu số giữa hai lần chuẩn độ không được quá 13,4 ml.

Độ đồng đều hàm lượng acid folic
Chế phẩm có hàm lượng acid folic ít hơn 2 mg phải đáp ứng yêu cầu "Độ đồng đều hàm lượng" (Phụ lục 11.2).
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hỗn hợp gồm 135 ml *methanol (TT)* và 800 ml dung dịch chứa *natri perclorat 0,938 %* và *kali dihydrophosphat 0,075 %*, điều chỉnh pH đến 7,2 bằng *dung dịch kali hydroxyd 0,1 M* và pha loãng bằng *nước* thành 1000 ml, lắc đều.
Dung môi hòa tan: Hỗn hợp gồm 800 thể tích *dung dịch dikali hydrophosphat 0,57 %* và 135 thể tích *methanol (TT)*.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch acid folic chuẩn 0,0007 % trong dung môi hòa tan.
Dung dịch thử: Cho một viên thuốc vào bình định mức 50 ml, thêm 40 ml dung môi hòa tan, lắc siêu âm 5 phút, lắc cơ học thêm 15 min nữa, thêm dung môi hòa tan đến định mức, lắc đều, lọc. Pha loãng dịch lọc nếu cần với dung môi hòa tan để được dung dịch có nồng độ acid folic tương đương với nồng độ của dung dịch chuẩn.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 277 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic acid folic trên sắc ký đồ thu được giữa các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng acid folic, $C_{19}H_{19}N_7O_6$, trong mỗi viên dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử và dung dịch chuẩn và dựa vào hàm lượng $C_{19}H_{19}N_7O_6$ của acid folic chuẩn.

Định lượng
Cân 20 viên (đã loại bỏ vỏ bao), tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn.
Định lượng sắt fumarat
Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,3 g sắt fumarat, thêm 7,5 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* vừa đun nóng nhẹ vừa lắc để phân tán và hòa tan. Để nguội, thêm 25 ml *nước* và chuẩn độ ngay lập tức bằng *dung dịch amoni ceri sulfat 0,1 M (CĐ)*, dùng *dung dịch feroin sulfat (TT)* làm chỉ thị.
1 ml dung dịch *amoni ceri sulfat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 16,99 mg $C_4H_2FeO_4$.

Định lượng acid folic
Đối với chế phẩm có hàm lượng acid folic ít hơn 2 mg, lấy giá trị trung bình của 10 viên trong phép thử Độ đồng đều hàm lượng acid folic.
Đối với chế phẩm có hàm lượng acid folic bằng 2 mg hoặc lớn hơn, tiến hành định lượng bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). *Pha động, dung môi hòa tan, dung dịch chuẩn, điều kiện sắc ký và cách tiến hành:* Như mô tả trong mục Độ đồng đều hàm lượng acid folic.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương đương với 0,35 mg acid folic vào bình định mức 50 ml, thêm 40 ml dung môi hòa tan, lắc siêu âm 5 min, lắc cơ học thêm 15 min nữa, thêm dung môi hòa tan đến định mức, lắc đều và lọc.
Tính hàm lượng acid folic, $C_{19}H_{19}N_7O_6$, trong mỗi viên dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{19}H_{19}N_7O_6$ của acid folic chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Điều trị thiếu máu.

Hàm lượng thường dùng
200 mg sắt fumarat, 1 mg acid folic.

SẮT OXYD
Ferrici oxydum

Fe_2O_3 P.t.l: 159,7.

Sắt oxyd phải chứa từ 97,0 % đến 100,5 % Fe_2O_3, tính theo chế phẩm đã nung.

Tính chất
Bột có thể có màu đỏ, vàng, đen hay gam màu khác do trộn lẫn ba màu cơ bản trên. Không tan trong nước và dung môi hữu cơ, tan trong acid hydrocloric đậm đặc khi đun nóng.

Định tính
Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 50 ml *acid hydrocloric (TT)* và pha loãng thành 200 ml bằng *nước*. Dung dịch thu được cho phản ứng của ion sắt (III) (Phụ lục 8.1).

Chất tan trong nước
Không được quá 1,0 %.
Cân 2,0 g chế phẩm, thêm 100 ml *nước* và để trên cách thủy sôi 2 h. Lọc và rửa phễu lọc bằng *nước*. Bốc hơi dịch lọc và nước rửa đến khô. Sấy cắn ở 105 °C trong 1 h. Cắn thu được không được quá 20 mg.

Chất không tan trong acid
Không được quá 0,1 %.
Cân 2,0 g chế phẩm, thêm 25 ml *acid hydrocloric (TT)* và đun sôi 20 min. Thêm 100 ml *nước nóng* và lọc qua phễu

xốp đã cân bì trước, rửa phễu bằng *nước nóng* cho đến khi nước rửa không còn cho phản ứng của ion clorid. Sấy phễu ở 105 °C trong 1 h. Cắn thu được không được quá 2 mg.

Chất màu hữu cơ và phẩm màu đỏ

Lấy 3 cốc có mỏ, cân vào mỗi cốc 1,0 g chế phẩm. Cho riêng biệt vào mỗi cốc 25 ml *cloronaphthalen (TT)*, 25 ml *ethanol 96 % (TT)*, 25 ml *cloroform (TT)*. Đun hai cốc chứa ethanol 96 % và cloroform đến sôi. Đun nóng cốc còn lại trên cách thủy sôi 15 min, thỉnh thoảng lắc. Lọc các hỗn hợp qua giấy lọc chịu được dung môi. Nếu dịch lọc không trong thì ly tâm 15 min. Ghi phổ (Phụ lục 4.1) của các dịch lọc trong khoảng bước sóng từ 350 nm đến 750 nm, trong cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là các dung môi tương ứng. Trong toàn phổ không được có pic nào có mật độ quang lớn hơn +0,001.

Arsen

Không được quá 3 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).

Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong vài ml *acid hydrocloric (TT)* bằng cách đun nóng rồi pha loãng thành 15,0 ml bằng *acid hydrocloric (TT)*. Lấy 10,0 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo phương pháp A.

Chì

Không được quá 10 phần triệu.

Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Cân 2,5 g chế phẩm, thêm 35 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (TT)* và lắc 1 h. Lọc, tập trung dịch lọc vào bình định mức 50 ml, thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (TT)* đến vạch, lắc đều.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 5,0 ml *dung dịch chì mẫu 1000 phần triệu Pb (TT)* vào bình định mức 100 ml, thêm 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 N (TT)* và *nước* đến vạch, lắc đều. Lấy 1,0 ml dung dịch thu được vào bình định mức 100 ml, thêm 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 N (TT)* và *nước* đến vạch, lắc đều. Dung dịch này có nồng độ chì 0,5 µg/ml.

Đo độ hấp thụ của các dung dịch trên ở bước sóng 217,0 nm, sử dụng đèn chì cathod rỗng làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - acetylen. Độ hấp thụ đo được của dung dịch thử không được lớn hơn độ hấp thụ đo được của dung dịch đối chiếu.

Thủy ngân

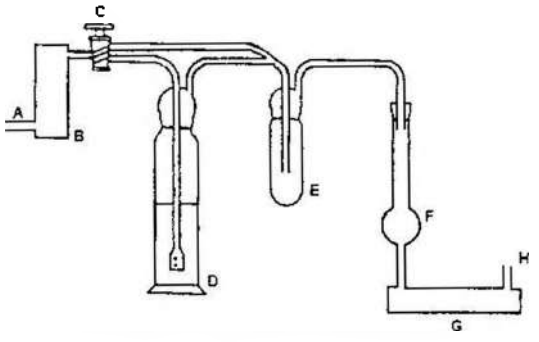
Không được quá 3 phần triệu.

Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4).

Phương pháp

Thiết bị phát hiện thủy ngân: Dùng một máy quang phổ hấp thụ nguyên tử thích hợp có khả năng đo bức xạ do hơi thủy ngân hấp thụ tại vạch cực đại 253,6 nm của thủy ngân (*Ghi chú:* Tráng tất cả dụng cụ thủy tinh sử dụng bằng *dung dịch acid nitric 10 %*, sau đó tráng kỹ lại bằng *nước* trước khi sử dụng).

Thiết bị tạo hơi thủy ngân: Thiết bị gồm một lưu lượng kế điều chỉnh tốc độ dòng, có khả năng điều chỉnh tốc độ dòng từ 500 ml/min đến 1000 ml/min, nối qua một van ba chiều có khóa bằng teflon vào một bình tạo hơi thủy ngân (bình sục khí 250 ml), qua một bẫy, một ống làm khô chứa magnesi perclorat, một cóng đo dài 10 cm, đường kính 25 mm, cóng được nối với đường thải khí đưa vào hốt. Các phần nối được làm bằng thủy tinh hoặc polyvinyl clorid



Hình 1: Thiết bị tạo hơi thủy ngân

A: Không khí hoặc khí nitrogen
B: Lưu lượng kế
C: Van ba chiều
D: Bình tạo hơi thủy ngân
E: Bẫy thủy ngân
F: Ống làm khô chứa $Mg(ClO_4)$
G: Cóng thạch anh, dài 10 cm
H: Đường dẫn khí thải

Thuốc thử:

Dung dịch kali permanganat 5 %: Hòa tan 5 g *kali permanganat (TT)* trong 100 ml *nước*.

Dung dịch hydroxylamin hydroclorid: Hòa tan 10 g *hydroxylamin hydroclorid (TT)* trong 100 ml *nước*.

Dung dịch thiếc (II) clorid: Hòa tan 10 g $SnCl_2.2H_2O$ trong 20 ml *acid hydrocloric (TT)*, thêm 80 ml *nước*. Chuẩn bị dung dịch này hàng tuần.

Dung dịch chuẩn gốc thủy ngân 1000 µg/ml.

Dung dịch chuẩn: Pha loãng dung dịch chuẩn gốc thủy ngân 1000 g/ml bằng *nước* để được dung dịch chuẩn có nồng độ thủy ngân 1 µg/ml. Hút chính xác 2,0 ml dung dịch chuẩn thủy ngân vào bình nón 100 ml, thêm 35 ml *nước*, 3 ml *acid sulfuric (TT)* và 1 ml *dung dịch kali permanganat 5 %*. Đậy bình bằng mặt kính đồng hồ, đun sôi vài giây, để nguội.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,67 g chế phẩm vào bình nón, thêm 35 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,5 M (TT)*, đun sôi. Để nguội, thêm 2 giọt *dung dịch phenolphtalein (TT)* và, nếu cần, trung hòa dung dịch bằng cách thêm từ từ, vừa thêm vừa khuấy, *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* hoặc *dung dịch acid sulfuric 1 N (TT)*. Thêm 3 ml *acid sulfuric (TT)* và 1 ml *dung dịch kali permanganat 5 %*. Đậy bình bằng mặt kính đồng hồ, đun sôi vài giây, để nguội.

Tiến hành:
Chuẩn bị thiết bị tạo hơi thủy ngân như sơ đồ, bình tạo hơi thủy ngân và bẫy được để trống, van ba chiều được để ở vị trí bypass (không khí đi qua bình tạo hơi thủy ngân). Nối thiết bị tạo hơi thủy ngân với cổng đo, điều chỉnh dòng không khí hay nitơ sao cho trong quá trình đo tiếp theo thu được độ hấp thụ cao nhất và lặp lại mà không gây tạo bọt quá nhiều với dung dịch thử. Đợi đến khi thu được đường nền phẳng ở bước sóng 253,6 nm theo hướng dẫn sử dụng thiết bị quang phổ hấp thụ nguyên tử.
Xử lý dung dịch chuẩn và dung dịch thử tương tự nhau như sau: Thêm từng giọt dung dịch hydroxylamin hydroclorid vào để loại kali permanganat dư cho tới khi dung dịch thu được trở thành không màu. Lập tức chuyển toàn bộ dung dịch vào bình tạo hơi thủy ngân, tráng bình chứa bằng *nước*, chuyển vào bình tạo hơi thủy ngân, rồi pha loãng dung dịch trong bình tạo hơi thủy ngân bằng *nước* đến 100 ml. Thêm 2 ml *dung dịch thiếc (II) clorid*, lập tức nối bình tạo hơi thủy ngân vào thiết bị tạo hơi thủy ngân. Xoay van ba chiều từ vị trí bypass sang vị trí hóa hơi, tiếp tục quá trình hóa hơi cho tới khi độ hấp thụ tăng đến đỉnh rồi trở lại đường nền. Sau mỗi lần đo tháo bình tạo hơi khỏi thiết bị, rửa sạch bằng *nước*. Độ hấp thụ của dung dịch thử không được cao hơn độ hấp thụ của dung dịch chuẩn.

Định lượng
Cân chính xác khoảng 1,500 g chế phẩm, thêm 25 ml *acid hydrocloric (TT)* và đun nóng trên cách thủy tới khi hòa tan hoàn toàn. Thêm 10 ml *dung dịch hydrogen peroxyd 10 tt (TT)* và bốc hơi trên cách thủy tới gần cạn để đuổi hết hydrogen peroxyd. Thêm 5 ml *acid hydrocloric (TT)* và đun nóng để hòa tan cặn, thêm 25 ml *nước*, lọc vào bình định mức 250 ml, rửa phễu bằng *nước* và thêm *nước* tới vạch. Lấy 50 ml dung dịch thu được vào bình nón nút mài, thêm 3 g *kali iodid (TT)* và 5 ml *acid hydrocloric (TT)*, đậy nắp bình, để yên 15 min. Thêm 50 ml *nước* và chuẩn độ lượng iod giải phóng bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)*, dùng *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị. Song song làm mẫu trắng.
1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 7,985 mg Fe_2O_3
Để tính hàm lượng Fe_2O_3 theo chế phẩm đã nung, nung 2,0 g chế phẩm ở nhiệt độ 800 °C ± 25 °C đến khối lượng không đổi.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc
Tá dược.

SẮT (II) SULFAT
Ferrosi sulfas

$FeSO_4.7H_2O$ P.t.l: 278,0

Sắt (II) sulfat phải chứa từ 98,0 % đến 105,0 % $FeSO_4.7H_2O$.

Tính chất
Bột kết tinh màu xanh lục nhạt hay tinh thể xanh lục lam, lên hoa trong không khí và bị oxy hóa trong không khí ẩm thành màu nâu.
Dễ tan trong nước, rất tan trong nước sôi, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Định tính
A. Chế phẩm phải cho phản ứng của sulfat (Phụ lục 8.1).
B. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của ion sắt (II) (Phụ lục 8.1).
C. Chế phẩm phải đạt yêu cầu về giới hạn hàm lượng.

pH
Từ 3,0 đến 4,0 (Phụ lục 6.2).
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Clorid
Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.5).
Dung dịch S: Hòa tan 4,0 g chế phẩm trong *dung dịch acid nitric không có chì* 5 % (tt/tt) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Pha loãng 5 ml dung dịch S thành 10 ml bằng *nước* và thêm 5 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* rồi tiến hành thử. Chuẩn bị mẫu đối chiếu gồm 8 ml *dung dịch clorid mẫu 5 phần triệu Cl (TT)* và 5 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* và 2 ml *nước*. Dùng 0,15 ml *dung dịch bạc nitrat 1,7 % (TT)* trong phép thử này.

Crom
Không được quá 50 phần triệu.
Phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 2).
Dung dịch thử: Dung dịch S.
Dãy dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch crom mẫu 100 phần triệu Cr (TT)* bằng *dung dịch acid nitric không có chì (TT)* 5 % (tt/tt).
Đo độ hấp thụ tại bước sóng 357,9 nm, dùng đèn cathod rỗng của crom làm nguồn bức xạ với dải truyền qua 1 nm và ngọn lửa không khí - acetylen.

Đồng
Không được quá 50 phần triệu.
Phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 2).
Dung dịch thử: Dung dịch S.
Dãy dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch đồng mẫu 100 phần triệu Cu (TT)* bằng *dung dịch acid nitric không có chì* 5 % (tt/tt).
Đo độ hấp thụ tại bước sóng 324,7 nm, dùng đèn cathod rỗng của đồng làm nguồn bức xạ với dải truyền qua 1 nm và ngọn lửa không khí - acetylen.

Ion sắt (III)
Không được quá 0,3 %.

Trong bình nón nút mài, hòa tan 5,00 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 10 ml *acid hydrocloric (TT)* và 100 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*. Thêm 3 g *kali iodid (TT)*, đậy nắp bình và để chỗ tối 5 min. Chuẩn độ iod giải phóng bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* với chỉ thị là 0,5 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* cho vào cuối chuẩn độ. Song song làm mẫu trắng. Lượng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* tiêu thụ không được quá 2,7 ml.

Mangan

Không được quá 0,1 %.

Phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 2).

Dung dịch thử: Pha loãng 1,0 ml dung dịch S thành 20,0 ml bằng *dung dịch acid nitric không có chỉ* 5 % (tt/tt).

Dãy dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch mangan mẫu 1000 phần triệu Mn (TT)* bằng *dung dịch acid nitric không có chỉ* 5 % (tt/tt).

Đo độ hấp thụ ở bước sóng 279,5 nm, dùng đèn cathod rỗng của mangan làm nguồn bức xạ với dải truyền qua 1 mm và ngọn lửa không khí - acetylen.

Niken

Không được quá 50 phần triệu.

Phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 2).

Dung dịch thử: Dung dịch S.

Dãy dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch niken mẫu 10 phần triệu Ni (TT)* bằng *dung dịch acid nitric không có chỉ* 5 % (tt/tt).

Đo độ hấp thụ ở bước sóng 232,0 nm, dùng đèn cathod rỗng của niken làm nguồn bức xạ với dải truyền qua 1 mm và ngọn lửa không khí - acetylen.

Kẽm

Không được quá 50 phần triệu.

Phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 2).

Dung dịch thử: Dung dịch S.

Dãy dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch kẽm mẫu 100 phần triệu Zn (TT)* bằng *dung dịch acid nitric không có chỉ* 5 % (tt/tt).

Đo độ hấp thụ ở bước sóng 213,9 nm, dùng đèn cathod rỗng của kẽm làm nguồn bức xạ với dải truyền qua 1 mm và ngọn lửa không khí - acetylen.

Định lượng

Hòa tan 2,5 g *natri hydrocarbonat (TT)* trong hỗn hợp gồm 150 ml nước và 10 ml *acid sulfuric (TT)*. Khi hết sủi bọt, thêm 0,500 g chế phẩm vào hỗn hợp và lắc nhẹ để hòa tan. Thêm 0,1 ml *ferroin (TT)* và chuẩn độ ngay bằng *dung dịch amoni ceri nitrat 0,1 M (CĐ)* đến khi màu đỏ biến mất.

1 ml *dung dịch amoni ceri nitrat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 27,80 mg $FeSO_4.7H_2O$.

Bảo quản

Trong bao bì kín.

Loại thuốc

Phòng và điều trị thiếu máu do thiếu sắt.

Chế phẩm

Viên bao.

SẮT (II) SULFAT KHÔ

Ferrosi sulfas siccum

$FeSO_4$ P.t.l: 151,9

Sắt (II) sulfat khô là sắt (II) sulfat đã bị loại một phần nước kết tinh do sấy, phải chứa từ 86,0 % đến 90,0 % $FeSO_4$.

Tính chất

Bột trắng hơi xám.

Hòa tan chậm trong nước, rất tan trong nước sôi, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Bị oxy hóa trong không khí ẩm thành màu nâu.

Định tính

A. Chế phẩm phải cho phản ứng của sulfat (Phụ lục 8.1).

B. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của ion sắt (II) (Phụ lục 8.1).

C. Chế phẩm phải đạt yêu cầu về giới hạn hàm lượng.

pH

Từ 3,0 đến 4,0 (Phụ lục 6.2).

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Clorid

Không được quá 0,03 % (Phụ lục 9.4.5).

Hòa tan 2,5 g trong *nước*, thêm 0,5 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)* và pha loãng thành 50 ml bằng *nước*. Pha loãng 3,3 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng *nước* và thêm 5 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* rồi tiến hành thử. Chuẩn bị mẫu đối chiếu gồm 10 ml *dung dịch clorid mẫu 5 phần triệu Cl (TT)* và 5 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)*. Dùng 0,15 ml *dung dịch bạc nitrat 1,7 % (TT)* trong phép thử này.

Crom

Không được quá 100 phần triệu.

Phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 2).

Dung dịch S: Hòa tan 2,00 g chế phẩm trong *dung dịch acid nitric không có chỉ* 5 % (tt/tt) và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử: Dung dịch S.

Dãy dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch crom mẫu 100 phần triệu Cr (TT)* bằng *dung dịch acid nitric không có chỉ* 5 % (tt/tt).

Đo độ hấp thụ tại bước sóng 357,9 nm, dùng đèn cathod rỗng của crom làm nguồn bức xạ với dải truyền qua 1 mm và ngọn lửa không khí - acetylen.

Đồng
Không được quá 50 phần triệu.
Phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 2).
Dung dịch thử: Dung dịch S.
Dãy dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch đồng mẫu 100 phần triệu Cu (TT)* bằng *dung dịch acid nitric không có chì* 5 % (tt/tt).
Đo độ hấp thụ tại bước sóng 324,7 nm, dùng đèn cathod rỗng của đồng làm nguồn bức xạ với dải truyền qua 1 mm và ngọn lửa không khí - acetylen.

Ion sắt (III)
Không được quá 0,5 %.
Trong bình nón nút mài, hòa tan 5,00 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 10 ml *acid hydrocloric (TT)* và 100 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*. Thêm 3 g *kali iodid (TT)*, đậy nắp bình và để chỗ tối 5 min. Chuẩn độ iod giải phóng bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* với chỉ thị là 0,5 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* cho vào cuối chuẩn độ. Song song làm mẫu trắng. Lượng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* tiêu thụ không được quá 4,5 ml.

Mangan
Không được quá 0,1 %.
Phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 2).
Dung dịch thử: Pha loãng 1,0 ml dung dịch S thành 20,0 ml bằng *dung dịch acid nitric không có chì* 5 % (tt/tt).
Dãy dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch mangan mẫu 1000 phần triệu Mn (TT)* bằng *dung dịch acid nitric không có chì* 5 % (tt/tt).
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 279,5 nm, dùng đèn cathod rỗng của mangan làm nguồn bức xạ với dải truyền qua 1 mm và ngọn lửa không khí - acetylen.

Niken
Không được quá 100 phần triệu.
Phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 2).
Dung dịch thử: Dung dịch S.
Dãy dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch niken mẫu 10 phần triệu Ni (TT)* bằng *dung dịch acid nitric không có chì* 5 % (tt/tt).
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 232,0 nm, dùng đèn cathod rỗng của niken làm nguồn bức xạ với dải truyền qua 1 mm và ngọn lửa không khí - acetylen.

Kẽm
Không được quá 100 phần triệu.
Phương pháp phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 2).
Dung dịch thử: Dung dịch S.
Dãy dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch kẽm mẫu 100 phần triệu Zn (TT)* bằng *dung dịch acid nitric không có chì* 5 % (tt/tt).
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 213,9 nm, dùng đèn cathod rỗng của kẽm làm nguồn bức xạ với dải truyền qua 1 mm và ngọn lửa không khí - acetylen.

Định lượng
Hòa tan 2,5 g *natri hydrocarbonat (TT)* trong hỗn hợp gồm 150 ml *nước* và 10 ml *acid sulfuric (TT)*. Khi hết sủi bọt, thêm 0,140 g chế phẩm vào hỗn hợp và lắc nhẹ để hòa tan. Thêm 0,1 ml *ferroin (TT)* và chuẩn độ ngay bằng *dung dịch amoni ceri nitrat 0,1 M (CĐ)* đến khi màu đỏ biến mất.
1 ml *dung dịch amoni ceri nitrat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 15,19 mg $FeSO_4$.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Phòng và điều trị thiếu máu do thiếu sắt.

Chế phẩm
Viên bao.

VIÊN NÉN SẮT (II) SULFAT
Tabellae Ferrosi sulfatis

Là viên nén bao đường chứa sắt (II) sulfat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" mục "Viên bao" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng sắt (II) sulfat, $FeSO_4.7H_2O$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Lấy một lượng bột viên tương đương khoảng 0,25 g sắt (II) sulfat, thêm 20 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*, lắc kỹ, lọc. Dịch lọc phải cho các phản ứng của sắt (II) và sulfat (Phụ lục 8.1).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4).
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Xác định lượng sắt (II) sulfat, $FeSO_4.7H_2O$, bằng phương pháp quang phổ hấp phụ nguyên tử (Phụ lục 4.4), đo ở bước sóng 248,3 nm.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch sắt chuẩn pha loãng với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* đến nồng độ thích hợp.

Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc và pha loãng dịch lọc với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* đến nồng độ thích hợp.
Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng sắt (II) sulfat, $FeSO_4.7H_2O$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

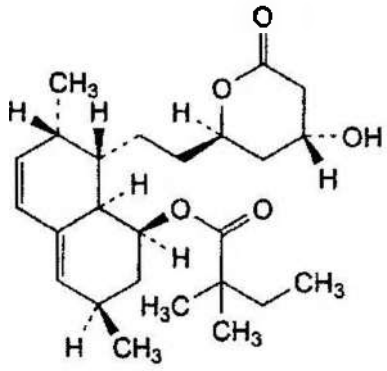
Định lượng
Cân 20 viên đã loại bỏ lớp bao, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn.
Cân chính xác một lượng bột viên tương đương khoảng 0,5 g sắt (II) sulfat cho vào bình nón 250 ml, thêm 25 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* và 50 ml *nước* mới đun sôi để nguội, lắc kỹ để hòa tan. Chuẩn độ ngay bằng *dung dịch amoni ceri sulfat 0,1 M (CĐ)* với *dung dịch feroin sulfat (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch amoni ceri sulfat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 27,80 mg $FeSO_4.7H_2O$.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Bổ sung sắt, điều trị thiếu máu.

Hàm lượng thường dùng
200 mg.

SIMVASTATIN
Simvastatinum



$C_{25}H_{38}O_5$ P.t.l: 418,6

Simvastatin là (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8a*R*)-8-[2-[(2*R*,4*R*)-4-hydroxy-6-oxotetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]ethyl]-3,7-dimethyl-1,2,3,7,8,8a-hexahydronaphthalen-1-yl 2,2-dimethylbutanoat, phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % $C_{25}H_{38}O_5$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng.
Thực tế không tan trong nước, rất tan trong methylen chlorid, dễ tan trong ethanol 96 %.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của simvastatin chuẩn.
B. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Góc quay cực riêng.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn dung dịch màu mẫu VN_7 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực riêng
Từ +285° đến +300°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,125 g chế phẩm trong *acetonitril (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi sử dụng.
Dung môi pha mẫu: Dung dịch kali dihydrophosphat 0,14 % được điều chỉnh đến pH 4,0 bằng acid phosphoric - acetonitril (40 : 60). Lọc.
Pha động A: Acetonitril - dung dịch acid phosphoric (TT) 0,1 % (tt/tt) (50 : 50).
Pha động B: Dung dịch acid phosphoric (TT) 0,1 % trong acetonitril (tt/tt).
Dung dịch thử: Hòa tan 75,0 mg chế phẩm trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 1,0 mg simvastatin chuẩn và 1,0 mg lovastatin chuẩn (tạp chất E) trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 0,5 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với dung môi pha mẫu.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 75,0 mg simvastatin chuẩn trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 5 mg simvastatin chuẩn dùng để định tính pic (chứa tạp chất A, B, C, D, E, F và G) trong 5,0 ml dung môi pha mẫu.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (33 mm × 4,6 mm) được nhồi *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (3 µm).
Detector quang phổ tử ngoại tại bước sóng 238 nm.
Tốc độ dòng: 3,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 5 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 4,5	100	0
4,5 - 4,6	100 → 95	0 → 5
4,6 - 8,0	95 → 25	5 → 75
8,0 - 11,5	25	75

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo simvastatin chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (4) để xác định các pic tạp chất A, B, C, D, E + F và G.

Thời gian lưu tương đối so với pic simvastatin (thời gian lưu khoảng 2,6 min) của pic tạp chất A khoảng 0,5; tạp chất E + F khoảng 0,6; tạp chất G khoảng 0,8; tạp chất B và C khoảng 2,4; tạp chất D khoảng 3,8.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất E và pic simvastatin ít nhất là 4,0.

Giới hạn:

Tổng tạp chất E và F: Tổng diện tích pic của tạp chất E và tạp chất F không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %).

Tổng tạp chất B và C: Tổng diện tích pic của tạp chất B và tạp chất C không được lớn hơn 1,6 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,8 %).

Tạp chất A, D, G: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,8 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,4 %).

Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).

Tổng tạp trừ tạp chất E và F: Tổng diện tích của tất cả các pic tạp chất trừ tạp chất E và F không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %).

Bỏ qua tất cả các pic có diện tích không lớn hơn 0,1 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: Acid (3*R*,5*R*)-7-[(1*S*,2*S*,6*R*,8*S*,8a*R*)-8-[(2,2-dimethylbutanoyl)oxy]-2,6-dimethyl-1,2,6,7,8,8a-hexahydronaphthalen-1-yl]-3,5-dihydroxyheptanoic (tenivastatin).

Tạp chất B: (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8a*R*)-8-[2-[(2*R*,4*R*)-4-(acetyloxy)-6-oxotetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]ethyl]-3,7-dimethyl-1,2,3,7,8,8a-hexahydronaphthalen-1-yl 2,2-dimethylbutanoat.

Tạp chất C: (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8a*R*)-3,7-dimethyl-8-[2-[(2*R*)-6-oxo-3,6-dihydro-2*H*-pyran-2-yl]ethyl]-1,2,3,7,8,8a-hexahydronaphthalen-1-yl 2,2-dimethylbutanoat.

Tạp chất D: (2*R*,4*R*)-2-[2-[(1*S*,2*S*,6*R*,8*S*,8a*R*)-8-[(2,2-dimethylbutanoyl)oxy]-2,6-dimethyl-1,2,6,7,8,8a-hexahydronaphthalen-1-yl]ethyl]-6-oxotetrahydro-2*H*-pyran-4-yl(3*R*,5*R*)-7-[(1*S*,2*S*,6*R*,8*S*,8a*R*)-8-[(2,2dimethylbutanoyl)oxy]-2,6-dimethyl-1,2,6,7,8,8a-hexahydronaphthalen1-yl]-3,5-dihydroxyheptanoat.

Tạp chất E: Lovastatin.

Tạp chất F: (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8a*R*)-8-[2-[(2*R*,4*R*)-4-hydroxy-6-oxotetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]ethyl]-3,7-dimethyl-1,2,3,7,8,8a-hexahydronaphthalen-1-yl (2*R*)-2-methylbutanoat (epilovastatin).

Tạp chất G: (1*S*,3*R*,7*S*,8*S*,8a*R*)-8-[2-[(2*R*,4*R*)-4-hydroxy-6-oxotetrahydro-2*H*-pyran-2-yl]ethyl]-3,7-dimethyl-1,2,3,7,8,8a-hexahydronaphthalen-1-yl 2,2-dimethylbut-3-enoat.

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm và tiến hành thử theo phương pháp 3. Lấy 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; chân không; 60 °C; 3h).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tiến hành với các điều kiện như mô tả ở mục Tạp chất liên quan.

Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (3).

Tính hàm lượng phần trăm simvastatin, $C_{25}H_{38}O_5$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic simvastatin trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (3) và hàm lượng $C_{25}H_{38}O_5$ trong simvastatin chuẩn.

Bảo quản

Tránh ánh sáng. Nếu không sử dụng chất chống oxy hóa, bảo quản trong khí nitrogen và trong bao bì kín.

Loại thuốc

Chất ức chế HMG CoA reductase; thuốc điều hòa lipid máu.

Chế phẩm

Viên nén.

VIÊN NÉN SIMVASTATIN

Tabellae Simvastatini

Là viên nén hoặc viên nén bao phim chứa simvastatin.

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

Hàm lượng simvastatin, $C_{25}H_{38}O_5$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

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

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.

Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch đệm pH 7,0.

Dung dịch đệm pH 7,0: Hòa tan 30 g *natri laurylsulfat (TT)* và 9,36 g *natri dihydrophosphat (TT)* trong 6000 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 7,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)*.

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng simvastatin chuẩn hòa tan trong môi trường hòa tan để được dung dịch có nồng độ tương đương với nồng độ simvastatin trong dung dịch thử.
Định lượng dược chất hòa tan bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với pha động, điều kiện sắc ký tương tự phần Định lượng và thể tích tiêm 20 µl.
Tiến hành sắc ký lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính lượng simvastatin, $C_{25}H_{38}O_5$, trong mỗi viên đã hòa tan dựa vào vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{25}H_{38}O_5$ trong simvastatin chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng simvastatin, $C_{25}H_{38}O_5$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)
Xác định hàm lượng simvastatin trong mỗi viên bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với *hỗn hợp dung môi, pha động, dung dịch chuẩn, điều kiện sắc ký, cách tiến hành* tương tự phần Định lượng.
Dung dịch thử: Cho một viên vào bình định mức dung tích 50, 100, 200 ml,... (tương ứng với viên có hàm lượng 5 mg, 10 mg, 20 mg,...), thêm hỗn hợp dung môi để hòa tan và pha loãng tới vạch bằng cùng hỗn hợp dung môi, trộn đều và lọc. Dùng dịch lọc làm dung dịch thử hoặc pha loãng bằng hỗn hợp dung môi để được dung dịch có nồng độ simvastatin khoảng 0,1 mg/ml.

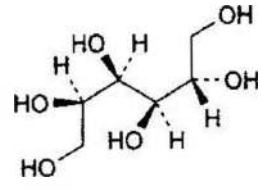
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - dung dịch đệm (65 : 35). Điều chỉnh tỉ lệ nếu cần.
Dung dịch đệm: Hòa tan 4,4 g *natri dihydrophosphat (TT)* trong 900 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 4,5 bằng *acid phosphoric (TT)* hoặc bằng *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)*, pha loãng với *nước* vừa đủ 1000 ml, lắc đều.
Hỗn hợp dung môi: Thêm 3,0 ml *acid acetic băng (TT)* vào 900 ml *nước* đựng trong cốc dung tích 1 L, điều chỉnh đến pH 4,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd 5 M (TT)*, trộn đều. Chuyển vào bình định mức, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml. Trộn 20 thể tích dung dịch thu được với 80 thể tích *acetonitril (TT)*. Lắc đều.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan simvastatin chuẩn trong hỗn hợp dung môi để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,1 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng 20 mg simvastatin cho vào bình định mức 200 ml, thêm 120 ml dung hỗn hợp dung môi, lắc, siêu âm trong 15 min, để nguội đến nhiệt độ phòng, thêm hỗn hợp dung môi vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột: 45 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 238 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số dung lượng *k'* không nhỏ hơn 3,0. Hiệu lực cột không nhỏ hơn 4500 đĩa lý thuyết, hệ số đối xứng của pic simvastatin nhỏ hơn 2,0; độ lệch chuẩn tương đối của pic simvastatin không quá 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng simvastatin, $C_{25}H_{38}O_5$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{25}H_{38}O_5$ trong simvastatin chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng, để nơi nơi khô mát hoặc nhiệt độ phòng.

Loại thuốc
Chống tăng lipid máu.

Hàm lượng thường dùng
5 mg, 10 mg, 20 mg, 40 mg.

SORBITOL
Sorbitolum



$C_6H_{14}O_6$ P.t.l: 182,2

Sorbitol là D-glucitol (D-sorbitol), phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % $C_6H_{14}O_6$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hay gần như trắng, đa hình.
Rất dễ tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C, D.
A.Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu và kích thước tương tự như thời gian lưu và kích thước của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
B. Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 5 ml *anhydrid acetic (TT)* và 0,5 ml *pyridin (TT)* bằng cách làm

nóng, để yên 10 min. Đổ hỗn hợp trên vào 25 ml *nước*, để yên trong nước đá 2 h và lọc. Lấy tủa, kết tinh lại trong một lượng nhỏ *ethanol 96 % (TT)* và sấy khô trong chân không, điểm chảy của tủa thu được phải từ 98 °C đến 104 °C (Phụ lục 6.7).

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Propanol - ethyl acetat - nước (70 : 20 : 10).

Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg sorbitol chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 25 mg manitol chuẩn, 25 mg sorbitol chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 17 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và phun *dung dịch acid 4 - aminobenzoic (TT)*. Để khô bản mỏng trong luồng không khí lạnh đến khi aceton bay hết. Sấy bản mỏng ở 100 °C trong 15 min. Để nguội và phun *dung dịch natri periodat 0,2 %*. Để khô bản mỏng trong luồng không khí lạnh. Sấy bản mỏng ở 100 °C trong 15 min. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vị trí, màu sắc và kích thước tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1).

Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) có 2 vết tách rõ ràng riêng biệt.

D. Góc quay cực riêng từ +4,0° đến +7,0° tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 5,00 g chế phẩm và 6,4 g *dinatri tetraborat (TT)* trong 40 ml *nước*, để yên 1 h, thỉnh thoảng lắc, và pha loãng thành 50,0 ml bằng *nước*. Lọc nếu cần.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Độ dẫn điện

Không được quá 20 $\mu S \cdot cm^{-1}$ (Phụ lục 6.10).

Hòa tan 20,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Đo độ dẫn điện của dung dịch thu được, vừa đo vừa khuấy nhẹ bằng khuấy từ.

Đường khử

Không được quá 0,2 % tính theo glucose.

Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 6 ml *nước* bằng cách đun nóng nhẹ. Để nguội, thêm 20 ml *dung dịch đồng - citrat (TT)* và vài viên bi thủy tinh. Đun nóng sao cho sau 4 min thì sôi và đun sôi tiếp 3 min. Làm nguội nhanh và thêm 100 ml *dung dịch acid acetic băng 2,4 % (tt/tt)*, 20,0 ml *dung dịch iod 0,05 N (CĐ)*. Vừa lắc vừa thêm 25 ml hỗn hợp *acid hydrocloric - nước* (6 : 94). Khi tủa tan hết, chuẩn độ iod thừa bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,05 N (CĐ)* dùng 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị, cho vào cuối phép chuẩn độ. Thể tích *dung dịch natri thiosulfat 0,05 N (CĐ)* tiêu thụ không được ít hơn 12,8 ml.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Nước đã loại khí.

Dung dịch thử: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong 20 ml *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,50 g sorbitol chuẩn trong 2 ml *nước* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 100,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 0,5 g *sorbitol (TT)* và 0,5 g *manitol (TT)* (tạp chất A) trong 5 ml *nước* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (0,3 m × 7,8 mm) được nhồi *nhựa trao đổi cation mạnh (dạng calci) (TT)* (9 µm).

Nhiệt độ cột: 85 °C ± 1 °C.

Tốc độ dòng: 0,5 ml/min.

Detector khúc xạ kế được giữ ở nhiệt độ không đổi.

Thể tích tiêm: 20 µl

Cách tiến hành:

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

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của sorbitol.

Thời gian lưu tương đối so với sorbitol (thời gian lưu khoảng 27 min): Tạp chất C khoảng 0,6; tạp chất A khoảng 0,8; tạp chất B khoảng 1,1.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4), độ phân giải giữa pic tạp chất A và pic sorbitol ít nhất là 2.

Giới hạn:

Tạp chất bất kỳ: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (2 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (3 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: D-mannitol.

Tạp chất B: D-iditol.

Tạp chất C: 4-*O*-α-D-glucopyranosyl-D-glucitol (D-maltitol).

Chì

Không được quá 0,5 phần triệu (Phụ lục 9.4.4).

Nickel
Không được quá 1 phần triệu (Phụ lục 9.4.10).
Hòa tan chế phẩm trong 150,0 ml hỗn hợp dung môi quy định.

Nước
Không được quá 1,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 1,00 g chế phẩm.

Giới hạn nhiễm khuẩn (Phụ lục 13.6)
Nếu chế phẩm dự định dùng để sản xuất thuốc tiêm:
Tổng số vi sinh vật hiếu khí không được quá 10^2 CFU/g.
Nếu chế phẩm không dùng để sản xuất thuốc tiêm:
Tổng số vi sinh vật hiếu khí không được quá 10^3 CFU/g.
Tổng số nấm không được quá 10^2 CFU/g.
Không được có *Escherichia coli* và *Salmonella*.

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 4 EU/g đối với thuốc tiêm có nồng độ sorbitol thấp hơn 100 g/l và không được quá 2,5 EU/g đối với thuốc tiêm có nồng độ sorbitol bằng hoặc cao hơn 100 g/l (Phụ lục 13.2) nếu chế phẩm dự định dùng để sản xuất thuốc tiêm mà không có phương pháp khác thích hợp để loại nội độc tố vi khuẩn.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1). Tính hàm lượng phần trăm của D-sorbitol trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng của $C_6H_{14}O_6$ trong sorbitol chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Nhãn
Phải ghi nồng độ tối đa nội độc tố vi khuẩn và chế phẩm có đạt yêu cầu để sản xuất thuốc tiêm hay không.

Loại thuốc
Dùng trong các dịch truyền dinh dưỡng.
Nhuận tràng.

THUỐC BỘT SORBITOL
Pulveres Sorbitoli

Là thuốc bột chứa sorbitol.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc bột" (Phụ lục 1.7) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng sorbitol, $C_6H_{14}O_6$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột trắng, vị ngọt.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Propanol - ethyl acetat - nước (70 : 20 : 10)
Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 20,0 ml bằng cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50 mg sorbitol chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 20,0 ml bằng cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 17 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí và phun *dung dịch acid 4-amino-benzoic (TT).* Để khô bản mỏng trong luồng khí lạnh đến khi aceton bay hết. Sấy bản mỏng ở 100 °C trong 15 min. Để nguội và phun *dung dịch natri periodat 0,2 %,* để khô bản mỏng trong luồng khí lạnh. Sấy bản mỏng ở 100 °C trong 15 min. Trên sắc ký đồ, vết chính của dung dịch thử phải có vị trí, màu sắc và kích thước tương ứng với vết chính của dung dịch đối chiếu.
B. Hòa tan một lượng chế phẩm tương đương khoảng 7 g sorbitol trong 10 ml *nước*. Lấy 1 ml dung dịch này, thêm 2 ml *dung dịch sắt (II) sulfat 8 % (TT)* và 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 20 % (TT),* dung dịch xuất hiện màu xanh lam chuyển dần sang xanh lục nhưng không được có tủa đục.
C. Lấy 3 ml *dung dịch pyrocatechol 10 %* mới pha, làm lạnh trong nước đá, thêm 6 ml *acid sulfuric (TT).* Thêm vào 3 ml hỗn hợp trên 0,3 ml dung dịch chế phẩm có nồng độ sorbitol khoảng 10 % trong *nước không có carbon dioxyd (TT),* đun nóng nhẹ 30 s, có màu hồng xuất hiện.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 2,0 % (Phụ lục 9.6)
(0,5 g, sấy chân không ở 80 °C, phosphor pentoxyd, 3 h).

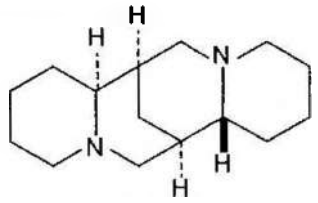
Định lượng
Cân chính xác một lượng chế phẩm tương đương khoảng 0,4 g sorbitol vào bình định mức 100 ml, thêm *nước* đến định mức. Lắc đều. Lấy chính xác 10 ml dung dịch trên vào bình nón 250 ml, thêm 20 ml *dung dịch natri periodat 2,14 % (TT)* và 2 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT),* đun nóng trên cách thủy đúng 15 min. Để nguội, thêm 3 g *natri hydrocarbonat (TT)* bằng cách thêm từng lượng nhỏ, thêm chính xác 25,0 ml *dung dịch natri arsenit 0,1 M (CĐ),* lắc đều và thêm 5 ml *dung dịch kali iodid 20 % (TT),* để yên 15 min. Chuẩn độ bằng *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)* đến màu vàng.
Tiến hành song song với mẫu trắng trong cùng điều kiện.
1 ml *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)* tương đương với 1,822 mg $C_6H_{14}O_6$.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc nhuận tràng thẩm thấu.

Hàm lượng thường dùng
5 g.

SPARTEIN SULFAT
Sparteini sulfas



$.H_2SO_4.5H_2O$

$C_{15}H_{26}N_2.H_2SO_4.5H_2O$ P.t.l: 422,4

Spartein sulfat là muối sulfat của dodecahydro methano-7,14 2*H*,6*H*-dipyrido[1,2-a:1',2'-e][diazocin-1,5]-(7*S*,7a*R*, 14*S*,14a*S*), phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $C_{15}H_{28}O_4N_2S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Tinh thể không màu. Dễ tan trong nước và ethanol 96 %, thực tế không tan trong ether.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: C, D, E.
Nhóm II: A, B, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của spartein sulfat chuẩn.
B. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Góc quay cực riêng.
C. Trong phần Tạp chất liên quan, vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí, màu sắc và kích thước.
D. Hòa tan 1 g chế phẩm trong 10 ml *nước*. Thêm 1 ml *dung dịch thủy ngân (II) clorid 5 % (TT)* vào 5 ml dung dịch trên, không tạo thành tủa. Thêm từng giọt, vừa thêm vừa lắc mạnh 0,5 ml *acid hydrocloric (TT)*, tủa xuất hiện. Thêm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 N (TT)* vào phần dung dịch còn lại, tạo thành một lớp đục như sữa, đun nóng nhẹ trong cách thủy sẽ tụ lại thành từng giọt dầu nhỏ trên bề mặt.
E. Chế phẩm cho phản ứng của sulfat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
pH của dung dịch S phải từ 3,0 đến 4,0 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng
Từ -26° đến -30°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4). Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Diethylamin - ethyl acetat - cyclohexan* (5 : 25 : 70).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,1 g spartein sulfat chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100 ml bằng *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 5 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 10 ml bằng *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong vòng 5 min, sau đó để bản mỏng nguội. Phun lên bản mỏng *dung dịch kali iodobismuthat (TT)* tới khi xuất hiện các vết. Trên sắc ký đồ thu được với dung dịch thử không được có bất cứ vết phụ nào ngoài vết chính có màu đậm hơn vết chính của sắc ký đồ thu được với dung dịch đối chiếu (2) và chỉ cho phép một vết có thể đậm hơn vết chính trên sắc ký đồ thu được với dung dịch đối chiếu (3).

Mất khối lượng do làm khô
Từ 19,5 % đến 22,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,0 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 1).
Dùng cắn thu được trong phép thử Mất khối lượng do làm khô.

Định lượng
Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong 30 ml *acid acetic khan (TT)*. Thêm 1 ml *anhydrid acetic (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 33,24 mg $C_{15}H_{26}O_4N_2S$.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc
Trợ tim.

Chế phẩm
Thuốc tiêm.

THUỐC TIÊM SPARTEIN SULFAT
Injectio Sparteini sulfatis

Là dung dịch vô khuẩn của spartein sulfat trong nước để pha thuốc tiêm.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng của spartein sulfat, $C_{15}H_{26}N_2.H_2SO_4.5H_2O$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Diethylamin - ethyl acetat - cyclohexan (5 : 25 : 70)
Dung dịch thử: Làm bay hơi một thể tích chế phẩm tương đương khoảng 0,1 g spartein sulfat, hòa tan cắn trong *methanol (TT)* vừa đủ 5 ml.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,1 g spartein sulfat chuẩn trong *methanol (TT)* vừa đủ 5 ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai bản mỏng đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 5 min. Để nguội và phun *dung dịch kali iodobismuthat (TT)* tới khi xuất hiện các vết. Trên sắc ký đồ thu được, vết chính của dung dịch thử phải tương đương với vết chính của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.
B. Làm bay hơi một thể tích chế phẩm tương đương khoảng 1 g spartein sulfat, hòa tan cắn trong 10 ml *nước*. Thêm 1 ml *dung dịch thủy ngân (II) clorid (TT)* vào 5 ml dung dịch trên, không tạo thành tủa. Thêm từng giọt vừa thêm vừa lắc mạnh 0,5 ml *acid hydrocloric (TT)*, tủa xuất hiện. Thêm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)* vào phần dung dịch còn lại, tạo thành một lớp đục như sữa, đun nóng nhẹ trong cách thủy sẽ tụ lại thành từng giọt dầu nhỏ trên bề mặt.
C. Chế phẩm cho phản ứng của sulfat (Phụ lục 8.1).

pH
3,0 đến 4,0 (Phụ lục 6.2).

Định lượng
Lấy chính xác một lượng chế phẩm tương đương khoảng 0,5 g spartein sulfat cho vào một bình gạn, thêm 8 ml *amoniac (TT)*. Chiết 4 lần bằng *ether (TT)*, mỗi lần 20 ml. Lọc dịch chiết ether qua một phễu có miếng bông nhỏ, trên có khoảng 2 g *natri sulfat khan (TT)*. Rửa phễu bằng 10 ml *ether (TT)*. Tập trung dịch chiết và dịch rửa, làm bốc hơi ether trên cách thủy đến khi còn khoảng 10 ml thì làm khô bằng một luồng không khí. Hòa cắn với 20 ml *ethanol 90 %*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)*, dùng *dung dịch đỏ methyl (TT)* làm chỉ thị. Song song làm một mẫu trắng trong cùng điều kiện.
1 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 0,04224 g $C_{15}H_{26}N_2.H_2SO_4.5H_2O$.

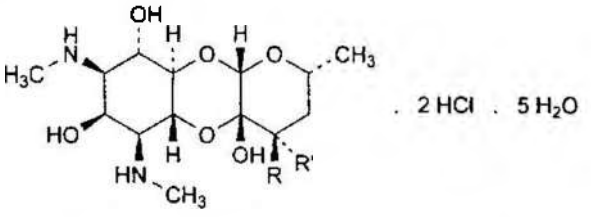
Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Trợ tim.

Hàm lượng thường dùng
Dung dịch tiêm 5 %.

SPECTINOMYCIN HYDROCLORID

Spectinomycini hydrocloridum



$C_{14}H_{24}N_2O_7.2HCl.5H_2O$ P.t.l: 495,35

Spectinomycin hydroclorid là (2*R*,4a*R*,5a*R*,6*S*,7*S*,8*R*,9*S*,9a*R*,10a*S*)4a,7,9-trihydroxy-2-methyl-6,8-bis(methylamino)-decahydro-4*H*-pyrano[2,3-*b*][1,4]benzodioxin-4-on dihydroclorid pentahydrat (spectinomycin dihydroclorid pentahydrat). Chế phẩm phải chứa ít nhất 603 µg spectinomycin ($C_{14}H_{24}N_2O_7$) trong 1 mg.

Tính chất
Bột màu trắng hay gần như trắng, ít hút ẩm. Dễ tan trong nước, rất khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại của chế phẩm (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của spectinomycin hydroclorid chuẩn (không sấy mẫu trước khi đo).

pH
Từ 3,8 đến 5,6 (Phụ lục 6.2).
Dùng chế phẩm nồng độ 10 mg/ml để đo.

Nước
Từ 16,0 % đến 20,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,100 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm. Cắn sau khi đốt cháy được làm ẩm bằng 2 ml *acid nitric (TT)* và 5 giọt *acid sulfuric (TT)*.

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 0,09 EU/mg (Phụ lục 13.2).
Nếu chế phẩm dùng để sản xuất thuốc tiêm mà trong quy trình không có giai đoạn tiến hành loại bỏ nội độc tố vi khuẩn thì phải đáp ứng yêu cầu của phép thử này.

Thử vô khuẩn

Tiến hành thử theo phương pháp màng lọc (Phụ lục 13.7). Nếu trên nhãn ghi vô khuẩn thì phải đáp ứng yêu cầu của phép thử này.

Định lượng

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan *triphenylantimony* trong *dimethylformamid (TT)* để được dung dịch có nồng độ 2 mg/ml.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 30 mg spectinomycin hydroclorid chuẩn vào bình nón 25 ml có nắp. Thêm 10,0 ml dung dịch chuẩn nội và 1,0 ml *hexamethyldisilazan (TT)*, để trong 1 h và thỉnh thoảng lắc.

Dung dịch thử: Tiến hành như dung dịch chuẩn, thay spectinomycin hydroclorid chuẩn bằng chế phẩm.

Điều kiện sắc ký:

Cột thủy tinh kích thước (60 cm × 3 mm) được nhồi *diatomit đã được silan hóa dùng cho sắc ký* được tẩm 5 % *poly[methyl(95)phenyl(5)]siloxan.*

Khí mang: Heli dùng cho sắc ký.

Tốc độ dòng: 45 ml/min.

Nhiệt độ: Cột 190 °C, detector 220 °C, buồng tiêm 215 °C.

Detector: Ion hóa ngọn lửa.

Thể tích tiêm: 1 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, độ phân giải giữa các pic chính ít nhất là 2,0. Độ lệch chuẩn tương đối của tỷ lệ pic đáp ứng (R_s) từ 6 lần tiêm lặp lại của dung dịch chuẩn không được lớn hơn 3,5 %.

Tính tỷ lệ đáp ứng của pic spectinomycin và pic chuẩn nội trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (R_u) và tỷ lệ này trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (R_s).

Tính hàm lượng $C_{14}H_{24}N_2O_7$ (µg) trong chế phẩm theo công thức sau:

$$P(W_s)(R_u/R_s)$$

Trong đó:

P là hàm lượng của spectinomycin hydroclorid chuẩn (µg/mg);

W_s là khối lượng của spectinomycin hydroclorid chuẩn đã dùng trong dung dịch chuẩn (mg).

Bảo quản

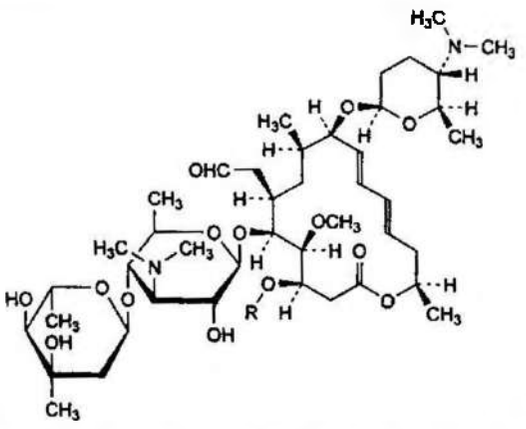
Trong bao bì kín. Nếu chế phẩm vô khuẩn thì phải bảo quản trong đồ đựng kín và vô khuẩn.

Loại thuốc

Thuốc kháng sinh.

SPIRAMYCIN

Spiramicinum



Thành phần	R	Công thức phân tử	Phân tử lượng
Spiramycin I	H	$C_{43}H_{74}N_2O_{14}$	843,1
Spiramycin II	$COCH_3$	$C_{45}H_{76}N_2O_{15}$	885,1
Spiramycin III	$CO\text{-}CH_2\text{-}CH_3$	$C_{46}H_{78}N_2O_{15}$	899,1

Spiramycin là một kháng sinh nhóm macrolid được tạo ra khi nuôi cấy các chủng vi khuẩn *Streptomyces ambofaciens* hoặc thu được bằng các phương pháp khác. Thành phần chính là (4*R*,5*S*,6*S*,7*R*,9*R*,10*R*,11*E*,13*E*,16*R*)-6-[[3,6-dideoxy-4-*O*-(2,6-dideoxy-3-*C*-methyl-α-L-*ribo*-hexopyranosyl)-3-(dimethylamino)-β-D-glucopyranosyl] oxy]-4-hydroxy-5-methoxy-9,16-dimethyl-7-(2-oxoethyl)-10-[[2,3,4,6-tetradeoxy-4-(dimethylamino)-D-*erythro*-hexopyranosyl]oxy]oxacyclohexadeca-11,13-dien-2-on (spiramycin I, p.t.l: 843). Ngoài ra còn có spiramycin II (4-*O*-acetylspiramycin I) và spiramycin III (4-*O*-propanoylspiramycin I). Hoạt lực không ít hơn 4100 IU trong 1 mg, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột màu trắng hoặc hơi ngà vàng, hút ẩm nhẹ. Khó tan trong nước, dễ tan trong aceton, trong ethanol 96 % và trong methanol.

Định tính

A. Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng tiếp 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *methanol (TT)*. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng từ bước sóng 220 nm đến 350 nm có một cực đại ở 232 nm. Độ hấp thụ riêng ở cực đại này là khoảng 340.

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

Bản mỏng: Silica gel G (TT).

Dung môi khai triển: Isopropanol - dung dịch amoni acetat 15 % đã điều chỉnh đến pH 9,6 bằng dung dịch natri hydroxyd 40 % - ethyl acetat (4 : 8 : 9). Trộn đều, để yên cho tách lớp và sử dụng lớp trên.

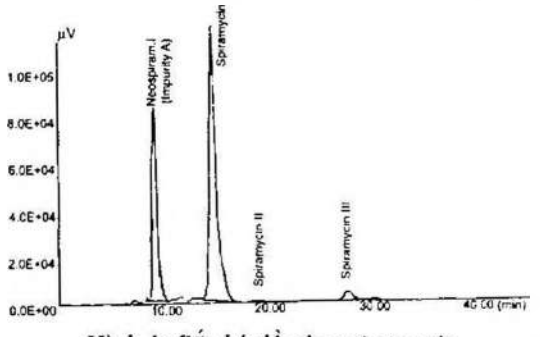
Dung dịch thử: Hòa tan 40 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 40 mg spiramycin chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 40 mg erythromycin A chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra để bay hơi hết dung môi ngoài không khí. Phun *dung dịch anisaldehyd trong ethanol (TT)* và sấy bản mỏng ở 110 °C trong 5 min. Vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1). Nếu trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử xuất hiện một hoặc hai vết khác có giá trị R_f hơi cao hơn giá trị R_f của vết chính, những vết này phải tương ứng về vị trí và màu sắc với các vết phụ trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) và khác biệt với các vết trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2).
C. Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (TT)* và thêm 25 ml *nước*. Điều chỉnh dung dịch đến pH 8 bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 50 ml bằng *nước*. Thêm vào 5 ml dung dịch thu được 2 ml hỗn hợp gồm 1 thể tích *nước* và 2 thể tích *acid sulfuric (TT)*, màu nâu xuất hiện.

pH
Hoà tan 0,5 g chế phẩm trong 5 ml *methanol (TT)* và pha loãng thành 100 ml với *nước không có carbon dioxyd (TT)*. pH của dung dịch thu được từ 8,5 đến 10,5 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng
Từ -80 ° đến -85 °, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 1,00 g chế phẩm trong *dung dịch acid acetic 0,2 M (TT)* và pha loãng với cùng dung môi thành 50,0 ml để thử.

Thành phần
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Không ít hơn 80,0 % spiramycin I, không quá 5,0 % spiramycin II và không quá 10,0 % spiramycin III; tổng hàm lượng spiramycin I, spiramycin II và spiramycin III không ít hơn 90,0 %, các hàm lượng này đều tính theo chế phẩm đã làm khô.
Pha động, các dung dịch sắc ký và điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan. Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).
Tính toán hàm lượng phần trăm các thành phần dựa trên hàm lượng các thành phần spiramycin I, spiramycin II và spiramycin III của chuẩn.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch sắc ký ngay trước khi sử dụng.
Pha động: Acetonitril - dung dịch đệm pH 2,2 có chứa natri perclorat 0,93 % (30 : 70).
Dung môi hòa mẫu: Hỗn hợp *acetonitril - nước* (3 : 7).
Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong dung môi hòa mẫu và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25,0 mg spiramycin chuẩn trong dung môi hòa mẫu và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml bằng dung môi hòa mẫu.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml bằng dung môi hòa mẫu.
Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 5 mg spiramycin chuẩn trong 25 ml pha động, sau đó đốt nóng trong cách thủy ở 60 °C trong 30 min.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm), diện tích bề mặt riêng 350 m^2/g và khoảng cách giữa các hạt là 0,01 µm.
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 232 nm.
Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch đối chiếu (2). Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic chính trong sắc ký đồ ít nhất bằng 50 % thang đo.
Tiêm dung dịch đối chiếu (3) và dung dịch đối chiếu (4). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3) không có pic nào có thời gian lưu tương đối so với pic spiramycin I là khoảng 1,1 và trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4), độ phân giải giữa pic tạp chất A (neospiramycin I) (được rửa giải lần đầu) và spiramycin I (rửa giải trong khoảng 13 min đến 17 min) ít nhất là 6,3. Nếu cần thiết, điều chỉnh nồng độ acetonitril trong pha động (tăng nồng độ này để giảm thời gian lưu hoặc giảm nồng độ này để tăng thời gian lưu).
Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2). Ghi lại sắc ký đồ của dung dịch thử trong một khoảng thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của spiramycin I.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử:



Hình 1: Sắc ký đồ của spiramycin

Diện tích của bất kỳ pic nào ngoài các pic của spiramycin I, II, III, không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (2 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2).

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm thử theo phương pháp 6. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 3,5 % (Phụ lục 9.6).
(0,500 g; 80 °C; áp suất không quá 670 Pa; phosphor pentoxyd; 6 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.8, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Tiến hành theo "Xác định hoạt lực kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật" (Phụ lục 13.9). Dùng phương pháp khuyếch tán; chủng chỉ thị: *Bacillus subtilis* ATCC 6633; dung môi: *methanol (TT)*; chất hòa loãng: dung dịch đệm số 2; môi trường: môi trường số 1 được điều chỉnh đến pH 8,0 ± 0,1; khoảng nồng độ của dung dịch đem thử: 40 IU/ml đến 160 IU/ml; nhiệt độ ủ: 32 °C đến 35 °C.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc
Thuốc kháng sinh nhóm macrolid.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN SPIRAMYCIN
Tabellae Spiramycini

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

Hàm lượng spiramycin, phải từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Hòa một lượng bột viên đã nghiền mịn chứa khoảng 400 000 IU spiramycin trong 100 ml *methanol (TT)*, lọc. Hút 1 ml dịch lọc pha loãng thành 100 ml bằng *methanol (TT)*. Phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở dải sóng từ 220 nm đến 350 nm có cực đại hấp thụ tại bước sóng 232 nm.
B. Hòa một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 2 000 000 IU spiramycin trong 10 ml *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (TT)*, thêm 25 ml *nước*, lắc đều và lọc. Điều chỉnh dịch lọc đến pH 8 bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M* và pha loãng với *nước* thành 50 ml. Thêm vào 5 ml dung dịch này 2 ml hỗn hợp *nước - acid sulfuric* (1 : 2), xuất hiện màu nâu.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Isopropanol - dung dịch amoni acetat 15 % đã điều chỉnh về pH 9,6 bằng *dung dịch natri hydroxyd 40 % - ethyl acetat* (4 : 8 : 9). Trộn đều hỗn hợp, để yên tách lớp và sử dụng lớp trên.
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với 160 000 IU spiramycin với 10 ml *methanol (TT)*, lọc.
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch 0,4 % spiramycin chuẩn trong *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch 0,4 % erythromycin A chuẩn trong *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng. Sau đó phun lên bản mỏng *dung dịch anisaldehyd trong ethanol (TT)*, sấy bản mỏng ở 110 °C trong 5 min. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí, màu sắc, kích thước và phải khác với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

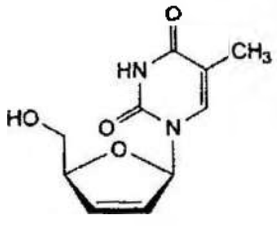
Định lượng
Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 400 000 IU spiramycin vào bình định mức 100 ml, thêm 50 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm 15 min, để nguội đến nhiệt độ phòng, thêm *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều, ly tâm lấy dịch trong. Tiến hành định lượng theo chuyên luận "Xác định hoạt lực kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật" (Phụ lục13.9)

Bảo quản
Trong bao bì kín, bảo quản nơi thoáng mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
375 000 IU; 1 500 000 IU; 3 000 000 IU.

STAVUDIN
Stavudinum



$C_{10}H_{12}N_2O_4$ P.t.l: 224,2

Stavudin là 1-(2,3-dideoxy-β-D-*glycero*-pent-2-enofuranosyl)-5-methylpyrimidin-2,4(1*H*,3*H*)-dion, phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % $C_{10}H_{12}N_2O_4$ tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột trắng hay gần như trắng, đa hình. Tan trong nước, hơi tan trong ethanol 96 % và khó tan trong methylen clorid.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của stavudin chuẩn. Nếu phổ hồng ngoại của mẫu thử khác với phổ hồng ngoại của stavudin chuẩn thì hòa tan riêng rẽ chế phẩm và stavudin chuẩn trong *ethanol khan (TT)*, bốc hơi tới cắn rồi tiến hành ghi lại phổ mới của cắn.

B. Góc quay cực riêng phải từ -39,5° đến -45,9°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Các dung dịch được pha ngay trước khi dùng hoặc phải bảo quản ở 2 °C đến 8 °C đến khi dùng.

Pha động A: Acetonitril dùng trong phương pháp sắc ký - dung dịch amoni acetat 0,077 % (35 : 965).

Pha động B: Acetonitril dùng trong phương pháp sắc ký - dung dịch amoni acetat 0,077 % (25 : 75).

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

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

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 20,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5 mg stavudin chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa các tạp chất từ A đến H) trong *nước* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại tại bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 10	100	0
10 - 20	100 → 0	0 → 100
20 - 30	0	100

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo stavudin chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống để xác định các tạp chất từ A đến H.

Thời gian lưu tương đối so với stavudin (thời gian lưu khoảng từ 9,5 min đến 12,5 min): tạp chất A khoảng 0,3; tạp chất B khoảng 0,50; tạp chất C khoảng 0,53; tạp chất E khoảng 1,1.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3):

Tỷ số đỉnh - hõm (H_p/H_v) ít nhất là 1,5; trong đó H_p là chiều cao đỉnh pic tạp chất C và H_v là chiều cao của đáy hõm phân tách pic tạp chất C và pic tạp chất B.

Tỷ số đỉnh - hõm (H_p/H_v) ít nhất là 1,5; trong đó H_p là chiều cao đỉnh pic tạp chất E và H_v là chiều cao của đáy hõm phân tách pic tạp chất E và pic stavudin.

Giới hạn:

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất A với 0,7.

Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).

Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) 1,0 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: 5-methylpyrimidin-2,4(1*H*,3*H*)-dion (thymin).

Tạp chất B: 1-(2-deoxy-β-D-*threo*-pentofuranosyl)-5-methyl pyrimidin-2,4(1*H*,3*H*)-dion (3'-epithymidin).

Tạp chất C: 1-(2-deoxy-β-D-*erythro*-pentofuranosyl)-5-methyl pyrimidin-2,4(1*H*,3*H*)-dion (thymidin).

Tạp chất D: 1-[(2*R*)-5-oxo-2,5-dihydrofuran-2-yl]-5-methyl pyrimidin-2,4(1*H*,3*H*)-dion.

Tạp chất E: 1-(2,3-dideoxy-α-D-*glycero*-pent-2-enofuranosyl)-5-methylpyrimidin-2,4(1*H*,3*H*)-dion(stavudin anomer a).

Tạp chất F: 1-(3,5-anhydro-2-deoxy-β-D-*threo*-pentofuranosyl)-5-methylpyrimidin-2,4(1*H*,3*H*)-dion.

Tạp chất G: 5'-*O*-[[(2*S*,5*R*)-5-(5-methyl-2,4-dioxo-3,4-dihydro pyrimidin-1(2*H*)-yl)-2,5-dihydrofuran-2-yl]methyl]-3'-epithymidin.

Tạp chất H: 1-[2-deoxy-5-*O*-(1-methylethyl)-β-D-*erythro*-pento furanosyl]-5-methylpyrimidin-2,4(1*H*,3*H*)-dion.

Nước

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 0,500 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Các dung dịch được pha ngay trước khi dùng hoặc phải bảo quản ở 2 °C đến 8 °C đến khi dùng.

Pha động: Acetonitril dùng trong phương pháp sắc ký - dung dịch amoni acetat 0,077 % (5 : 95).

Dung dịch thử: Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10,0 mg stavudin chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg *thymin (TT)* và 7,5 mg *thymidin (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng *nước*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (3,3 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 µm).
Detector quang phổ tử ngoại tại bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 0,7 ml/min.
Thể tích tiêm: 25 µl.
Cách tiến hành:
Thời gian lưu của stavudin từ 2,8 min đến 5,0 min.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), Hệ số đối xứng của pic stavudin không được quá 1,6. Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của thymin với pic của thymidin ít nhất là 3,5.
Tính hàm lượng của $C_{10}H_{12}N_2O_4$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic stavudin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng của $C_{10}H_{12}N_2O_4$ trong stavudin chuẩn.

Bảo quản
Tránh ánh sáng và ẩm.

Loại thuốc
Kháng HIV.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN STAVUDIN
Tabellae Stavudini

Là viên nén hoặc viên nén bao phim chứa stavudin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng stavudin, $C_{10}H_{12}N_2O_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lắc một lượng bột viên đã nghiền mịn, tương ứng với khoảng 0,05 g stavudin, với 100 ml *nước*, lọc và pha loãng 5 ml dịch lọc thành 50 ml với *nước*. Tiếp tục pha loãng 5 ml dung dịch thu được thành 25 ml bằng *nước*. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở dải bước sóng từ 200 nm đến 300 nm phải phù hợp với phổ của dung dịch stavudin chuẩn có nồng độ tương đương trong cùng dung môi.
B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic stavudin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch *acid hydrocloric 0,01 M (TT)*.
Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng stavudin chuẩn và hòa tan trong môi trường hòa tan để thu được một dung dịch có nồng độ tương đương với nồng độ stavudin trong dung dịch thử.
Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với điều kiện sắc ký như mô tả ở phần Định lượng.
Tính hàm lượng lượng stavudin, $C_{10}H_{12}N_2O_4$, hòa tan từ mỗi viên dựa vào diện tích pic stavudin trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{10}H_{12}N_2O_4$ trong stavudin chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng stavudin, $C_{10}H_{12}N_2O_4$, so với lượng ghi trên nhãn được hoà tan trong 45 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: *Dung dịch amoni acetat 0,1 M.*
Pha động B: *Acetonitril (TT).*
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng stavudin chuẩn và thymin chuẩn trong *nước* để thu được dung dịch có nồng độ stavudin, $C_{10}H_{12}N_2O_4$, khoảng 0,2 mg/ml và nồng độ thymin khoảng 0,2 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên đã nghiền mịn, tương ứng với khoảng 50 mg stavudin, vào bình định mức 100 ml, thêm 80 ml *nước* và lắc siêu âm 10 min. Pha loãng bằng *nước* vừa đủ đến vạch, lắc đều và lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 270 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0	95	5
5	95	5
25	20	80
30	20	80
31	95	5
35	95	5

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, số đĩa lý thuyết của cột tính theo pic stavudin và pic thymin không được dưới 7000; hệ số đối xứng của pic stavudin và pic thymin không được lớn hơn 2,0.
Tiến hành sắc ký đối với dung dịch thử và ghi lại sắc đồ. Hàm lượng các tạp chất nếu có trên sắc ký đồ của dung dịch thử được tính theo phương pháp chuẩn hóa (Phụ lục 5).
Giới hạn:
Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, diện tích của pic tương ứng với thymin không được lớn hơn 3,0 %; diện tích của bất kỳ pic nào trừ pic chính và pic thymin đều không được lớn hơn 0,5 % và tổng diện tích của tất cả các pic trừ pic chính không được lớn hơn 4,0 %. Bỏ qua các pic của dung môi và pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 %.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - dung dịch amoni acetat 0,1 M (5 : 95).
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng stavudin chuẩn trong *nước* để thu được dung dịch có nồng độ stavudin khoảng 0,2 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg stavudin, vào bình định mức 100 ml, thêm 80 ml *nước* và lắc siêu âm 10 min. Pha loãng bằng *nước* vừa đủ đến vạch, lắc đều và lọc. Pha loãng 10,0 ml dịch lọc với *nước* vừa đủ 25,0 ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 270 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, số đĩa lý thuyết của cột tính theo pic stavudin không được nhỏ hơn 3000; hệ số đối xứng của pic stavudin không được lớn hơn 2,0; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic stavudin từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng stavudin, $C_{10}H_{12}N_2O_4$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic stavudin thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{10}H_{12}N_2O_4$ trong stavudin chuẩn.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín. Để nơi khô mát, nhiệt độ không quá 30 °C, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng HIV.

Hàm lượng thường dùng
30 mg và 40 mg.

STEARYL ALCOL
Alcohol stearylicus

Stearyl alcol là hỗn hợp các alcol rắn chủ yếu là octadecan-1-ol ($C_{18}H_{38}O$) của động vật hoặc thực vật, phải chứa không dưới 95,0 % $C_{18}H_{38}O$ (p.t.l: 270,5).

Tính chất
Hạt, khối hay vảy nhờn màu trắng hoặc gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, tan trong ethanol 96 %. Khi đun chảy hòa lẫn được với dầu béo, parafin lỏng và mỡ cừu nóng chảy.

Định tính
Trong mục Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương tự thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn (2).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong 20 ml *ethanol 96 % (TT)* sôi. Để nguội. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn dung dịch màu mẫu N_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Nhiệt độ nóng chảy
Từ 57 °C đến 60 °C (Phụ lục 6.7).

Chỉ số acid
Không được quá 1,0 (Phụ lục 7.2).

Chỉ số hydroxyl
Từ 197 đến 217 (Phụ lục 7.4, phương pháp A).

Chỉ số iod
Không được quá 2,0 (Phụ lục 7.5, phương pháp A).
Hòa tan 2,00 g chế phẩm trong *methylen clorid (TT)* (đun nóng nếu cần) và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Chỉ số xà phòng hóa
Không được quá 2,0 (Phụ lục 7.7).

Định lượng
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch chuẩn (1): Hòa tan 50 mg *cetyl alcol (TT)* trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch chuẩn (2): Hòa tan 50 mg stearyl alcol chuẩn trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Dung dịch chuẩn (3): Trộn 1 ml dung dịch chuẩn (1) và 1 ml dung dịch chuẩn (2) và pha loãng thành 10 ml bằng *ethanol 96 % (TT)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (30 m × 0,32 mm) được phủ pha tĩnh là *poly(dimethyl)siloxan (TT)* (1 µm).
Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký khí.*

Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Tỉ lệ chia dòng: 1 : 100.
Detector ion hóa ngọn lửa.
Nhiệt độ:

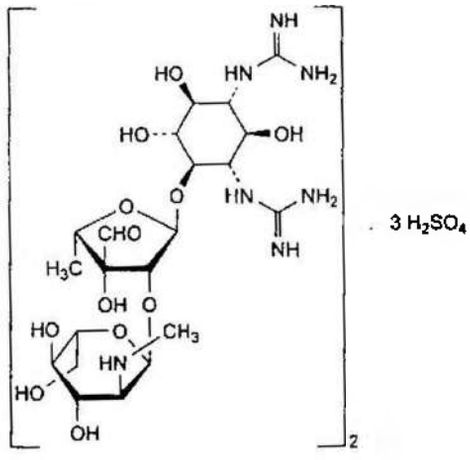
	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 20	150 → 250
	20 - 40	250
Buồng tiêm		250
Detector		250

Thể tích tiêm: 1 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch chuẩn (2) và (3).
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn (3), độ phân giải giữa pic cetyl alcol và pic stearyl alcol ít nhất là 5,0.
Tính hàm lượng phần trăm của $C_{18}H_{38}O$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn (2) và hàm lượng của $C_{18}H_{38}O$ trong stearyl alcol chuẩn.

Bảo quản
Bao bì kín, tránh ánh sáng

Loại thuốc
Tá dược.

STREPTOMYCIN SULFAT
Streptomycini sulfas



$(C_{21}H_{39}N_7O_{12})_2.3H_2SO_4$ P.t.l: 1457,0

Streptomycin sulfat là bis[*N,N'*-bis(aminoiminomethyl)-4-*O*-[5-deoxy-2-*O*-[2-deoxy-2-(methylamino)-α-L-glucopyranosyl]-3-*C*-formyl-α-L-lyxofuranosyl]-D-streptamin] trisulfat, thu được từ nuôi cấy chủng *Streptomyces griseus* hoặc được điều chế bằng các phương pháp khác. Có thể cho thêm chất ổn định. Hoạt lực không được dưới 720 IU/mg, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Sản xuất
Streptomycin sulfat được sản xuất bằng phương pháp đã được thiết lập để loại bỏ hoặc giảm đến mức tối thiểu chất hạ huyết áp. Phương pháp sản xuất này phải được đánh giá để chứng tỏ rằng chế phẩm nếu được thử phải đạt yêu cầu của phép thử sau đây:
Độc tính bất thường (Phụ lục 13.5)
Tiêm vào mỗi chuột nhắt 0,5 ml dung dịch có chứa 1 mg chế phẩm trong nước cất pha tiêm.

Tính chất
Bột màu trắng hoặc gần như trắng, dễ hút ẩm. Rất tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Trộn 0,3 g *carbomer (TT)* với 240 ml *nước*, để yên trong 1 h và thỉnh thoảng lắc nhẹ nhàng, điều chỉnh đến pH 7 bằng cách thêm từ từ *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)* trong khi tiếp tục lắc, thêm 30 g *silica gel H (TT)*. Tráng bản mỏng dày 0,75 mm. Sấy bản mỏng ở 110 °C trong 1 h, để nguội và sử dụng ngay.
Dung môi khai triển: Dung dịch kali dihydrophosphat 7,0 %.
Thuốc thử hiện màu: Hỗn hợp đồng thể tích của *dung dịch 1,3-dihydroxynaphtalen 0,2 % trong ethanol 96 % (TT)* và *dung dịch acid sulfuric 46 %* (kl/tt).
Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong 10 ml *nước*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg streptomycin sulfat chuẩn trong 10 ml *nước*.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg kanamycin monosulfat chuẩn, 10 mg neomycin sulfat chuẩn và 10 mg streptomycin sulfat chuẩn trong 10 ml *nước*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm. Làm khô bản mỏng bằng một luồng không khí nóng, phun thuốc thử hiện màu, sấy bản mỏng ở 150 °C trong khoảng 5 min đến 10 min. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí, màu sắc và kích thước. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho ba vết tách ra rõ ràng.
B. Hòa tan 5 mg đến 10 mg chế phẩm trong 4 ml *nước*, thêm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*. Đun nóng trong cách thủy 4 min. Thêm hơi dư *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)* và 0,1 ml *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)*, màu tím tạo thành.
C. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 2 ml *nước*, thêm 1 ml *dung dịch 1-naphtol (TT)*. Thêm 2 ml hỗn hợp đồng thể tích *dung dịch natri hypoclorit mạnh (TT)* và *nước*. Màu đỏ tạo thành.
D. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 5 ml *nước*, thêm 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*. Đun nóng trong cách thủy 2 min. Thêm 2 ml dung dịch có chứa 0,5 % *1-naphtol (TT)* trong *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* và đun nóng trong cách thủy 1 min, màu vàng nhạt tạo thành.

E. Chế phẩm phải cho các phản ứng của ion sulfat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong 10 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*.

Dung dịch S có màu không được đậm hơn màu mẫu số 3 của dãy dung dịch màu đối chiếu phù hợp nhất (Phụ lục 9.3; phương pháp 2). Để dung dịch S ở nhiệt độ khoảng 20 °C và tránh ánh sáng trong 24 h. Dung dịch không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu số II (Phụ lục 9.2).

pH

Từ 4,5 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Dùng dung dịch S để đo.

Methanol

Không được quá 0,3 %.

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch thử: Hòa tan 1,00 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 12,0 mg *methanol (TT)* thành 100 ml bằng *nước*.

Điều kiện sắc ký:

Cột sắc ký (1,5 m đến 2,0 m × 2 mm đến 4 mm) được nhồi pha tĩnh là *ethylvinylbenzen-divinylbenzen copolymer* (150 µm đến 180 µm).

Khí mang là nitrogen dùng cho sắc ký với tốc độ dòng 30 ml/min đến 40 ml/min.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Nhiệt độ cột trong khoảng 120 °C đến 140 °C, nhiệt độ buồng tiêm và nhiệt độ detector cao hơn nhiệt độ cột ít nhất 50 °C.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu vào cột sắc ký, ghi lại sắc ký đồ. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích pic tương ứng với methanol không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Streptomycin B

Không được quá 3,0 %.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Acid acetic băng - methanol - toluen (25 : 25 : 50).

Thuốc thử hiện màu: Hỗn hợp đồng thể tích của *dung dịch 1,3-dihydroxynaphtalen 0,2 % trong ethanol 96 %* và *dung dịch acid sulfuric 20 % (tt/tt)*. Thuốc thử chỉ pha ngay trước khi dùng.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong hỗn hợp mới pha *acid sulfuric - methanol* (3 : 97) và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi. Đun hồi lưu trong 1 h, làm nguội, tráng sinh hàn hồi lưu với *methanol (TT)* và pha loãng thành 20 ml với *methanol (TT)* (dung dịch 1,0 %).

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 36 mg *manose (TT)* trong 5 ml hỗn hợp *acid sulfuric - methanol* (3 : 97) mới pha. Đun hồi lưu trong 1 h, làm nguội, tráng sinh hàn hồi lưu bằng *methanol (TT)* và pha loãng thành 50 ml bằng *methanol (TT)*. Pha loãng 5 ml dung dịch thu được thành 50 ml với *methanol (TT)*. Dung dịch thu được chứa một lượng tương đương 0,03 % streptomycin B (1 mg manose tương đương với 4,13 mg streptomycin B).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 13 cm đến 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí, phun bản mỏng với thuốc thử hiện màu, sấy bản mỏng ở 110 °C trong 5 min. Trên sắc ký đồ dung dịch thử, vết tương ứng với streptomycin B không được đậm hơn vết thu được từ dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 7,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 60 °C; phosphor pentoxyd; áp suất không quá 0,1 kPa; 24 h).

Tro sulfat

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Sulfat

Phải từ 18,0 % đến 21,5 %, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 100 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 11 bằng *amoniac (TT)*. Thêm 10,0 ml *dung dịch bari clorid 0,1 M (CĐ)* và khoảng 0,5 mg *đỏ tía phtalein (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)*, thêm 50 ml *ethanol 96 % (TT)* khi dung dịch bắt đầu chuyển màu và tiếp tục chuẩn độ cho đến hết màu xanh tím. Song song tiến hành với mẫu trắng.

1 ml *dung dịch bari clorid 0,1 M (CĐ)* tương đương với 9,606 mg sulfat (SO_4).

Phép thử đo màu

Sấy khô chế phẩm và streptomycin sulfat chuẩn ở 60 °C, với *phosphor pentoxyd (TT)*, trong chân không có áp suất không quá 0,1 kPa trong 24 h. Hòa tan 0,100 g chế phẩm đã sấy khô trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Tương tự chuẩn bị dung dịch đối chiếu với 0,100 g streptomycin sulfat chuẩn đã sấy khô. Hút chính xác 5,0 ml mỗi dung dịch cho vào hai bình định mức riêng biệt dung tích 25 ml; lấy 5,0 ml *nước* vào một bình định mức dung tích 25 ml khác. Thêm vào mỗi bình 5,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,2 M (CĐ)* và đun nóng trong cách thủy chính xác 10 min. Làm nguội trong nước đá trong chính xác 5 min. Thêm 3 ml *dung dịch sắt (III) amoni sulfat 1,5 %* trong *dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT)*. Thêm *nước* vừa đủ đến vạch, trộn đều. Chính xác 20 min sau khi thêm sắt (III) amoni sulfat, đo độ hấp thụ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu tại bước sóng 525 nm (Phụ lục 4.1) trong cốc đo dày 2 cm, dùng dung dịch được chuẩn bị với 5 ml *nước* làm mẫu trắng. Độ hấp thụ của dung dịch thử không được nhỏ hơn 90,0 % độ hấp thụ của dung dịch đối chiếu.

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 0,25 EU/mg (Phụ lục 13.2), nếu chế phẩm được dùng để pha thuốc tiêm mà không áp dụng các biện pháp loại bỏ nội độc tố vi khuẩn.

Định lượng
Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật (Phụ lục 13.9).

Bảo quản
Trong bao bì kín. Nếu chế phẩm là vô khuẩn, bảo quản trong bao bì vô khuẩn, đảm bảo vô khuẩn.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm aminoglycosid; chống lao.

Chế phẩm
Bột pha tiêm.

BỘT PHA TIÊM STREPTOMYCIN
Streptomycini pro injectione

Bột pha tiêm streptomycin là bột vô khuẩn của streptomycin sulfat đóng trong lọ thủy tinh nút kín. Chỉ pha với "nước vô khuẩn để tiêm" ngay trước khi dùng.
Chế phẩm phải đạt các yêu cầu quy định trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng streptomycin, $C_{21}H_{39}N_7O_{12}$, trong chế phẩm phải từ 95,0 % đến 115,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột màu trắng hoặc gần như trắng.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Trộn 0,3 g *carbomer (TT)* với 240 ml *nước*, để yên trong 1 h và thỉnh thoảng lắc nhẹ, điều chỉnh pH đến 7,0 bằng cách vừa thêm từ từ *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)* vừa lắc, thêm 30 g *silica gel H (TT)*, trộn đều để được hỗn dịch đồng nhất. Tráng bản mỏng dày 0,75 mm từ hỗn dịch thu được. Sấy bản mỏng ở 110 °C trong 1 h, để nguội và sử dụng ngay.
Dung môi khai triển: *Dung dịch kali dihydrophosphat 7 %.*
Thuốc thử hiện màu: Hỗn hợp đồng thể tích của *dung dịch 1,3-dihydroxynaphtalen 0,2 % trong ethanol 96 %* và *dung dịch acid sulfuric 46 %.*
Dung dịch thử: Pha một lượng bột chế phẩm trong *nước* để có nồng độ streptomycin khoảng 0,08 %.
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch streptomycin sulfat chuẩn 0,1 %.
Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch chứa kanamycin monosulfat chuẩn, neomycin sulfat chuẩn và streptomycin sulfat chuẩn trong nước, nồng độ mỗi chất là 0,1 %.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm. Làm khô bản mỏng bằng một luồng không khí ấm, phun thuốc thử hiện màu, sấy bản mỏng ở 150 °C trong khoảng 5 min đến 10 min. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí, màu sắc và kích thước. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho ba vết tách ra rõ ràng.
B. Hòa tan 5 mg đến 10 mg bột thuốc trong 4 ml *nước*, thêm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*. Đun nóng trong cách thủy 4 min. Thêm hơi dư *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)* và 0,1 ml *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)*, màu tím tạo thành.
C. Chế phẩm phải có phản ứng đặc trưng của ion sulfat (Phụ lục 8.1).

Giới hạn acid - kiềm
Dung dịch chế phẩm chứa 25 % streptomycin có pH từ 4,5 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 7,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,0 g, 60 °C, phosphor pentoxyd, áp suất không quá 0,1 kPa, 24 h).

Streptomycin B
Không được quá 3 %.
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G.*
Dung môi khai triển: *Acid acetic băng -methanol - toluen* (25 : 25 : 50).
Thuốc thử hiện màu: Hỗn hợp đồng thể tích của *dung dịch 1,3-dihydroxynaphtalen 0,2 % trong ethanol 96 %* và *dung dịch acid sulfuric 20 % (tt/tt)*. Thuốc thử chỉ pha ngay trước khi dùng.
Dung dịch thử: Hòa tan một lượng chế phẩm có chứa khoảng 0,16 g streptomycin trong hỗn hợp *acid sulfuric - methanol* (3 : 97) mới pha và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi. Đun hồi lưu trong 1 h, làm nguội, tráng sinh hàn với *methanol (TT)* và pha loãng thành 20 ml với *methanol (TT)* (dung dịch 1 %).
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 36 mg *manose (TT)* trong 5 ml hỗn hợp *acid sulfuric - methanol* (3 : 97) mới pha. Đun hồi lưu trong 1 h, làm nguội, tráng sinh hàn bằng *methanol (TT)* và pha loãng thành 50 ml bằng *methanol (TT)*. Pha loãng 5 ml dung dịch thu được thành 50 ml với *methanol (TT)*. Dung dịch thu được chứa một lượng tương đương 0,03 % streptomycin B (1 mg manose tương đương với 4,13 mg streptomycin B).
Cách tiến hành:
Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí, phun thuốc thử hiện màu, sấy bản mỏng ở 110 °C trong 5 min. Trên sắc ký đồ dung dịch thử, vết tương ứng với streptomycin B không được đậm hơn vết thu được từ dung dịch đối chiếu.

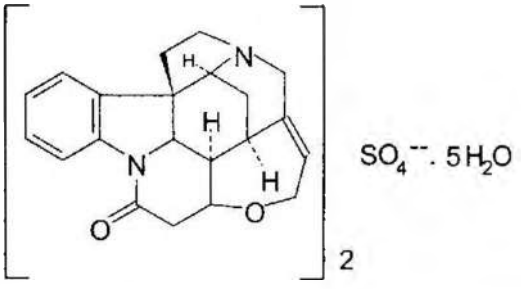
Nội độc tố vi khuẩn
Tiến hành thử theo chuyên luận "Phép thử nội độc tố vi khuẩn" (Phụ lục 13.2).
Hòa tan một lượng chế phẩm trong nước BET để thu được dung dịch có nồng độ streptomycin 10 mg/ml (dung dịch A). Nồng độ giới hạn nội độc tố của dung dịch A là 2,5 EU/ml. Giá trị độ pha loãng tối đa của dung dịch A được tính từ độ nhạy của thuốc thử lysat dùng trong phép thử.

Định lượng
Cân nhanh thuốc trong 20 lọ, tính khối lượng trung bình của thuốc trong lọ và trộn đều nhanh. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng khoảng 0,33 g streptomycin hòa tan trong *nước* vừa đủ 100,0 ml và tiến hành định lượng theo chuyên luận "Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật" (Phụ lục 13.9).
Tính hàm lượng streptomycin trong một đơn vị chế phẩm so với lượng ghi trên nhãn.
Hoạt lực lý thuyết của streptomycin là 1000 IU trong 1 mg.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Hàm lượng thường dùng
1000 mg, tính theo streptomycin.

STRYCHNIN SULFAT
Strychnini sulfas



$(C_{21}H_{22}N_2O_2)_2.H_2SO_4.5H_2O$ P.t.l: 857,0

Strychnin sulfat là strychnidin-10 on sulfat pentahydrat, chiết từ hạt cây *Strychnos nux - vomica* L. và các loài *Strychnos* sp. khác, họ Loganiaceae, phải chứa từ 97,0 % đến 100,5 % $(C_{21}H_{22}N_2O_2)_2.H_2SO_4$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Tinh thể hình kim không màu hay bột kết tinh trắng, không mùi. Dễ tan trong nước sôi, hơi tan trong ethanol và nước lạnh, khó tan trong cloroform và không tan trong ether.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: B, C, D.
Nhóm II: A, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của strychnin sulfat chuẩn.
B. Trong phần Tạp chất liên quan, vết chính của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc và kích thước so với vết chính của dung dịch đối chiếu (1).
C. Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 5 ml *nước*, thêm 0,1 ml *amoniac đậm đặc (TT)* và chiết bằng 5 ml *cloroform (TT)*. Bốc hơi dịch chiết cloroform đến cạn trên cách thủy. Thêm vào cắn 0,1 ml *acid sulfuric đậm đặc (TT)* và 1 tinh thể *kali dicromat (TT)*, xung quanh tinh thể có màu tím, màu đỏ, màu vàng khi lắc.
D. Chế phẩm cho phản ứng của ion sulfat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Lấy 25 ml dung dịch S, thêm 0,1 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)*, dung dịch có màu đỏ. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)* cần dùng để làm dung dịch chuyển sang màu vàng không quá 0,5 ml.

Góc quay cực riêng
Từ -25° đến -29°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).
Dùng dung dịch S để đo.

Brucin
Lấy 0,1 g chế phẩm, thêm 1 ml *acid nitric (TT)* và 0,2 ml *nước*, lắc cho tan hoàn toàn. Nếu dung dịch thu được có màu đỏ hay da cam thì không được đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu gồm 1 ml *acid nitric (TT)* và 0,2 ml *dung dịch brucin 0,054 %*.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Diethylamin - ethyl acetat - cyclohexan (15 : 25 : 60).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,1 g strychnin sulfat chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Lấy 0,5 ml dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 100 ml bằng *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy ra sấy khô bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 15 min, để nguội. Phun *dung dịch kali iodobismuthat (TT)* cho đến khi các vết đỏ cam xuất hiện. Ngoài vết chính, bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết chính của dung dịch đối chiếu (2).

Nước
Từ 10,0 % đến 13,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,10 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 1).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

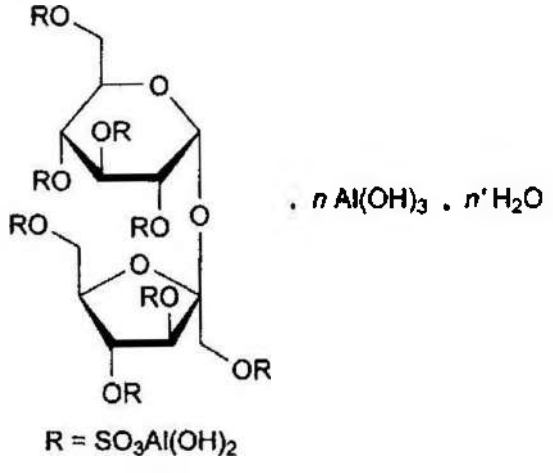
Định lượng
Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong 25 ml *acid acetic khan (TT)*, thêm 1 ml *anhydrid acetic (TT)*. Định lượng bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2) hoặc bằng chỉ thị *xanh malachit (TT)*.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 76,70 mg $(C_{21}H_{22}N_2O_2)_2.H_2SO_4$.

Bảo quản
Trong lọ kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kích thích thần kinh trung ương và tủy sống, kích thích tiêu hóa.

Chế phẩm
Thuốc tiêm.

SUCRALFAT
Sucralfatum



$C_{12}H_{30}Al_8O_{51}S_8[Al(OH)_3]_n[H_2O]_{n'}$
với n = 8 đến 10 và n' = 22 đến 31.
Sucralfat là β-D-fructofuranosyl-α-D-glucopyranosid octakis (nhôm dihydroxy sulfat) có từ 8 đến 10 phân tử nhôm hydroxyd và từ 22 đến 31 phân tử nước. Phải chứa từ 30,0 % đến 36,0 % β-D-fructofuranosyl-α-D-glucopyranosid octakis sulfat (sucrose octasulfat) ($C_{12}H_{14}O_{35}S_8^{8-}$; P.t.l: 975) và từ 16,5 % đến 18,5 % nhôm (Al; N.t.l: 26,98).

Tính chất
Bột vô định hình màu trắng hay gần như trắng.
Thực tế không tan trong nước, trong ethanol 96 % và trong methylen clorid. Tan trong các dung dịch acid vô cơ loãng và hydroxyd kiềm loãng.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của sucralfat chuẩn.
B. Hòa tan 2 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và đun sôi. Để nguội và trung hòa bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*. Lấy 5 ml dung dịch thu được, thêm 0,15 ml *dung dịch đồng sulfat 12,5 % (TT)* mới pha, 2 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* mới pha. Dung dịch thu được có màu xanh lam và trong, màu được duy trì sau khi đun sôi dung dịch. Thêm 4 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* vào dung dịch nóng và đun sôi trong 1 min. Thêm 4 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*, tủa màu cam xuất hiện ngay lập tức.
C. Hòa tan 15 mg chế phẩm trong hỗn hợp 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và 2 ml *nước*. Dung dịch thu được phải cho phản ứng của nhôm (Phụ lục 8.1).

Tạp chất A
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch *amoni sulfat (TT)* 7 % được điều chỉnh đến pH 3,5 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 450,0 mg chế phẩm trong hỗn hợp đồng thể tích của *dung dịch natri hydroxyd 8,8 % (TT)* và dung dịch *acid sulfuric (TT)* 19,62 % và pha loãng thành 10,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi. Ngay sau khi pha, vừa lắc vừa thêm chính xác V ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* để thu được dung dịch có pH 2,3. Thêm (15,0 - V) ml *nước* vào dung dịch thu được, lắc trong 1 min. Nếu pH không trong khoảng từ 2,3 đến 3,5, phải tiến hành lại với lượng V ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* khác.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 40,0 mg kali sucrose octasulfat chuẩn trong pha động và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 dung dịch đối chiếu (1) thành 10,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh *aminopropylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector khúc xạ vi sai.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2). Thời gian lưu tương đối so với sucrose octasulfat (thời gian lưu khoảng 6 min) của tạp chất A khoảng 0,6.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), số đĩa lý thuyết không được nhỏ

hơn 400 và hệ số đối xứng không được lớn hơn 4,0 tính theo pic của kali sucrose octansulfat.

Giới hạn:

Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (5,0 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: β-D-fructofuranosyl-α-D-glucopyranosid heptakis (hydrogensulfat).

Khả năng trung hòa

Phân tán 0,25 g chế phẩm trong 100,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* đã được làm ấm đến 37 °C, giữ ấm trong cách thủy ở 37 °C và khuấy liên tục trong 1 h, để nguội. Chuẩn độ 20,0 ml dung dịch thu được bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* đến pH 3,5. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* đã dùng không được quá 14,0 ml.

Clorid

Không được quá 0,50 % (Phụ lục 9.4.5).

Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong 5 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)* và pha loãng thành 50 ml bằng *nước*. Pha loãng 5 ml dung dịch thu được thành 15 ml bằng *nước* để thử.

Arsen

Không được quá 4 phần triệu (Phụ lục 9.4.2, phương pháp A).

Lấy 0,25 g chế phẩm vào bình đốt và thêm 5 ml *acid sulfuric (TT)*. Thêm cẩn thận vài ml *dung dịch hydrogen peroxyd 100 tt (TT)* và đun sôi đến khi thu được dung dịch trong, không màu. Tiếp tục đun để loại nước và acid sulfuric nhiều nhất có thể, pha loãng thành 25 ml bằng *nước*.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 2,0 g chế phẩm thử theo Phương pháp 6. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Định lượng

Nhôm: Phân tán 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 6 M (TT)*, đun trong cách thủy ở 70 °C và khuấy liên tục trong 5 min. Để nguội đến nhiệt độ phòng, chuyển vào bình định mức và pha loãng thành 250,0 ml bằng *nước*, trộn đều. Lọc và bỏ một phần dịch lọc đầu. Lấy 10,0 ml dịch lọc, thêm 10,0 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* và 30 ml hỗn hợp đồng thể tích của *dung dịch amoni acetat (TT)* và *dung dịch acid acetic loãng (TT)*. Đun nóng trong cách thủy ở 70 °C trong 5 min, để nguội. Thêm 25 ml *ethanol 96 % (TT)* và 1 ml *dung dịch dithizon 0,025 % trong ethanol 96 %* mới pha. Chuẩn độ lượng natri edetat thừa bằng *dung dịch kẽm sulfat 0,1 M (CĐ)* đến khi dung dịch chuyển sang màu hồng.

1 ml *dung dịch natri edetat 0,1 M (CĐ)* tương đương với 2,698 mg Al.

Sucrose octasulfat

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Điều kiện sắc ký được mô tả ở phần Tạp chất A với thay đổi như sau:

Pha động: Dung dịch *amoni sulfat (TT)* 13,2 % được điều chỉnh đến pH 3,5 bằng *acid phosphoric (TT)*.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1). Tính hàm lượng phần trăm của $C_{12}H_{14}O_{35}S_8$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng kali sucrose octasulfat chuẩn nhân với 0,757.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

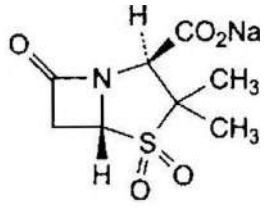
Điều trị loét dạ dày và tá tràng.

Chế phẩm

Viên nén, bột pha hỗn dịch.

SULBACTAM NATRI

Sulbactamum Natricum



$C_8H_{10}NNaO_5S$ P.t.l: 255,2

Sulbactam natri là natri (2*S*,5*R*)-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylat 4,4-dioxyd, được bán tổng hợp từ một sản phẩm lên men, phải chứa từ 97,0 % đến 102,0 % $C_8H_{10}NNaO_5S$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, hút ẩm.

Dễ tan trong nước, hơi tan trong ethyl acetat, rất khó tan trong ethanol 96 %. Dễ tan trong acid loãng.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của sulbactam natri hoặc phổ hấp thụ hồng ngoại của sulbactam natri chuẩn.

B. Chế phẩm phải cho phản ứng định tính của muối natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong của dung dịch

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2).

Độ hấp thụ ánh sáng

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1)

của dung dịch thu được ở bước sóng 430 nm. Độ hấp thụ đo được không được lớn hơn 0,10.

pH

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* dung dịch thu được phải có pH (Phụ lục 6.2) từ 4,5 đến 7,2. Với chế phẩm vô khuẩn, pH của dung dịch thu được phải từ 5,2 đến 7,2.

Góc quay cực riêng

Từ +219° đến + 233°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4). Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong *nước*, pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Sử dụng hỗn hợp pha động A và pha động B theo chương trình mô tả trong Bảng 1.

Pha động A: Điều chỉnh pH dung dịch *kali dihydrophosphat* 5,44 g/l tới 4,0 bằng *acid phosphoric loãng (TT)*.

Pha động B: Acetonitril (TT).

Dung dịch A: Điều chỉnh pH dung dịch *kali dihydrophosphat 2,72 g/l* tới pH 4,0 bằng *acid phosphoric loãng (TT)*.

Dung dịch B: Pha loãng 2 ml *acetonitril dùng cho sắc ký lỏng (TT)* thành 100,0 ml bằng dung dịch A.

Dung dịch thử: Phân tán 77,0 mg chế phẩm trong 2 ml *acetonitril dùng cho sắc ký lỏng (TT)* và lắc siêu âm trong khoảng 5 min. Pha loãng thành 100,0 ml với dung dịch A.

Dung dịch đối chiếu (1): Phân tán 70,0 mg sulbactam chuẩn trong 2 ml *acetonitril dùng cho sắc ký lỏng (TT)* và lắc siêu âm trong khoảng 5 min. Pha loãng thành 100,0 ml với dung dịch A.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml với dung dịch B. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 10,0 ml với dung dịch B.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 15,0 mg acid 6-amino-penicilanic chuẩn trong dung dịch A và pha loãng thành 50,0 ml với dung dịch A.

Dung dịch phân giải: Trộn 1 ml dung dịch đối chiếu (1) với 1 ml dung dịch đối chiếu (3) rồi pha loãng thành 25,0 ml với dung dịch B.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 8 mg sulbactam chuẩn dùng cho định tính pic (bao gồm các tạp chất A, C, D, E và F) trong 1 ml *acetonitril dùng cho sắc ký lỏng (TT)*, lắc siêu âm trong khoảng 5 min và pha loãng thành 10,0 ml với dung dịch B.

Điều kiện sắc ký:

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

Nhiệt độ cột: 40 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 215 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 7,5	98 → 50	2 → 50
7,5 - 8,5	50	50
8,5 - 9,0	50 → 98	50 → 2
9,0 - 12,5	98	2

Tiêm các dung dịch thử, dung dịch B, dung dịch đối chiếu (2), dung dịch phân giải và dung dịch đối chiếu (4).

Thời gian lưu tương đối của các pic tạp so với sulbactam (thời gian lưu khoảng 2,5 min) như sau: tạp chất A khoảng 0,4; tạp chất B khoảng 0,6; tạp chất C khoảng 1,6; tạp chất D khoảng 2,0; tạp chất E khoảng 2,1; tạp chất F khoảng 2,5.

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc đồ đối chiếu đi kèm với sulactam chuẩn dùng cho định tính pic và sắc đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (4) để xác định các pic tạp chất A, C, D, E và F.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa pic tạp chất B (acid 6-aminopenicilanic) và sulbactam tối thiểu là 7,0.

Giới hạn:

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với các hệ số hiệu chỉnh tương ứng: tạp chất A bằng 0,6; tạp chất B bằng 0,5; tạp chất D bằng 0,5; tạp chất F bằng 0,6;

Tạp chất A: Diện tích pic đã hiệu chỉnh không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,5%).

Tạp chất B, D, F: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,1%).

Tạp chất C, E: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh nếu cần không lớn hơn hai lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,2%).

Tạp chất chưa định danh: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,1%).

Tổng lượng tạp chất: Không được lớn hơn 10 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (1,0%).

Bỏ qua các pic có diện tích bằng và nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,05%).

Ghi chú:

Tạp chất A: Acid (2*S*)-2-amino-3-methyl-3-sulphinobutanoic,

Tạp chất B: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-amino-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic(acid 6-aminopenicilanic),

Tạp chất C: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-bromo-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic 4,4-dioxyd (acid 6-bromopenicilanic sulphon),

Tạp chất D: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-bromo-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic(acid 6-bromopenicilanic),

Tạp chất E: Acid (2*S*,5*R*)-6,6-dibromo-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic 4,4-dioxyd (acid 6,6-dibromopenicilanic sulphon),

Tạp chất F: Acid (2*S*,5*R*)-6,6-dibromo-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic (acid 6,6-dibromopenicilanic).

Acid 2-ethylhexanoic
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.17).

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Lấy 12 ml dung dịch này tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng 10,0 ml *dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 1,00 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 0,17 EU/mg (Phụ lục 13.2, phương pháp tạo gel).
Nếu chế phẩm được dùng để sản xuất thuốc tiêm mà không có quy trình thích hợp để loại bỏ nội độc tố thì phải đáp ứng phép thử này.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, điều kiện sắc ký, chuẩn bị các dung dịch như mô tả trong mục thử Tạp chất liên quan.
Cách tiến hành: Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).
Dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng $C_8H_{11}NO_5S$ của sulbactam chuẩn, tính hàm lượng sulbactam có trong chế phẩm.
Tính hàm lượng phần trăm sulbactam natri bằng hàm lượng sulbactam nhân với 1,094.

Bảo quản
Trong bao bì kín. Nếu chế phẩm vô khuẩn, bảo quản trong bao bì tiệt trùng, kín, tránh nhiễm khuẩn.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm beta-lactam.

Chế phẩm
Bột pha tiêm.

SULFADIAZIN
Sulfadiazinum



$C_{10}H_{10}N_4O_2S$ P.t.l: 250,3

Sulfadiazin là 4-amino-*N*-(pyrimidin-2-yl)-benzen sulfonamid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{10}H_{10}N_4O_2S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh hoặc tinh thể màu trắng, trắng vàng hoặc trắng hơi hồng.
Thực tế không tan trong nước, khó tan trong aceton, rất khó tan trong ethanol 96 %, tan trong dung dịch kiềm hydroxyd và trong dung dịch acid vô cơ loãng.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của sulfadiazin chuẩn.
B. Lấy 3 g chế phẩm cho vào một ống nghiệm khô, nhúng phần dưới ống nghiệm với góc nghiêng 45° vào trong cách dầu silicon và đun nóng đến khoảng 270 °C. Chế phẩm bị phân hủy và tạo thành chất thăng hoa có màu trắng hoặc trắng ánh vàng. Chất này sau khi kết tinh lại bằng *toluen (TT)* và sấy khô ở 100 °C có nhiệt độ nóng chảy từ 123 °C đến 127 °C (Phụ lục 6.7).
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Dung dịch amoniac 6 M - nước - nitromethan - dioxan (3 : 5 : 40 : 50).
Hỗn hợp dung môi: Amoniac đậm đặc - methanol (4 : 96).
Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong 3 ml hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20 mg sulfadiazin chuẩn trong 3 ml hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 3/4 chiều dài bản mỏng. Sấy khô bản mỏng ở 105 °C đến khi hiện rõ vết và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vị trí và kích thước tương tự vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
D. Hòa tan khoảng 5 mg chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 10 ml với *nước*. Dung dịch thu được, không cần acid hóa, cho phản ứng của amin thơm bậc nhất (Phụ lục 8.1).

Màu sắc của dung dịch
Hòa tan 0,8 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 5 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* và 5 ml *nước*. Dung dịch thu được có màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu V_5, VN_5 hoặc VL_5 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid
Lấy 1,25 g chế phẩm đã được nghiền mịn, thêm 25 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, lắc đều. Đun nóng khoảng

70 °C trong 5 min. Làm nguội trong nước đá khoảng 15 min và lọc. Hút 20 ml dịch lọc, thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)*, lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ)* cần dùng để làm chuyển màu của chỉ thị không quá 0,2 ml.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Acetonitril - dung dịch acid phosphoric 0,28 %* (10 : 90).

Hỗn hợp dung môi: *Dung dịch natri hydroxyd 1 M - acetonitril - nước* (2 : 20 : 60).

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5,0 mg tạp chất A chuẩn của sulfadiazin và 5,0 mg acid sulfanilic (tạp chất B) trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 10,0 ml bằng *nước*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 3,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 1 lọ acetylsulfadiazin chuẩn (tạp chất E) trong 1 ml pha động.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 5 mg sulfadiazin chuẩn dùng để định tính tạp chất F trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 10,0 ml bằng *nước*.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 260 nm.

Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 7 lần thời gian lưu của sulfadiazin.

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) để xác định pic của tạp chất A và B. Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của tạp chất E. Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) để xác định pic của tạp chất F.

Thời gian lưu tương đối so với sulfadiazin (thời gian lưu khoảng 8,5 min): Tạp chất A khoảng 0,26; tạp chất B khoảng 0,30; tạp chất E khoảng 2,1; tạp chất F khoảng 6,0.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất A và pic của tạp chất B ít nhất là 2,0.

Giới hạn:

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất E với 0,7.

Tạp chất A, B: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).

Tạp chất E: Diện tích pic tạp chất E đã hiệu chỉnh không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).

Tạp chất F: Diện tích pic tạp chất F không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,15 %).

Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Tổng tất cả các tạp chất không được quá 0,5 %.

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,03 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: Pyrimidin-2-amin.

Tạp chất B: Acid 4-aminobenzenesulfonic (acid sulfanilic).

Tạp chất C: [(4-aminophenyl)sulfonyl]guanidin (sulfaguanidin).

Tạp chất D: 4-aminobenzensulfonamid (sulfanilamid).

Tạp chất E: *N*-[4-(pyrimidin-2-ylsulfamoyl)phenyl]acetamid (acetylsulfadiazin).

Tạp chất F: Chưa biết cấu trúc.

Kim loại nặng

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

Dung môi: *Dimethyl sulfoxid (TT)*.

Lấy 1,0 g chế phẩm và tiến hành thử theo phương pháp 8. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 20 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và 50 ml *nước*. Làm lạnh dung dịch trong nước đá và chuẩn độ amin thơm bậc 1 bằng phương pháp chuẩn độ bằng nitrit (Phụ lục 10.4). Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp đo điện.

1 ml *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)* tương đương với 25,03 mg $C_{10}H_{10}N_4O_2S$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

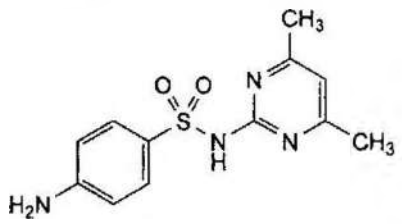
Thuốc kháng sinh nhóm sulfonamid.

Chế phẩm

Kem thuốc.

SULFADIMIDIN

Sulfadimidinum



$C_{12}H_{14}N_4O_2S$ P.t.l: 278,3

Sulfadimidin là 4-amino-*N*-(4,6-dimethylpyrimidin-2-yl) benzensulfonamid, chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{12}H_{14}N_4O_2S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh hoặc tinh thể màu trắng hoặc gần như trắng. Rất khó tan trong nước, tan trong aceton, khó tan trong ethanol 96 %, tan trong dung dịch kiềm hydroxyd và trong dung dịch acid vô cơ loãng.

Điểm chảy khoảng 197 °C kèm phân hủy.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của sulfadimidin chuẩn.

B. Trong phần Tạp chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí và kích thước.

C. Lấy 3 g chế phẩm cho vào một ống nghiệm khô, nhúng phần dưới ống nghiệm với góc nghiêng 45° vào trong cách dầu silicon và đun nóng đến khoảng 270 °C. Chế phẩm bị phân hủy và tạo thành chất thăng hoa có màu trắng hoặc trắng ánh vàng. Kết tinh lại bằng *toluen (TT)*, chất này sau khi được sấy khô ở 100 °C có nhiệt độ nóng chảy từ 150 °C đến 154 °C (Phụ lục 6.7).

D. Hòa tan khoảng 5 mg chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng *nước*. Dung dịch thu được, không cần acid hóa, cho phản ứng của amin thơm bậc nhất (Phụ lục 8.1).

Màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*. Dung dịch thu được có màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu V_5,VN_5 hoặc VL_5 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid

Lấy 1,25 g chế phẩm đã được nghiền mịn, thêm 25 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, lắc đều. Đun nóng khoảng 70 °C trong 5 min. Làm nguội trong nước đá khoảng 15 min và lọc. Hút 20 ml dịch lọc, thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)*, không được dùng quá 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ)* để làm chuyển màu của chỉ thị.

Tạp chất liên quan

Không được quá 0,5 %.

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

Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.

Dung môi khai triển: *Dung dịch amoniac 10 % - nước - nitromethan - dioxan* (3 : 5 : 40 : 50).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 20 mg chế phẩm trong hỗn hợp *amoniac - methanol* (2 : 48) và pha loãng thành 5,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch thử (2): Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong 0,5 ml *amoniac (TT)* và pha loãng thành 5,0 ml bằng *methanol (TT)*. Nếu dung dịch không trong, đun nóng nhẹ cho đến trong.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg sulfadimidin chuẩn trong hỗn hợp *amoniac - methanol* (2 : 48) và pha loãng thành 5,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2,50 ml dung dịch thử (1) thành 100 ml bằng hỗn hợp *amoniac - methanol* (2 : 48).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Sấy khô bản mỏng nhiệt độ 100 °C đến 105 °C, kiểm tra dưới ánh sáng đèn tử ngoại 254 nm. Trên sắc ký đồ dung dịch thử (2), bất kỳ vết phụ nào không được đậm màu hơn vết chính thu được từ dung dịch đối chiếu (2).

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 4. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6)

(1,00 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 20 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và 50 ml *nước*. Thêm 3 g *kali bromid (TT)*, làm lạnh dung dịch trong nước đá và chuẩn độ chậm bằng *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo ampe (Phụ lục 10.1).

1 ml *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)* tương đương với 27,83 mg $C_{12}H_{14}N_4O_2S$.

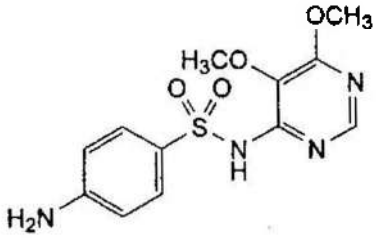
Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm sulfonamid.

Chế phẩm
Thuốc tiêm, viên nén.

SULFADOXIN
Sulfadoxinum



$C_{12}H_{14}N_4O_4S$ P.t.l: 310,3

Sulfadoxin là 4-amino-N-(5,6-dimethoxypyrimidin-4-yl) benzensulfonamid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{12}H_{14}N_4O_4S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh hoặc tinh thể màu trắng hoặc trắng vàng. Rất khó tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 % và methanol, tan trong dung dịch kiềm hydroxyd loãng và trong dung dịch acid vô cơ loãng.
Điểm chảy khoảng 198 °C kèm phân hủy.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, C.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của sulfadoxin chuẩn.
B. Trong phần Tạp chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí và kích thước.
C. Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 1 ml *dung dịch acid sulfuric 40 % (tt/tt)*, đun nóng nhẹ. Tiếp tục đun nóng cho đến khi xuất hiện kết tủa tinh thể trắng (khoảng 2 min). Để nguội và thêm 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*. Tiếp tục làm nguội, thêm 25 ml *ether (TT)* và lắc trong 5 min. Tách lấy lớp ether. Làm khô bằng *natri sulfat khan (TT)* và lọc. Bay hơi ether trên cách thủy tới khô. Nhiệt độ nóng chảy của cắn từ 80 °C đến 82 °C hoặc từ 90 °C đến 92 °C (Phụ lục 6.7).
D. Hòa tan khoảng 5 mg chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*. Pha loãng 1 ml dung dịch này thành 10 ml với *nước*. Dung dịch thu được, không cần acid hóa, cho phản ứng của amin thơm bậc nhất (Phụ lục 8.1).

Màu sắc của dung dịch
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*. Dung dịch thu được có màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu V_5,VN_5 hoặc VL_5 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid
Lấy 1,25 g chế phẩm đã được nghiền mịn, thêm 25 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, lắc đều. Đun nóng khoảng 70 °C trong 5 min. Làm nguội trong nước đá khoảng 15 min và lọc. Hút 20 ml dịch lọc, thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)*. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* cần dùng để làm chuyển màu của chỉ thị không quá 0,2 ml.

Tạp chất liên quan
Không được quá 0,5 %.
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Dung dịch amoniac 10 % - nước - nitromethan - dioxan (3 : 5 : 40 : 50).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong hỗn hợp *amoniac - methanol* (2 : 48) và pha loãng thành 5,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 2 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng hỗn hợp *amoniac - methanol* (2 : 48).
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg sulfadoxin chuẩn trong hỗn hợp *amoniac - methanol* (2 : 48) và pha loãng thành 5,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2,50 ml dung dịch thử (2) thành 100 ml bằng hỗn hợp *amoniac - methanol* (2 : 48).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Sấy khô bản mỏng nhiệt độ 100 °C đến 105 °C, kiểm tra dưới ánh sáng đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), bất kỳ vết phụ nào không được đậm màu hơn vết chính thu được từ dung dịch đối chiếu (2).

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 4. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,00 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 20 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và 50 ml *nước*. Thêm 3 g *kali bromid (TT)*, làm lạnh dung dịch trong nước đá và chuẩn độ chậm bằng *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo ampe (Phụ lục 10.1).

1 ml *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)* tương đương với 31,03 mg $C_{12}H_{14}N_4O_4S$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng sinh nhóm sufonamid.

Chế phẩm
Viên nén (phối hợp với pyrimethamin).

VIÊN NÉN SULFADOXIN VÀ PYRIMETHAMIN
Tabellae Sulfadoxini et Pyrimethamini

Là viên nén chứa sulfadoxin và pyrimethamin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng sulfadoxin, $C_{12}H_{14}N_4O_4S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng pyrimethamin, $C_{12}H_{13}ClN_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254} dày 0,25 mm.
Dung môi khai triển: *Heptan - cloroform - dung dịch methanol 5 % (tt/tt) trong ethanol - acid acetic băng* (4 : 4 : 4 : 1).
Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên tương ứng với khoảng 100 mg sulfadoxin, thêm 10 ml *dung dịch amoniac 2 % (tt/tt) trong methanol*, lắc kỹ trong 3 min và lọc.
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch sulfadoxin chuẩn có nồng độ 10 mg/ml trong *dung dịch amoniac 2 % (tt/tt) trong methanol*.
Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch pyrimethamin chuẩn có nồng độ 0,5 mg/ml trong *dung dịch amoniac 2 % (tt/tt) trong methanol*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 chiều dài bản mỏng. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Hai vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với hai vết chính trên sắc ký đồ của các dung dịch đối chiếu về vị trí và màu sắc.
B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của hai pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của hai pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường: 1000 ml *đệm phosphat chuẩn pH 6,8 (TT)*.
Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 30 min.
Tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc thu được tới nồng độ thích hợp với pha động (nếu cần). Tiến hành định lượng sulfadoxin và pyrimethamin hòa tan bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Pha động, điều kiện sắc ký và dung dịch chuẩn như phần Định lượng.
Yêu cầu:
Không ít hơn 60 % (Q) lượng sulfadoxin, $C_{12}H_{14}N_4O_4S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.
Không ít hơn 60 % (Q) lượng pyrimethamin, $C_{12}H_{13}ClN_4$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

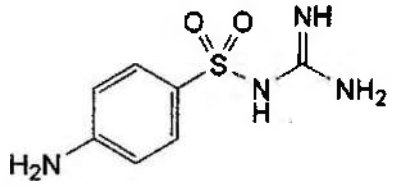
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Dung dịch đệm pH 5,9 - acetonitril* (4 : 1).
Dung dịch đệm pH 5,9: Thêm 1 ml *triethylamin* và 200 ml *acetonitril* vào 700 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 5,9 bằng *dung dịch acid acetic 1 %*, sau đó thêm *nước* vừa đủ 1000 ml, trộn đều, lọc.
Dung dịch chuẩn gốc sulfadoxin: Cân chính xác khoảng 500 mg sulfadoxin chuẩn vào bình định mức 100 ml, thêm 35 ml *acetonitril (TT)*, lắc kỹ để hòa tan và pha loãng bằng pha động đến định mức, lắc đều.
Dung dịch chuẩn gốc pyrimethamin: Cân chính xác khoảng 25 mg pyrimethamin chuẩn vào bình định mức 100 ml, thêm 35 ml *acetonitril (TT)*, lắc kỹ để hòa tan và pha loãng bằng pha động đến định mức, lắc đều.
Dung dịch chuẩn: Hút chính xác 2,0 ml dung dịch chuẩn gốc sulfadoxin và 2,0 ml dung dịch chuẩn gốc pyrimethaminn vào bình định mức 100 ml, pha loãng bằng pha động đến định mức.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 500 mg sulfadoxin và 25 mg pyrimethamin vào bình định mức 100 ml, thêm 35 ml *acetonitril (TT)* và lắc siêu âm 30 min. Pha loãng bằng pha động đến định mức, lắc đều, lọc. Hút chính xác 2,0 ml dịch lọc vào bình định mức 100 ml, pha loãng bằng pha động đến định mức.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (30 cm × 3,9 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa hai pic sulfadoxin và pyrimethamin không nhỏ hơn 1,5; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic của từng chất trong 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.
Tính hàm lượng sulfadoxin, $C_{12}H_{14}N_4O_4S$ và pyrimethamin, $C_{12}H_{13}ClN_4$, có trong một viên dựa vào các diện tích pic tương ứng thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{12}H_{14}N_4O_4S$ và $C_{12}H_{13}ClN_4$ của sulfadoxin và pyrimethamin chuẩn tương ứng.

Bảo quản
Trong vỉ nhôm hay trong chai lọ nút kín.
Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chống sốt rét.

Hàm lượng thường dùng
Sulfadoxin 500 mg và pyrimethamin 25 mg.

SULFAGUANIDIN
Sulfaguanidinum



$C_7H_{10}N_4O_2S$ P.t.l: 214,2

Sulfaguanidin là (4-aminophenylsulfonyl)guanidin, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_7H_{10}N_4O_2S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh mịn màu trắng hoặc gần như trắng. Rất khó tan trong nước và ethanol 96 %, khó tan trong aceton, thực tế không tan trong methylen clorid, tan trong dung dịch acid vô cơ loãng.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B.
Nhóm II: B, C, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của sulfaguanidin chuẩn.
B. Nhiệt độ nóng chảy từ 189 °C đến 193 °C (Phụ lục 6.7), dùng chế phẩm đã sấy khô.
C. Trong phần Tạp chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí và kích thước.
D. Hòa tan khoảng 5 mg chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng *nước*. Dung dịch thu được, không cần acid hóa, cho phản ứng của amin thơm bậc nhất (Phụ lục 8.1).
E. Lắc 0,1 g chế phẩm với 2 ml *nước*, thêm 1 ml *dung dịch 1-naphthol (TT)* và 2 ml hỗn hợp đồng thể tích *nước* và *dung dịch natri hypoclorid mạnh (TT)*. Màu đỏ tạo thành.

Giới hạn acid
Dung dịch S: Lắc 2,5 g chế phẩm trong 40 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, đun nóng ở 70 °C trong 5 min. Làm lạnh bằng cách nhúng trong nước đá 15 min. Lọc, pha loãng dịch lọc thành 50 ml với *nước không có carbon dioxyd (TT)*.
Hút 20 ml dung dịch S, thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)*, không quá 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ)* được dùng để làm chuyển màu của chỉ thị.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Acid formic khan - methanol - methylen clorid (10 : 20 : 70).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 5 ml *aceton (TT)*.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 2 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng *aceton (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg sulfaguanidin chuẩn trong 5 ml *aceton (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5 ml dung dịch thử (2) thành 200 ml bằng *aceton (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 5 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 10 ml bằng *aceton (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 10 mg sulfanilamid chuẩn trong 5 ml dung dịch thử (2).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí, kiểm tra dưới ánh sáng đèn tử ngoại 254 nm. Trên sắc ký đồ dung dịch thử (1), bất kỳ vết phụ nào không được đậm màu hơn vết chính thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %) và chỉ được phép có một vết phụ đậm màu hơn vết chính của dung dịch đối chiếu (3) (0,25 %). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (4) tách ra hai vết rõ ràng.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 12 ml dung dịch S và tiến hành theo phương pháp 6. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 8,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,00 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,175 g chế phẩm trong 50 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*. Thêm 3 g *kali bromid (TT)*, làm lạnh dung dịch trong nước đá và chuẩn độ chậm bằng *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo ampe (Phụ lục 10.1).

1 ml *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)* tương đương với 21,42 mg $C_7H_{10}N_4O_2S$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm sulfonamid.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN SULFAGUANIDIN
Tabellae Sulfaguanidini

Là viên nén chứa sulfaguanidin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng sulfaguanidin, $C_7H_{10}N_4O_2S$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lấy một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,2 g sulfaguanidin, thêm 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, đun sôi, sẽ có hơi amoniac bay lên.
B. Lấy một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg sulfaguanidin, thêm 2 ml *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)*, lắc kỹ, lọc. Làm lạnh dịch lọc trong nước đá, thêm 4 ml *dung dịch natri nitrit 1 % (TT)*, lắc đều. Lấy 1 ml dung dịch thu được, thêm 5 ml *dung dịch 2-naphtol trong kiềm (TT)* sẽ xuất hiện tủa đỏ thẫm.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Dicloromethan - methanol - acid formic khan (70 : 20 : 10)
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg sulfaguanidin chuẩn trong 5 ml *aceton (TT)*.
Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên tương đương với 20 mg sulfaguanidin, thêm 10 ml *aceton (TT)*, lắc kỹ, lọc, dùng dịch lọc để chấm sắc ký.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

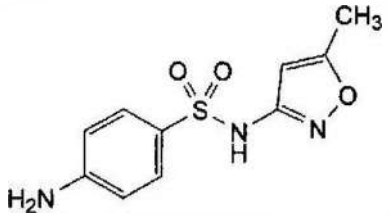
Định lượng
Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,200 g sulfaguanidin, thêm 15 ml *dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT)* và 50 ml *nước*. Lắc kỹ. Tiến hành chuẩn độ bằng nitrit (Phụ lục 10.4).

1 ml *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)* tương đương với 21,42 mg $C_7H_{10}N_4O_2S$.

Bảo quản
Đựng trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Hàm lượng thường dùng
500 mg.

SULFAMETHOXAZOL
Sulfamethoxazolum



$C_{10}H_{11}N_3O_3S$ P.t.l: 253,3

Sulfamethoxazol là 4-amino-*N*-(5-methylisoxazol-3-yl)benzen sulfonamid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{10}H_{11}N_3O_3S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong aceton, hơi tan trong ethanol 96 %, tan trong dung dịch natri hydroxyd loãng và dung dịch acid loãng.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của sulfamethoxazol chuẩn.
B. Nhiệt độ nóng chảy từ 169 °C đến 172 °C (Phụ lục 6.7).
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Dung dịch amoniac 10 % - nước - nitromethan - dioxan (3 : 5 : 41 : 51).
Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong 5 ml hỗn hợp *amoniac - methanol* (2 : 48).
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20 mg sulfamethoxazol chuẩn trong 5 ml hỗn hợp *amoniac - methanol* (2 : 48).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 chiều dài bản mỏng. Sấy khô bản mỏng ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C, kiểm tra dưới ánh sáng đèn tử ngoại 254 nm. Trên sắc ký đồ dung dịch thử phải cho vết chính tương ứng với vết chính của dung dịch đối chiếu về vị trí và kích thước.
D. Hòa tan khoảng 5 mg chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*. Pha loãng 1 ml dung dịch này

thành 10 ml bằng *nước*. Dung dịch thu được, không cần acid hóa, cho phản ứng của amin thơm bậc nhất (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu V_5; VN_5 hoặc VL_5 (Phụ lục 9.3; phương pháp 2).

Giới hạn acid
Lắc 1,25 g chế phẩm đã nghiền mịn với 25 ml *nước*, đun nóng 70 °C trong 5 min. Làm nguội trong nước đá 15 min và lọc. Hút 20 ml dịch lọc, thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)*. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* cần dùng để làm chuyển màu của chỉ thị không quá 0,3 ml.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hỗn hợp *methanol - dung dịch kali dihydrophosphat 0,1 M* (35 : 65), điều chỉnh đến pH 6,0 bằng *dung dịch kali hydroxyd 10 % (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong 45 ml pha động, siêu âm ở 45 °C trong 10 min. Để nguội và pha loãng thành 50,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 10,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg chế phẩm và 5 mg tạp chất A chuẩn của sulfamethoxazol trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5,0 mg tạp chất F chuẩn của sulfamethoxazol trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Nhiệt độ cột: 30 °C.
Detector quang phổ tử ngoại tại bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 0,9 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của sulfamethoxazol.
Thời gian lưu tương đối so với sulfamethoxazol (thời gian lưu khoảng 10 min) là: Tạp chất D khoảng 0,3; tạp chất E khoảng 0,35; tạp chất F khoảng 0,45; tạp chất C khoảng 0,5; tạp chất A khoảng 1,2 và tạp chất B khoảng 2,0.
Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (2): Hệ số phân giải giữa pic tương ứng với sulfamethoxazol và tạp chất A không được nhỏ hơn 3,5.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, diện tích các pic tương ứng với các tạp chất A, B, C, D và E không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %). Diện tích pic tương ứng với tạp chất F không được lớn hơn pic chính của dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %). diện tích các tạp chất khác không được lớn hơn diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).
Tổng diện tích các pic tạp không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).
Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn hoặc bằng 0,25 lần diện tích pic chính của dung dịch đối chiếu (1) (0,025 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: *N*-[4-[(5-methylisoxazol-3-yl)sulphamoyl] phenyl] acetamid.
Tạp chất B: 4-[[(4-aminophenyl)sulphonyl]amino]-*N*-(5-methylisoxazol-3-yl)benzensulphonamid.
Tạp chất C: 5-methylisoxazol-3-amin.
Tạp chất D: acid 4-aminobenzensulphonic (acid sul-phanilic).
Tạp chất E: 4-aminobenzensulphonamid (sulphanil-amid).
Tạp chất F: 4-amino-*N*-(3-methylisoxazol-5-yl)benzen-sulphonamid.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 4. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 50 ml *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)* và 50 ml *nước*. Thêm 3 g *kali bromid (TT)*, làm lạnh dung dịch trong nước đá và chuẩn độ chậm bằng *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo ampe (Phụ lục 10.1).
1 ml *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)* tương đương với 25,33 mg $C_{10}H_{11}N_3O_3S$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm sulfonamid.

Chế phẩm
Viên nén; viên nén và bột pha hỗn dịch uống kết hợp với trimethoprim (co-trimoxazol).

VIÊN NÉN SULFAMETHOXAZOL
Tabellae Sulfamethoxazoli

Là viên nén chứa sulfamethoxazol.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng sulfamethoxazol, $C_{10}H_{11}N_3O_3S$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

A. Lấy một lượng bột viên tương đương với 100 mg sulfamethoxazol, thêm 2 ml *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)* lắc mạnh, lọc, làm lạnh dịch lọc trong nước đá, thêm 0,2 ml *dung dịch natri nitrit 10 % (TT)*, sau 1 đến 2 phút, thêm 1 ml *dung dịch 2-naphtol trong kiềm (TT)* sẽ hiện màu và tủa đỏ thẫm.

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - dimethylformamid (20 : 2 : 1), hoặc *cloroform - methanol* (19 : 1).

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch sulfamethoxazol 2 % trong *methanol (TT)*.

Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên tương đương với 0,4 g sulfamethoxazol hòa tan trong 20 ml *methanol (TT)* rồi lọc, dùng dịch lọc để chấm sắc ký.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra để ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

(Nếu dùng bản mỏng silica gel G thì phát hiện vết bằng thuốc thử Dragendorff).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Thiết bị: Kiểu giỏ quay

Môi trường: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*

Tốc độ quay: 100 r/min.

Thời gian: 30 min.

Tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc thu được tới nồng độ thích hợp với môi trường hòa tan. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 265 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. Tiến hành đo song song với dung dịch sulfamethoxazol chuẩn pha trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* có nồng độ tương đương dung dịch thử.

Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng sulfamethoxazol, $C_{10}H_{11}N_3O_3S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Định lượng

Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên, rồi nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,300 g sulfamethoxazol, hòa tan trong 20 ml *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)*, thêm 3 g *kali bromid (TT)*, làm lạnh trong nước đá rồi tiến hành chuẩn độ bằng *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)* (Phụ lục 10.4), phát hiện điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế với cặp điện cực platin-calomel (Phụ lục 10.2). 1 ml *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)* tương đương với 25,33 mg $C_{10}H_{11}N_3O_3S$.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

500 mg.

SULFAMETHOXYPYRIDAZIN

Sulfametoxypyridazinum



$C_{11}H_{12}N_4O_3S$ P.t.l: 280,3

Sulfamethoxypyridazin là 4-amino-*N*-(6-methoxypy-ridazin-3-yl)benzensulfonamid, chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{11}H_{12}N_4O_3S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc hơi vàng, ngả màu dần dần khi tiếp xúc với ánh sáng. Thực tế không tan trong nước, hơi tan trong aceton, khó tan trong ethanol 96 %, rất khó tan trong methylen clorid. Tan trong dung dịch kiềm hydroxyd loãng và trong dung dịch acid vô cơ loãng.

Nhiệt độ nóng chảy khoảng 180 °C, kèm phân hủy.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của sulfamethoxy-pyridazin chuẩn.

B. trong phần Tạp chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí và kích thước.

D. Hòa tan khoảng 0,5 g chế phẩm trong 1 ml *dung dịch acid sulfuric 40 % (tt/tt)*, đun nóng nhẹ. Đun nóng cho đến khi tủa kết tinh xuất hiện (khoảng 2 min). Làm nguội, thêm 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*. Tiếp tục làm nguội, thêm 25 ml *ether (TT)* và lắc trong 5 min. Gạn lấy lớp ether, làm khô bằng *natri sulfat khan (TT)*, lọc. Bay hơi ether đến khô trên cách thủy. Cắn có dạng dầu, chuyển thành tinh thể khi làm lạnh, cọ thành ống nghiệm bằng đũa thủy tinh nếu cần. Nhiệt độ nóng chảy của tủa (Phụ lục 6.7) từ 102 °C đến 106 °C.

E. Hòa tan khoảng 5 mg chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 10 ml với *nước*. Dung dịch thu được, không cần acid hóa, cho phản ứng của amin thơm bậc nhất (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong hỗn hợp gồm 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* và 15 ml *nước*. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu V_4 hoặc VN_4 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid
Lấy 1,25 g chế phẩm đã nghiền mịn, thêm 25 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, đun nóng 70 °C trong 5 min. Làm lạnh trong nước đá khoảng 15 min và lọc. Hút 20 ml dịch lọc, thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)*. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* cần dùng để làm chuyển màu của chỉ thị không quá 0,5 ml.

Tạp chất liên quan
Không được quá 0,5 %.
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi khai triển: *Amoniac loãng - nước - 2-propanol - ethyl acetat* (1 : 9 : 30 : 50).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong 5 ml *aceton (TT)*.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml với *aceton (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg sulfamethoxypyridazin chuẩn trong 10 ml *aceton (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (2) thành 20 ml bằng *aceton (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Sấy khô bản mỏng nhiệt độ 100 °C đến 105 °C và kiểm tra bản mỏng dưới ánh sáng đèn tử ngoại 254 nm. Trên sắc ký đồ dung dịch thử (1), bất kỳ vết phụ nào không được đậm màu hơn vết chính thu được từ dung dịch đối chiếu (2).

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm và thử theo phương pháp 4. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,00 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

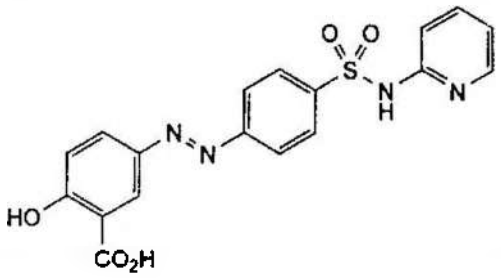
Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 50 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*. Thêm 3 g *kali bromid (TT)*, làm lạnh dung dịch trong nước đá và chuẩn độ chậm bằng *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo ampe (Phụ lục 10.1).
1 ml *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)* tương đương với 28,03 mg $C_{11}H_{12}N_4O_3S$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm sulfonamid.

Chế phẩm
Thuốc tiêm.

SULFASALAZIN
Sulfasalazinum



$C_{18}H_{14}N_4O_5S$ P.t.l: 398,4

Sulfasalazin là acid 2-hydroxy-5-[2-[4-(pyridin-2-ylsulfamoyl) phenyl]diazenyl]benzoic, phải chứa từ 97,0 % đến 101,5 % $C_{18}H_{14}N_4O_5S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột mịn màu vàng sáng hay màu vàng nâu.
Thực tế không tan trong nước và methylen clorid, rất khó tan trong ethanol 96 %. Tan trong các dung dịch hydroxyd kiềm loãng.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của sulfasalazin chuẩn. Chuẩn bị mẫu đo dạng đĩa nén.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Hòa tan 1,13 g *natri dihydrophosphat (TT)* và 2,5 g *natri acetat (TT)* trong 900 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 4,8 bằng *acid acetic băng (TT)* và pha loãng thành 1000,0 ml bằng *nước*.
Pha động B: *Pha động A - methanol* (10 : 40).
Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong *dung dịch amoniac 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *dung dịch amoniac 0,1 M (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 1,0 mg dẫn xuất của sulfasalazin để kiểm tra độ phân giải trong 10,0 ml dung dịch đối chiếu (1). Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng dung dịch đối chiếu (1).

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 320 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 15	60 → 45	40 → 55
15 - 25	45	55
25 - 60	45 → 0	55 → 100
60 - 65	0	100

Thời gian lưu tương đối so với sulfasalazin: Tạp chất H khoảng 0,16; tạp chất I khoảng 0,28; tạp chất C khoảng 0,80; tạp chất F khoảng 0,85; tạp chất G khoảng 1,39; tạp chất E khoảng 1,63; tạp chất B khoảng 1,85; tạp chất D khoảng 1,90; tạp chất A khoảng 2,00.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của sulfasalazin và dẫn xuất của sulfasalazin để kiểm tra độ phân giải ít nhất là 3,0.

Giới hạn:

Tạp chất A, B, C, D, E, F, G, I: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 4 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (4 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %); bỏ qua bất kỳ pic nào có thời gian lưu nhỏ hơn 6 min (tạp chất H và tạp chất J).

Ghi chú:

Tạp chất A: 4,4'-[(4-hydroxy-1,3-phenylen)bis(diazendiyl)]bis[*N*-(pyridin-2-yl)benzensulfonamid].

Tạp chất B: Acid 2-hydroxy-3,5-bis[2-[4-(pyridin-2-ylsulfamoyl) phenyl]diazenyl]benzoic.

Tạp chất C: Acid 2-hydroxy-5-[2-[4-(2-iminopyridin-1(2*H*)-yl) phenyl]diazenyl]benzoic.

Tạp chất D: 4-[2-(2-hydroxyphenyl)diazenyl]-*N*-(pyridin-2-yl) benzenesulfonamid.

Tạp chất E: Acid 2-hydroxy-4'-(pyridin-2-ylsulfamoyl)-5-[2-[4-(pyridin-2-ylsulfamoyl)phenyl]diazenyl]biphenyl-3-carboxylic.

Tạp chất F: Acid 2-hydroxy-3-[2-[4-(pyridin-2-ylsulfamoyl)phenyl] diazenyl]benzoic.

Tạp chất G: Acid 5-[2-[4',5-bis(pyridin-2-ylsulfamoyl)biphenyl-2-yl]diazenyl]-2-hydroxybenzoic.

Tạp chất I: Acid 2-hydroxy-5-[2-(4-sulfophenyl)diazenyl]benzoic.

Tạp chất H và J

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Pha động B - pha động A* (30 : 70) (Pha động A và pha động B như mô tả trong phần Tạp chất liên quan).

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong *dung dịch amoniac 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5,0 mg *acid salicylic (TT)* (tạp chất H) và 5,0 mg sulfapyridin chuẩn (tạp chất J) trong *dung dịch ammoniac 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml bằng *dung dịch amoniac 0,1 M (TT)*.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 300 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Thời gian tiến hành sắc ký: 10 min.

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

Thời gian lưu của tạp chất H khoảng 6 min; tạp chất J khoảng 7 min.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất H và tạp chất J ít nhất là 2,0.

Giới hạn:

Tạp chất H và J: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Clorid

Không được quá 140 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).

Hòa tan 1,25 g chế phẩm trong 50 ml *nước cất*. Đun nóng ở 70 °C trong 5 min, để nguội và lọc. Thêm 1 ml *acid nitric (TT)* vào 20 ml dịch lọc, để yên 5 min và lọc để thu được dịch lọc trong.

Sulfat

Không được quá 0,04 % (Phụ lục 9.4.14).

Thêm 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* vào 20 ml dịch lọc thu được ở phép thử Clorid, để yên 5 min và lọc.

Kim loại nặng

Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 2,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 4. Dùng 2,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C; 2 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

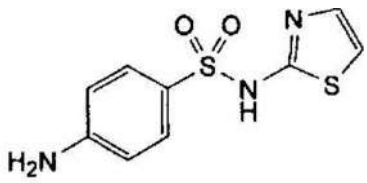
Định lượng
Hòa tan khoảng 0,150 g chế phẩm trong *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Chuyển 5,0 ml dung dịch thu được vào bình định mức 1000 ml có chứa sẵn 750 ml *nước*, thêm 20,0 ml *dung dịch acid acetic 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 1000,0 ml bằng *nước*.
Song song chuẩn bị dung dịch chuẩn với cách tương tự như chuẩn bị dung dịch thử, dùng 0,150 g sulfasalazin chuẩn.
Đo độ hấp thụ của hai dung dịch ở bước sóng hấp thụ cực đại 359 nm.
Tính hàm lượng $C_{18}H_{14}N_4O_5S$ trong chế phẩm dựa vào độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{18}H_{14}N_4O_5S$ trong sulfasalazin chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống viêm.

Chế phẩm
Viên nén.

SULFATHIAZOL
Sulfathiazolum



$C_9H_9N_3O_2S_2$ P.t.l: 255,3

Sulfathiazol là 4-amino-*N*-(thiazol-2-yl)benzensulfonamid, chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_9H_9N_3O_2S_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc hơi vàng. Thực tế không tan trong nước và methylen clorid, khó tan trong ethanol 96 %, tan trong dung dịch kiềm hydroxyd loãng và trong dung dịch acid vô cơ loãng.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B.
Nhóm II: B, C, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của sulfathiazol chuẩn. Nếu phổ có sự khác biệt, hòa tan chế phẩm và chất đối chiếu riêng biệt trong *ethanol 96 % (TT)*, bay hơi đến khô trong chân không, đo phổ hồng ngoại của cắn thu được.
B. Nhiệt độ nóng chảy ở 200 °C đến 203 °C (Phụ lục 6.7). Hiện tượng nóng chảy có thể xuất hiện vào khoảng 175 °C sau đó lại đông đặc, quá trình nóng chảy thứ hai tại 200 °C đến 203 °C.
C. Trong phần Tạp chất liên quan, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí, màu sắc và kích thước.
D. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong hỗn hợp gồm 10 *nước* và 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*. Thêm 0,5 ml *dung dịch đồng (II) sulfat 12,5 % (TT)*. Kết tủa màu xanh xám hoặc đỏ tía tạo thành.
E. Hòa tan khoảng 5 mg chế phẩm trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 10 ml với *nước*. Dung dịch thu được, không cần acid hóa, cho phản ứng của amin thơm bậc nhất (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu VL_5 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid
Lấy 1,0 g chế phẩm, thêm 50 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, lắc đều. Đun nóng ở 70 °C trong 5 min. Làm nguội nhanh đến 20 °C và lọc. Hút 25 ml dịch lọc, thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)*. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* cần dùng để làm chuyển màu của chỉ thị không quá 0,1 ml.

Tạp chất liên quan
Không được quá 0,5 %.
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel H.
Dung môi khai triển: Amoniac - butanol (18 : 90).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong hỗn hợp *amoniac - ethanol 96 %* (1 : 9) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Hút 1 ml dung dịch thử (1) pha loãng thành 5 ml với hỗn hợp *amoniac - ethanol 96 %* (1 : 9).
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg sulfathiazol chuẩn trong hỗn hợp *amoniac - ethanol 96 %* (1 : 9) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 50 mg sulfanilamid chuẩn trong hỗn hợp *amoniac - ethanol 96 %* (1 : 9) và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 10 ml với cùng dung môi trên.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Sấy khô bản mỏng ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C trong 10 min. Phun bản mỏng với *dung dịch dimethylaminobenzaldehyd 0,1 % trong ethanol 96 %* có chứa 1 % (tt/tt) *acid hydrocloric (TT)*. Trên sắc ký đồ dung dịch thử (1), bất kỳ vết phụ nào không được đậm màu hơn vết chính thu được từ dung dịch đối chiếu (2).

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,00 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 50 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*. Thêm 3 g *kali bromid (TT)*, làm lạnh dung dịch trong nước đá và chuẩn độ chậm bằng *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo ampe (Phụ lục 10.1).

1 ml *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)* tương đương với 25,53 mg $C_9H_9N_3O_2S_2$.

Bảo quản

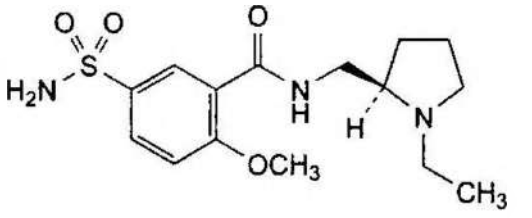
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh nhóm sulfonamid.

SULPIRID

Sulpiridum



và đồng phân đối quang

$C_{15}H_{23}N_3O_4S$ P.t.l: 341,4

Sulpirid là (*RS*)-*N*-[(1-ethylpyrolidin-2-yl)methyl]-2-methoxy-5-sulfamoylbenzamid, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{15}H_{23}N_3O_4S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hay gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, hơi tan trong methanol, khó tan trong ethanol 96 % và trong methylen clorid, tan trong các dung dịch acid vô cơ loãng và hydroxyd kiềm loãng.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B.

Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của sulpirid chuẩn. Chuẩn bị mẫu đo dạng đĩa nén.

B. Điểm chảy từ 177 °C đến 181 °C (Phụ lục 6.7).

C. Trong phần Tạp chất A: Quan sát bản mỏng thu được dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (2) phải có vị trí và kích thước tương tự với vết trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1).

D. Lấy khoảng 1 mg chế phẩm vào đĩa sứ, thêm 0,5 ml *acid sulfuric (TT)* và 0,05 ml *formaldehyd (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm, dung dịch có huỳnh quang xanh lam.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *dung dịch acid acetic 2 M (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu V_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 1).

Tạp chất A

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

Bản mỏng: Silica gel F_{254}.

Dung môi khai triển: Amoniac đậm đặc - dioxan - methanol - methylen clorid (2 : 10 : 14 : 90).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,20 g chế phẩm trong *methanol (TT)*, siêu âm đến khi hòa tan hoàn toàn và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10,0 ml bằng *methanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg sulpirid chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg tạp chất A chuẩn của sulpirid trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng *methanol (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 1/2 chiều dài bản mỏng. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm cho Định tính C. Sau đó phun *dung dịch ninhydrin (TT)* lên bản mỏng và sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 15 min, quan sát dưới ánh sáng ban ngày.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1), vết tương ứng với tạp chất A không được có màu đậm hơn màu của vết tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Dung dịch đệm pH 3,3 - methanol - acetonitril* (80 : 10 : 10).
Dung dịch đệm pH 3,3: Dung dịch chứa *kali dihydrophosphat (TT)* 0,68 % và *natri octansulfonat (TT)* 0,1 %, điều chỉnh đến pH 3,3 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg chế phẩm và 5 mg tạp chất B chuẩn của sulpirid trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 240 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của sulpirid.
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất B.
Thời gian lưu tương đối so với sulpirid (thời gian lưu khoảng 15 min): Tạp chất B khoảng 0,7.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất B và pic của sulpirid ít nhất là 2,5.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử,
Tạp chất không xác định: Diện tích pic của bất kỳ tạp chất nào không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %);
Tổng diện tích các pic tạp chất không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).
Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: [(2*RS*)-1-ethylpyrrolidin-2-yl]methanamin.
Tạp chất B: Methyl 2-methoxy-5-sulfamoylbenzoat.
Tạp chất C: Ethyl 2-methoxy-5-sulfamoylbenzoat.
Tạp chất D: Acid 2-methoxy-5-sulfamoylbenzoic.
Tạp chất E: 2-methoxy-5-sulfamoylbenzamid.
Tạp chất F: 1-ethyl-2-[[(2-methoxy-5-sulfamoylbenzoyl)amino] methyl]pyrrolidin 1-oxid.
Tạp chất G: (*RS*)-*N*-[(1-ethylpyrrolidin-2-yl)methyl]-2-hydroxy-5-sulfamoylbenzamid.

Clorid
Không được quá 0,01 % (Phụ lục 9.4.5).
Lắc 1,0 g chế phẩm với 20 ml *nước*. Lọc qua phễu lọc xốp số 4. Lấy 10 ml dịch lọc, thêm 5 ml *nước* để thử.

Sắt
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).
Nung 1,0 g chế phẩm trong chén sứ. Cho 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*, 3 ml *nước* và 0,1 ml *acid nitric (TT)* vào cắn thu được. Đun nóng trên cách thủy vài phút. Chuyển dung dịch thu được vào ống nghiệm, tráng chén sứ bằng 4 ml *nước*. Tập trung nước rửa vào ống nghiệm và thêm *nước* vừa đủ 10 ml để thử.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 1 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 80 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 34,14 mg $C_{15}H_{23}N_3O_4S$.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Thuốc chống loạn thần.

Chế phẩm
Viên nén, nang.

NANG SULPIRID
Capsulae Sulpiridi

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

Hàm lượng sulpirid, $C_{15}H_{23}N_3O_4S$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Hòa tan một lượng bột thuốc trong nang tương đương 0,2 g sulpirid trong 20 ml *methanol (TT)*, lắc 5 min, lọc

và bay hơi dịch lọc đến khô. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn phải phù hợp với phổ hồng ngoại của sulpirid chuẩn.

Độ hòa tan

Thiết bị: Kiểu cánh khuấy

Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*

Tốc độ quay: 50 r/min.

Thời gian: 30 min.

Cách tiến hành:

Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc, bỏ dịch lọc đầu.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 55,0 mg sulpirid chuẩn vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, lắc để hòa tan hoàn toàn, thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* đến định mức, lắc đều. Lấy chính xác 5,0 ml dung dịch này cho vào bình định mức 50 ml, thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử và dung dịch chuẩn ở bước sóng 291 nm ±1 nm. Dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng.

Tính hàm lượng sulpirid, $C_{15}H_{23}N_3O_4S$, hòa tan từ viên dựa vào các độ hấp thụ đo được và nồng độ $C_{15}H_{23}N_3O_4S$ của dung dịch sulpirid chuẩn.

Yêu cầu: Không được ít hơn 75 % (Q) lượng sulpirid, $C_{15}H_{23}N_3O_4S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Định lượng

Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình bột thuốc trong nang và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 0,1 g sulpirid, hòa tan trong khoảng 50 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*, siêu âm 5 min, thêm cùng dung môi cho đủ 100,0 ml, trộn đều, lọc. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT).*

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 0,1 g sulpirid chuẩn, hòa tan trong khoảng 50 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*, siêu âm 5 min, thêm cùng dung môi cho đủ 100,0 ml, trộn đều. Pha loãng 5,0 ml dịch này thành 100,0 ml bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT).*

Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 291 nm, dùng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* làm mẫu trắng.

Tính hàm lượng sulpirid, $C_{15}H_{23}N_3O_4S$, dựa vào các độ hấp thụ đo được và hàm lượng $C_{15}H_{23}N_3O_4S$ của sulpirid chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng, để nơi khô mát.

Loại thuốc

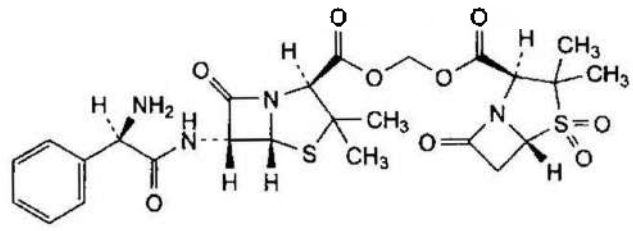
Thuốc chống loạn thần.

Hàm lượng thường dùng

50 mg.

SULTAMICILIN

Sultamicillinum



$C_{25}H_{30}N_4O_9S_2$ P.t.l.: 594,7

Sultamicilin là methylen(2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-aminophenylacetyl] amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylat(2*S*,5*R*)-3,3-dimethyl-4,4,7-trioxo-4λ⁶-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylat, phải chứa từ 96,0 % đến 102,0 % $C_{25}H_{30}N_4O_9S_2$, tính theo chế phẩm khan.

Sản phẩm được bán tổng từ một sản phẩm lên men.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, hơi hút ẩm. Thực tế không tan trong nước và ethanol 96 %, rất khó tan trong methanol.

Định tính

Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của sultamicilin chuẩn.

Góc quay cực riêng

Từ +190° đến +210°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4). Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong *dimethylformamid (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). *Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng hoặc bảo quản các dung dịch này không quá 6 h ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.*

Pha động A: Dung dịch *natri dihydrophosphat (TT)* 4,68 g/l được điều chỉnh đến pH 3,0 bằng *acid phosphoric (TT).*

Pha động B: Acetonitril (TT_1).

Dung dịch A: Methanol (TT_1) - acetonitril (TT_1) (20 : 80).

Dung dịch B: Hòa tan 1,56 g *natri dihyrophosphat (TT)* trong 900 ml *nước*. Thêm 7,0 ml *acid phosphoric (TT)* và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*.

Dung dịch mẫu trắng: Dung dịch B - dung dịch A (30 : 70).

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong 35 ml dung dịch A và lắc siêu âm khoảng 1 min. Thêm 13 ml dung dịch B, trộn đều và lắc siêu âm khoảng 1 min. Pha loãng dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng dung dịch B và trộn đều.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 70,0 mg sultamicilin tosilat chuẩn trong 35 ml dung dịch A và lắc siêu âm khoảng 1 min. Thêm 13 ml dung dịch B, trộn đều và lắc siêu âm khoảng 1 min. Pha loãng dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng dung dịch B và trộn đều.

Dung dịch đối chiếu (2): Phân tán 15 mg sultamicilin tosilat chuẩn trong 20 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,04 %*

(TT) và lắc siêu âm khoảng 5 min. Thêm 20 ml dung dịch *acid hydrocloric (TT)* 0,36 g/l và pha loãng thành 100 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100,0 ml bằng dung dịch mẫu trắng.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 17,3 mg ampicilin trihydrat chuẩn (tạp chất C) và 15,0 mg sulbactam chuẩn (tạp chất A) trong *nước* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (5): Hòa tan 5 mg sultamicilin chuẩn dùng định tính pic (chứa tạp chất G) trong 7,0 ml dung dịch A và lắc siêu âm khoảng 1 min. Pha loãng dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng dung dịch B, trộn đều và lắc siêu âm trong khoảng 1 min.

Điều kiện sắc ký:

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

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.

Nhiệt độ cột: 25 °C.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 5 µl.

Cách tiến hành

Tiến hành sắc ký với chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 15	95 → 30	5 → 70
15 - 16	30	70
16 - 16,5	30 → 95	70 → 5
16,5 - 20	95	5

Tiến hành sắc ký với dung dịch mẫu trắng, dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2), (3), (4) và (5).

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo sultamicilin chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5) để xác định pic của tạp chất G. Thời gian lưu tương đối so với sultamicilin (thời gian lưu khoảng 9,3 min): Tạp chất A khoảng 0,41; acid ampicilin peniciloic khoảng 0,47; tạp chất B khoảng 0,50; tạp chất C khoảng 0,55; tạp chất D khoảng 0,94; tạp chất E khoảng 1,09; tạp chất F khoảng 1,26; tạp chất G khoảng 1,42.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic acid ampicilin peniciloic và pic tạp chất B ít nhất là 2,5 và độ phân giải giữa pic tạp chất B và pic tạp chất C ít nhất là 2,5.

Giới hạn: Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử:

Tạp chất G: Diện tích pic tạp chất G không được lớn hơn diện tích pic sultamicilin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1,0 %).

Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,3 %).

Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B không được lớn hơn diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,3 %).

Tạp chất C: Diện tích pic tạp chất C không được lớn hơn diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,3 %).

Tạp chất D, E, F: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,3 lần diện tích pic sultamicilin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,3 %).

Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,3 lần diện tích pic sultamicilin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,3 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 3 lần diện tích pic sultamicilin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (3,0 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic sultamicilin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: Acid(2*S*,5*R*)-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0] heptan-2-carboxylic-4,4-dioxid (sulbactam).

Tạp chất B: Acid 4-methylbenzensulfonic (acid *p*-toluensulfonic).

Tạp chất C: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl] amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-aza- bicyclo[3.2.0] heptan-2-carboxylic (ampicilin).

Tạp chất D: Acid [[(2*R*)-aminophenylacetyl]amino][(4*S*)-4-[[[[[(2*S*,5*R*)-3,3-dimethyl-4,4,7-trioxo-4λ⁶-thia-1-azabicyclo [3.2.0]hept-2-yl]carbonyl]oxy]methoxy]carbonyl]-5,5-dimethylthiazolidin-2-yl]acetic (acid peniciloic của sultamicilin).

Tạp chất E: Methylen (2*S*,5*R*,6*R*)-3,3-dimethyl-6-[[(2*R*)-[(1-methyl-4-oxopentyliden)amino]phenyl-acetyl]amino]-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylat (2*S*,5*R*)-3,3-dimethyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylat.

Tạp chất F: Methylen (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-[[[(2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*) -aminophenylacetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-yl]carbonyl]amino]phenylacetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylat (2*S*,5*R*)-3,3-dimethyl-4,4,7-trioxo-4λ⁶-thia-1-azabicyclo[3.2.0] heptan-2-carboxylat (ampicilin sultamicilin amid).

Tạp chất G: Methylen (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-[[[[(2*R*)-amino-phenylacetyl]amino][(4*S*)-4-[[[[[(2*S*,5*R*)-3,3-dimethyl-4,4,7-trioxo-4λ⁶-thia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-yl]carbonyl]oxy] methoxy]carbonyl]-5,5-dimethylthiazolidin-2-yl]acetyl]amino] phenylacetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo [3.2.0]heptan-2-carboxylat (2*S*,5*R*)-3,3-dimethyl-4,4,7-trioxo-4λ⁶-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylat (sultamicilin dimer).

Ethyl acetat

Không được quá 2,5 %.

Phương pháp sắc ký khí tiêm pha hơi (Phụ lục 5.2).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 7,0 ml hỗn hợp *nước - dimethylformamid* (1 : 99).

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,200 g *ethyl acetat (TT)* trong 240 ml hỗn hợp *nước - dimethylformamid* (1 : 99), sau đó pha loãng thành 250,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 7,0 ml với hỗn hợp *nước - dimethylformamid* (1 : 99).

Đậy ngay các lọ bằng nút cao su kín có phủ polytetra fluoroethylen và kẹp nắp nhôm bảo vệ. Lắc để thu được dung dịch đồng nhất.

Điều kiện sắc ký:
Cột silica nung chảy kích thước (50 m × 0,32 mm), phủ lớp pha tĩnh *poly(dimethyl)siloxan* dày 1,8 µm hoặc 3,0 µm.
Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký.*
Detector ion hóa ngọn lửa.
Vận tốc tuyến tính: 35 cm/s.
Tỉ lệ chia dòng: 1 : 5.
Điều kiện tiêm pha hơi tĩnh:
Nhiệt độ cân bằng: 105 °C
Thời gian cân bằng: 45 min.
Nhiệt độ đường dẫn mẫu: 110 °C.
Thời gian điều áp: 30 s.
Chương trình nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 6	70
	6 - 16	70 → 220
	16 - 18	220
Buồng tiêm		140
Detector		250

Thể tích tiêm: 1 ml.
Thời gian lưu tương đối so với dimethylformamid (thời gian lưu khoảng 14 min): Ethyl acetat khoảng 0,7.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Dung dịch thử: Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong hỗn hợp *methanol - acetonitril* (40 : 60) và pha loãng thành 20,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi. Lấy 12 ml tiến hành thử theo phương pháp 2. Dùng dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb để chuẩn bị mẫu đối chiếu.
Dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb được pha từ *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb (TT)* bằng hỗn hợp *methanol - acetonitril* (40 : 60).

Nước
Không được quá 1,0 %. (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,50 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

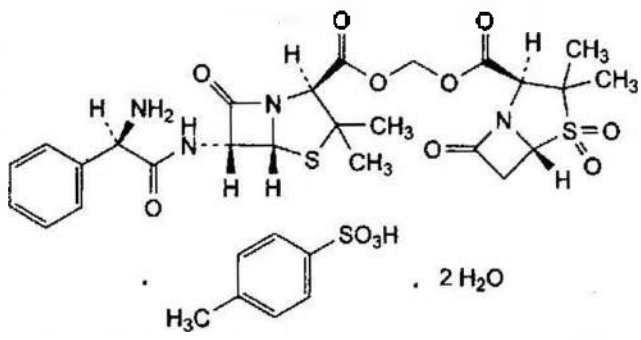
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Tiến hành như mô tả trong phần Tạp chất liên quan với những thay đổi sau:
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).
Tính hàm lượng phần trăm của sultamicilin ($C_{25}H_{30}N_4O_9S_2$) trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng của $C_{25}H_{30}N_4O_9S_2$ trong sultamicilin tosilat chuẩn và nhân hàm lượng sultamicilin tosilat với 0,7752.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Thuốc ức chế enzym beta-lactamase.

Chế phẩm
Viên nén, nang, bột pha hỗn dịch.

SULTAMICILIN TOSILAT DIHYDRAT
Sultamicillini tosilas dihydricus



$C_{25}H_{30}N_4O_9S_2.C_7H_8O_3S.2H_2O$ P.t.l: 803

Sultamicilin tosilat dihydrat là 4-methylbenzensulfonat của methylen (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-aminophenyl- acetyl]-amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0] heptan-2-carboxylat(2*S*,5*R*)-3,3-dimethyl-4,4,7-trioxo-4λ⁶-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylat dihydrat, phải chứa từ 95,0 % đến 102,0 % $C_{32}H_{38}N_4O_{12}S_3$, tính theo chế phẩm khan.
Sản phẩm được bán tổng từ một sản phẩm lên men.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, hơi tan trong ethanol 96%.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của sultamicilin tosilat chuẩn.

Góc quay cực riêng
Từ +178° đến +195°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 1,000 g chế phẩm trong *dimethylformamid (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng hoặc bảo quản các dung dịch này không quá 6 h ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.
Pha động A: Dung dịch *natri dihydrophosphat (TT)* 4,68 g/l được điều chỉnh đến pH 3,0 bằng *acid phosphoric (TT).*
Pha động B: Acetonitril (TT_1).

Dung dịch A: Methanol (TT_1) - acetonitril (TT_1) (20 : 80).
Dung dịch B: Hòa tan 1,56 g *natri dihyrophosphat (TT)* trong 900 ml *nước*. Thêm 7,0 ml *acid phosphoric (TT)* và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*.
Dung dịch mẫu trắng: Dung dịch B - dung dịch A (30 : 70).
Dung dịch thử: Hòa tan 70,0 mg chế phẩm trong 35 ml dung dịch A và siêu âm khoảng 1 min. Thêm 13 ml dung dịch B, trộn đều và siêu âm khoảng 1 min. Pha loãng dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng dung dịch B và trộn đều.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 70,0 mg sultamicilin tosilat chuẩn trong 35 ml dung dịch A và siêu âm khoảng 1 min. Thêm 13 ml dung dịch B, trộn đều và siêu âm khoảng 1 min. Pha loãng dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng dung dịch B và trộn đều.
Dung dịch đối chiếu (2): Phân tán 15 mg chế phẩm trong 20 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,04 % (TT)* và siêu âm khoảng 5 min. Thêm 20 ml dung dịch *acid hydrocloric (TT)* 0,36 g/l và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 70,0 ml dung dịch A và siêu âm khoảng 1 min. Thêm 25 ml dung dịch B, trộn đều và siêu âm khoảng 1 min. Pha loãng dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng dung dịch B và trộn đều. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng dung dịch mẫu trắng.
Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 32,3 mg ampicilin trihydrat chuẩn (tạp chất B) và 7,0 mg sulbactam chuẩn (tạp chất A) trong *nước* và pha loãng thành 1000 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (3,5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 215 nm.
Nhiệt độ cột: 25 °C.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 5 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 15	95 → 30	5 → 70
15 - 16	30	70
16 - 16,5	30 → 95	70 → 5
16,5 - 20	95	5

Tiến hành sắc ký với dung dịch mẫu trắng, dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2), (3) và (4).
Thời gian lưu tương đối so với sultamicilin (thời gian lưu khoảng 9,3 min): Tạp chất A khoảng 0,41; acid ampicilin peniciloic khoảng 0,47; tosilat khoảng 0,50; tạp chất B khoảng 0,55; tạp chất C khoảng 0,94; tạp chất D khoảng 1,09; tạp chất F khoảng 1,23; tạp chất E khoảng 1,26; tạp chất G khoảng 1,42.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic acid ampicilin peniciloic và pic tosilat ít nhất là 2,5 và độ phân giải giữa pic tosilat và pic tạp chất B ít nhất là 2,5.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử,
Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B không được lớn hơn diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (2,0 %).
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,5 %).
Tạp chất C, D, E, F, G: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic sultamicilin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,5 %).
Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic sultamicilin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,5 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 4 lần diện tích pic sultamicilin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (4,0 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic sultamicilin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid(2*S*,5*R*)-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic 4,4-dioxid (sulbactam).
Tạp chất B: Acid (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-2-amino-2-phenylacetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylic (ampicilin).
Tạp chất C: Acid[[(2*R*)-aminophenylacetyl]amino][(4*S*)-4-[[[[[(2*S*,5*R*)-3,3-dimethyl-4,4,7-trioxo-4λ^6-thia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-yl]carbonyl]oxy]methoxy]carbonyl]-5,5-dimethylthiazolidin-2-yl]acetic (acid peniciloic của sultamicilin).
Tạp chất D: Methylen(2*S*,5*R*,6*R*)-3,3-dimethyl-6-[[(2*R*)-[(1-methyl-4-oxopentyliden)amino]phenyl-acetyl]amino]-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylat (2*S*,5*R*)-3,3-dimethyl-7-oxo-4-oxa-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylat.
Tạp chất E: Methylen bis[(2*S*,5*R*)-3,3-dimethyl-4,4,7-trioxo-4λ^6-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylat] (sulbactam methylen ester).
Tạp chất F: Methylen (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-[[[(2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-aminophenylacetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-yl]carbonyl]amino]-phenylacetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylat(2*S*,5*R*)-3,3-dimethyl-4,4,7-trioxo-4λ^6-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylat (ampicilin sultamicilin amid).
Tạp chất G: Methylen (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*R*)-[[[[(2*R*)-aminophenylacetyl]amino][(4*S*)-4-[[[[[(2*S*,5*R*)-3,3-dimethyl-4,4,7-trioxo-4λ^6-thia-1-azabicyclo[3.2.0]hept-2-yl]-carbonyl]oxy]methoxy]carbonyl]-5,5-dimethylthiazolidin-2-yl]acetyl]amino]phenylacetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylat (2*S*,5*R*)-3,3-dimethyl-4,4,7-trioxo-4λ^6-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylat (sultamicilin dimer).

Ethyl acetat
Không được quá 2,0 %.
Phương pháp sắc ký khí tiêm pha hơi (Phụ lục 5.2).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 7,0 ml hỗn hợp *nước - dimethylformamid* (1 : 99).
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,200 g *ethyl acetat (TT)* trong 240 ml hỗn hợp *nước - dimethylformamid* (1 : 99),

sau đó pha loãng thành 250,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 7,0 ml với hỗn hợp *nước - dimethylformamid* (1 : 99).
Đậy ngay các lọ bằng nút cao su kín có phủ polytetra fluoroethylen và kẹp nắp nhôm bảo vệ. Lắc để thu được dung dịch đồng nhất.
Điều kiện sắc ký:
Cột silica nung chảy kích thước (50 m × 0,32 mm) phủ lớp pha tĩnh *poly(dimethyl)siloxan* dày 1,8 µm hoặc 3,0 µm.
Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký.*
Detector ion hóa ngọn lửa.
Vận tốc tuyến tính: 35 cm/s.
Tỉ lệ chia dòng: 1 : 5.
Điều kiện tiêm pha hơi:
Nhiệt độ cân bằng: 105 °C.
Thời gian cân bằng: 45 min.
Nhiệt độ đường dẫn mẫu: 110 °C.
Thời gian điều áp: 30 s.
Chương trình nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 6	70
	6 - 16	70 → 220
	16 - 18	220
Buồng tiêm		140
Detector		250

Thể tích tiêm: 1 ml.
Thời gian lưu tương đối so với dimethylformamid (thời gian lưu khoảng 14 min): Ethyl acetat khoảng 0,7.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Dung dịch thử: Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong hỗn hợp *methanol - acetonitril* (40 : 60) và pha loãng thành 20,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi. Lấy 12 ml tiến hành thử theo phương pháp 2. Dùng dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb để chuẩn bị mẫu đối chiếu.
Dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb được pha từ *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb (TT)* bằng hỗn hợp *methanol - acetonitril* (40 : 60).

Nước
Từ 4,0 % đến 6,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,200 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

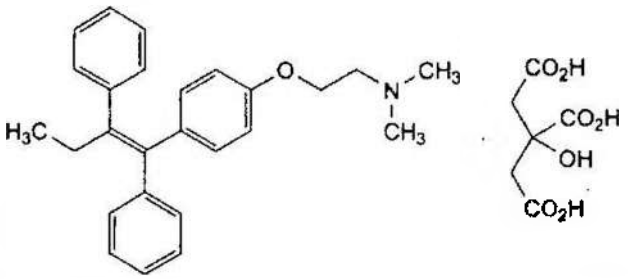
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Tiến hành như mô tả trong phần Tạp chất liên quan với những thay đổi sau:
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).
Tính hàm lượng phần trăm của sultamicilin tosilat trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng của $C_{32}H_{38}N_4O_{12}S_3$ trong sultamicilin tosilat chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Thuốc ức chế enzym beta-lactamase.

Chế phẩm
Viên nén, nang, bột pha hỗn dịch.

TAMOXIFEN CITRAT
Tamoxifeni Citras



$C_{26}H_{29}NO.C_6H_8O_7$ P.t.l: 563,6

Tamoxifen citrat là 2-[4-[(*Z*)-1,2-diphenylbut-1-enyl]phenoxy]-*N,N*- dimethylethanamin dihydrogen 2-hydroxypropan-1,2,3-tricarboxylat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{26}H_{29}NO.C_6H_8O_7$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hay gần như trắng, đa hình.
Tan trong methanol, khó tan trong nước và aceton.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của tamoxifen citrat chuẩn. Nếu so sánh phổ có sự khác nhau thì hòa tan mẫu thử và mẫu đối chiếu riêng biệt trong *aceton (TT)*, bay hơi đến khô và dùng cắn để đo phổ mới.
B. Hòa tan 20 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với *methanol (TT)*. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 220 đến 350 nm có hai hấp thụ cực đại ở 237 nm và 275 nm. Tỉ số độ hấp thụ ở bước sóng 237 so với độ hấp thụ ở bước sóng 275 nm từ 1,45 đến 1,65.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel F_{254}
Dung môi khai triển: Triethylamin - toluen (10 : 90)

sau đó pha loãng thành 250,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 7,0 ml với hỗn hợp *nước - dimethylformamid* (1 : 99).
Đậy ngay các lọ bằng nút cao su kín có phủ polytetra fluoroethylen và kẹp nắp nhôm bảo vệ. Lắc để thu được dung dịch đồng nhất.
Điều kiện sắc ký:
Cột silica nung chảy kích thước (50 m × 0,32 mm) phủ lớp pha tĩnh *poly(dimethyl)siloxan* dày 1,8 µm hoặc 3,0 µm.
Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký.*
Detector ion hóa ngọn lửa.
Vận tốc tuyến tính: 35 cm/s.
Tỉ lệ chia dòng: 1 : 5.
Điều kiện tiêm pha hơi:
Nhiệt độ cân bằng: 105 °C.
Thời gian cân bằng: 45 min.
Nhiệt độ đường dẫn mẫu: 110 °C.
Thời gian điều áp: 30 s.
Chương trình nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 6	70
	6 - 16	70 → 220
	16 - 18	220
Buồng tiêm		140
Detector		250

Thể tích tiêm: 1 ml.
Thời gian lưu tương đối so với dimethylformamid (thời gian lưu khoảng 14 min): Ethyl acetat khoảng 0,7.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Dung dịch thử: Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong hỗn hợp *methanol - acetonitril* (40 : 60) và pha loãng thành 20,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi. Lấy 12 ml tiến hành thử theo phương pháp 2. Dùng dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb để chuẩn bị mẫu đối chiếu.
Dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb được pha từ *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb (TT)* bằng hỗn hợp *methanol - acetonitril* (40 : 60).

Nước
Từ 4,0 % đến 6,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,200 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,2 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

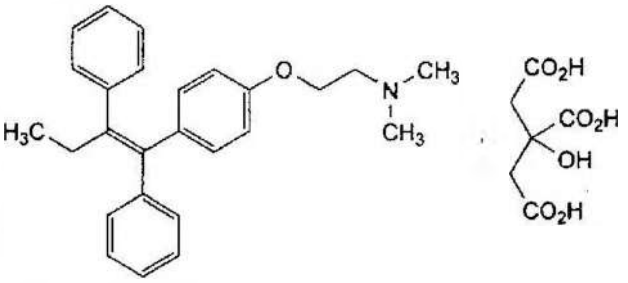
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Tiến hành như mô tả trong phần Tạp chất liên quan với những thay đổi sau:
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).
Tính hàm lượng phần trăm của sultamicilin tosilat trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng của $C_{32}H_{38}N_4O_{12}S_3$ trong sultamicilin tosilat chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Thuốc ức chế enzym beta-lactamase.

Chế phẩm
Viên nén, nang, bột pha hỗn dịch.

TAMOXIFEN CITRAT
Tamoxifeni Citras



$C_{26}H_{29}NO.C_6H_8O_7$ P.t.l: 563,6

Tamoxifen citrat là 2-[4-[(*Z*)-1,2-diphenylbut-1-enyl]phenoxy]-*N,N*- dimethylethanamin dihydrogen 2-hydroxypropan-1,2,3-tricarboxylat, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{26}H_{29}NO.C_6H_8O_7$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hay gần như trắng, đa hình.
Tan trong methanol, khó tan trong nước và aceton.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của tamoxifen citrat chuẩn. Nếu so sánh phổ có sự khác nhau thì hòa tan mẫu thử và mẫu đối chiếu riêng biệt trong *aceton (TT)*, bay hơi đến khô và dùng cắn để đo phổ mới.
B. Hòa tan 20 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với *methanol (TT)*. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 220 đến 350 nm có hai hấp thụ cực đại ở 237 nm và 275 nm. Tỉ số độ hấp thụ ở bước sóng 237 so với độ hấp thụ ở bước sóng 275 nm từ 1,45 đến 1,65.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* F_{254}.
Dung môi khai triển: *Triethylamin - toluen* (10 : 90)

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hoà tan 10 mg tamoxifen citrat chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hoà tan 10 mg tamoxifen citrat chuẩn và 10 mg clomifen citrat chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 bản mỏng. Lấy bản mỏng ra, để khô bản mỏng ngoài không khí. Kiểm tra dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách riêng biệt.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Trộn đều 40 thể tích *acetonitril (TT)* và 60 thể tích dung dịch chứa 0,09 % *natri dihydrophosphat (TT)* và 0,48 % *N,N-dimethyloctylamin (TT)*, điều chỉnh pH đến 3,0 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Pha các dung dịch sau trong điều kiện tránh ánh sáng và dùng ngay sau khi pha:
Dung dịch thử: Hòa tan 15,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 15 mg tamoxifen citrat chuẩn dùng cho thử hiệu năng trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 240 nm.
Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Cân bằng cột với pha động trong 30 min.
Thời gian chạy sắc ký bằng 2 lần thời gian lưu của tamoxifen.
Tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu (1), sắc ký đồ thu được phải tương ứng với sắc ký đồ cung cấp kèm theo tamoxifen citrat chuẩn dùng cho thử hiệu năng và pic tạp chất F phải được tách khỏi pic chính đến tận đường nền. Độ phân giải giữa pic tạp chất A và pic tạp chất F không nhỏ hơn 3.
Yêu cầu:
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:
Tạp chất A, B, C, D, E, F, G, H: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %).
Tổng diện tích pic các tạp chất (trừ tạp chất A): Không được quá 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).
Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %) và pic tương ứng với citrat (thời gian lưu khoảng 2,5 min).
Ghi chú:
Tạp chất A: 2-[4-[(*E*)-1,2-diphenylbut-1-enyl]phenoxy]-*N,N*-dimethylethanamin [(*E*)-isomer],
Tạp chất B: 1-[4-[2-(dimethylamino)ethoxy]phenyl]-1,2-diphenylbutan-1-ol,
Tạp chất C: 2-[4-[(*EZ*)-1,2-diphenylethenyl]phenoxy]-*N,N*-dimethylethanamin,
Tạp chất D: 2-[4-[(*EZ*)-1,2-diphenylprop-1-enyl]phenoxy]-*N,N*-dimethylethanamin,
Tạp chất E: 2-[2-[(*EZ*)-1,2-diphenylbut-1-enyl]phenoxy]-*N,N*-dimethylethanamin,
Tạp chất F: 2-[4-[(*Z*)-1,2-diphenylbut-1-enyl]phenoxy]-*N*-methylethanamin,
Tạp chất G: (2*RS*)-1-[4-[2-(dimethylamino)ethoxy]phenyl]-2-phenylbutan-1-on,
Tạp chất H: 2-[4-[(*Z*)-1-[4-[(*RS*)-[4-[2-(dimethylamino)ethoxy]phenyl]phenylmethyl]phenyl]-2-phenylbut-1-enyl]phenoxy]-*N,N*-dimethylethanamin.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 65 °C; 4 h trong chân không).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong 75 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* dùng *dung dịch naphtolbenzein (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 56,36 mg $C_{32}H_{37}NO_8$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống ung thư đối kháng thụ thể estrogen.

Chế phẩm
Viên nén.

TARTRAZIN
Tartrazinum



$C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$ P.t.l: 534,4

Tartrazin là trinatri hydroxy-5-(sulfonato-4-phenyl)-1-[(sulfonato-4-phenyl)azo]-4-1*H*-pyrazolcarboxylat-3, phải chứa ít nhất 85,0 % $C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột màu vàng cam sẫm. Dễ tan trong nước, ít tan trong ethanol, gần như không tan trong aceton và methylen clorid. Dung dịch 0,1 % (kl/tt) có màu vàng tươi.

Định tính

A. Pha loãng 1 ml dung dịch S (xem Độ trong của dung dịch) thành 100 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (TT)*. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng từ bước sóng 230 nm đến 550 nm có hai hấp thụ cực đại ở 256 nm ± 5 nm và 430 nm ± 3 nm.

Pha loãng 1 ml dung dịch S thành 100 ml bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (TT)*. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng từ bước sóng 230 nm đến 550 nm có hai hấp thụ cực đại ở 260 nm ± 5 nm và 396 nm ± 3 nm.

B. Trong phần Chất màu liên quan, vết chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (2) phải phù hợp với vết chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí, màu sắc và kích thước.

Độ trong của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2).

Chất màu liên quan

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

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Amoniac đậm đặc - nước - ethanol - n-butanol* (10 : 25 : 25 : 50).

Dung môi hòa tan: Hỗn hợp *nước - methanol* (1 : 1).

Dung dịch thử (1): Hòa tan 40 mg chế phẩm trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 2 ml dung dịch thử (1) thành 10 bằng dung môi hòa tan.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 40 mg tartrazin chuẩn trong dung môi hòa tan và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 20 ml bằng dung môi hòa tan.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra và để khô ngoài không khí. Quan sát sắc ký đồ dưới ánh sáng ban ngày. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử (1), ngoài vết chính ra, không được có vết nào đậm màu hơn vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2).

Chất chiết được bằng ether

Không được quá 0,5 %.

Cân chính xác 2,0 g chế phẩm (đã sấy trong chân không ở nhiệt độ 60 °C tới khối lượng không đổi) vào bình định mức màu nâu 200 ml, thêm *ether khan (TT)* vừa đủ đến vạch. Lắc cơ học trong 30 min, lọc. Lấy 100,0 ml dịch lọc, cho bay hơi đến khô trong chân không ở nhiệt độ 20 °C. Làm khô cắn trong bình hút ẩm tới khối lượng không đổi. Khối lượng cắn thu được không được quá 5 mg.

Chất không tan trong nước

Không được quá 0,2 %.

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong 200 ml *nước* bằng cách đun nóng tới khoảng 90 °C. Để nguội, lọc qua phễu thủy tinh xốp số 4 đã được sấy khô ở 100 °C đến 105 °C tới khối lượng không đổi. Rửa cắn thu được với *nước* cho đến khi thu được dịch lọc không màu. Sấy cắn ở 100 °C đến 105 °C tới khối lượng không đổi. Khối lượng cắn thu được không được quá 4 mg.

Amin thơm bậc nhất

Không được quá 40 phần triệu.

Hòa tan cắn thu được ở phần Chất chiết được bằng ether trong 10 ml *toluen (TT)*. Lấy 2,5 ml dung dịch thu được, thêm 6 ml *nước* và 4 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (TT)*. Lắc mạnh, để yên cho tách lớp, loại bỏ lớp hữu cơ. Thêm vào pha nước 0,4 ml *dung dịch natri nitrit 0,25 %* mới pha. Lắc đều và để yên 1 min. Thêm 0,8 ml *dung dịch amoni sulfamat 0,5 %* và để yên 1 min. Thêm 2 ml *dung dịch N-(1-naphthyl)-ethylendiamin dihydroclorid 0,5 % (TT)*. Để yên 1 h. Dung dịch không được đậm màu hơn dung dịch đối chiếu được chuẩn bị bằng cách thay pha nước bằng hỗn hợp 1 ml *dung dịch naphthylamin 0,001 % (TT)*, 5 ml *nước* và 4 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (TT)*.

Crom hòa tan

Không được quá 50 phần triệu.

Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong 25 ml *nước* bằng cách đun nóng tới khoảng 90 °C. Để nguội, thêm *nước* vừa đủ 25 ml, lọc qua phễu thủy tinh xốp số 4.

Các dung dịch chuẩn: Dùng *dung dịch crom mẫu 100 phần triệu Cr (TT)* để pha các dung dịch chuẩn 0,5 phần triệu, 1 phần triệu và 2 phần triệu.

Cách tiến hành: Sử dụng máy quang phổ hấp thụ nguyên tử có trang bị đèn cathod rỗng crom, đầu đốt sử dụng ngọn lửa acetylen - không khí nén. Đo độ hấp thụ của các dung dịch chuẩn và dung dịch thử ở bước sóng 357,9 nm. Từ độ hấp thụ đo được của các dung dịch chuẩn và dung dịch thử, tính hàm lượng crom hòa tan trong chế phẩm.

Kim loại nặng

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

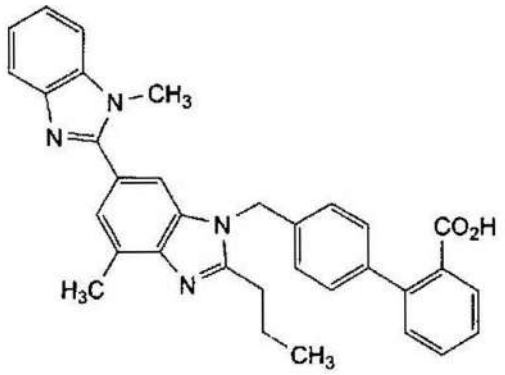
Lấy 1,0 g chế phẩm và tiến hành theo phương pháp 3. Dùng 2,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Định lượng
Cân chính xác khoảng 0,150 g chế phẩm đã sấy trong chân không ở nhiệt độ 60 °C tới khối lượng không đổi, hòa tan trong dung dịch *amoni acetat 2 M (TT)* mới pha và pha loãng thành 100,0 ml bằng cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 200,0 ml bằng dung dịch *amoni acetat 2 M (TT)* mới pha. Pha dung dịch chuẩn tương tự trong cùng điều kiện, dùng khoảng 0,150 g tartrazin chuẩn đã sấy trong chân không ở nhiệt độ 60 °C tới khối lượng không đổi.
Phổ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử có một hấp thụ cực đại ở khoảng bước sóng 426 nm, không lệch quá 5 nm so với bước sóng hấp thụ cực đại của dung dịch chuẩn đo trong cùng điều kiện. Đo độ hấp thụ của hai dung dịch tại bước sóng hấp thụ cực đại.
Tính hàm lượng $C_{16}H_9N_4Na_3O_9S_2$ trong chế phẩm, dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ của dung dịch chuẩn.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Tá dược màu.

TELMISARTAN
Telmisartanum



$C_{33}H_{30}N_4O_2$ P.t.l: 514,6

Telmisartan là acid 4'-[[4-methyl-6-(1-methyl-1*H*-benzimidazol-2-yl)-2-propyl-1*H*-benzimidazol-1-yl]methyl]biphenyl-2-carboxylic, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{33}H_{30}N_4O_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc hơi vàng nhạt, đa hình.
Thực tế không tan trong nước, khó tan trong methanol, hơi tan trong methylen clorid và tan trong dung dịch natri hydroxyd 1 M.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của telmisartan chuẩn. Nếu phổ thu được ở dạng rắn khác nhau thì hòa tan riêng rẽ chế phẩm và telmisartan chuẩn trong *ethanol khan (TT)* nóng, bay hơi đến khô và ghi phổ mới của cắn thu được.

Màu sắc của dung dịch
Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Dung dịch phải không được có màu đậm hơn dung dịch màu mẫu V_4 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Hòa tan 2,0 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 3,5 g *natri pentansulfonat (TT)* trong *nước*, điều chỉnh đến pH 3,0 bằng *acid phosphoric 10 % (TT)* và pha loãng thành 1000 ml với *nước*.
Pha động B: Methanol (TT_3) - acetonitril (TT_1) (20 : 80).
Dung dịch thử: Thêm vào 25 mg chế phẩm khoảng 5 ml *methanol (TT)* và 100 µl *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*. Hòa tan bằng lắc siêu âm và pha loãng thành 50 ml với *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 10,0 ml với *methanol (TT)*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan chất chuẩn có trong 1 lọ telmisartan chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa tạp chất A, B, C, E và F) trong 2 ml *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (3): Thêm vào 5 mg telmisartan chuẩn dùng để định tính pic (chứa tạp chất D) khoảng 5 ml *methanol (TT)* và 100 µl *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*. Hòa tan bằng lắc siêu âm và pha loãng thành 10 ml với *methanol (TT)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (12,5 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) với kích thước lỗ xốp 10 nm.
Nhiệt độ cột: 40 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 3	70	30
3 - 28	70 → 20	30 → 80

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo telmisartan chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để định tính các pic tạp chất A, B, C, E và F. Sử dụng sắc ký đồ kèm theo telmisartan chuẩn dùng để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để định tính pic của tạp chất D. Thời gian lưu tương đối so với telmisartan (thời gian lưu khoảng 15 min): Tạp chất A khoảng 0,2; tạp chất E khoảng 0,6; tạp chất F khoảng 0,7; tạp chất B khoảng 0,9; tạp chất C khoảng 1,5; tạp chất D khoảng 1,6.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) phải giống sắc ký đồ kèm theo telmisartan

chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic của tạp chất B và pic telmisartan ít nhất bằng 3,0.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:
Tạp chất C và D: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 2 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Tạp chất A và B: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 1,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,15 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Tổng diện tích của tất cả các pic tạp chất không được lớn hơn 10 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %).
Bỏ qua những pic có diện tích không lớn hơn 0,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 4-methyl-6-(1-methyl-1*H*-benzimidazol-2-yl)-2-propyl-1*H*-benzimidazol.
Tạp chất B: Acid 4'-[[7-methyl-5-(1-methyl-1*H*-benzimidazol-2-yl)-2-propyl-1*H*-benzimidazol-1-yl]methyl]biphenyl-2-carboxylic.
Tạp chất C: 1,1-dimethylethyl 4'-[[4-methyl-6-(1-methyl-1*H*-benzimidazol-2-yl)-2-propyl-1*H*-benzimidazol-1-yl]methyl] biphenyl-2-carboxylat.
Tạp chất D: Chưa xác định.
Tạp chất E: Acid 1-[(2'-carboxybiphenyl-4-yl)methyl]-4-methyl-2-propyl-1*H*-benzimidazol-6-carboxylic.
Tạp chất F: 4'-[[4-methyl-6-(1-methyl-1*H*-benzimidazol-2-yl)-2-propyl-1*H*-benzimidazol-1-yl]methyl]biphenyl-2-carboxamid.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,190 g chế phẩm trong 5 ml *acid formic khan (TT)*. Thêm 75 ml *anhydrid acetic (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 25,73 mg $C_{33}H_{30}N_4O_2$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Đối kháng thụ thể angiotensin II (AT_1).

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN TELMISARTAN
Tabellae Telmisartani

Là viên nén chứa telmisartan.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng telmisartan, $C_{33}H_{30}N_4O_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Độ hòa tan, phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử phải tương ứng với phổ hấp thụ tử ngoại của dung dịch chuẩn.
B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic telmisartan trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Hòa tan 0,5 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*, thêm 2 ml *triethylamin (TT)*, điều chỉnh đến pH 3,2 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Pha động B: *Acetonitril (TT)*.
Dung môi pha mẫu: Hòa 2 ml *triethylamin (TT)* trong 800 ml *nước*, thêm 200 ml *methanol (TT)*.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, nghiền thành bột mịn. Phân tán một lượng bột viên tương ứng với 100 mg telmisartan trong 100,0 ml dung môi pha mẫu, lắc siêu âm khoảng 45 min và lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch có chứa telmisartan chuẩn trong dung môi pha mẫu, nồng độ 0,005 mg/ml.
Điều kiện sắc ký
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 298 nm.
Tốc độ dòng: 1,8 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt))	Pha động B (% tt/tt)
0	78	22
6	80	20
7	70	30
15	60	40
25	60	40
26	40	60
35	20	80
40	78	22

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu, phép thử chỉ có giá trị khi số đĩa lý

thuyết không nhỏ hơn 3000, hệ số đối xứng không lớn hơn 2 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch đối chiếu không lớn hơn 5,0 %.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, trên sắc ký đồ thu được, bất kỳ pic phụ nào không được có diện tích lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %). Tổng diện tích của các pic phụ không được lớn hơn 4 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2,0 %). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,05 %).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy
Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch đệm pH 7,5.
Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 30 min.
Dung dịch đệm pH 7,5: Hòa tan 13,61 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 800 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 7,5 bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, thêm *nước* đến vừa đủ 1000 ml.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan và lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ telmisartan khoảng 0,011 mg/ml.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 44 mg telmisartan chuẩn và chuyển vào bình định mức 100 ml. Thêm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và pha loãng với *methanol (TT)* vừa đủ thể tích. Pha loãng dung dịch này với môi trường hòa tan để thu được dung dịch có nồng độ telmisartan khoảng 0,011 mg/ml.
Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại khoảng 296 nm, trong cốc đo dày 1 cm, dùng môi trường hòa tan làm mẫu trắng.
Tính hàm lượng telmisartan, $C_{33}H_{30}N_4O_2$, đã hòa tan trong mỗi viên dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{33}H_{30}N_4O_2$ trong telmisartan chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng telmisartan, $C_{33}H_{30}N_4O_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

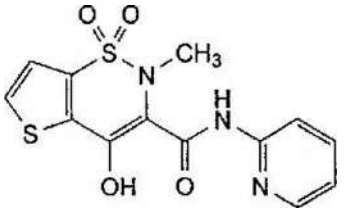
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm: Hòa tan 2,72 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong vừa đủ 1000 ml *nước*, thêm 2 ml *triethylamin (TT)* và chỉnh đến pH 2,4 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Pha động: Dung dịch đệm - acetonitril (60 : 40).
Dung môi pha mẫu: Hòa 2 ml *triethylamin (TT)* trong 800 ml *nước*, thêm 200 ml *methanol (TT)*.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 40 mg telmisartan chuẩn, hòa tan và pha loãng bằng dung môi pha mẫu vừa đủ 100,0 ml. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng dung môi pha mẫu.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 40 mg telmisartan vào bình định mức 100 ml, thêm 80 ml dung môi pha mẫu, lắc siêu âm khoảng 45 min. Để nguội đến nhiệt độ phòng, thêm dung môi pha mẫu vừa đủ thể tích, lắc đều, lọc. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 50,0 ml với dung môi pha mẫu.
Điều kiện sắc ký
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 298 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, phép thử chỉ có giá trị khi số đĩa lý thuyết không nhỏ hơn 3000, hệ số đối xứng của pic telmisartan không lớn hơn 2,0; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng telmisartan, $C_{33}H_{30}N_4O_2$, trong mỗi viên dựa vào diện tích pic telmisartan thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{33}H_{30}N_4O_2$ trong telmisartan chuẩn.

Bảo quản
Để nơi mát, trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Đối kháng thụ thể angiotensin II (loại AT_1).

Hàm lượng thường dùng
20 mg; 40 mg; 80 mg.

TENOXICAM
Tenoxicamun



$C_{13}H_{11}N_3O_4S_2$ P.t.l: 337,4

Tenoxicam là 4-hydroxy-2-methyl-*N*-(pyridin-2-yl)-2*H*-thieno[2,3-*e*]1,2-thiazin-3-carboxamid 1,1-dioxyd, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{13}H_{11}N_3O_4S_2$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh màu vàng, đa hình. Thực tế không tan trong nước, hơi tan trong methylen clorid, rất ít tan trong ethanol khan, tan trong dung dịch acid và dung dịch kiềm.

Định tính
Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của tenoxicam chuẩn.

Nếu phổ của chế phẩm và chuẩn ở trạng thái rắn có sự khác biệt thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và chất chuẩn trong một lượng nhỏ *methylen clorid (TT)*, bay hơi trên cách thủy đến khô, ghi phổ của cắn mới thu được.

Độ trong của dung dịch

Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.

Pha động A: Hỗn hợp *methanol (TT_3) - nước* (25 : 75), điều chỉnh đến pH 3,2 bằng *dung dịch acid phosphoric 1,5 M (TT)*.

Pha động B: Hỗn hợp *methanol (TT_3) - nước* (75 : 25), điều chỉnh đến pH 3,2 bằng *dung dịch acid phosphoric 1,5 M (TT)*.

Hỗn hợp dung môi: Hỗn hợp *acetonitril - nước* (1 : 1), điều chỉnh đến pH 3,2 bằng *dung dịch acid phosphoric 1,5 M (TT)*.

Dung dịch thử: Hòa tan 35 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi, siêu âm và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 7 mg *pyrindin-2-amin (TT)* (tạp chất A) trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan hỗn hợp tạp chất chuẩn của tenoxicam (chứa tạp chất B, G và H) có trong 1 lọ chuẩn trong 1,0 ml dung dịch thử.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *cyanosilyl silica gel dùng cho sắc ký* (3,5 µm).

Nhiệt độ cột: 35 °C.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 5	96	4
5 - 16	96 → 76	4 → 24
16 - 25	76	24

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất A. Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo hỗn hợp tạp chất chuẩn của tenoxicam và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của các tạp chất B, G và H. Để định tính pic của tạp chất G và H, hai pic này có thể bị đảo thứ tự rửa giải, phải so sánh chiều cao các pic này với các pic tương ứng trên sắc ký đồ được cung cấp kèm theo hỗn hợp tạp chất chuẩn của tenoxicam.

Thời gian lưu tương đối so với tenoxicam (thời gian lưu khoảng 12 min): Tạp chất A khoảng 0,1; tạp chất G khoảng 0,85; tạp chất H khoảng 0,9; tạp chất B khoảng 1,3.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic của tạp chất H (hoặc tạp chất G nếu pic bị đảo thứ tự rửa giải) và pic của tenoxicam ít nhất là 1,3; độ phân giải giữa pic của tạp chất G và pic của tạp chất H ít nhất là 1,3. Nếu cần, để đạt độ phân giải theo yêu cầu thì điều chỉnh pH của pha động trong khoảng từ 3,0 đến 3,4.

Giới hạn:

Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất A với 0,2, của tạp chất B với 2,0.

Tạp chất A, B: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,15 %).

Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: Pyridin-2-amin.

Tạp chất B: Methyl 4-hydroxy-2-methyl-2*H*-thieno[2,3-*e*]1,2-thiazine-3-carboxylat 1,1- dioxid.

Tạp chất C: *N*-methylthiophen-2-carboxamid.

Tạp chất D: *N*-methyl-*N'*-(pyridin-2-yl)-ethandiamid.

Tạp chất E: 2-Methylthieno[2,3-*d*]isothiazol-3(2*H*)-on 1,1-dioxid.

Tạp chất F: 4-Hydroxy-*N*,2-dimethyl-*N*-(pyridin-2-yl)-2*H*-thieno[2,3-*e*]1,2-thiazine-3-carboxamid 1,1-dioxid.

Tạp chất G: 4-Hydroxy-2-methyl-2*H*-thieno[2,3-*e*]1,2-thiazin-3-carboxamid 1,1-dioxid.

Tạp chất H: Acid 3-[(methylamino)sulfonyl]thiophen-2-carboxylic.

Kim loại nặng

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

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

Nước

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.3).

Dùng 1,000 g chế phẩm.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 5 ml *acid formic khan (TT)*. Thêm 70 ml *acid acetic khan (TT)*. Định lượng bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 33,74 mg $C_{13}H_{11}N_3O_4S_2$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Ức chế cyclo-oxygenase, giảm đau, kháng viêm.

Chế phẩm
Thuốc tiêm, viên nén.

VIÊN NÉN TENOXICAM
Tabellae Tenoxicami

Là viên nén chứa tenoxicam.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng tenoxicam, $C_{13}H_{11}N_3O_4S_2$, từ 92,5 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: *Silica gel* F_{254}.
Dung môi triển khai: *Acid formic khan - aceton - dicloromethan* (4 : 30 : 70).
Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên đã nghiền mịn có chứa khoảng 20 mg tenoxicam, thêm 20 ml *dicloromethan (TT)*, lắc siêu âm 15 min, ly tâm và sử dụng phần dung dịch phía trên.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch tenoxicam chuẩn 0,1 % trong *dicloromethan (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm. Sau khi triển khai, để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vị trí, màu sắc và kích thước phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
A. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với pic tenoxicam trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch đệm phosphat pH 6,8*.
Dung dịch đệm phosphat pH 6,8: Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 500 ml *nước*, thêm 23 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, pha loãng thành 1000 ml với *nước* và điều chỉnh đến pH 6,8 bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* hoặc *dung dịch acid phosphoric* 10 % *(TT)*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc (bỏ 20 ml dịch lọc đầu). Pha loãng dịch lọc (nếu cần) với môi trường hòa tan để có nồng độ thích hợp. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 368 nm, cốc đo dày 1 cm, dùng mẫu trắng là môi trường hòa tan. So sánh với dung dịch tenoxicam chuẩn có nồng độ tương đương, pha trong môi trường hòa tan. Tính lượng tenoxicam, $C_{13}H_{11}N_3O_4S_2$, được hòa tan dựa vào các độ hấp thụ đo được và hàm lượng của $C_{13}H_{11}N_3O_4S_2$ trong tenoxicam chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng tenoxicam so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 0,12 g *natri lauryl sulfat (TT)* trong 700 ml *methanol (TT)*, trộn với 1000 ml dung dịch *kali dihydrophosphat 0,05 M (TT)* và điều chỉnh đến pH 2,8 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch thử: Lắc một lượng viên chứa khoảng 0,1 g tenoxicam với 100 ml *acetonitril* 50 % trong 70 min, thỉnh thoảng lắc trong siêu âm. Để yên trong 10 min, hút 5 ml dung dịch trong phía trên pha loãng thành 20 ml với pha động, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 200,0 ml với pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) nhồi pha tĩnh B (Cột Nucleosil C8, 5 µm là thích hợp) và tiền cột nhồi pha tĩnh B (10 µm).
Tốc độ dòng: 0,7 ml/min.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Cân bằng cột với pha động trong 3 h.
Tiến hành sắc ký lần lượt với các dung dịch trên.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, không được có bất kỳ pic phụ nào có diện tích lớn hơn pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,5 %) và tổng diện tích của các pic phụ đó không được lớn hơn bốn lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2 %).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, điều kiện sắc ký thực hiện như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Dung dịch thử: Lắc 10 viên chế phẩm với 200 ml *acetonitril* 50 % trong 70 min, thỉnh thoảng lắc trong siêu âm. Để yên trong 10 min, pha loãng một thể tích thích hợp dung dịch trong ở phía trên với pha động để được dung dịch có nồng độ tenoxicam khoảng 0,025 % và lọc.
Dung dịch chuẩn: Pha dung dịch tenoxicam chuẩn 0,1 % trong *acetonitril* 50 %. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 20,0 ml bằng pha động.

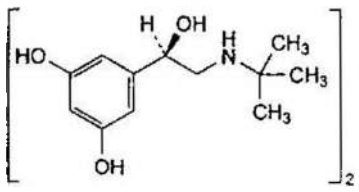
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic tenoxicam trong 6 lần tiêm lặp lại nhỏ hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng tenoxicam, $C_{13}H_{11}N_3O_4S_2$, trong viên dựa theo diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{13}H_{11}N_3O_4S_2$ trong tenoxicam chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống viêm không steroid.

Hàm lượng thường dùng
10 mg, 20 mg.

TERBUTALIN SULFAT
Terbutalini sulfas



và đồng phân đối quang . H_2SO_4

$(C_{12}H_{19}NO_3)_2.H_2SO_4$ P.t.l: 548,7

Terbutalin sulfat là bis[(1*RS*)-1-(3,5-dihydroxyphenyl)-2-[(1,1-dimethylethyl)amino]ethanol] sulfat, phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $(C_{12}H_{19}NO_3)_2.H_2SO_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng. Đa hình. Dễ tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của terbutalin sulfat chuẩn. Nếu phổ đo được ở trạng thái rắn của chế phẩm và terbutalin sulfat chuẩn khác nhau thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và chuẩn trong một lượng nhỏ *methanol không có aldehyd (TT)*, bốc hơi đến khô, ghi phổ của cắn thu được.
B. 5 ml dung dịch S ở mục Giới hạn acid phải cho phản ứng (A) của sulfat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và có độ hấp thụ ở bước sóng 400 nm (dùng cốc đo 1 cm) không lớn hơn 0,11 (Phụ lục 4.1)

Giới hạn acid
Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Thêm 0,05 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)* vào 10 ml dung dịch S. Màu của chỉ thị phải chuyển sang vàng khi thêm không quá 1,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)*.

Góc quay cực
Từ -0,10° đến +0,10° (Phụ lục 6.4).
Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch đệm amoni format 0,05 M: Hòa tan 3,15 g *amoni format (TT)* trong 980 ml *nước*, điều chỉnh đến pH 3,0 bằng cách thêm khoảng 8 ml *acid formic khan (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Pha động: Hòa tan 4,23 g *natri hexansulfonat (TT)* trong 770 ml *dung dịch đệm amoni format 0,05 M* và thêm 230 ml *methanol (TT)*, trộn đều.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 75,0 mg chế phẩm, hòa tan trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 7,5 mg tạp chất C chuẩn của terbutalin và 22,5 mg terbutalin sulfat chuẩn trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml bằng pha động. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *base-deactivated octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 276 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian bằng 6 lần thời gian lưu của terbutalin.
Thời gian lưu của tạp chất C khoảng 9 min, của terbutalin khoảng 11 min.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic tạp chất C và pic terbutalin ít nhất bằng 2,0. Điều chỉnh pha động nếu cần, giảm tỷ lệ methanol làm tăng thời gian lưu.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:
Tạp chất C không được có diện tích lớn hơn hai lần diện tích pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Các tạp chất khác, mỗi tạp chất không được có diện pic pic lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).
Tổng diện tích các pic tạp chất ngoại trừ tạp chất C không được lớn hơn hai lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,4 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,02 %).
Ghi chú:
Tạp chất C: 1-(3,5-dihydroxyphenyl)-2-[(1,1-dimethylethyl)amino] ethanon.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C; 3 h).

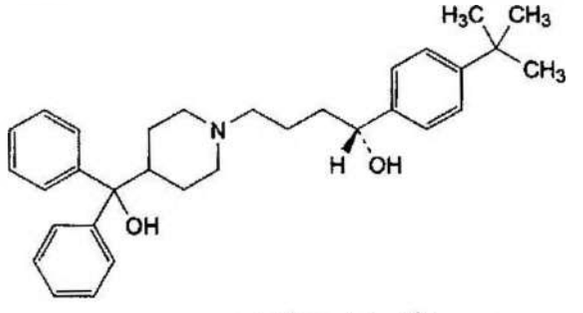
Định lượng
Hòa tan 0,400 g chế phẩm bằng cách đun nóng trong 70 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 54,87 mg $C_{24}H_{40}N_2O_{10}S$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kích thích $beta_2$ giao cảm, thuốc giãn phế quản.

Chế phẩm
Viên nén, thuốc tiêm.

TERFENADIN
Terfenadinum



và đồng phân đối quang

$C_{32}H_{41}NO_2$ P.t.l: 471,7

Terfenadin là (1*RS*)-1-[4-(1,1-dimethylethyl)phenyl]-4-[4-(hydroxydiphenylmethyl) piperidin-1-yl]butan-1-ol, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{32}H_{41}NO_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh đa hình trắng. Rất ít tan trong nước và trong acid hydrocloric loãng, dễ tan trong dicloromethan, tan trong methanol.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C, D.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của terfenadin chuẩn.
B. Điểm chảy từ 146 °C đến 152 °C (Phụ lục 6.7).
C. Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 230 nm đến 350 nm, có cực đại hấp thụ ở 259 nm và hai vai tại 253 nm và 270 nm. Giá trị A (1 %, 1 cm) tại 259 nm từ 13,5 đến 14,9.
D. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel HF_{254}.
Dung môi khai triển: Methanol - dicloromethan (10 : 90).
Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong *dicloromethan (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50 mg terfenadin chuẩn trong *dicloromethan (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm, vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Pha loãng 600 ml *acetonitril (TT)* thành 1000 ml bằng *dung dịch đệm phosphat diethylamoni pH 6,0 (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 15 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 10,0 ml bằng pha động. Tiếp tục pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 10,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 25,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 0,1 g *kali iodid (TT)* trong pha động và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 100 ml bằng pha động.
Dung dịch phân giải: Hòa tan 15 mg tạp chất chuẩn A của terfenadin trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Lấy 5,0 ml dung dịch thu được, thêm 5,0 ml dung dịch thử và pha loãng thành 50,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 217 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành: Tiêm riêng biệt mỗi dung dịch trên. Tiến hành sắc ký gấp 5 lần thời gian lưu của terfenadin. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa pic terfenadin và pic tạp chất A lớn

hơn 5,0 và hệ số dung lượng của terfenadin lớn hơn 2,0. Xác định hệ số dung lượng với thành phần không lưu giữ là kali iodid.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:
Diện tích của bất kỳ pic nào, ngoài pic chính, không được lớn hơn diện tích của pic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).
Tổng diện tích của tất cả các pic, trừ pic chính, không được lớn hơn diện tích của pic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 2,5 % diện tích của pic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).
Ghi chú:
Tạp chất A: (1-[4-(1,1-dimethylethyl)phenyl]-4-[4-(hydroxy diphenylmethyl)piperidin-1-yl]butan-1-on).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, 60 °C, áp suất không quá 0,5 kPa).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 47,17 mg $C_{32}H_{41}NO_2$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Đối kháng thụ thể histamin H_1, kháng histamin.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN TERFENADIN
Tabellae Terfenadini

Là viên nén chứa terfenadin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng terfenadin, $C_{32}H_{41}NO_2$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lắc một lượng bột viên chứa 0,2 g terfenadin với 20 ml *dicloromethan (TT)*, thêm 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và tiếp tục lắc, để tách lớp và lấy lớp dicloromethan. Rửa lớp dicloromethan bằng 10 ml *nước*, lắc với 2 g *natri sulfat khan (TT)* và lọc. Thêm 0,2 ml dịch lọc vào 0,3 g *kali bromid (TT)* trong cối, dùng chày trộn đều, làm ẩm để loại dung môi và chuẩn bị đĩa nén từ hỗn hợp thu được. Phổ hấp thụ hồng ngoại thu được (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của terfenadin.
B. Trong mục Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic terfenadin trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 1000 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan và lọc. Pha loãng dịch lọc, nếu cần, bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* để được dung dịch terfenadin có nồng độ khoảng 0,006 %.
Dung dịch chuẩn: Pha loãng 1 thể tích của dung dịch terfenadin chuẩn 0,06 % trong *methanol (TT)* thành 10 thể tích bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với điều kiện sắc ký như mô tả ở mục Định lượng nhưng với bước sóng phát hiện ở 217 nm.
Tính hàm lượng của terfenadin, $C_{32}H_{41}NO_2$, đã hòa tan trong mỗi viên dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{32}H_{41}NO_2$ của terfenadin chuẩn.
Yêu cầu: Không được ít hơn 70 % (Q) lượng terfenadin, $C_{32}H_{41}NO_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Tạp chất A
Không được quá 0,2 %.
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch thử: Hòa tan một lượng bột viên chứa 0,15 g terfenadin trong 75 ml pha động, siêu âm 15 min, làm nguội đến nhiệt độ phòng, pha loãng đến 100 ml bằng pha động, trộn đều và lọc qua màng lọc thủy tinh (Whatman GF/C là thích hợp).
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch chứa 0,0003 % tạp chất A chuẩn của terfenadin, 1-[4-(1,1-dimethylethyl)phenyl]-4-[4-(hydroxydiphenylmethyl)piperidin-1-yl]butan-1-on, trong pha động.
Dung dịch phân giải: Dung dịch chứa hỗn hợp 1 thể tích dung dịch thử và 9 thể tích dung dịch 0,015% tạp chất A chuẩn của terfenadin trong pha động.
Điều kiện sắc ký như mô tả ở mục định lượng nhưng với bước sóng phát hiện ở 217 nm.
Tiêm lần lượt các dung dịch trên và tiến hành sắc ký trong khoảng thời gian gấp 5 lần thời gian lưu của terfenadin. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa hai pic terfenadin và tạp chất A trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch phân giải ít nhất bằng 5,0.

Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic nào tương ứng với tạp chất A của terfenadin không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu. Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, có thể có các pic tá dược với thời gian lưu dài.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Lấy 3 thể tích *acetonitril (TT)* pha loãng thành 5 thể tích với *dung dịch đệm phosphat diethylamoni pH 6.0 (TT).*

Dung dịch thử: Cân 20 viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 0,15 g terfenadin, thêm 75 ml pha động và lắc siêu âm 15 min, làm nguội đến nhiệt độ phòng, pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động, trộn đều và lọc qua màng lọc thủy tinh (Whatman GF/C là thích hợp).

Dung dịch chuẩn: Dung dịch chứa 0,15 % terfenadin chuẩn trong pha động.

Dung dịch phân giải: Dung dịch chứa 0,015 % terfenadin chuẩn và 0,015 % tạp chất A chuẩn của terfenadin trong pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm) (Lichrosorb RP8 là thích hợp).

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Tiêm lần lượt các dung dịch trên và tiến hành sắc ký trong khoảng thời gian gấp 5 lần thời gian lưu của terfenadin. Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số phân giải giữa pic terfenadin và pic tạp chất A trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch phân giải ít nhất là 5,0. Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử có thể có các pic tá dược với thời gian lưu dài.

Tính hàm lượng của terfenadin, $C_{32}H_{41}NO_2$, trong viên dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{32}H_{41}NO_2$ của terfenadin chuẩn.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

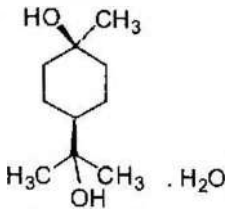
Thuốc đối kháng thụ thể histamin H_1, thuốc kháng histamin.

Hàm lượng thường dùng

60 mg.

TERPIN HYDRAT

Terpinum hydratum



$C_{10}H_{20}O_2.H_2O$ P.t.l: 190,3

Terpin hydrat là cyclohexan methanol, 4-hydroxy-α,α,4-trimethyl monohydrat hay p-menthan 1, 8-diol monohydrat, phải chứa từ 98,0 % đến 100,5 % $C_{10}H_{20}O_2$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Tinh thể trong suốt, không màu hay bột kết tinh trắng, không mùi. Sấy cẩn thận ở 100 °C, chế phẩm sẽ thăng hoa và tạo thành những tinh thể hình kim. Để ở không khí nóng và khô, chế phẩm sẽ dần dần bị mất nước kết tinh và nhiệt độ nóng chảy giảm. Hơi tan trong nước, tan trong nước nóng và ethanol 96 %, dễ tan trong ethanol 96 % nóng, hơi tan trong ether, cloroform.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, D.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của terpin hydrat chuẩn.

B. Điểm chảy: 115 °C đến 117 °C (Phụ lục 6.7). Đun nóng dụng cụ tới 110 °C rồi mới cho ống mao quản vào và tiếp tục đun nóng với tốc độ 4 °C đến 6 °C trong 1 min.

C. Trong phần Tạp chất liên quan, vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí, màu sắc và kích thước với vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

D. Lấy 5 ml dung dịch chế phẩm (1/50), đun nóng rồi cho thêm vài giọt *acid sulfuric đậm đặc (TT).* Dung dịch sẽ bị vẩn đục và có mùi thơm của terpineol.

E. Nhỏ vào 0,01 g chế phẩm khoảng 5 giọt *dung dịch sắt (III) cloric trong ethanol (TT),* đem bốc hơi đến khô trong chén sứ, sẽ thấy xuất hiện cùng một lúc ở các chỗ khác nhau trong chén những màu đỏ son, tím và lục.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Lấy 10 ml dung dịch S, thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT).* Lượng *dung dịch acid hydrocloric 0,02 N (CĐ)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)* cần dùng để làm chuyển màu của chỉ thị không quá 0,2 ml.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cloroform - ethyl acetat (1 : 9).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,25 g terpin hydrat chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100 ml bằng *methanol (TT).*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 3 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Sấy bản mỏng ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C trong 5 min. Để nguội bản mỏng sau khi sấy, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT).* Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, bất kỳ vết phụ nào khác với vết chính không được có màu đậm hơn màu của vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2).

Nước
Từ 8,0 % đến 10,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,20 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

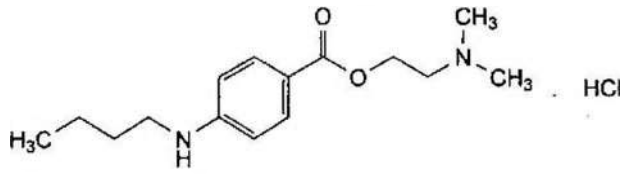
Định lượng
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).
Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan một lượng chính xác *biphenyl* trong *cloroform (TT)* để được dung dịch chứa khoảng 20 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 170 mg chế phẩm, hòa tan bằng 5 ml *ethanol 96 % (TT)* trong bình định mức 100 ml, thêm 5,0 ml dung dịch chuẩn nội và thêm *cloroform (TT)* đến vạch.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 170 mg terpin hydrat chuẩn, hòa tan bằng 5 ml *ethanol 96 % (TT)* trong bình định mức 100 ml, thêm 5,0 ml dung dịch chuẩn nội và thêm *cloroform (TT)* đến vạch.
Điều kiện sắc ký:
Cột thép không gỉ hoặc thủy tinh (1,2 m × 3,5 mm) được nhồi *diatomit đã rửa acid đến trung tính và đã silan hóa (chromosorb AW - 80 - 100 mesh) (TT)* với 6 % chất hấp phụ *dimethylpolysiloxan dùng cho sắc ký khí (TT).*
Khí mang là *nitơ dùng cho sắc ký khí (TT)* với lưu lượng cần thiết để đạt được thời gian lưu của terpin khoảng 7 min và của biphenyl khoảng 11 min.
Detector ion hóa ngọn lửa.
Nhiệt độ cột ở 120 °C, nhiệt độ của buồng tiêm và detector ở 260 °C.
Thể tích tiêm: 1 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch chuẩn. Độ phân giải giữa pic terpin và biphenyl không được nhỏ hơn 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối giữa các lần tiêm nhắc lại không được lớn hơn 2,0 %. Tiêm dung dịch thử. Tính hàm lượng $C_{10}H_{20}O_2$ theo tỷ lệ diện tích giữa pic của terpin và chuẩn nội có được từ sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn.

Bảo quản
Trong lọ nút kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Tăng tiết dịch khí quản (long đờm).

Chế phẩm
Thường được kết hợp trong các chế phẩm trị ho như: Viên uống terpin benzoat, viên uống terpin codein.

TETRACAIN HYDROCLORID
Tetracaini hydrochloridum



$C_{15}H_{24}N_2O_2.HCl$ P.t.l: 300,8

Tetracain hydroclorid là 2-(dimethylamino)ethyl-4-(butylamino) benzoat hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{15}H_{24}N_2O_2.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng, hơi hút ẩm. Dễ tan trong nước, tan trong ethanol 96 %.
Chảy ở khoảng 148 °C hoặc chảy ở khoảng 134 °C và 139 °C tương ứng với hai dạng tinh thể khác nhau. Hỗn hợp của các dạng này có điểm chảy trong khoảng 134 °C đến 147 °C.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của tetracain hydroclorid chuẩn.
B. Thêm 1 ml dung dịch *amoni thiocyanat (TT)* vào 10 ml dung dịch S (xem Độ trong và màu sắc của dung dịch), tủa kết tinh màu trắng được tạo thành. Tủa này sau khi kết tinh lại từ *nước* và sấy khô ở 80 °C trong 2 h thì chảy ở khoảng 131 °C.
C. Thêm 0,5 ml *acid nitric bốc khói (TT)* vào 5 mg chế phẩm. Bốc hơi đến khô trên cách thủy, để nguội và hòa tan cắn trong 5 ml *aceton (TT).* Thêm 1 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,1 M trong ethanol (TT),* màu tím xuất hiện.
D. Dung dịch S cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Pha loãng 2 ml dung dịch S thành 10 ml bằng *nước*. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Từ 4,5 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).
Pha loãng 1 ml dung dịch S thành 10 ml bằng *nước không có carbon dioxyd (TT)*.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng hoặc bảo quản ở 2 °C đến 8 °C.
Pha động A: hòa tan 1,36 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong *nước*, thêm 0,5 ml *acid phosphoric (TT)* và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*.
Pha động B: *Acetonitril (TT)*.
Hỗn hợp dung môi: Acetonitril - nước (20 : 80).
Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan tetracain chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa tạp chất A, B và C) có trong 1 lọ chuẩn trong 2 ml hỗn hợp dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột: 30 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 300 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 3	80	20
3 - 18	80 → 40	20 → 60
18 - 23	40	60

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo tetracain chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất A, B và C.
Thời gian lưu tương đối so với tetracain (thời gian lưu khoảng 8 min): Tạp chất A khoảng 0,3; tạp chất B khoảng 1,7; tạp chất C khoảng 2,1.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tetracain và pic của tạp chất B ít nhất là 5,0.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của tạp chất B với 0,6; tạp chất C với 0,7.
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Tạp chất B, C: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).
Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Acid 4-aminobenzoic.
Tạp chất B: Acid 4-(butylamino)benzoic.
Tạp chất C: Methyl 4-(butylamino)benzoat.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 12 ml dung dịch S tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 50 ml *ethanol 96 % (TT)* và thêm 5,0 ml *dung dịch acid hydroloric 0,01 N (CĐ)*. Tiến hành định lượng theo phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2) bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Đọc thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* đã tiêu thụ giữa hai điểm uốn.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 30,08 mg $C_{15}H_{24}N_2O_2$.HCl.

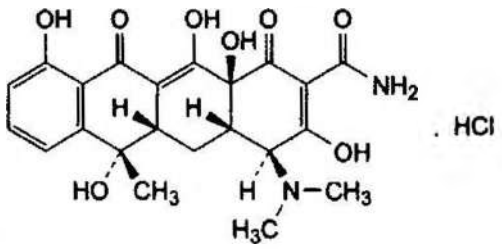
Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Gây tê tại chỗ.

Chế phẩm
Thuốc tiêm, kem, dung dịch dùng tại chỗ.

TETRACYCLIN HYDROCLORID

Tetracyclini hydrochloridum



$C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$ P.t.l: 480,9

Tetracyclin hydroclorid là (4*S*,4a*S*,5a*S*,6*S*,12a*S*)-4-(dimethylamino)-3,6,10,12,12a-pentahydroxy-6-methyl-1,11-dioxo-1,4,4a,5,5a,6,11,12a-octahydrotetracen-2-carboxamid hydroclorid, phải chứa từ 95,0% đến 102,0% $C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu vàng. Tan trong nước, khó tan trong ethanol 96%, thực tế không tan trong aceton, tan trong dung dịch kiềm hydroxyd và carbonat. Dung dịch trong nước bị đục khi để yên do tạo thành kết tủa tetracyclin.

Định tính

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

Bản mỏng: Octadecylsilyl silica gel F_{254}.

Dung môi khai triển: Acetonitril - methanol - dung dịch acid oxalic 6,3 % đã được điều chỉnh đến pH 2,0 bằng *amoniac* (20 : 20 : 60).

Dung dịch thử: Hòa tan 5 mg chế phẩm trong 10 ml *methanol (TT).*

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg tetracyclin hydroclorid chuẩn trong 10 ml *methanol (TT).*

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg tetracyclin hydroclorid chuẩn, 5 mg demeclocyclin hydroclorid chuẩn và 5 mg oxytetracyclin hydroclorid chuẩn trong 10 ml *methanol (TT).*

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 chiều dài bản mỏng. Làm khô bản mỏng ngoài không khí, kiểm tra dưới ánh sáng đèn tử ngoại 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ dung dịch thử phải tương ứng với vết chính của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí và kích thước. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho ba vết tách ra rõ ràng.

B. Thêm 5 ml *acid sulfuric (TT)* vào khoảng 2 mg chế phẩm, màu đỏ tím tạo thành. Thêm 2,5 ml *nước*, dung dịch chuyển sang màu vàng.

C. Chế phẩm cho phản ứng định tính (A) của ion clorid (Phụ lục 8.1).

pH

Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 10 ml *nước không có carbon dioxyd (TT),* pH của dung dịch thu được phải từ 1,8 đến 2,8 (Phụ lục 6.2)

Góc quay cực riêng

Phải từ -240° đến -255° tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Cân 80,0 g *tert-butanol (TT)* vào một cốc có mỏ, chuyển vào bình định mức dung tích 1000 ml, tráng cốc với 200 ml *nước.* Thêm 100 ml *dung dịch dikali hydrophosphat 3,5%* đã được điều chỉnh pH đến 9,0 với *dung dịch acid phosphoric 2 M (TT);* 200 ml *dung dịch tetrabutylamoni hydrosulfat 1,0 %* đã được điều chỉnh đến pH 9,0 với *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)* và 10 ml *dung dịch natri edetat 4,0 %* đã được điều chỉnh đến pH 9,0 với *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT).* Thêm *nước* vừa đủ 1000,0 ml, lọc và đuổi khí.

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25,0 mg tetracyclin hydroclorid chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT),* pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 15,0 mg 4-epitetracylin hydroclorid chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10,0 mg anhydrotetracyclin hydroclorid chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 10,0 mg 4-epianhydro tetracyclin hydroclorid chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (5): Trộn 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1); 2,0 ml dung dịch đối chiếu (2) và 5,0 ml dung dịch đối chiếu (4), pha loãng thành 25,0 ml với *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT).*

Dung dịch đối chiếu (6): Trộn 20,0 ml dung dịch đối chiếu (2), 10,0 ml dung dịch đối chiếu (3) và 5,0 ml dung dịch đối chiếu (4), pha loãng thành 200,0 ml với *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT).*

Dung dịch đối chiếu (7): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (3) thành 50,0 ml với *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT).*

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là *styren-divinylbenzen copolymer* (8 µm).

Nhiệt độ cột: 60 °C.

Detector quang phổ tử ngoại tại bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (5), dung dịch đối chiếu (6) và dung dịch đối chiếu (7).

Kiểm tra tính phù hợp hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5), độ phân giải giữa pic của tạp chất A (4-epitetracyclin, pic thứ nhất) và tetracyclin (pic thứ hai) ít nhất là 2,5; độ phân giải giữa pic tetracycylin và pic của tạp chất D (4-epianhydrotetracyclin, pic thứ ba) ít nhất là 8,0. Điều chỉnh nồng độ của *tert*-butanol trong pha động nếu cần thiết. Tỷ số tín hiệu/độ nhiễu: Ít nhất phải bằng 3 đối với pic chính của dung dịch đối chiếu (7). Hệ số đối xứng: Không được lớn hơn 1,25 đối với pic của tetracyclin trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (5).
Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử:
Diện tích pic của tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic của tạp chất A trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (6) (3,0%)
Diện tích pic của tạp chất B (nằm ở đuôi của pic chính) không được lớn hơn một nửa diện tích pic của tạp chất A trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6) (1,5%).
Diện tích của pic tương ứng với tạp chất C (anhydro-tetracycline) không được lớn hơn diện tích pic của tạp chất C trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (6) (0,5%).
Diện tích của pic tương ứng với tạp chất D không được lớn hơn diện tích pic của tạp chất D trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6) (0,5%).

Kim loại nặng
Không được quá 50 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 0,5 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2,5 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 2,0% (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 60 °C, phosphor pentoxyd, áp suất không quá 670 Pa, 3 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,5% (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

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

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Các điều kiện sắc ký giống như phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1). Tính hàm lượng tetracyclin hydroclorid ($C_{22}H_{24}N_2O_8$.HCl) dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và nồng độ tetracyclin hydroclorid trong dung dịch đối chiếu.

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

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

Loại thuốc
Kháng sinh.

Chế phẩm
Nang, viên nén, mỡ tra mắt.

NANG TETRACYCLIN HYDROCLORID
Capsulae Tetracyclini hydrocloridi

Là nang cứng chứa tetracyclin hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng tetracyclin hydroclorid, $C_{22}H_{24}N_2O_8$.HCl, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

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

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 4,0 % (Phụ lục 9.6).
(Dùng 0,1 g bột thuốc trong nang ở 60 °C, dưới áp suất không quá 5 mmHg, trong 3 h).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy. Giữ cho khoảng cách giữa cánh khuấy và đáy bình là (45 ± 5) mm.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 60 min đối với viên dưới 500 mg, 90 min đối với viên từ 500 mg trở lên.
Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan chế phẩm, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng với môi trường hòa tan để được dung dịch có nồng độ thích hợp nếu cần. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dịch lọc thu được ở bước sóng cực đại 276 nm, trong cốc đo dày 1 cm, dùng dung dịch môi trường hòa tan làm mẫu trắng. So sánh với dung dịch tetracyclin hydroclorid chuẩn có nồng độ tương đương với dung dịch thử pha trong môi trường hòa tan. Tính hàm lượng tetracyclin hydroclorid, $C_{22}H_{24}N_2O_8$.HCl, được hòa tan từ nang dựa vào các độ hấp thụ đo được và hàm lượng của $C_{22}H_{24}N_2O_8$.HCl trong tetracyclin hydroclorid chuẩn.
Yêu cầu: Không được ít hơn 80,0 % (Q) lượng tetracyclin hydroclorid, $C_{22}H_{24}N_2O_8$.HCl, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong thời gian thử quy định.

Giới hạn 4-epianhydrotetracyclin
Không được quá 3,0 %.
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động, dung môi pha loãng và *điều kiện sắc ký* thực hiện như mô tả trong phần Định lượng.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng chất chuẩn 4-epianhydrotetracyclin hydroclorid trong dung môi pha loãng để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 15 µg/ml.

Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn trên và so sánh với sắc ký đồ của dung dịch thử ở phần Định lượng.

Tính hàm lượng % của 4-epianhydrotetracyclin so với lượng tetracyclin hydroclorid có trong nang dựa vào diện tích pic 4-epianhydrotetracyclin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ 4-epianhydrotetracyclin của dung dịch chuẩn.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Dung dịch amoni oxalat 0,1 M - dimethylformamid - dung dịch diamoni hydrophosphat 0,2 M (68 : 27 : 5). Điều chỉnh pH của hỗn hợp từ 7,6 đến 7,7 bằng *dung dịch amoni hydroxyd 3 M (TT)* hoặc *dung dịch acid phosphoric 3 M.*

Dung môi pha loãng: Dung dịch amoni oxalat 0,1 M - dimethylformamid (68 : 27).

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng đã cân chính xác chất chuẩn tetracyclin hydroclorid với dung môi pha loãng và pha loãng từng bước với cùng dung môi để thu được dung dịch có chứa khoảng 0,5 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân 20 nang, tính khối lượng trung bình của bột thuốc trong nang, trộn đều. Cân chính xác một lượng bột thuốc tương ứng với khoảng 50 mg tetracyclin hydroclorid chuyển vào bình định mức 100 ml. Thêm khoảng 50 ml dung môi pha loãng, trộn đều và lắc siêu âm trong khoảng 5 min. Để nguội, pha loãng tới định mức với dung môi pha loãng và lọc.

Dung dịch phân giải: Chuẩn bị một dung dịch trong dung môi pha loãng có chứa 100 µg tetracyclin hydroclorid chuẩn và 25 µg chất chuẩn 4-epianhydrotetracyclin trong 1 ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột bảo vệ (tiền cột) kích thước (3 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh B (10 µm).

Cột phân tích kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh B (5 µm đến 10 µm).

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

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành :

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, thời gian lưu tương đối của 4-epianhydrotetracyclin là 0,9 và tetracyclin là 1,0, hệ số phân giải giữa pic 4-epianhydrotetracyclin và tetracyclin là không dưới 1,2.

Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic tetracyclin hydroclorid trong 6 lần tiêm lặp lại nhỏ hơn 2,0 %.

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

Tính hàm lượng tetracyclin hydroclorid, $C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$, trong nang dựa vào các diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$ trong tetracyclin hydroclorid chuẩn

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô, mát và tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

250 mg (250 000 IU); 500 mg (500 000 IU).

THUỐC MỠ TRA MẮT TETRACYCLIN HYDROCLORID

Unguentum Tetracyclini hydrochloridi

Là thuốc mỡ dùng tra mắt, chứa tetracyclin hydroclorid với tá dược thích hợp.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc mềm dùng trên da và niêm mạc" mục "Thuốc mỡ tra mắt" (Phụ lục 1.12) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng tetracyclin hydroclorid, $C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$, từ 90,0 % đến 125,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Thuốc mỡ màu vàng nhạt đồng nhất, có độ mềm thích hợp, dính được vào niêm mạc và da khi bôi, không tách lớp ở điều kiện bình thường, không chảy lỏng ở 37 °C.

Định tính

A. Lấy khoảng 5 g chế phẩm vào cốc có mỏ, thêm khoảng 5 ml *nước*, đun cách thủy cho tan hết tá dược, khuấy đều bằng một đũa thủy tinh. Để nguội và làm lạnh trong nước đá để cho lớp tá dược đông lại. Gạn lấy lớp nước (dung dịch A) để thử các phản ứng sau:

Lấy 1 ml dung dịch A cho vào một bát sứ, bốc hơi trên cách thủy cho tới khô. Thêm 1 giọt đến 2 giọt *acid sulfuric đậm đặc (TT)* sẽ có màu đỏ tím. Thêm 1 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 3 % (TT)*, màu sẽ chuyển thành nâu hoặc đỏ nâu.

Lấy 2 ml dung dịch A cho vào một ống nghiệm, thêm 1 giọt *dung dịch acid nitric 32 % (TT)* và vài giọt *dung dịch bạc nitrat 2 % (TT)*, sẽ xuất hiện tủa trắng.

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

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)

Pha động: Dung dịch amoni oxalat 0,1 M - dimethylformamid - dung dịch diamoni hydrophosphat 0,2 M (68 : 27 : 5). Điều

chỉnh pH của hỗn hợp từ 7,6 đến 7,7 bằng *dung dịch amoni hydroxyd 3 M (TT)* hoặc *dung dịch acid phosphoric 3 M*.
Dung môi pha loãng: *Dung dịch amoni oxalat 0,1 M - dimethylformamid* (68 : 27).
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng tetracyclin hydroclorid chuẩn, hòa tan trong *methanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 1 mg/ml. Pha loãng 6,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng dung môi pha loãng. Trộn đều.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng chế phẩm tương đương khoảng 0,1 g tetracyclin hydroclorid, cho vào một bình nón nút mài dung tích 100 ml, thêm 20 ml *cyclohexan (TT)*, lắc kỹ. Tiếp tục thêm 35 ml *methanol (TT)*, siêu âm trong 20 min. Gạn, lọc dung dịch vào một bình định mức 100 ml. Tráng bình nón với 40 ml *methanol (TT)*, lọc vào bình định mức, thêm *methanol (TT)* đến vạch, lắc đều. Pha loãng 3,0 ml dung dịch thu được thành 25,0 ml bằng *dung môi pha loãng*. Trộn đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột bảo vệ (tiền cột) kích thước (3 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh B (10 µm).
Cột phân tích kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh B (5 µm đến 10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.
Tốc độ dòng: 2 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic tetracyclin hydroclorid trong 6 lần tiêm lặp lại nhỏ hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng tetracyclin hydroclorid, $C_{22}H_{24}N_2O_8$.HCl, trong chế phẩm thử dựa vào các diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{22}H_{24}N_2O_8$.HCl trong tetracyclin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản
Nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
1 %.

VIÊN NÉN TETRACYCLIN HYDROCLORID
Tabellae Tetracyclini hydrocloridi

Là viên nén chứa tetracyclin hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng tetracyclin hydroclorid, $C_{22}H_{24}N_2O_8$.HCl, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

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

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 4,0 % (Phụ lục 9.6).
(Dùng 0,100 g bột viên ở 60 °C, dưới áp suất không quá 5 mmHg trong 3 h).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy. Giữ cho khoảng cách giữa cánh khuấy và đáy bình là (45 ± 5) mm.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 60 min.
Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan chế phẩm, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng với môi trường hòa tan để được dung dịch có nồng độ thích hợp nếu cần. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dịch lọc thu được ở bước sóng cực đại 276 nm, trong cốc đo dày 1 cm, dùng dung dịch môi trường hòa tan làm mẫu trắng. So sánh với dung dịch tetracyclin hydroclorid chuẩn có nồng độ tương đương với dung dịch thử pha trong môi trường hòa tan.Tính hàm lượng tetracyclin hydroclorid, $C_{22}H_{24}N_2O_8$.HCl, được hòa tan từ viên dựa vào các độ hấp thụ đo được và hàm lượng của $C_{22}H_{24}N_2O_8$.HCl trong tetracyclin hydroclorid chuẩn.
Yên cầu: Không được ít hơn 80,0 % (Q) lượng tetracyclin hydroclorid, $C_{22}H_{24}N_2O_8$.HCl, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 min.

Giới hạn 4-epianhydrotetracyclin
Không được quá 3,0 %.
Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, dung môi pha loãng và *điều kiện sắc ký* thực hiện như mô tả trong phần Định lượng.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng chất chuẩn 4-epianhydrotetracyclin hydroclorid trong dung môi pha loãng để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 15 µg/ml.
Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn trên và so sánh với sắc ký đồ của dung dịch thử ở phần Định lượng.
Tính hàm lượng % của 4-epianhydrotetracyclin so với lượng tetracyclin hydroclorid có trong viên dựa vào diện tích pic 4-epianhydrotetracyclin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ 4-epianhydrotetracyclin của dung dịch chuẩn.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch amoni oxalat 0,1 M - dimethylformamid - dung dịch diamoni hydrophosphat 0,2 M (68 : 27 : 5).

Điều chỉnh pH của hỗn hợp từ 7,6 đến 7,7 bằng *dung dịch amoni hydroxyd 3 M (TT)* hoặc *dung dịch acid phosphoric 3 M.*

Dung môi pha loãng: Dung dịch amoni oxalat 0,1 M - dimethylformamid (68 : 27).

Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng đã cân chính xác tetracyclin hydroclorid chuẩn với dung môi pha loãng và pha loãng từng bước với cùng dung môi để thu được dung dịch có chứa khoảng 0,5 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg tetracyclin hydroclorid chuyển vào bình định mức 100 ml. Thêm khoảng 50 ml dung môi pha loãng, trộn đều và lắc siêu âm trong khoảng 5 min. Để nguội, pha loãng tới định mức với dung môi pha loãng và lọc.

Dung dịch phân giải: Chuẩn bị một dung dịch trong dung môi pha loãng có chứa 100 µg tetracyclin hydroclorid và 25 µg chất chuẩn 4-epianhydrotetracyclin hydroclorid trong 1 ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột bảo vệ (tiền cột) kích thước (3 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh B (10 µm).

Cột phân tích kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh B (5 µm đến 10 µm).

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

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, thời gian lưu tương đối của 4-epianhydrotetracyclin là 0,9 và tetracyclin là 1,0. Hệ số phân giải giữa pic 4-epianhydro tetracyclin và tetracyclin là không dưới 1,2.

Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic tetracyclin hydroclorid trong 6 lần tiêm lặp lại nhỏ hơn 2,0 %.

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

Tính hàm lượng tetracyclin hydroclorid, $C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$, trong viên dựa vào các diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{22}H_{24}N_2O_8.HCl$ trong tetracyclin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản

Trong bao bì kín. Để nơi khô, mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng

0,125 g (125 000 IU); 0,25 g (250 000 IU).

THAN HOẠT TÍNH

Carbo activatus

Than hoạt tính là chất có khả năng hấp phụ cao, thu được từ quá trình than hóa thích hợp các chất có nguồn gốc thực vật.

Tính chất

Bột nhẹ, màu đen, rất xốp. Thực tế không tan trong các dung môi thông thường.

Định tính

A. Khi đốt đến nóng đỏ, chế phẩm cháy chậm và không thành ngọn lửa.

B. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Khả năng hấp phụ.

Dung dịch S: Lấy 2,0 g chế phẩm vào một bình nón nút mài, thêm 50 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT).* Đun sôi nhẹ dưới ống sinh hàn hồi lưu trong 1 h, lọc và rửa phễu lọc bằng *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT).* Gộp dịch lọc và nước rửa rồi bốc hơi đến khô trên cách thủy, hòa tan cắn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 40 ml *nước* vào 2,0 g chế phẩm và đun sôi trong 5 min. Để nguội, hoàn lại thể tích ban đầu bằng *nước không có carbon dioxyd (TT)* và lọc. Bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Thêm vào 10 ml dịch lọc 0,25 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)* và 0,25 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,02 M (CĐ),* dung dịch phải có màu xanh. Màu của chỉ thị phải chuyển sang vàng khi thêm không quá 0,75 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,02 M (CĐ).*

Chất tan trong acid

Không được quá 3 %.

Thêm 25 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)* vào 1,0 g chế phẩm và đun sôi trong 5 min. Lọc nóng qua phễu lọc thủy tinh xốp số 10 và rửa bằng 10 ml *nước* nóng. Gộp dịch chiết và nước rửa, bốc hơi đến khô trên cách thủy, thêm vào cắn 1 ml *acid hydrocloric (TT),* bốc hơi lại đến khô và sấy cắn đến khối lượng không đổi ở 100 °C đến 105 °C. Khối lượng cắn không được quá 30 mg.

Chất màu tan trong kiềm

Thêm 10 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* vào 0,25 g chế phẩm và đun sôi trong một min. Để nguội, lọc và pha loãng dịch lọc thành 10 ml bằng *nước.* Dung dịch không được có màu đậm hơn màu mẫu VL_4 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Chất tan trong ethanol

Không được quá 0,5 %.

Thêm 50 ml *ethanol 96 % (TT)* vào 2,0 g chế phẩm và đun sôi dưới ống sinh hàn hồi lưu trong 10 min. Lọc ngay, để nguội và pha loãng thành 50 ml bằng *ethanol 96 % (TT).* Dịch lọc này không được có màu đậm hơn màu mẫu V_6 hoặc VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2). Bốc hơi 40 ml

dịch lọc đến khô và sấy cắn đến khối lượng không đổi ở 100 °C đến 105 °C. Khối lượng cắn không được quá 8 mg.

Chất huỳnh quang
Chiết 10,0 g chế phẩm với 100 ml *cyclohexan (TT)* trong 2 h trong bộ chiết Soxhlet. Lấy phần dung dịch và pha loãng thành 100 ml bằng *cyclohexan (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Huỳnh quang của dung dịch này không được đậm hơn dung dịch chứa 83 µg *quinin* trong 1000 ml *dung dịch acid sulfuric 0,005 M (CĐ)* được quan sát trong cùng điều kiện.

Sulfid
Lấy 1,0 g chế phẩm vào trong một bình nón, thêm 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT)* và 20 ml *nước*. Đun đến sôi. Khí giải phóng ra không được làm *giấy tẩm chì acetat (TT)* chuyển thành màu nâu.

Đồng
Không được quá 25 phần triệu.
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Dùng dung dịch S.
Dung dịch đối chiếu: Chuẩn bị các dung dịch đối chiếu bằng cách pha loãng *dung dịch đồng mẫu 0,1 % Cu (TT)* bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 325,0 nm, sử dụng đèn cathod rỗng đồng làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - acetylen.

Chì
Không được quá 10 phần triệu.
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Dùng dung dịch S.
Dung dịch đối chiếu: Chuẩn bị các dung dịch đối chiếu bằng cách pha loãng *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb (TT)* bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 283,3 nm, sử dụng đèn cathod rỗng chì làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - acetylen. Tùy thuộc vào máy, có thể sử dụng vạch ở bước sóng 217,0 nm.

Kẽm
Không được quá 25 phần triệu.
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Dùng dung dịch S.
Dung dịch đối chiếu: Chuẩn bị các dung dịch đối chiếu bằng cách pha loãng *dung dịch kẽm mẫu 100 phần triệu Zn (TT)* bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 214,0 nm, sử dụng đèn cathod rỗng kẽm làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - acetylen.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 15 % (Phụ lục 9.6).
(1,00 g; 120 °C; 4 h).

Tro sulfat
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Khả năng hấp phụ
Lấy 0,300 g chế phẩm vào trong một bình nón nút mài dung tích 100 ml, thêm 25,0 ml dung dịch mới pha có chứa 0,5 g *phenazon (TT)* trong 50 ml *nước*. Lắc kỹ trong 15 min. Lọc và bỏ 5 ml dịch lọc đầu. Lấy 10,0 ml dịch lọc, thêm 1,0 g *kali bromid (TT)*, 20 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và 0,1 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)*, chuẩn độ bằng *dung dịch kali bromat 0,1 N (CĐ)* đến khi mất màu đỏ. Gần điểm kết thúc chuẩn độ, chuẩn độ chậm (1 giọt trong 15 s). Song song tiến hành làm mẫu trắng, dùng 10,0 ml dung dịch phenazon ở trên.
Tính khối lượng phenazon đã được hấp phụ bởi 100 g than hoạt tính theo công thức:

$$\frac{2{,}353 \times (a - b)}{m}$$

Trong đó:
a là số ml *dung dịch kali bromat 0,1 N (CĐ)* đã dùng cho mẫu trắng.
b là số ml *dung dịch kali bromat 0,1 N (CĐ)* đã dùng cho mẫu thử.
m là khối lượng chế phẩm tính ra gam.

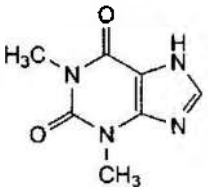
100 g than hoạt tính (tính theo chế phẩm đã làm khô) hấp phụ không ít hơn 40 g phenazon.

Giới hạn nhiễm khuẩn
Tổng số vi sinh vật hiếu khí không được quá 10^3 CFU/g, xác định bằng phương pháp đĩa thạch (Phụ lục 13.6).

Bảo quản
Trong chai lọ kín.

Loại thuốc
Chất hấp phụ.

THEOPHYLIN
Theophyllinum



$C_7H_8N_4O_2$ P.t.l.: 180,2

$C_7H_8N_4O_2.H_2O$ P.t.l.: 198,2

Theophylin là 1,3-dimethyl-3,7 dihydro-1*H*-purin-2,6-dion ở dạng ngậm một phân tử nước hoặc khan, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_7H_8N_4O_2$, tính theo chế phẩm khan với dạng ngậm nước và tính theo chế phẩm đã làm khô với dạng khan.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng. Khó tan trong nước, hơi tan trong ethanol 96 %, tan trong các dung dịch hydroxyd kiềm, amoniac và các acid vô cơ.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm (nếu chế phẩm ngậm nước thì sấy ở 100 °C đến 105 °C trước khi đo) phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của theophylin chuẩn.
B. Điểm chảy (Phụ lục 6.7) của chế phẩm sau khi sấy khô ở 100 °C đến 105 °C, ở trong khoảng 270 °C đến 274 °C.
C. Đun 10 mg chế phẩm với 1,0 ml *dung dịch kali hydroxyd 36 %* trong cách thủy ở 90 °C trong 3 min, sau đó thêm 1,0 ml *dung dịch acid sulfanilic đã được diazo hóa (TT)*. Màu đỏ xuất hiện chậm. Thực hiện một mẫu trắng.
D. Chế phẩm phải đạt yêu cầu của phép thử Mất khối lượng do làm khô (với dạng khan) và phép thử Nước (với dạng ngậm nước).
E. Chế phẩm phải cho phản ứng của nhóm xanthin (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* bằng cách đun nóng, để nguội và pha loãng thành 75 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid
Thêm 0,1 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)* vào 50 ml dung dịch S, dung dịch có màu đỏ. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)* cần dùng để chuyển dung dịch sang màu vàng không quá 1,0 ml.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril dùng cho sắc ký - dung dịch A (7 : 93).
Dung dịch A: Dung dịch *natri acetat (TT)* 0,136 % có chứa *acid acetic băng (TT)* 5,0 ml/L.
Dung dịch thử: Hòa tan 40,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg *theobromin (TT)* trong pha động, thêm 5 ml dung dịch thử và pha loãng thành 100 ml bằng pha động. Pha loãng 5 ml dung dịch thu được thành 50 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (7 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 272 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 3,5 lần thời gian lưu của theophylin.
Thời gian lưu tương đối so với theophylin (thời gian lưu khoảng 6 min): Tạp chất C khoảng 0,3; tạp chất B khoảng 0,4; tạp chất D khoảng 0,5; tạp chất A khoảng 2,5.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic theobromin và pic theophylin ít nhất là 2,0.
Giới hạn:
Tạp chất A, B, C, D: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).
Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 1,3,7-trimethyl-3,7-dihydro-1*H*-purin-2,6-dion (caffein).
Tạp chất B: 3-methyl-3,7-dihydro-1*H*-purin-2,6-dion.
Tạp chất C: *N*-(6-amino-1,3-dimethyl-2,4-dioxo-1,2,3,4-tetrahydro pyrimidin-5-yl)formamid.
Tạp chất D: *N*-methyl-5-(methylamino)-1*H*-imidazol-4-carboxamid (theophylidin).
Tạp chất E: 1,3-dimethyl-7,9-dihydro-1*H*-purin-2,6,8(3*H*)-trion.
Tạp chất F: 7-(2-hydroxyethyl)-1,3-dimethyl-3,7-dihydro-1*H*-purin-2,6-dion (etofylin).

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
(Áp dụng với chế phẩm dạng khan).
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Nước
Áp dụng với chế phẩm dạng ngậm nước.
Từ 8,0 % đến 9,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,20 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,150 g chế phẩm dạng khan hoặc 0,160 g chế phẩm dạng ngậm nước trong 100 ml *nước*, thêm 20 ml

dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ) và lắc. Thêm 1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT_1)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 18,02 mg $C_7H_8N_4O_2$.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Ức chế phosphodiesterase không chọn lọc; Giãn phế quản.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN THEOPHYLIN
Tabellae Theophyllini

Là viên nén chứa theophylin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng theophylin, $C_7H_8N_4O_2$, từ 94,0 % đến 106,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic theophylin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
B. Lắc kỹ một lượng bột viên tương ứng 0,2 g theophylin với 10 ml hỗn hợp gồm 60 thể tích *cloroform (TT)* và 40 thể tích *methanol (TT)*, lọc và bốc hơi dịch lọc đến khô. Cắn thu được phải cho phản ứng của nhóm xanthin (Phụ lục 8.1).

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc với *nước* (nếu cần), đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 272 nm, trong cốc đo dày 1 cm, dùng *nước* làm mẫu trắng. So sánh với dung dịch theophylin chuẩn có nồng độ tương đương với dung dịch thử, pha trong *nước*.
Tính hàm lượng theophylin được hòa tan dựa vào các độ hấp thụ đo được và hàm lượng $C_7H_8N_4O_2$ của theophylin chuẩn.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng theophylin so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

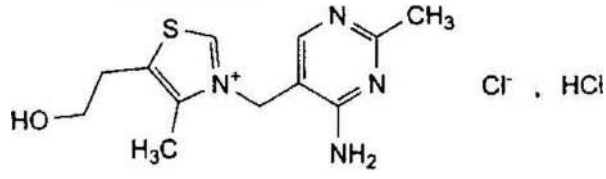
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Nước - methanol (75 : 25). Điều chỉnh tỉ lệ nếu cần.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 100 mg theophylin vào bình định mức dung tích 100 ml, thêm 1 ml *methanol (TT)*, lắc đều và thêm 50 ml *nước*. Lắc siêu âm 10 min để hòa tan, pha loãng bằng *nước* đến vạch, lắc đều và lọc. Hút 5,0 ml dịch lọc vào bình định mức 50 ml, pha loãng bằng *nước* vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch theophylin chuẩn 0,01 % trong *nước*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 270 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Hệ số đối xứng của pic theophylin không được lớn hơn 2 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic trong 6 lần tiêm lặp lại không được quá 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng, $C_7H_8N_4O_2$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic theophylin trong dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_7H_8N_4O_2$ của theophylin chuẩn.

Bảo quản
Đựng trong bao bì kín.

Loại thuốc
Thuốc giãn phế quản nhóm xanthin.

Hàm lượng thường dùng
100 mg.

THIAMIN HYDROCLORID
Thiamini hydrochloridum



$C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$ P.t.l: 337,3

Thiamin hydroclorid là 3-[(4-amino-2-methylpyrimidin-5-yl) methyl]-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazol clorid hydroclorid, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Tinh thể không màu hoặc bột kết tinh trắng hay gần như trắng. Dễ tan trong nước, tan trong glycerin, khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, C.

Nhóm II: B, C.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của thiamin hydroclorid chuẩn. Nếu phổ hồng ngoại ở trạng thái rắn của mẫu thử và chuẩn khác nhau thì hòa tan riêng rẽ chế phẩm và chuẩn trong *nước*, bốc hơi tới cắn rồi tiến hành ghi lại phổ của cắn mới.

B. Hòa tan khoảng 20 mg chế phẩm trong 10 ml *nước*, thêm 1 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)* và 1,6 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, đun nóng trên cách thủy 30 min, để nguội. Thêm 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, 10 ml *dung dịch kali fericyanid 5 % (TT)* và 10 ml *n-butanol (TT)*, lắc mạnh 2 min. Lớp butanol ở trên cho huỳnh quang xanh lam rõ, đặc biệt khi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm.

Làm lại phản ứng nhưng dùng 0,9 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* và 0,2 g *natri sulfit (TT)* thay cho 1,6 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, lớp butanol không có huỳnh quang.

C. Chế phẩm cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Pha loãng 2,5 ml dung dịch S thành 5 ml bằng *nước*. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm hơn dung dịch màu mẫu V_7 hay VL_7 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Từ 2,7 đến 3,3 (Phụ lục 6.2).

Pha loãng 2,5 ml dung dịch S thành 10 ml bằng *nước*.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Dung dịch natri hexansulfonat 0,3764 % đã được chỉnh đến pH 3,1 bằng *acid phosphoric (TT)* .

Pha động B: Methanol (TT_2).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,35 g chế phẩm trong 15,0 ml dung dịch chứa 5 % (tt/tt) *acid acetic băng (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan thiamin chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa tạp chất A, B và C) có trong một lọ chuẩn trong 1,0 ml dung dịch chứa 0,75 % (tt/tt) *acid acetic băng (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *nước*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng *nước*.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).

Nhiệt độ cột: 45 °C.

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 248 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 25 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 2	90	10
2 - 27	90 → 70	10 → 30
27 - 35	70 → 50	30 → 50
35 - 42	50	50

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo thiamin chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) để xác định pic của tạp chất A, B và C.

Thời gian lưu tương đối của so với pic thiamin (khoảng 30 min): Tạp chất A khoảng 0,3, tạp chất B khoảng 0,9, tạp chất C khoảng 1,2.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic tạp chất B và pic thiamin ít nhất là 3,0 và độ phân giải giữa pic thiamin và pic tạp chất C ít nhất là 2,0.

Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử

Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %).

Tạp chất A, C: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,15 %).

Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).

Tổng diện tích các pic tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: 3-[(4-amino-2-methylpyrimidin-5-yl) methyl]-4-methyl-5-[2-(sulphonatooxy) ethyl]thiazol (ester thiamin sulfat).

Tạp chất B: 3-[(4-aminopyrimidin-5-yl)methyl]-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazol (desmethylthiamin).

Tạp chất C: 3-[(4-amino-2-methylpyrimidin-5-yl)-methyl]-5-(2-cloroethyl)-4-methylthiazol (clorothiamin).

Tạp chất D: 3-[(4-amino-2-methylpyrimidin-5-yl)methyl]-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazol-2(3*H*)-on (oxothiamin)

Tạp chất E: 3-[(4-amino-2-methylpyrimidin-5-yl) methyl]-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazol-2(3*H*)-thion (thioxothiamin).

Tạp chất F: 3-[(4-amino-2-ethylpyrimidin-5-yl)-methyl]-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazol (ethylthiamin).

Tạp chất G: 5-[2-(acetyloxy)ethyl]-3-[(4-amino-2-methylpyrimidin-5-yl)methyl]-4-methylthiazol (acetylthiamin).

Tạp chất H: (3*RS*)-3-[[[(4-amino-2-methylpyrimidin-5-yl)methyl] thiocarbamoyl]sulphanyl]-4-oxopentyl acetat (ketodithiocarbamat).

Sulfat
Không được quá 0,03 % (Phụ lục 9.4.14).
Pha loãng 5 ml dung dịch S thành 15 ml bằng *nước cất* để thử.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 12 ml dung dịch S để thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,400 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,110 g chế phẩm trong 5 ml *acid formic khan (TT)*, thêm 50 ml *anhydrid acetic (TT)*. Chuẩn độ ngay bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2), thời gian chuẩn độ trong vòng 2 min. Làm mẫu trắng song song trong cùng điều kiện.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 16,86 mg $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$.

Bảo quản
Trong bao bì kín (không làm bằng kim loại), tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Vitamin nhóm B.

Chế phẩm
Viên nén, thuốc tiêm.

THUỐC TIÊM THIAMIN HYDROCLORID
Injectio Thiamini hydrochloridi
Thuốc tiêm vitamin B_1

Là dung dịch vô khuẩn của thiamin hydroclorid trong nước để pha thuốc tiêm.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng thiamin hydroclorid, $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$, từ 95,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu.

Định tính
A. Lấy một thể tích chế phẩm tương ứng với khoảng 20 mg thiamin hydroclorid, pha loãng với *nước* thành 10 ml. Tiếp tục tiến hành như mô tả ở phép thử định tính B trong chuyên luận "Thiamin hydroclorid", bắt đầu từ "thêm 1 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)*...".
B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic thiamin hydroclorid trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.
C. Chế phẩm cho phản ứng (A) của ion clorid (Phụ lục 8.1).

pH
Từ 2,5 đến 4,0 (Phụ lục 6.2).

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 3,5 EU/mg thiamin hydroclorid (Phụ lục 13.2).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 1 g *natri heptan sulfonat (TT)* trong hỗn hợp gồm 180 ml *methanol (TT)* và 10 ml *triethylamin (TT)*, pha loãng với *nước* thành 1000 ml. Điều chỉnh tới pH 3,2 với *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch thiamin hydroclorid chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,005 M (TT)*, có nồng độ chính xác khoảng 0,05 mg/ml.
Dung dịch thử: Lấy chính xác một thể tích chế phẩm tương ứng với khoảng 100 mg thiamin hydroclorid, pha loãng với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* thành 100,0 ml, lắc đều. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với *nước*, lắc đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (10 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 244 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng thiamin hydroclorid, $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$, trong thuốc tiêm dựa vào diện tích (hay chiều cao) pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và nồng độ $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$ của dung dịch chuẩn.

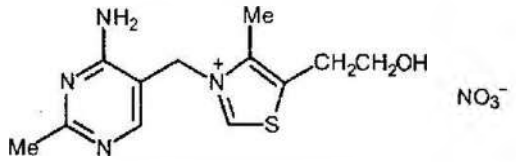
Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Vitamin.

Hàm lượng thường dùng
2,5 %.

THIAMIN NITRAT

Thiamini mononitras



$C_{12}H_{17}N_5O_4S$ P.t.l: 327,4

Thiamin nitrat là 3-[(4-amino-2-methylpyrimidin-5-yl) methyl]-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazol nitrat, phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $C_{12}H_{17}N_5O_4S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hay gần như trắng hoặc tinh thể nhỏ không màu. Hơi tan trong nước, dễ tan trong nước sôi, khó tan trong ethanol 96 % và methanol.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, C.

Nhóm II: B, C.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của thiamin nitrat chuẩn.

B. Hòa tan khoảng 20 mg chế phẩm trong 10 ml *nước*, thêm 1 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)* và 1,6 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, đun nóng trên cách thủy 30 min, để nguội. Thêm 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, 10 ml *dung dịch kali fericyanid 5 % (TT)* và 10 ml *n-butanol (TT)*, lắc mạnh 2 min. Lớp butanol ở trên cho huỳnh quang xanh lam rõ, đặc biệt khi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Làm lại phản ứng nhưng dùng 0,9 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* và 0,2 g *natri sulfit (TT)* thay cho 1,6 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, lớp butanol không có huỳnh quang.

C. 5 mg chế phẩm cho phản ứng đặc trưng của ion nitrat (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu của màu mẫu V_7 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

pH của dung dịch S phải từ 6,8 đến 7,6 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Dung dịch *natri hexansulfonat (TT)* 0,3764 % đã được chỉnh đến pH 3,1 bằng *acid phosphoric (TT)*.

Pha động B: Methanol dùng cho sắc ký lỏng (TT).

Dung dịch thử: Hòa tan 0,35 g chế phẩm trong 15,0 ml dung dịch chứa 5 % (tt/tt) *acid acetic băng (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan thiamin chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa tạp chất A, B và C) có trong một lọ chuẩn trong 1,0 ml dung dịch chứa 0,75 % (tt/tt) *acid acetic băng (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *nước*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng *nước*.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).

Nhiệt độ cột: 45 °C.

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 248 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 25 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 2	90	10
2 - 27	90 → 70	10 → 30
27 - 35	70 → 50	30 → 50
35 - 42	50	50

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo thiamin chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) để xác định pic của tạp chất A, B và C.

Thời gian lưu tương đối của so với pic thiamin (khoảng 30 min): Tạp chất A khoảng 0,3, tạp chất B khoảng 0,9, tạp chất C khoảng 1,2.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic tạp chất B và pic thiamin ít nhất là 3,0 và độ phân giải giữa pic thiamin và pic tạp chất C ít nhất là 2,0.

Giới hạn: Trên sắc ký đồ của dung dịch thử

Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B không được lớn hơn 6 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,6 %).

Tạp chất C: Diện tích pic tạp chất C không được lớn hơn 4 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,4 %).

Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 1,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,15 %).

Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,10 %).

Tổng diện tích các pic tạp chất không được lớn hơn 10 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (1,0 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: 3-[(4-amino-2-methylpyrimidin-5-yl)-methyl]-4-methyl-5-[2-(sulphonatooxy)ethyl]thiazol (ester thiamin sulfat).

Tạp chất B: 3-[(4-aminopyrimidin-5-yl)methyl]-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazol (desmethylthiamin).

Tạp chất C: 3-[(4-amino-2-methylpyrimidin-5-yl)-methyl]-5-(2-cloroethyl)-4-methylthiazol (cloro-thiamin).

Tạp chất E: 3-[(4-amino-2-methylpyrimidin-5-yl)-methyl]-5-(2-hydroxyethyl)-4-methylthiazol-2(3H)-thion (thioxothiamin).

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 4. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Định lượng

Hòa tan 0,140 g chế phẩm trong 5 ml *acid formic khan (TT)*, thêm 50 ml *anhydrid acetic (TT)*. Chuẩn độ ngay bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2), thời gian chuẩn độ trong vòng 2 min. Làm mẫu trắng song song trong cùng điều kiện.

1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 16,37 mg $C_{12}H_{17}N_5O_4S$.

Bảo quản

Trong đồ đựng kín (không làm bằng kim loại), tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Vitamin B_1.

Chế phẩm

Viên nén, thuốc tiêm.

VIÊN NÉN THIAMIN

Tabellae Thiamini

Viên nén vitamin B_1

Là viên nén hoặc viên nén bao phim chứa thiamin hydroclorid hay thiamin nitrat.

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

Hàm lượng thiamin hydroclorid, $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$ hay **thiamin nitrat,** $C_{12}H_{17}N_5O_4S$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

Cân một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg vitamin B_1, thêm 25 ml *nước*, lắc kỹ, lọc (dung dịch A).

A. Lấy 10 ml dung dịch A, tiếp tục tiến hành như mô tả ở phép thử định tính B trong chuyên luận "Thiamin hydroclorid", bắt đầu từ "thêm 1 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)*...".

B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic thiamin hydroclorid (hoặc thiamin nitrat) trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.

C. Dung dịch A cho phản ứng (A) của ion clorid (Phụ lục 8.1) hoặc phản ứng (A) của ion nitrat (Phụ lục 8.1).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 1 g *natri heptan sulfonat (TT)* trong hỗn hợp gồm 180 ml *methanol (TT)* và 10 ml *triethylamin (TT)*, pha loãng với *nước* thành 1000 ml. Điều chỉnh tới pH 3,2 với *acid phosphoric (TT)*.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch thiamin hydroclorid chuẩn hay thiamin nitrat chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,005 M (TT)*, có nồng độ chính xác khoảng 0,05 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân 20 viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 100 mg thiamin hydroclorid hay thiamin nitrat, thêm 70 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,005 M (TT)*, để siêu âm 10 min, pha loãng với *dung dịch acid hydrocloric 0,005 M (TT)* thành 100,0 ml, lắc đu. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc với *dung dịch acid hydrocloric 0,005 M (TT)* thành 100,0 ml, lắc đều.

Điều kiện sắc ký:

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

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 244 nm.

Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

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

Tính hàm lượng thiamin hydroclorid, $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$, hay thiamin nitrat, $C_{12}H_{17}N_5O_4S$ trong viên dựa vào diện tích (hay chiều cao) của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và nồng độ $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$ hay $C_{12}H_{17}N_5O_4S$ của dung dịch chuẩn.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Vitamin.

Hàm lượng thường dùng

10 mg.

VIÊN NÉN VITAMIN B_1, B_6 VÀ B_{12}

Tabellae Vitamini B_1, B_6 et B_{12}

Là viên nén bao chứa thiamin hydroclorid (hoặc thiamin nitrat), pyridoxin hydroclorid và cyanocobalamin.

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

Hàm lượng thiamin hydroclorid, $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$, hoặc **thiamin nitrat,** $C_{12}H_{17}N_5O_4S$, từ 90,0 % đến 120,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng pyridoxin hydroclorid, $C_8H_{11}NO_3.HCl$, từ 90,0 % đến 120,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng cyanocobalamin, $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$, từ 90,0 % đến 150,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

A. Trong phần Định lượng vitamin B_1 và B_6, thời gian lưu của hai pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải tương đương với thời gian lưu của pic thiamin và pic pyridoxin trong sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.

B. Trong phần Định lượng vitamin B_{12}, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải tương đương với thời gian lưu của pic cyanocobalamin trên sắc ký đồ thu được của dung dịch chuẩn.

Định lượng

Định lượng vitamin B_1 và B_6

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hòa tan 1,40 g *natri 1-hexansulfonat (TT)* trong 1000 ml hỗn hợp *nước - methanol - acid acetic băng* (73 : 27 : 1). Điều chỉnh pha động, nếu cần.

Dung môi pha mẫu: Hỗn hợp *nước - acetonitril - acid acetic băng* (94 : 5 : 1).

Dung dịch chuẩn: Dung dịch vitamin chuẩn trong dung môi pha mẫu có nồng độ chính xác khoảng 0,05 mg thiamin hydroclorid (hay thiamin nitrat) trong 1 ml và 0,05 mg pyridoxin hydroclorid trong 1 ml.

Dung dịch thử: Loại bỏ lớp vỏ bao. Cân 20 viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg pyridoxin hydroclorid vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml dung môi pha mẫu, lắc kỹ trong 15 min, thêm dung môi pha mẫu đến định mức, lắc đều. Lọc, loại bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 50,0 ml với dung môi pha mẫu.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm).

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

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic chính (riêng biệt) trên sắc ký đồ thu được trong 6 lần tiêm lặp lại không được quá 3,0 %.

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

Tính hàm lượng thiamin hydroclorid ($C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$), hoặc thiamin nitrat ($C_{12}H_{17}N_5O_4S$), và pyridoxin hydroclorid ($C_8H_{11}NO_3.HCl$) trong viên dựa vào diện tích (hay chiều cao) pic thiamin và pic pyridoxin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử, nồng độ $C_{12}H_{17}ClN_4OS.HCl$ (hay $C_{12}H_{17}N_5O_4S$) và $C_8H_{11}NO_3.HCl$ của dung dịch chuẩn.

Định lượng vitamin B_{12}

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp *methanol - nước* (35 : 65). Điều chỉnh pha động, nếu cần.

Dung dịch chuẩn: Dung dịch cyanocobalamin chuẩn có nồng độ chính xác khoảng 10 µg/ml.

Dung dịch thử: Loại bỏ lớp vỏ bao. Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 250 µg cyanocobalamin vào bình 50 ml, thêm 25,0 ml *nước*, lắc kỹ trong 15 min (hay để siêu âm 5 min), lọc (hay ly tâm). Sử dụng dịch lọc (hay dịch trong ở trên).

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại khả kiến đặt ở bước sóng 550 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, phép thử chỉ có giá trị khi độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được trong 6 lần tiêm lặp lại không được quá 3,0 %.

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

Tính hàm lượng cyanocobalamin, $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$, trong viên dựa vào diện tích (hay chiều cao) pic cyanocobalamin thu được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$ của dung dịch chuẩn.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

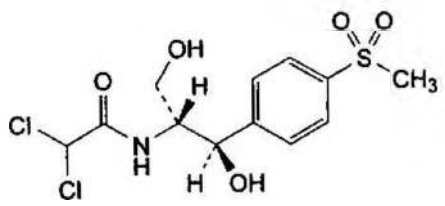
Loại thuốc

Vitamin.

Hàm lượng thường dùng

Vitamin B_1 125 mg, vitamin B_6 125 mg và vitamin B_{12} 125 µg.

THIAMPHENICOL
Thiamphenicolum



$C_{12}H_{15}Cl_2NO_5S$ P.t.l: 356,2

Thiamphenicol là 2,2-dicloro-*N*-[(1*R*,2*R*)-2-hydroxy-1-(hydroxymethyl)-2-[4-(methylsulfonyl)phenyl]ethyl] acetamid, phải chứa từ 98,0 % đến 100,5 % $C_{12}H_{15}Cl_2NO_5S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh hoặc tinh thể mịn, màu trắng hoặc màu trắng hơi vàng. Khó tan trong nước và ethyl acetat, rất tan trong dimethylacetamid, dễ tan trong acetonitril và dimethyl formamid, tan trong methanol, hơi tan trong aceton và ethanol khan.
Dung dịch trong ethanol khan có góc quay cực hữu tuyền và dung dịch trong dimethylformamid có góc quay cực tả tuyền.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của thiamphenicol chuẩn. Sấy chế phẩm và chất chuẩn ở 100 °C đến 105 °C trong 2 h và chuẩn bị mẫu theo phương pháp viên nén (đĩa halid), dùng *kali bromid tinh khiết IR (TT)*.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi khai triển: *Methanol - ethyl acetat* (3 : 97).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hoà tan 0,1 g thiamphenicol chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm. Lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
C. Cho 50 mg chế phẩm vào chén nung sứ, thêm 0,5 g *natri carbonat khan (TT)*. Đốt trên ngọn lửa trong 10 min. Để nguội. Hòa cắn bằng 5 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* và lọc. Thêm 1 ml *nước* vào 1 ml dịch lọc, dung dịch phải cho phản ứng định tính (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Giới hạn acid - kiềm
Lắc 0,1 g chế phẩm với 20 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* và thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)*. Lượng *dung dịch acid hydrocloric 0,02 N (CĐ)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)* cần để chuyển màu của chỉ thị không được quá 0,1 ml.

Góc quay cực riêng
Từ -21° đến -24°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4)
Hòa tan 1,25 g chế phẩm trong *dimethylformamid (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Điểm chảy
Từ 163 °C đến 167 °C (Phụ lục 6.7).

Độ hấp thụ ánh sáng
Dung dịch thử (1): Hòa tan 20 mg chế phẩm trong *nước*, đun nóng đến khoảng 40 °C, pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử (1) thành 100,0 ml với *nước*.
Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử (1) ở khoảng bước sóng từ 240 nm đến 300 nm, dung dịch có 2 cực đại hấp thụ, ở bước sóng 266 nm và 273 nm. Độ hấp thụ riêng ở các bước sóng cực đại này lần lượt phải từ 25 đến 28 và từ 21,5 đến 23,5. Đo độ hấp thụ của dung dịch thử (2) ở khoảng bước sóng từ 200 nm đến 240 nm, dung dịch có cực đại hấp thụ ở bước sóng 224 nm. Độ hấp thụ riêng ở bước sóng cực đại hấp thụ này phải từ 370 đến 400.

Clorid
Không được quá 200 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).
Lắc 0,5 g chế phẩm với 30 ml *nước* trong 5 min và lọc.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3.
Dùng 1 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 2,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong 30 ml *ethanol 96 % (TT)*, thêm 20 ml *dung dịch kali hydroxyd 50 % (TT)*, lắc đều và đun hồi lưu trong 4 h. Làm lạnh, thêm 100 ml *nước*, trung hòa bằng *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* và thêm dư 5 ml acid. Chuẩn độ bằng *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2), sử dụng điện cực chỉ thị bạc và điện cực so sánh thủy ngân sulfat hoặc điện cực thích hợp khác. Tiến hành mẫu trắng trong cùng điều kiện.
1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 17,81 mg $C_{12}H_{15}Cl_2NO_5S$.

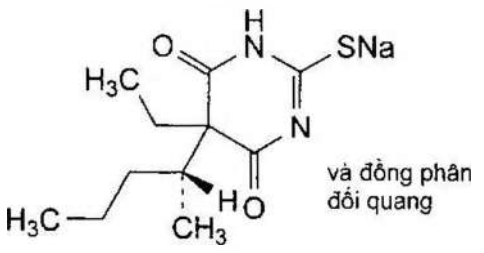
Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm cloramphenicol.

THIOPENTAL NATRI

Thiopentalum natritricum

Thiopental natri và natricarbonat



$C_{11}H_{17}N_2NaO_2S$ P.t.l: 264,3

Thiopental natri là hỗn hợp của natri 5-ethyl-5-[(1*RS*)-1-methylbutyl]-4,6-dioxo-1,4,5,6-tetrahydropyrimidin-2-thiolat và natri carbonat khan, phải chứa từ 84,0 % đến 87,0 % $C_{11}H_{18}N_2O_2S$ và từ 10,2 % đến 11,2 % Na, cả hai đều tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột trắng hơi vàng, hút ẩm. Dễ tan trong nước, tan một phần trong ethanol khan.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B, E.
Nhóm II: B, C, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn thu được ở phép thử B phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của thiopental chuẩn.
B. Acid hóa 10 ml dung dịch S (xem Độ trong và màu sắc của dung dịch) bằng *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*, dung dịch sủi bọt. Lắc dung dịch thu được với 20 ml *1,1-dimethylethyl methyl ether (TT)*. Tách lấy lớp ether, rửa với 10 ml *nước*, làm khan bằng *natri sulfat khan (TT)*, lọc. Làm bay hơi dịch lọc đến khô và sấy cắn ở 100 °C đến 105 °C. Xác định điểm chảy (Phụ lục 6.7) của cắn. Trộn đồng lượng cắn này với thiopental chuẩn và xác định điểm chảy của hỗn hợp. Điểm chảy của cắn và của hỗn hợp phải khoảng 160 °C. Sự khác biệt về điểm chảy của 2 mẫu trên không được quá 2 °C.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Amoniac - ethanol 96 % - methylen clorid (5 : 15 : 80). Dùng lớp dưới.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,1 g chế phẩm (dùng cắn thu được ở Định tính B) trong *nước* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 85 mg thiopental chuẩn trong 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)* và pha loãng thành 100 ml bằng *nước*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 3/4 chiều dài bản mỏng. Quan sát ngay bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương tự về vị trí và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
D. Chế phẩm phải cho phản ứng đặc trưng của barbiturat có hydro ở nhóm NH không bị thay thế (Phụ lục 8.1).
E. Chế phẩm phải cho phản ứng của natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 5,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu VL_3 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.
Pha động: Acetonitril (TT_1) *- dung dịch acid phosphoric 1 g/l* (35 : 65).
Dung dịch thử: Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 2 mg thiopental chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa các tạp chất A, B, C và D) trong pha động và pha loãng thành 2,0 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 225 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của thiopental.
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo thiopental chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa các tạp chất A, B, C và D) và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất A, B, C và D.
Thời gian lưu tương đối so với thiopental (thời gian lưu khoảng 20 min): Tạp chất A khoảng 0,3; tạp chất B khoảng 0,4; tạp chất C khoảng 0,9; tạp chất D khoảng 1,3.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất A và pic của tạp chất B ít nhất là 1,5 và độ phân giải giữa pic của tạp chất C và pic thiopental ít nhất là 1,5.

Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng nhân diện tích pic của tạp chất B với 1,5.
Tạp chất C: Diện tích pic tạp chất C không được lớn hơn 6 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (3,0 %).
Tạp chất B: Diện tích pic tạp chất B đã hiệu chỉnh không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (1,0 %).
Tạp chất D: Diện tích pic tạp chất D không được lớn hơn 0,6 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).
Các tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn 0,2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 10 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (5,0 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 5-[(1*RS*)-1-methylbutyl]-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4,6(1*H*,5*H*)-dion.
Tạp chất B: 5-ethyl-5-[(1*RS*)-1-methylbutyl]pyrimidin-2,4,6 (1*H*,3*H*,5*H*)-trion.
Tạp chất C: 5-ethyl-5-(1-ethylpropyl)-2-thioxo-2,3-dihydropyrimidin-4,6(1*H*,5*H*)-dion.
Tạp chất D: Hỗn hợp của acid (2*RS*,3*RS*)-2-(carbamothioylcarbamoyl)-2-ethyl-3-methylhexanoic và acid (2*RS*,3*SR*)-2-(carbamothioylcarbamoyl)-2-ethyl-3-methylhexanoic.

Clorid
Không được quá 0,033 % (Phụ lục 9.4.5).
Thêm 35 ml *nước* và 10 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* vào 5 ml dung dịch S. Lắc với *1,1-dimethylethyl methyl ether (TT)* 3 lần, mỗi lần 25 ml. Bỏ lớp phía trên, đun trên cách thủy lớp nước để loại hoàn toàn dung môi hữu cơ. Dùng 15 ml lớp nước thu được để thử.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 2,5 % (Phụ lục 9.6).
(0,50 g; chân không; 100 °C; 4 h).

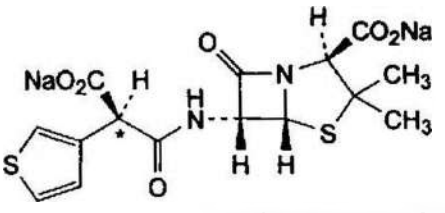
Định lượng
Natri: Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong 30 ml *nước*. Dùng 0,1 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)* làm chỉ thị, chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* đến khi màu của dung dịch chuyển sang đỏ. Đun sôi nhẹ 2 min, để nguội, nếu cần thì tiếp tục chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* đến màu đỏ như cũ.
1 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 2,299 mg Na.
Thiopental: Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong 5 ml *nước*, thêm 2 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* rồi chiết với *cloroform (TT)* 4 lần, mỗi lần 10 ml. Gộp các dịch chiết cloroform lại, lọc và làm bay hơi dịch lọc đến khô trên cách thủy. Hòa tan cắn trong 30 ml *dimethylformamid (TT)* đã được trung hòa trước, thêm 0,1 ml *dung dịch xanh thymol 0,2 %* trong *methanol (TT)*. Chuẩn độ ngay bằng *dung dịch lithi methoxyd 0,1 M (CĐ)* đến khi dung dịch chuyển sang màu xanh lam, tránh để dung dịch tiếp xúc với carbon dioxyd của không khí trong suốt quá trình định lượng.
1 ml *dung dịch lithi methoxyd 0,1 M (CĐ)* tương đương với 24,23 mg $C_{11}H_{18}N_2O_2S$.

Bảo quản
Trong bao bì kín và tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Gây mê.

Chế phẩm
Thuốc tiêm.

TICARCILIN NATRI
Ticarcillinum natricum



và đồng phân lập thể ở C*

$C_{15}H_{14}N_2Na_2O_6S_2$ P.t.l: 428,4

Ticarcilin natri là dinatri (2*S*,5*R*,6*R*)-6-[[(2*RS*)-2-carboxylato-2-(thiophen-3-yl)acetyl]amino]-3,3-dimethyl-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo[3.2.0]heptan-2-carboxylat, phải chứa từ 89,0 % đến 102,0 % $C_{15}H_{14}N_2Na_2O_6S_2$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột màu trắng hoặc hơi vàng, hút ẩm. Dễ tan trong nước, tan trong methanol.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D, E.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của ticarcilin mononatri chuẩn.
Chuẩn bị mẫu thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 1 ml *nước*, thêm 0,1 ml *dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT)*, lắc và để yên trong nước đá trong 10 min. Lọc lấy tủa và rửa tủa với 2 ml *nước*. Hòa tan tủa trong hỗn hợp *nước - aceton* (1 : 9). Bốc hơi dung môi đến gần khô, sấy cắn ở 60 °C trong 30 min.
Chuẩn bị mẫu chuẩn: Dùng ticarcilin mononatri chuẩn và xử lý tương tự mẫu thử.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Bản mỏng silica gel silan hóa.*
Dung môi khai triển: *Aceton - dung dịch amoni acetat 15,4 %* (10 : 90), được điều chỉnh đến pH 5,0 bằng *acid acetic băng (TT).*
Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hoà tan 25 mg ticarcilin mononatri chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hoà tan 25 mg carbenicilin natri chuẩn và 25 mg ticarcilin mononatri chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 12 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô trong luồng không khí nóng và đặt vào bình bão hòa hơi iod. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống về vị trí màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách riêng biệt.
C. Cho khoảng 2 mg chế phẩm vào một ống nghiệm dài khoảng 15 cm và đường kính khoảng 15 mm. Làm ẩm với 0,05 ml *nước* và thêm 2 ml *dung dịch formaldehyd trong acid sulfuric (TT).* Lắc tròn ống nghiệm để trộn đều, dung dịch có màu nâu. Đặt ống nghiệm vào trong cách thủy 1 min, xuất hiện màu nâu đỏ thẫm.
D. Chế phẩm phải cho phản ứng định tính của natri (Phụ lục 8.1).
E. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của phép thử Góc quay cực riêng.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 50 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu của dung dịch màu đối chiếu V_5 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
pH của dung dịch S phải từ 5,5 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).

Góc quay cực riêng
Từ +172° đến +187°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: *Dung dịch amoni phosphat 0,13 %* được điều chỉnh đến pH 7,0 bằng *acid phosphoric (TT).*
Pha động B: *Pha động A - methanol* (50 : 50).
Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 25,0 ml với pha động A.
Dung dịch đối chiếu (1): Hoà tan 20,0 mg decarboxyticarcilin chuẩn (tạp chất A) trong pha động A và pha loãng thành 100,0 ml với pha động A. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với pha động A.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 50 ml với pha động A.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 30	100 → 30	0 → 70
30 - 40	30	70

Tiêm dung dịch đối chiếu (2). Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa 2 pic chính (đồng phân không đối quang) không nhỏ hơn 2,0. Tiêm dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1). Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn 2 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (4 %); Diện tích của bất kỳ pic phụ khác (trừ hai pic chính và pic của tạp chất A) không được lớn hơn 1,25 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (2,5 %).

N,N-Dimethylanilin
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 10.16, phương pháp 2).

Acid 2-ethylhexanoic
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.17).

Nước
Không được quá 5,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,150 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 0,05 IU/mg (Phụ lục 13.2).
Nếu chế phẩm được dùng để sản xuất các dạng thuốc tiêm mà không có phương pháp hữu hiệu loại bỏ nội độc tố vi khuẩn thì phải tiến hành phép thử này.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Methanol - dung dịch amoni phosphat 0,13 % đã điều chỉnh đến pH 7,0 bằng acid phosphoric* (20 : 80).
Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với pha động. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với pha động.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan 50,0 mg ticarcilin mononatri chuẩn trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với pha động. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với pha động.

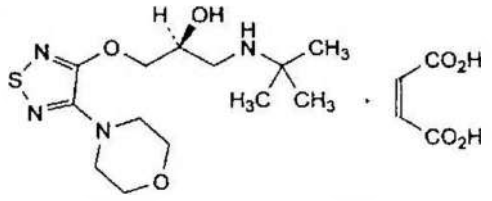
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch chuẩn. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa 2 pic chính không nhỏ hơn 2,5. Tiêm dung dịch chuẩn 6 lần, độ lệch chuẩn tương đối của tổng diện tích 2 pic ticarcilin không được lớn hơn 1,0 %. Tiêm xen kẽ dung dịch thử và dung dịch chuẩn.
Tính hàm lượng phần trăm của ticarcilin natri theo tổng diện tích của 2 pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{15}H_{14}NNa_2O_6S_2$ của ticarcilin mononatri chuẩn, nhân hàm lượng của ticarcilin mononatri với 1,054.

Bảo quản
Bao bì kín, ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.
Nếu nguyên liệu vô khuẩn: Đựng trong bao bì kín, vô khuẩn, tránh sự xâm nhập của vi khuẩn.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm penicilin.

Chế phẩm
Viên nén.

TIMOLOL MALEAT
Timololi maleas



$C_{13}H_{24}N_4O_3S.C_4H_4O_4$ P.t.l: 432,5

Timolol maleat là (2*S*)-1-[(1,1-dimethylethyl)amino]-3-[[4-(morpholin-4-yl)-1,2,5-thiadiazol-3-yl]oxy]propan-2-ol (*Z*)-butendioat, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{13}H_{24}N_4O_3S.C_4H_4O_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hay gần như trắng hoặc tinh thể không màu. Tan trong nước và ethanol 96 %. Nóng chảy ở 199 °C kèm theo phân hủy.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của timolol maleat chuẩn.
B. Hòa tan 1,000 g chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Góc quay cực riêng (Phụ lục 6.4) từ -6,2° đến -5,7°.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Amoniac đậm đặc - methanol - methylen clorid (1 : 20 : 80).
Dung dịch thử: Hòa tan 5 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 5 mg timolol maleat chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 2/3 chiều dài bản mỏng. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và cho bản mỏng tiếp xúc với hơi iod trong 2 h. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vị trí, màu sắc và kích thước tương tự với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
D. Nghiền 0,1 g chế phẩm với hỗn hợp chứa 1 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* và 3 ml *nước*. Lắc hỗn hợp trên 3 lần với *ether*, mỗi lần 5 ml. Lấy 0,1 ml dung dịch của lớp nước, thêm dung dịch chứa 10 mg *resorcinol (TT)* trong 3 ml *acid sulfuric (TT)*. Đun trên cách thủy 15 min. Không được xuất hiện màu đỏ tím. Trung hòa phần còn lại của lớp nước với *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)* và thêm 1 ml *nước brom (TT)*. Đun cách thủy 15 min, sau đó đun đến sôi và để nguội. Lấy 0,2 ml dung dịch thu được, thêm dung dịch chứa 10 mg *resorcinol (TT)* trong 3 ml *acid sulfuric (TT)*. Đun cách thủy 15 min. Xuất hiện màu đỏ tím. Thêm 0,2 ml *dung dịch kali bromid 10 %*, đun trên cách thủy trong 5 min, dung dịch chuyển sang màu xanh tím.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được đậm màu hơn dung dịch N_8 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Từ 3,8 đến 4,3 (Phụ lục 6.2).
Dùng dung dịch S để đo.

Tạp chất đồng phân đối quang
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Pha động: Diethylamin - 2-propanol - hexan (2 : 40 : 960).
Hỗn hợp dung môi: Methylen clorid - 2-propanol (10 : 30).
Dung dịch thử: Hòa tan 30,0 mg chế phẩm trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 30 mg timolol maleat chuẩn trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 3 mg (*R*)-timolol chuẩn (tạp chất A) trong hỗn hợp dung môi và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 100 ml bằng hỗn hợp dung môi. Trộn đều 1 ml dung dịch thu được với 1 ml dung dịch đối chiếu (2).
Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi *dẫn xuất celulose của silica gel dùng để tách đồng phân đối quang* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 297 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 5 µl.
Thứ tự rửa giải: Tạp chất A sẽ rửa giải đầu tiên.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic của tạp chất A và pic của đồng phân đối quang (S) ít nhất là 4,0. Thời gian lưu của những pic chính của đồng phân (S) trên sắc ký đồ của dung dịch thử và trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) phải giống nhau.
Giới hạn:
Tạp chất A: Diện tích pic của tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (1,0 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: (2*R*)-1-[(1,1-dimethylethyl)amino]-3-[[4-(morpholin-4-yl)-1,2,5-thiadiazol-3-yl]oxy]propan-2-ol ((*R*)-timolol).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Methanol - dung dịch natri octansulfonat 4,32 g/l được điều chỉnh đến pH 3,0 bằng acid acetic băng (1 : 1).
Pha động B: Methanol (TT).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động A. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động A.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan một lọ timolol chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa tạp chất B, C, D và F) trong 1,0 ml pha động A.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 2 mg chế phẩm và 20 mg *acid maleic (TT)* trong 10 ml *acetonitril (TT)*. Bay hơi 1 ml dung dịch thu được đến khô dưới luồng khí *nitrogen (TT)* trong lọ thủy tinh màu hổ phách. Sấy lọ thủy tinh đã mở nắp ở 105 °C trong 1 h. Hòa tan cắn thu được trong 1,0 ml pha động A.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 3,9 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 295 nm.
Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 10	97,5	2,5
10 - 11	97,5 → 70	2,5 → 30
11 - 14,5	70	30

Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ cung cấp kèm theo timolol chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất B, C, D và F. Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định pic của tạp chất E.
Thời gian lưu tương đối so với timolol (thời gian lưu khoảng 7,5 min): Acid maleic khoảng 0,1; tạp chất D khoảng 0,3; tạp chất E khoảng 0,4; tạp chất B khoảng 0,7; tạp chất F khoảng 0,8; tạp chất C khoảng 2,1.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất F và pic của tạp chất B ít nhất là 1,5.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic tạp chất D với 0,6.
Tạp chất B, C, D, E, F: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu cần, không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 4 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,4 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %) và bỏ qua pic của acid maleic.
Ghi chú:
Tạp chất B: (2*RS*)-3-[(1,1-dimethylethyl)amino]-2-[[4-(morpholin-4-yl)-1,2,5-thiadiazol-3- yl]oxy]propan-1-ol.
Tạp chất C: (2*RS*)-*N*-(1,1-dimethylethyl)-2,3-bis[[4-(morpholin-4-yl)-1,2,5-thiadiazol-3- yl]oxy]propan-1-amin.
Tạp chất D: 4-(morpholin-4-yl)-1,2,5-thiadiazol-3-ol.
Tạp chất E: Acid (2*Z*)-4-[(1*S*)-1-[[(1,1-dimethylethyl)amino] methyl]-2-[[4-(morpholin-4-yl)-1,2,5- thiadiazol-3-yl]oxy]ethoxy]-4-oxobut-2-enoic.
Tạp chất F: 4-(4-cloro-1,2,5-thiadiazol-3-yl)morpholin.
Tạp chất G: 4-(morpholin-4-yl)-1,2,5-thiadiazol-3(2*H*)-on 1-oxyd.
Tạp chất H: 2-[(2*RS*)-3-[(1,1-dimethylethyl)amino]-2-hydroxypropyl]-4-(morpholin-4-yl)-1,2, 5-thiadiazol-3(2*H*)-on.
Tạp chất I: (2*RS*)-1-(ethylamino)-3-[[4-(morpholin-4-yl)-1,2,5-thiadiazol-3-yl]oxy]propan-2-ol,
Tạp chất J: 1,1'-[1,2,5-thiadiazol-3,4-diylbis(oxy)]bis[3-[(1,1-dimethylethyl)amino]propan-2- ol].

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,350 g chế phẩm trong 60 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 43,25 mg $C_{17}H_{28}N_4O_7S$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Đối kháng thụ thể beta-adrenergic.

Chế phẩm
Thuốc nhỏ mắt, viên nén.

VIÊN NÉN TIMOLOL
Tabellae Timololi

Là viên nén chứa timolol maleat.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng timolol maleat, $C_{13}H_{24}N_4O_3S.C_4H_4O_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi triển khai: Amoniac - methanol - cloroform (1 : 20 : 80).
Dung dịch thử: Lấy một lượng bột viên tương ứng với khoảng 30 mg timolol maleat, làm ẩm bằng 2 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, thêm 5 ml *methanol (TT)*, lắc 20 min và thêm *methanol (TT)* vừa đủ 50 ml, ly tâm, sử dụng lớp trên.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 60 mg timolol maleat chuẩn trong 4 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, thêm *methanol (TT)* vừa đủ 100 ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 3/4 bản mỏng, để khô bản mỏng ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 500 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 20 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu.
Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị một dung dịch timolol maleat chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* có nồng độ tương ứng với nồng độ timolol maleat của dung dịch thử.
Xác định hàm lượng timolol maleat được hòa tan bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Sử dụng pha động và các điều kiện sắc ký như ở phần Định lượng. Điều chỉnh thể tích tiêm nếu cần.
Yêu cầu: Không được ít hơn 80 % (Q) lượng timolol maleat, $C_{13}H_{24}N_4O_3S.C_4H_4O_4$, so với lượng ghi trên nhãn hòa tan trong 20 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - dung dịch đệm phosphat pH 2,8 (2 : 3).
Dung dịch đệm phosphat pH 2,8: Hòa tan 11,04 g *natri dihydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*, điều chỉnh dung dịch tới pH 2,8 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg timolol maleat chuẩn vào bình định mức 500 ml, thêm 50 ml *dung dịch natri dihydrophosphat 0,05 M*, siêu âm đến tan hoàn toàn, thêm 100 ml *acetonitril (TT)*, lắc, pha loãng với *nước* vừa đủ đến vạch, trộn đều.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 10 mg timolol maleat vào bình định mức 100 ml, thêm 10 ml *dung dịch natri dihydrophosphat 0,05 M*, siêu âm 5 min, thêm 20 ml *acetonitril (TT)*, lắc, pha loãng với *nước* vừa đủ đến vạch, trộn đều.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 cm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 295 nm.
Tốc độ dòng: 1,8 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiêm riêng biệt 6 lần dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic chính từ 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %, hệ số đối xứng của pic chính không được lớn hơn 2,0.
Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{13}H_{24}N_4O_3S.C_4H_4O_4$ của timolol maleat chuẩn, tính hàm lượng timolol maleat, $C_{13}H_{24}N_4O_3S.C_4H_4O_4$, có trong chế phẩm.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc đối kháng thụ thể beta-adrenergic.

Hàm lượng thường dùng
5 mg, 10 mg, 20 mg.

TINH BỘT BIẾN TÍNH NATRI GLYCOLAT TYP A

Carboxymethylamylum natricum A

Tinh bột biến tính natri glycolat typ A là muối natri của tinh bột khoai tây đã được *O*-carboxymethylat hóa một phần liên kết chéo, phải chứa từ 2,8 % đến 4,2 % Na (N.t.l: 22,99) tính theo chế phẩm đã được rửa bằng ethanol 80 % và làm khô.

Tính chất

Bột mịn, trơn chảy, màu trắng hoặc gần như trắng, rất hút ẩm. Thực tế không tan trong methylen clorid. Tạo hỗn dịch trong mờ khi hòa với nước.

Dưới kính hiển vi thấy: Hạt tinh bột đơn, không đều, hình trứng hay hình quả lê (kích thước 30 µm đến 100 µm) hoặc hình tròn (kích thước 10 µm đến 35 µm); rốn lệch và các vòng đồng tâm rõ. Đôi khi thấy hạt tinh bột kép 2 đến 4. Dưới kính hiển vi phân cực thấy: Hình chữ thập màu đen ở rốn hạt, trên bề mặt có các tinh thể nhỏ. Khi tiếp xúc với nước bị phồng lên.

Định tính

A. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử pH.

B. Lấy 4,0 g chế phẩm, thêm 20 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, lắc đều không đun nóng. Hỗn hợp tạo thành ở dạng gel. Thêm 100 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* và lắc đều. Hỗn dịch tạo thành sẽ lắng cặn sau khi để yên.

C. Dung dịch chế phẩm đã acid hóa phải chuyển màu xanh lam hoặc màu tím khi thêm *dung dịch iod-iodid (TT)*.

D. Dung dịch S2 phải cho phản ứng của của natri (Phụ lục 8.1).

Dung dịch S2: Lấy 2,5 g chế phẩm cho vào chén nung bằng sứ hoặc platin, thêm 2 ml *dung dịch acid sulfuric 50 %*. Đun nóng trên cách thủy, sau đó đốt trực tiếp trên bếp, nâng nhiệt độ từ từ và nung ở 600 °C ± 25 °C cho đến khi không còn các tiểu phân màu đen. Để nguội, làm ẩm bằng vài giọt *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)*, bốc hơi rồi đốt và nung lại như trên, sau đó để nguội. Thêm vài giọt *dung dịch amoni carbonat (TT)*, bay hơi đến khô và nung lại cẩn thận. Để nguội rồi hòa tan cắn thu được trong 50 ml *nước*.

Độ trong và màu sắc của dung dịch S1

Dung dịch S1: Ly tâm hỗn dịch thu được trong phép thử định tính B với gia tốc 2500 *g* trong 10 min. Cẩn thận lấy lớp dịch ở trên.

Dung dịch S1 phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH

Từ 5,5 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).

Phân tán 1,0 g chế phẩm trong 30 ml *nước* để đo.

Natri glycolat

Không được quá 2,0 %. Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.

Dung dịch thử: Lấy 0,20 g chế phẩm vào cốc có mỏ, thêm 5 ml *acid acetic (TT)* và 5 ml *nước*. Khuấy cho đến khi tan hoàn toàn (khoảng 10 min). Thêm 50 ml *aceton (TT)* và 1 g *natri clorid (TT)*, trộn đều. Lọc qua giấy lọc đã thấm *aceton (TT)*, rửa cốc và giấy lọc bằng *aceton (TT)*. Gộp dịch lọc và dịch rửa rồi pha loãng thành 100,0 ml bằng *aceton (TT)*. Để yên trong 24 h. Dùng lớp dung dịch trong.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,310 g *acid glycollic (TT)* (đã được làm khô trước trong chân không bằng *diphosphor pentoxyd (TT)* ở nhiệt độ phòng qua đêm) trong *nước* rồi pha loãng thành 500,0 ml bằng cùng dung môi. Lấy 5,0 ml dung dịch thu được, thêm 5 ml *acid acetic (TT)* rồi để yên khoảng 30 min. Thêm 50 ml *aceton (TT)* và 1 g *natri clorid (TT)*, trộn đều. Lọc qua giấy lọc đã thấm *aceton (TT)*, rửa cốc và giấy lọc bằng *aceton (TT)*. Gộp dịch lọc và dịch rửa rồi pha loãng thành 100,0 ml bằng *aceton (TT)*. Để yên trong 24 h. Dùng lớp dung dịch trong. Lấy 2,0 ml dung dịch thử, đun nóng trên cách thủy trong 20 min. Để nguội tới nhiệt độ phòng rồi thêm 20,0 ml *dung dịch 2,7-dihydroxynaphthalen (TT)*. Lắc kỹ rồi đun nóng trong cách thủy trong 20 min. Làm nguội dưới vòi nước, chuyển toàn bộ dịch thu được vào bình định mức và pha loãng thành 25,0 ml bằng *acid sulfuric (TT)* trong khi vẫn làm nguội bình định mức dưới vòi nước. Trong vòng 10 min phải tiến hành đo độ hấp thụ của dung dịch thu được ở bước sóng 540 nm (Phụ lục 4.1), dùng *nước* làm mẫu trắng. Độ hấp thụ của dung dịch được chuẩn bị từ dung dịch thử không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch được chuẩn bị song song và cùng điều kiện từ 2,0 ml dung dịch đối chiếu.

Natri clorid

Không được quá 7,0 %.

Lấy 0,500 g chế phẩm vào cốc có mỏ, tạo hỗn dịch với 100 ml *nước*. Thêm 1 ml *acid nitric (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Sử dụng điện cực chỉ thị là điện cực bạc.

1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 5,844 mg NaCl.

Sắt

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).

Dùng 10 ml dung dịch S2 để thử.

Kim loại nặng

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

Lấy 1,0 g chế phẩm, tiến hành thử theo phương pháp 4. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 10,0 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 130 °C; 1,5 h).

Giới hạn nhiễm khuẩn

Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu phép thử *Escherichia coli* và *Salmonella* (Phụ lục 13.6).

Định lượng
Lắc 1,000 g chế phẩm với 20 ml *ethanol (TT)* 80 % (tt/tt), khuấy trong 10 min và lọc. Lặp lại quy trình trên cho đến khi ion clorid được rửa hết (xác định bằng dung dịch *bạc nitrat (TT)* 1,7 %). Sấy khô cắn ở 105 °C đến khối lượng không đổi. Lấy 0,700 g cắn khô, thêm 80 ml *acid acetic băng (TT)* và đun hồi lưu trong 2 h. Để nguội dung dịch thu được đến nhiệt độ phòng. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp đo điện thế (Phụ lục 10.2). Song song tiến hành một mẫu trắng.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 2,299 mg Na.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Tá dược.

TINH BỘT BIẾN TÍNH NATRI GLYCOLAT TYP B
Carboxymethylamylum natricum B

Tinh bột biến tính natri glycolat typ B là muối natri của tinh bột khoai tây đã được *O*-carboxymethylat hóa một phần liên kết chéo, phải chứa từ 2,0 % đến 3,4 % Na (N.t.l: 22,99) tính theo chế phẩm đã được rửa bằng ethanol 80 % và làm khô.

Tính chất
Bột mịn, trơn chảy, màu trắng hoặc gần như trắng, rất hút ẩm. Thực tế không tan trong methylen clorid. Tạo hỗn dịch trong mờ khi hòa với nước.
Dưới kính hiển vi thấy: Hạt tinh bột đơn, không đều, hình trứng hay hình quả lê (kích thước 30 µm đến 100 µm) hoặc hình tròn (kích thước 10 µm đến 35 µm); rốn lệch và các vòng đồng tâm rõ. Đôi khi thấy hạt tinh bột kép 2 đến 4.
Dưới kính hiển vi phân cực thấy: Hình chữ thập màu đen ở rốn hạt, trên bề mặt có các tinh thể nhỏ. Khi tiếp xúc với nước bị phồng lên.

Định tính
A. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử pH.
B. Lấy 4,0 g chế phẩm, thêm 20 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, lắc đều không đun nóng. Hỗn hợp tạo thành ở dạng gel. Thêm 100 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* và lắc đều. Hỗn dịch tạo thành sẽ lắng cặn sau khi để yên.
C. Dung dịch chế phẩm đã acid hóa phải chuyển màu xanh lam hoặc màu tím khi thêm *dung dịch iod- iodid (TT_1)*.
D. Dung dịch S2 phải cho phản ứng của natri (Phụ lục 8.1).
Dung dịch S2: Lấy 2,5 g chế phẩm cho vào chén nung bằng sứ hoặc platin, thêm 2 ml *dung dịch acid sulfuric 50 %*. Đun nóng trên cách thủy, sau đó đốt trực tiếp trên bếp, nâng nhiệt độ từ từ và nung ở 600 °C ± 25 °C cho đến khi không còn các tiểu phân màu đen. Để nguội, làm ẩm bằng vài giọt *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)*, bốc hơi rồi đốt và nung lại như trên, sau đó để nguội. Thêm vài giọt *dung dịch amoni carbonat (TT)*, bay hơi đến khô và nung lại cẩn thận. Để nguội rồi hòa tan cắn thu được trong 50 ml *nước*.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S1: Ly tâm hỗn dịch thu được trong phép thử định tính B với gia tốc 2500 *g* trong 10 min. Cẩn thận lấy lớp dịch ở trên.
Dung dịch S1 phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Từ 3,0 đến 5,0 (Phụ lục 6.2).
Phân tán 1,0 g chế phẩm trong 30 ml *nước* để đo.

Natri glycolat
Không được quá 2,0 %. Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Dung dịch thử: Lấy 0,20 g chế phẩm vào cốc có mỏ, thêm 5 ml *acid acetic (TT)* và 5 ml *nước*. Khuấy cho đến khi tan hoàn toàn (khoảng 10 min). Thêm 50 ml *aceton (TT)* và 1 g *natri clorid (TT)*, trộn đều. Lọc qua giấy lọc đã thấm *aceton (TT)*, rửa cốc và giấy lọc bằng *aceton (TT)*. Gộp dịch lọc và dịch rửa rồi pha loãng thành 100,0 ml bằng *aceton (TT)*. Để yên trong 24 h. Dùng lớp dung dịch trong.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,310 g *acid glycollic (TT)* (đã được làm khô trước trong chân không bằng *diphosphor pentoxyd (TT)* ở nhiệt độ phòng qua đêm) trong *nước* rồi pha loãng thành 500,0 ml bằng cùng dung môi. Lấy 5,0 ml dung dịch thu được, thêm 5 ml *acid acetic (TT)* rồi để yên khoảng 30 min. Thêm 50 ml *aceton (TT)* và 1 g *natri clorid (TT)*, trộn đều. Lọc qua giấy lọc đã thấm *aceton (TT)*, rửa cốc và giấy lọc bằng *aceton (TT)*. Gộp dịch lọc và dịch rửa rồi pha loãng thành 100,0 ml bằng *aceton (TT)*. Để yên trong 24 h. Dùng lớp dung dịch trong. Lấy 2,0 ml dung dịch thử, đun nóng trên cách thủy trong 20 min. Để nguội tới nhiệt độ phòng rồi thêm 20,0 ml *dung dịch 2,7-dihydroxynaphthalen (TT)*. Lắc kỹ rồi đun nóng trong cách thủy trong 20 min. Làm nguội dưới vòi nước, chuyển toàn bộ dịch thu được vào bình định mức và pha loãng thành 25,0 ml bằng *acid sulfuric (TT)* trong khi vẫn làm nguội bình định mức dưới vòi nước. Trong vòng 10 min phải tiến hành đo độ hấp thụ của dung dịch thu được ở bước sóng 540 nm (Phụ lục 4,1), dùng *nước* làm mẫu trắng. Độ hấp thụ của dung dịch được chuẩn bị từ dung dịch thử không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch được chuẩn bị song song và cùng điều kiện từ 2,0 ml dung dịch đối chiếu.

Natri clorid
Không được quá 7,0 %.
Lấy 0,500 g chế phẩm vào cốc có mỏ, tạo hỗn dịch với 100 ml *nước*. Thêm 1 ml *acid nitric (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm kết thúc

bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Sử dụng điện cực chỉ thị là điện cực bạc
1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 5,844 mg NaCl.

Sắt
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).
Dùng 10 ml dung dịch S2 để thử.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm, tiến hành thử theo phương pháp 4. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 10,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 130 °C; 1,5 h).

Giới hạn nhiễm khuẩn
Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu phép thử *Escherichia coli* và *Salmonella* (Phụ lục 13.6).

Định lượng
Lắc 1,000 g chế phẩm với 20 ml *ethanol 80 % (TT)*, khuấy trong 10 min và lọc. Lặp lại quy trình trên cho đến khi ion clorid được rửa hết (xác định bằng dung dịch *bạc nitrat (TT)* 1,7 %). Sấy khô cắn ở 105 °C đến khối lượng không đổi. Lấy 0,700 g cắn khô, thêm 80 ml *acid acetic băng (TT)* và đun hồi lưu trong 2 h. Để nguội dung dịch thu được đến nhiệt độ phòng. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp đo điện thế (Phụ lục 10.2). Song song tiến hành một mẫu trắng.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 2,299 mg Na.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Tá dược.

TINH BỘT BIẾN TÍNH NATRI GLYCOLAT TYP C
Carboxymethylamylum natricum C

Tinh bột biến tính natri glycolat typ C là muối natri của tinh bột đã được *O*-carboxymethylat hóa một phần, liên kết chéo bởi sự mất nước bằng phương pháp vật lý, phải chứa từ 2,8 % đến 5,0 % Na (N.t.l: 22,99) tính theo chế phẩm đã được rửa bằng ethanol 80 % và làm khô.

Tính chất
Bột mịn, trơn chảy, màu trắng hoặc gần như trắng, rất hút ẩm. Tan trong nước, thực tế không tan trong methylen clorid. Tạo hỗn dịch trong mờ giống gel khi hòa với nước. Dưới kính hiển vi thấy: Hạt tinh bột đơn, không đều, hình trứng hay hình quả lê (kích thước 30 µm đến 100 µm) hoặc hình tròn (kích thước 10 µm đến 35 µm); rốn lệch và các vòng đồng tâm rõ. Đôi khi thấy hạt tinh bột kép 2 đến 4. Dưới kính hiển vi phân cực thấy: Hình chữ thập màu đen ở rốn hạt, trên bề mặt có các tinh thể nhỏ. Khi tiếp xúc với nước bị phồng lên.

Định tính
A. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử pH.
B. Lấy 4,0 g chế phẩm, thêm 20 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, lắc đều không đun nóng. Hỗn hợp tạo thành ở dạng gel. Thêm 100 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* và lắc đều: dạng gel của hỗn dịch vẫn bền vững (phân biệt với tinh bột biến tính typ A và B). Giữ hỗn dịch thu được để tiến hành phép thử pH và Độ trong và màu sắc của gel.
C. Lấy 5 ml gel thu được trong phép thử B, thêm 0,05 ml *dung dịch iod-iodid (TT_1)*. Màu xanh lam đậm được tạo thành.
D. Dung dịch S phải cho phản ứng của natri (Phụ lục 8.1).
Dung dịch S: Lấy 2,5 g chế phẩm cho vào chén nung bằng sứ hoặc platin, thêm 2 ml *dung dịch acid sulfuric 50 %*. Đun nóng trên cách thủy, sau đó đốt trên bếp hở, nâng nhiệt độ từ từ và nung ở 600 °C ± 25 °C cho đến khi không còn các tiểu phân màu đen. Để nguội, làm ẩm bằng vài giọt *acid sulfuric (TT)*, bốc hơi rồi đốt và nung lại như trên, sau đó để nguội. Thêm vài giọt *dung dịch amoni carbonat (TT)*, bay hơi đến khô và nung lại cẩn thận. Để nguội rồi hòa tan cắn thu được trong 50 ml *nước*.

Độ trong và màu sắc của gel
Gel thu được trong phép Định tính B phải không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Từ 5,5 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).
Dùng gel thu được trong phép thử Định tính B để đo.

Natri glycolat
Không được quá 2,0 %. Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Dung dịch thử: Lấy 0,20 g chế phẩm vào cốc có mỏ, thêm 5 ml *acid acetic (TT)* và 5 ml *nước*. Khuấy cho đến khi tan hoàn toàn (khoảng 10 min). Thêm 50 ml *aceton (TT)* và 1 g *natri clorid (TT)*, trộn đều. Lọc qua giấy lọc đã thấm *aceton (TT)*, rửa cốc và giấy lọc bằng *aceton (TT)*. Gộp dịch lọc và dịch rửa rồi pha loãng thành 100,0 ml bằng *aceton (TT)*. Để yên trong 24 h. Dùng lớp dung dịch trong.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,310 g *acid glycollic (TT)* (đã được làm khô trước trong chân không bằng *diphosphor pentoxyd (TT)*) trong *nước* rồi pha loãng thành 500,0 ml bằng cùng dung môi. Lấy 5,0 ml dung dịch thu được, thêm 5 ml *acid acetic (TT)* rồi để yên khoảng 30 min. Thêm 50 ml *aceton (TT)* và 1 g *natri clorid (TT)*, rồi pha loãng thành 100,0 ml bằng *aceton (TT)*.
Lấy 2,0 ml dung dịch thử, đun nóng trên cách thủy trong 20 min. Để nguội tới nhiệt độ phòng rồi thêm 20,0 ml *dung dịch 2,7-dihydroxynaphthalen (TT)*. Lắc kỹ rồi đun nóng

trong cách thủy trong 20 min. Làm nguội dưới vòi nước, chuyển toàn bộ dịch thu được vào bình định mức và pha loãng thành 25,0 ml bằng *acid sulfuric (TT)* trong khi vẫn làm nguội bình định mức dưới vòi nước. Trong vòng 10 min phải tiến hành đo độ hấp thụ của dung dịch thu được ở bước sóng 540 nm (Phụ lục 4,1), dùng *nước* làm mẫu trắng. Độ hấp thụ của dung dịch được chuẩn bị từ dung dịch thử không được lớn hơn độ hấp thụ của dung dịch được chuẩn bị song song và cùng điều kiện từ 2,0 ml dung dịch đối chiếu.

Natri clorid
Không được quá 1 %.
Lắc 1,00 g chế phẩm với 20 ml *ethanol 80 % (TT)* trong 10 min, lọc. Lặp lại quy trình trên 4 lần. Sấy khô cắn đến khối lượng không đổi ở 100 °C để dùng cho phép thử Định lượng. Gộp dịch lọc. Bốc hơi đến khô, hòa tan cắn bằng *nước* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi. Lấy 10,0 ml dung dịch thu được, thêm 30 ml *nước* và 5 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Sử dụng điện cực chỉ thị là điện cực bạc.
1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 5,844 mg NaCl.

Sắt
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).
Dùng dung dịch S để thử.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm, tiến hành thử theo phương pháp 4. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 7,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C; 4 h).

Giới hạn nhiễm khuẩn
Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu phép thử *Escherichia coli* và *Salmonella* (Phụ lục 13.6).

Định lượng
Lấy 0,500 g cắn đã được sấy khô thu được trong phép thử Natri clorid, thêm 80 ml *acid acetic khan (TT)* và đun hồi lưu trong 2 h. Để nguội dung dịch thu được đến nhiệt độ phòng. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp đo điện thế (Phụ lục 10.2). Song song tiến hành một mẫu trắng.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 2,299 mg Na.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Tá dược.

TINH BỘT GẠO
Amylum oryzae

Tinh bột gạo là bột được lấy từ quả (quen gọi là hạt thóc) đã bỏ vỏ của cây lúa (*Oryza sativa* L.), họ Lúa (Poaceae).

Tính chất
Bột mịn có màu trắng hoặc gần như trắng, khi miết giữa hai ngón tay có tiếng cọt kẹt.
Thực tế không tan trong nước lạnh và trong ethanol 96 %.

Định tính
A. Quan sát bằng kính hiển vi: Sử dụng một hỗn hợp *glycerol - nước* (1 : 1) để chuẩn bị tiêu bản. Hạt tinh bột đơn hình đa diện, kích thước từ 1 µm đến 10 µm, phần lớn trong khoảng 4 µm đến 6 µm; thường tụ lại thành đám hình trứng, đường kính từ 50 µm đến 100 µm; rốn hạt ở tâm hơi rõ, không có các vân đồng tâm. Dưới kính hiển vi phân cực thấy hình chữ thập màu đen ở rốn hạt.
B. Lấy 1 g chế phẩm cho vào cốc thủy tinh, thêm 50 ml *nước*, trộn đều, đun sôi 1 min, để nguội. Gel lỏng hơi đục được tạo thành (hồ tinh bột).
C. Thêm 0,05 ml *dung dịch iodid (TT_1)* vào 1 ml gel lỏng thu được ở mục Định tính B, xuất hiện màu đỏ cam đến xanh dương, mất màu khi đun nóng.

pH
Từ 5,0 đến 8,0 (Phụ lục 6.2).
Lắc 5,0 g chế phẩm với 25,0 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* trong 60 s. Để yên 15 min.

Tạp chất
Kiểm tra dưới kính hiển vi, dùng hỗn hợp *glycerol - nước* (1 : 1) để làm tiêu bản. Hầu như không có (rất ít) các tạp chất khác so với các hạt tinh bột. Có thể chứa rất ít mảnh mô nội nhũ của hạt thóc. Không được có các hạt tinh bột của các loại cây khác.

Sắt
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).
Lắc 1,5 g chế phẩm với 15 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*, lọc. Dùng dịch lọc để xác định.

Chất oxy hóa
Không được quá 20 phần triệu, tính theo H_2O_2 (Phụ lục 7.10).

Sulfur dioxyd
Không được quá 50 phần triệu (Phụ lục 7.9, phương pháp 2).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 15,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, 130 °C, 90 min).

Tro sulfat
Không được quá 0,6 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Giới hạn nhiễm khuẩn (Phụ lục 13.6)
Tổng số vi sinh vật hiếu khí không được quá 10^3 CFU/g.
Tổng số nấm không được quá 10^2 CFU/g.
Không được có *Salmonella* và *Escherichia coli*.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Tá dược.

TINH BỘT KHOAI TÂY
Amylum Solani

Tinh bột khoai tây được lấy từ củ của cây Khoai tây (*Solanum tuberosum* L.), họ Cà (Solanaceae).

Tính chất
Bột rất mịn có màu trắng hoặc gần như trắng, khi miết giữa hai ngón tay có tiếng cọt kẹt.
Thực tế không tan trong nước lạnh và trong ethanol 96 %.
Tinh bột khoai tây không được chứa hạt tinh bột loại khác. Nếu có, nó có thể chứa một lượng nhỏ mảnh mô của cây khoai tây.

Định tính
A. Quan sát dưới kính hiển vi, dùng hỗn hợp *glycerol - nước* (1 : 1) để chuẩn bị tiêu bản: Các hạt tinh bột không đều, đôi khi kép 2 hoặc 4, có vân đồng tâm rõ; hạt tinh bột đơn hình trứng, hình quả lê kích thước từ 30 µm đến 100 µm đôi khi tới trên 100 µm, rốn lệch tâm. Hạt tinh bột tròn kích thước 10 µm đến 35 µm, rốn không ở tâm hoặc hơi lệch tâm. Dưới kính hiển vi phân cực thấy hình chữ thập màu đen ở rốn hạt.
B. Lấy 1 g chế phẩm cho vào cốc thủy tinh, thêm 50 ml *nước*, trộn đều, đun sôi 1 min, để nguội. Gel hơi đục được tạo thành (hồ tinh bột).
C. Thêm 0,05 ml *dung dịch iodid* (TT_1) vào 1 ml gel lỏng thu được ở mục Định tính B, xuất hiện màu đỏ cam đến xanh dương đậm, mất màu khi đun nóng.

pH
Từ 5,0 đến 8,0 (Phụ lục 6.2).
Lắc 5,0 g chế phẩm với 25,0 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* trong 60 s. Để yên 15 min.

Tạp chất
Kiểm tra dưới kính hiển vi, dùng hỗn hợp *glycerol - nước* (1 : 1) để làm tiêu bản. Hầu như không có (rất ít) các tạp chất khác. Không được có các hạt tinh bột của các loại cây khác.

Chất oxy hóa
Không được quá 20 phần triệu, tính theo H_2O_2 (Phụ lục 7.10).

Sulfur dioxyd
Không được quá 50 phần triệu (Phụ lục 7.9, phương pháp 2).

Sắt
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).
Lắc 1,5 g chế phẩm với 15 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*, lọc. Dùng dịch lọc để thử.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 20,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,00 g, 130 °C, 90 min).

Tro sulfat
Không được quá 0,6 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Giới hạn nhiễm khuẩn (Phụ lục 13.6)
Tổng số vi sinh vật hiếu khí không được quá 10^3 CFU/g.
Tổng số nấm không được quá 10^2 CFU/g.
Không được có *Salmonella* và *Escherichia coli*.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Tá dược.

TINH BỘT LÚA MÌ
Amylum Tritici

Tinh bột lúa mì là bột được lấy từ quả (còn gọi là hạt) đã bỏ vỏ của cây Lúa mì (*Triticum aestivum* L. (*T. vulgare* Vill.), họ Lúa (Poaceae).

Tính chất
Bột rất mịn, có màu trắng hoặc gần như trắng, khi miết giữa hai ngón tay có tiếng cọt kẹt.
Thực tế không tan trong nước lạnh và trong ethanol 96 %.
Tinh bột lúa mì không được chứa hạt tinh bột loại khác. Có thể chứa một lượng nhỏ mảnh mô của cây Lúa mì.

Định tính
A. Quan sát bằng kính hiển vi, sử dụng hỗn hợp *glycerol - nước* (1 : 1) để làm tiêu bản: Hạt tinh bột đơn to hoặc nhỏ, ít khi có cỡ trung bình. Hạt to có kích thước từ 10 µm đến 60 µm, đa số có dạng hình đĩa hoặc hiếm khi có hình thận khi nhìn trên bề mặt. Rốn hạt và các vân không rõ hoặc hơi rõ, đôi khi thấy các vết nứt ở rìa hạt. Khi nhìn ở mặt bên, các hạt tinh bột đơn hình trứng, hình thoi và rốn hạt dạng vạch dọc theo trục chính. Các hạt nhỏ tròn hoặc hình khối đa diện, đường kính 2 µm đến 10 µm. Dưới kính hiển vi phân cực thấy hình chữ thập màu đen ở rốn hạt.
B. Lấy 1 g chế phẩm cho vào cốc thủy tinh, thêm 50 ml *nước*, trộn đều, đun sôi 1 min, để nguội. Gel lỏng hơi đục được tạo thành (hồ tinh bột).
C. Thêm 0,05 ml *dung dịch iodid* (TT_1) vào 1 ml gel lỏng thu được ở mục Định tính B, xuất hiện màu đỏ cam đến xanh dương, mất màu khi đun nóng.

pH
Từ 4,5 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).
Lắc 5,0 g chế phẩm với 25,0 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* trong 60 s. Để yên 15 min.

Tạp chất
Kiểm tra dưới kính hiển vi, dùng hỗn hợp *glycerol - nước* (1 : 1) để làm tiêu bản. Hầu như không có (rất ít) các tạp chất khác. Không được có các hạt tinh bột của các loại cây khác.

Protein toàn phần (Phụ lục 10.9)
Không được quá 0,3 % (tương đương với 0,048 % N_2, hệ số chuyển đổi 6,25).
Dùng 6,0 g chế phẩm, tiến hành vô cơ hóa bằng *acid sulfuric (TT)* như mô tả ở Phụ lục 10.9 nhưng có thay đổi như sau: Lấy chính xác khoảng 6,0 g chế phẩm vào bình Kjeldahl A, rửa các hạt tinh bột bám ở cổ bình bằng 25 ml *acid sulfuric (TT)*, đun đến khi thu được dung dịch trong. Thêm 45 ml *dung dịch natri hydroxyd 40 % (TT)*.

Chất oxy hóa
Không được quá 20 phần triệu, tính theo H_2O_2 (Phụ lục 7.10).

Sulfur dioxyd
Không được quá 50 phần triệu (Phụ lục 7.9, phương pháp 2).

Sắt
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).
Lắc 1,5 g chế phẩm với 15 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*, lọc. Dùng dịch lọc để đo.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 15,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, 130 °C, 90 min).

Tro sulfat
Không được quá 0,6 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Giới hạn nhiễm khuẩn (Phụ lục 13.6)
Tổng số vi sinh vật hiếu khí không được quá 10^3 CFU/g.
Tổng số nấm không được quá 10^2 CFU/g.
Không được có *Salmonella* và *Escherichia coli*.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Tá dược.

TINH BỘT NGÔ
Amylum mays

Tinh bột ngô là bột được lấy từ quả cây Ngô (còn gọi là hạt ngô) đã được bỏ vỏ (*Zea mays* L.), họ Lúa (Poaceae).

Tính chất
Bột mịn có màu trắng tới vàng nhạt, khi miết giữa hai ngón tay có tiếng cọt kẹt.

Thực tế không tan trong nước lạnh và trong ethanol 96 %. Hiếm thấy các hạt có vết nứt hoặc có bất thường trên các cạnh.

Định tính
A. Quan sát bằng kính hiển vi có độ phóng đại trên 20 và dùng hỗn hợp *glycerol - nước* (1 : 1) để làm tiêu bản: Hạt tinh bột đơn hình khối đa diện, kích thước không đều, đường kính 2 µm đến 23 µm; hạt tinh bột tròn hoặc hình cầu đường kính 25 µm đến 35 µm. Rốn hạt dạng khoang hoặc phân nhánh 2 đến 5; không có vân đồng tâm. Dưới kính hiển vi phân cực thấy hình chữ thập màu đen ở rốn hạt.
B. Lấy 1 g chế phẩm cho vào cốc thủy tinh, thêm 50 ml *nước*, trộn đều, đun sôi 1 min, để nguội. Gel lỏng hơi đục được tạo thành (hồ tinh bột).
C. Thêm 0,05 ml *dung dịch iodid (TT_1)* vào 1 ml gel lỏng thu được ở mục Định tính B, xuất hiện màu đỏ cam đến xanh dương đậm, mất màu khi đun nóng.

pH
Từ 4,0 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).
Lắc 5,0 g chế phẩm với 25,0 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* trong 60 s. Để yên 15 min.

Tạp chất
Kiểm tra dưới kính hiển vi, dùng hỗn hợp *glycerol - nước* (1 : 1) để làm tiêu bản. Hầu như không có (rất ít) các tạp chất khác. Không được có các hạt tinh bột của các loại cây khác.

Chất oxy hóa
Không được quá 20 phần triệu, tính theo H_2O_2 (Phụ lục 7.10).

Sulfur dioxyd
Không được quá 50 phần triệu (Phụ lục 7.9, phương pháp 2).

Sắt
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).
Lắc 1,5 g chế phẩm với 15 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*, lọc. Dùng dịch lọc để đo.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 15,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, 130 °C, 90 min).

Tro sulfat
Không được quá 0,6 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Giới hạn nhiễm khuẩn (Phụ lục 13.6)
Tổng số vi sinh vật hiếu khí không được quá 10^3 CFU/g.
Tổng số nấm không được quá 10^2 CFU/g.
Không được có *Salmonella* và *Escherichia coli*.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Tá dược.

TINH BỘT SẮN
Amylum Manihoti

Tinh bột sắn là bột đã tinh chế được lấy từ thân rễ (quen gọi là củ) của cây sắn (*Manihot utilissima* Pohl.), họ thầu dầu (Euphorbiaceae).

Tính chất
Bột rất mịn, khi miết giữa hai ngón tay có tiếng cọt kẹt nhẹ. Thực tế không tan trong nước lạnh và trong ethanol 96 %.

Định tính
A. Quan sát dưới kính hiển vi thấy: Phần lớn là hạt tinh bột đơn hình cầu, một số hình tròn, kích thước không đều, hạt nhỏ có kích thước 5 µm đến 10 µm, hạt lớn có kích thước 20 µm đến 35 µm. Rốn hạt ở tâm, dạng điểm, vạch hoặc phân 3 nhánh, vân đồng tâm không rõ. Một số hạt tinh bột kép đôi hoặc 3 không đều.
B. Lấy 1 g chế phẩm cho vào cốc thủy tinh, thêm 50 ml *nước*, đun sôi 1 min, để nguội. Gel lỏng hơi đục được tạo thành (hồ tinh bột).
C. Thêm 0,05 ml *dung dịch iodid* (TT_1) vào 1 ml gel lỏng thu được ở mục Định tính B, xuất hiện màu xanh đen, màu biến mất khi đun nóng, màu xanh đen trở lại khi để nguội.

Giới hạn acid
Lấy 10 g chế phẩm, thêm 100 ml *ethanol 70 % (TT)* đã trung hòa trước bằng 0,5 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)*, lắc trong 1 h, lọc. Lấy 50,0 ml dịch lọc, chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* đến khi chuyển màu dung dịch.
Thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* đã dùng không được quá 2,0 ml.

Tạp chất
Hầu như không được có màng tế bào và nguyên sinh chất.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 15,0 % (Phụ lục 9.6).
(1 g, 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,6 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1 g chế phẩm.

Giới hạn nhiễm khuẩn (Phụ lục 13.6)
Tổng số vi sinh vật hiếu khí không được quá 10^3 CFU/g.
Tổng số nấm không được quá 10^2 CFU/g.
Không được có *Escherichia coli*.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín.

Loại thuốc
Tá dược.

TINH BỘT THỦY PHÂN
Amylum pregelificatum

Tinh bột thủy phân là tinh bột được xử lý bằng hóa học hoặc cơ học với sự có mặt của nước nhằm làm vỡ một phần hoặc hoàn toàn các hạt tinh bột, sau đó được làm khô. Tinh bột thủy phân không có thêm các chất phụ gia nhưng có thể được biến đổi để cải thiện tính chất chịu nén và tính chất chảy.

Tính chất
Bột màu trắng hoặc trắng ngà, trương nở trong nước lạnh.

Định tính
A. Soi kính hiển vi dùng hỗn hợp đồng thể tích *glycerin (TT)* và *nước*, thấy những đám hoặc mảnh mờ màu trắng hoặc trắng ngà, không đồng đều, có bề mặt gồ ghề. Dưới ánh sáng phân cực thấy các hạt tinh bột có dấu chữ thập đen dễ nhận thấy ở rốn hạt.
B. Phân tán (không đun nóng) 0,5 g chế phẩm trong 2 ml *nước*, thêm 0,05 ml *dung dịch iod 0,01 N (CĐ)*, xuất hiện màu từ tím đỏ đến xanh lam.

pH
Thêm từ từ 3,0 g chế phẩm vào 100,0 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, vừa thêm vừa khuấy đều đến khi thu được dung dịch đồng nhất. pH của dung dịch thu được từ 4,5 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Sắt
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.13).
Hòa tan cắn thu được ở mục Tro sulfat trong 20 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*. Lọc, dùng dịch lọc để thử.

Chất oxy hóa
Đạt yêu cầu phép thử Xác định các chất oxy hóa (Phụ lục 7.10). Dùng hỗn hợp đồng thể tích *nước* và *methanol (TT)* làm dung môi.

Sulfur dioxyd
Không được quá 80 phần triệu.
Lấy 20,0 g chế phẩm, lắc kỹ với 200,0 ml dung dịch natri sulfat khan 20 % và lọc. Lấy 100,0 ml dịch lọc trong, thêm 3 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)*, chuẩn độ bằng *dung dịch iod 0,01 N (CĐ)* tới khi xuất hiện màu xanh.
Thể tích *dung dịch iod 0,01 N (CĐ)* đã dùng không được quá 2,7 ml.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 15,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, 130 °C, 90 min).

Tro sulfat
Không được quá 0,6 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Tạp chất lạ
Soi kính hiển vi dùng hỗn hợp đồng thể tích *glycerin (TT)* và *nước*, giữa các hạt tinh bột, chỉ được phép có rất ít (vết) tạp chất lạ.

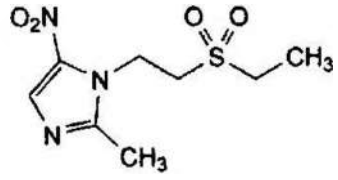
Giới hạn nhiễm khuẩn (Phụ lục 13.6)
Tổng số vi sinh vật hiếu khí không được quá 10^3 CFU/g và tổng số nấm không được quá 10^2 CFU/g.
Chế phẩm không được có *Salmonella* và *Escherichia coli*.

Bảo quản
Bảo quản trong đồ đựng kín.

Loại thuốc
Tá dược.

Nhãn
Ghi rõ loại tinh bột được dùng làm nguyên liệu sản xuất Tinh bột thủy phân.

TINIDAZOL
Tinidazolum



$C_8H_{13}N_3O_4S$ P.t.l: 247,3

Tinidazol là 1-[2-(ethylsulfonyl)ethyl]-2-methyl-5-nitro-1*H*-imidazol, phải chứa từ 98,0 % đến 101,0 % $C_8H_{13}N_3O_4S$ tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh gần như trắng hoặc vàng nhạt, thực tế không tan trong nước, tan trong aceton và trong methylen clorid, hơi tan trong methanol.

Định tính
Có thể chọn 1 trong 2 nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, C.
Nhóm II: B, C, D, E.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của tinidazol chuẩn.
B. Hòa tan 10,0 mg chế phẩm bằng *methanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml với *methanol (TT)*. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch trong khoảng bước sóng từ 220 nm đến 350 nm có hấp thụ cực đại ở 310 nm. Độ hấp thụ riêng ở bước sóng cực đại từ 340 đến 360.
C. Điểm chảy của chế phẩm phải từ 125 °C đến 128 °C (Phụ lục 6.7).
D. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}. Hoạt hóa ở 110 °C trong 1 h và để nguội.
Dung môi khai triển: *Butanol - ethyl acetat* (25 : 75).
Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20 mg tinidazol chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 2/3 chiều dài bản mỏng. Để khô bản mỏng ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vị trí và kích thước tương tự với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
E. Lấy khoảng 10 mg chế phẩm, thêm khoảng 10 mg *bột kẽm (TT)*, 0,3 ml *acid hydrocloric (TT)* và 1 ml *nước*. Đun trong cách thủy 5 min rồi để nguội. Dung dịch cho phản ứng của amin thơm bậc nhất (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *aceton (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu V_5 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch trong điều kiện tránh ánh sáng.
Pha động: *Acetonitril - methanol - nước* (10 : 20 : 70).
Dung dịch thử: Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong 10,0 ml *methanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5,0 mg tạp chất A chuẩn của tinidazol và 5,0 mg tạp chất B chuẩn của tinidazol trong 10,0 ml *methanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 50,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 3,0 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 320 nm.
Tốc độ dòng: 0,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 1,5 lần thời gian lưu của tinidazol.
Thời gian lưu tương đối so với tinidazol (thời gian lưu khoảng 6 min): Tạp chất A khoảng 0,6; tạp chất B khoảng 0,7.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất A và pic của tạp chất B ít nhất là 2,0.

Giới hạn:
Tạp chất A, B: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,2 %).
Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 4 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,4 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 2-methyl-5-nitro-1*H*-imidazol.
Tạp chất B: 1-[2-(ethylsulphonyl)ethyl]-2-methyl-4-nitro-1*H*-imidazol.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 4. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong 25 ml *acid acetic khan (TT)*. Định lượng bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 24,73 mg $C_8H_{13}N_3O_4S$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng nguyên sinh động vật, kháng sinh.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN TINIDAZOL
Tabellae Tinidazoli

Là viên nén bao phim chứa tinidazol.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu của viên bao trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng tinidazol, $C_8H_{13}N_3O_4S$, từ 93,0 % đến 107,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lấy một lượng bột viên tương đương 0,1 g tinidazol cho vào ống nghiệm, đốt nóng nhẹ tạo khí sulfur dioxid có mùi hắc và làm đen giấy lọc tẩm *dung dịch thủy ngân nitrat (TT)*.
B. Hòa tan một lượng bột viên tương đương 0,1 g tinidazol trong 5 ml *dung dịch acid sulfuric 5 % (TT)*, lắc kỹ, lọc. Thêm vào dịch lọc 2 ml *dung dịch bão hòa acid picric (TT)*, xuất hiện tủa màu vàng.
C. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch trong phần Định lượng phải có hai cực đại ở bước sóng 317 nm và 229 nm, một cực tiểu ở bước sóng 263 nm.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành: Lấy một phần môi trường sau khi hòa tan mẫu thử, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Lấy chính xác 2 ml dịch lọc cho vào bình định mức 100 ml, thêm *nước* đến định mức, lắc đều. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử ở bước sóng 317 nm. Tính hàm lượng tinidazol, $C_8H_{13}N_3O_4S$ đã hòa tan trong mỗi viên theo A (1%, 1 cm). Lấy 365 là giá trị A (1%, 1 cm) ở bước sóng 317 nm.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng tinidazol, $C_8H_{13}N_3O_4S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Định lượng
Cân 20 viên, loại bỏ lớp bao (nếu cần) và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 50 mg tinidazol vào bình định mức 200 ml, thêm *nước* vào và hòa tan bằng cách làm ấm, lắc liên tục 10 min, để nguội về nhiệt độ phòng, thêm *nước* đến định mức, lắc đều, lọc bằng giấy lọc khô, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Lấy chính xác 5 ml dịch lọc cho vào bình định mức 100 ml, thêm *nước* đến định mức, lắc đều. Pha dung dịch tinidazol chuẩn có nồng độ 0,0012 % trong *nước*. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử và dung dịch chuẩn ở bước sóng 317 nm, cốc đo dày 1 cm, dùng mẫu trắng là *nước*.
Tính hàm lượng tinidazol, $C_8H_{13}N_3O_4S$, dựa theo độ hấp thụ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_8H_{13}N_3O_4S$ của tinidazol chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc kháng nguyên sinh động vật, kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
500 mg.

TITAN DIOXYD
Titanii dioxidum

TiO_2 P.t.l : 79,9

Titan dioxyd phải chứa từ 98,0 % đến 100,5 % TiO_2.

Tính chất
Bột trắng hoặc gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, không tan trong acid vô cơ loãng nhưng tan chậm trong acid sulfuric đặc nóng.

Định tính
Dung dịch S_1: Lắc 20,0 g chế phẩm với 30 ml *acid hydrocloric đậm đặc (TT)* trong 1 min. Thêm 100 ml *nước cất (TT)*, đun sôi. Lọc nóng cho đến khi thu được dung dịch trong. Rửa giấy lọc bằng 60 ml *nước cất (TT)* và pha loãng dịch lọc thu được đến 200 ml bằng *nước cất (TT)*.
Dung dịch S_2: Trộn 0,500 g chế phẩm với 5 g *natri sulfat khan (TT)* trong bình nón cổ dài chịu nhiệt 300 ml. Thêm 10 ml *nước*, trộn đều. Thêm 10 ml *acid sulfuric (TT)*, đun sôi mạnh cho đến khi thu được dung dịch trong. Làm lạnh, thêm từ từ hỗn hợp chứa 30 ml *nước* và 10 ml *acid sulfuric (TT)* đã làm lạnh, tiếp tục làm lạnh và pha loãng thành 100 ml bằng *nước*.
A. Đun nóng mạnh, chế phẩm có màu vàng nhạt và mất màu khi làm lạnh.
B. Thêm 0,1 ml *dung dịch hydrogen peroxyd 30 % (TT)* vào 5 ml dung dịch S_2. Dung dịch xuất hiện màu đỏ cam.
C. Thêm 0,5 g *kẽm hạt (TT)* vào 5 ml dung dịch S_2. Sau 45 min, hỗn hợp có màu xanh tím.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S_2 không được đục hơn độ đục hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Thêm 50 ml *nước cất không có carbon dioxyd (TT)* vào 5,0 g chế phẩm, lắc trong 5 min. Ly tâm hay lọc cho đến khi thu được dung dịch trong. Lấy 10 ml dịch lọc, thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)*. Lượng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT)* dùng để chuyển màu chỉ thị không được quá 1,0 ml.

Các chất tan trong nước
Không được quá 0,5 %.
Lấy 10,0 g chế phẩm, thêm dung dịch chứa 0,5 g *amoni sulfat (TT)* trong 150 ml *nước*, đun sôi trong 5 min. Để nguội, pha loãng thành 200 ml với *nước* và lọc cho đến khi thu được dung dịch trong. Lấy 100 ml dịch lọc, bốc hơi đến cạn và nung cắn ở 600 °C đến khối lượng không đổi. Khối lượng cắn thu được không được quá 25 mg.

Antimony
Không được quá 0,01 %.
Lấy 10 ml dung dịch S_2, thêm 10 ml *acid hydrocloric (TT)* và 10 ml *nước*. Làm lạnh đến 20 °C (nếu cần), thêm 0,15 ml *dung dịch natri nitrit 10 % (TT)*. Sau 5 min, thêm 5 ml *dung dịch hydroxylamin hydroclorid 1 %* và 10 ml *dung dịch rhodamin B 0,01 %* vừa mới pha. Trộn đều mỗi khi thêm vào. Lắc mạnh với 10,0 ml *toluen (TT)* trong 1 min. Để yên tách lớp hoặc ly tâm 2 min nếu cần. Màu hồng xuất hiện trong lớp toluen không được đậm màu hơn màu hồng trong lớp toluen của dung dịch đối chiếu được chuẩn bị trong cùng điều kiện, dùng hỗn hợp 5 ml dung dịch antimony chuẩn 1 phần triệu Sb, 10 ml *acid hydrocloric (TT)* và 15 ml dung dịch chứa 0,5 g *natri sulfat khan (TT)* và 2 ml *acid sulfuric (TT)* thay thế hỗn hợp 10 ml dung dịch S_2, 10 ml *acid hydrocloric (TT)* và 10 ml *nước*.

Arsen
Không được quá 5 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).
Cân 0,5 g chế phẩm cho vào bình cầu đáy tròn có gắn nhiệt kế, cổ bình gắn với phễu có khóa và nối với ống dẫn khí vào một bình khác chứa 30 ml *nước*. Thêm 50 ml *nước*, 0,5 g *hydrazin sulfat (TT)*, 0,5 g *kali bromid (TT)* và 20 g *natri clorid (TT)*. Cho qua phễu từng giọt 25 ml *acid sulfuric (TT)*, đun nóng và giữ ở nhiệt độ 110 °C đến 115 °C trong 20 min. Hơi tạo ra được thu vào bình cầu chứa 30 ml *nước*. Pha loãng thành 50 ml với *nước*. Lấy 20 ml dung dịch này tiến hành thử theo phương pháp A.

Bari
Lấy 10 ml dung dịch S_1, thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)*. Sau 30 min, dung dịch không được đục hơn hỗn hợp chứa 10 ml dung dịch S_1 và 1 ml *nước cất*.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Pha loãng 10 ml dung dịch S_1 thành 20 ml bằng nước. Lấy 12 ml dung dịch thu được, tiến hành theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Sắt
Không được quá 0,02 %.
Lấy 8 ml dung dịch S_2, thêm 4 ml *nước*. Trộn đều và thêm 0,05 ml *nước brom (TT)*. Để yên 5 min, loại brom dư bằng luồng khí. Thêm 3 ml *dung dịch kali thiocyanat 9,7 %*, dung dịch không được có màu đậm hơn màu dung dịch đối chiếu được chuẩn bị trong cùng điều kiện, sử dụng 4 ml *dung dịch sắt mẫu 2 phần triệu Fe (TT)* và 8 ml *dung dịch acid sulfuric 20 % (TT)*.

Định lượng
Thêm 300 ml *dung dịch thủy ngân nitrat 2 %* và 2 ml *acid nitric (TT)* vào 300 g *kẽm hạt (TT)*, lắc mạnh trong 10 min và rửa với *nước cất*. Nhồi hỗn hống kẽm vào cột thủy tinh dài khoảng 400 mm, đường kính 20 mm có khóa và đĩa lọc. Cho 100 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* qua cột, sau đó là 100 ml *nước cất*, lưu ý đảm bảo chất lỏng luôn

ngập mặt hỗn hống. Cho hỗn hợp gồm 100 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* và 100 ml *nước cất* sau đó là 100 ml *nước cất* lần lượt qua cột với tốc độ 3 ml/min. Dịch rửa giải thu vào bình nón 500 ml có chứa 50,0 ml *dung dịch phèn sắt amoni sulfat 15 %* trong hỗn hợp *acid sulfuric - nước* (1 : 3). Thêm 0,1 ml *dung dịch feroin sulfat (TT)*, chuẩn độ ngay lập tức bằng *dung dịch amoni ceri nitrat 0,1 M (CĐ)* đến khi dung dịch xuất hiện màu xanh lá (n_1 ml). Cho lần lượt hỗn hợp chứa 50 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* và 50 ml *nước cất*, 20,0 ml dung dịch S_2, hỗn hợp chứa 50 ml *acid sulfuric loãng (TT)* và 50 ml *nước cất*, sau cùng là 100 ml *nước cất* với tốc độ 3 ml/min. Dịch rửa giải thu vào bình nón 500 ml có chứa 50 ml *dung dịch phèn sắt amoni sulfat* 15 % trong hỗn hợp *acid sulfuric - nước* (1 : 3). Rửa phần cuối cột với *nước cất*. Thêm 0,1 ml *dung dịch feroin sulfat (TT)*, chuẩn độ ngay lập tức bằng *dung dịch amoni ceri nitrat 0,1 M (CĐ)* đến khi dung dịch xuất hiện màu xanh lá (n_2 ml).

Hàm lượng phần trăm TiO_2 được tính bằng công thức:

$$3{,}99\ (n_2 - n_1)/m$$

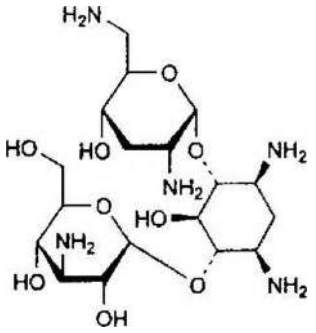
Trong đó, m là khối lượng (g) chế phẩm dùng để pha dung dịch S_2.

Bảo quản
Bao bì kín.

Loại thuốc
Chất bảo vệ, tá dược.

TOBRAMYCIN

Tobramycinum



$C_{18}H_{37}N_5O_9$ P.t.l: 467,5

Tobramycin là 4-*O*-(3-amino-3-deoxy-α-D-glucopyranosyl)-2-deoxy-6-*O*-(2,6-diamino-2,3-6-tridcoxy-α-D-*ribo*-hexopyranosyl)-L-streptamin, được điều chế từ *Streptomyces tenebrarius* hoặc bằng các phương pháp khác, phải chứa không ít hơn 900 µg $C_{18}H_{37}N_5O_9$ trong 1 mg, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan trong nước, rất khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi triển khai: Methanol - amoniac - cloroform (60 : 30 : 25).
Dung dịch thử: Hòa tan 30 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 30 mg tobramycin chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hỗn hợp đồng thể tích của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 3 µl mỗi dung dịch lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 chiều dài bản mỏng. Lấy bản mỏng ra, để dung môi bay hơi và sấy bản mỏng ở 105 °C trong 15 min. Ngay lập tức phun dung dịch *ninhydrin (TT)* 1 % trong hỗn hợp dung môi *1-butanol - pyridin* (100 : 1). Vết tobramycin có màu hồng. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí so với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Dung dịch đối chiếu (2) chỉ cho một vết duy nhất có vị trí tương ứng với vết chính trên trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
B. Trong mục Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic tobramycin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

pH
Từ 9,0 đến 11,0 (Phụ lục 6.2).
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* để đo.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.3).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi triển khai: Dung dịch natri clorid 29,2 % - ethanol 96 % - nước (50 : 30 : 20).
Dung dịch hypoclorit loãng: Pha loãng 20 ml *dung dịch natri hypoclorit (TT)* thành 100 ml bằng *nước*.
Thuốc thử tinh bột - kali iodid: Hòa tan 1,1 g *kali iodid (TT)* trong 60 ml *nước*, đun sôi trong 15 min, thêm từ từ hỗn dịch của 1,5 g *tinh bột (TT)* trong 10 ml *nước*. Thêm 25 ml *nước* và đun sôi trong 10 min. Để nguội và pha loãng thành 100 ml bằng *nước*.
Dung dịch thử: Chuyển 50 mg chế phẩm vào bình định mức 10 ml, thêm 7 ml *nước* để hòa tan và điều chỉnh đến pH 5,5 ± 0,4 bằng *dung dịch acid sulfuric 0.5 M (TT)*. Thêm *nước* đến vạch, trộn đều.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng dung dịch thử bằng *nước* để thu được dung dịch có nồng độ 0,05 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 1 µl các dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 chiều dài bản mỏng. Lấy bản mỏng ra, để dung môi bay hơi dưới luồng không khí nóng và sấy bản mỏng ở 110 °C trong 10 min. Phun lên bản mỏng đang nóng *dung dịch hypoclorit loãng*. Làm khô bản mỏng bằng luồng không khí lạnh đến khi phần bản mỏng đã phun ở dưới

vạch chấm chỉ cho màu xanh lam nhạt khi nhỏ một giọt *thuốc thử tinh bột - kali iodid*.
Tiếp tục phun bản mỏng *bằng thuốc thử tinh bột - kali iodid*, các vết có màu đỏ tía hơi xanh xuất hiện ngay. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử không được có màu đậm hơn màu của vết chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1,0 %).

Nước
Không được quá 8,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,3 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,3 % (Phụ lục 9.9; phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 2,00 EU/mg (Phụ lục 13.2).
Nếu chế phẩm dùng để sản xuất thuốc tiêm mà trong quy trình không có giai đoạn tiến hành loại bỏ nội độc tố vi khuẩn thì phải đáp ứng yêu cầu của phép thử này.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 2,0 g *tris(hydroxymethyl)aminoethan (TT)* trong 800 ml *nước*. Thêm 20 ml *dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT)* vào dung dịch thu được và pha loãng thành 2000 ml bằng *acetonitril (TT)*. Để nguội, lọc qua màng lọc 0,2 µm. Điều chỉnh nếu cần.
Thuốc thử 2,4-dinitroflourobenzen: Pha dung dịch *2,4-dinitroflourobenzen (TT)* có nồng độ 10 mg/ml trong *ethanol 96 % (TT)*. Dung dịch được dùng trong vòng 5 ngày sau khi pha, bảo quản trong tủ lạnh.
Thuốc thử tris(hydroxymethyl)aminomethan: Pha dung dịch chuẩn gốc chứa *tris(hydroxymethyl)aminomethan (TT)* nồng độ 15 mg/ml trong *nước*. Dung dịch này dùng được trong vòng 1 tháng, bảo quản trong tủ lạnh. Lấy 40 ml dung dịch chuẩn gốc vào bình định mức 200 ml, thêm *dimethyl sulfoxid (TT)* và trộn đều, thêm *dimethyl sulfoxid (TT)* đến vạnh. Thuốc thử này được dùng trong vòng 4 h. (Nếu nhúng chìm trong nước đá ở nhiệt độ dưới 10 °C thì có thể dùng thuốc thử này trong vòng 8 h).
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 55 mg chế phẩm vào bình định mức 50 ml, thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* và thêm *nước* để hòa tan chế phẩm, sau đó thêm *nước* đến vạch. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 50 ml bằng *nước*.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 55 mg tobramycin chuẩn vào bình định mức 50 ml, thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT)* và thêm *nước* để hòa tan chế phẩm, sau đó thêm *nước* đến vạch. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 50 ml bằng *nước*.
Tạo dẫn xuất: [Chú ý: Làm nóng các dung dịch ở cùng nhiệt độ, cùng thời gian. Các bình được đặt vào và lấy ra khỏi bể cách thủy (được duy trì nhiệt độ ở 60 °C) đồng thời]. Lần lượt thêm vào 3 bình định mức khác nhau 4,0 ml dung dịch chuẩn; 4,0 ml dung dịch thử và 4,0 ml *nước*. Thêm vào mỗi bình 10 ml *thuốc thử 2,4-dinitroflourobenzen* và 10 ml *thuốc thử tris(hydroxymethyl)aminomethan*, lắc đều và đậy nắp bình. Để các bình vào bể cách thủy được duy trì ở 60 °C ± 2 °C trong 50 min ± 5 min. Lấy bình ra, để yên 10 min. Thêm *acetonitril (TT)* đến gần vạch (cách vạch khoảng 2 ml), để nguội về nhiệt độ phòng và thêm *acetonitril (TT)* đến vạch, lắc đều. Các dung dịch thu được sau khi tạo dẫn xuất lần lượt là các dung dịch dẫn xuất chuẩn, dung dịch dẫn xuất thử và dung dịch mẫu trắng.
Dung dịch phân giải: Chuẩn bị dung dịch mới pha *p-naphtholbenzen (TT)* có nồng độ 0,24 mg/ml trong *acetonitril (TT)*. Pha loãng 2 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng dung dịch dẫn xuất chuẩn.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (30 cm × 3,9 mm) được nhồi pha tĩnh C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 365 nm.
Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch mẫu trắng để xác định pic dung môi và pic thuốc thử.
Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải, thời gian lưu tương đối của pic p-naphatholbenzein so với pic tobramycin khoảng 0,6. Độ phân giải giữa pic p-naphatholbenzein và pic tobramycin ít nhất là 4,0.
Tiến hành sắc ký với dung dịch dẫn xuất chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic từ 6 lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký với dung dịch dẫn xuất thử và dung dịch dẫn xuất chuẩn.
Tính hàm lượng tobramycin $C_{18}H_{37}N_5O_9$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic đáp ứng thu được từ dung dịch dẫn xuất chuẩn, dung dịch dẫn xuất thử và hàm lượng $C_{18}H_{37}N_5O_9$ của tobramycin chuẩn.

Bảo quản
Nếu chế phẩm vô khuẩn, phải bảo quản trong bao bì kín, vô khuẩn.

Loại thuốc
Kháng sinh nhóm aminoglycosid.

Chế phẩm
Thuốc tiêm, thuốc nhỏ mắt.

THUỐC NHỎ MẮT TOBRAMYCIN
Collyrium Tobramycin

Thuốc nhỏ mắt tobramycin là dung dịch vô khuẩn của tobramycin trong nước, có thể có thêm các tá dược thích hợp như chất đệm, chất bảo quản, chất phân tán hay chất điều chỉnh độ đẳng trương.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nhỏ mắt" (Phụ lục 1.14) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng tobramycin, $C_{18}H_{37}N_5O_9$, từ 90,0 % đến 120,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi triển khai: Methanol - amoniac đậm đặc - methylen clorid (50 : 33 : 17).
Dung dịch thử: Pha loãng (nếu cần) một thể tích chế phẩm trong *nước* để thu được dung dịch có nồng độ tobramycin khoảng 3 mg/ml.
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch tobramycin chuẩn trong *nước* có nồng độ 3 mg/ml.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 3,0 mg *neomycin sulfat chuẩn* và 3,0 mg *kanamycin monosulfat chuẩn* trong 1 ml dung dịch đối chiếu (1).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 5 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được được khoảng 15 cm. Làm khô bản mỏng bằng luồng khí nóng. Phun lên bản mỏng hỗn hợp đồng thể tích của *dung dịch 1,3-dihydroxynaphtalen 0,2 % trong ethanol 96 %* và *dung dịch acid sulfuric 46,0 %*. Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 5 đến 10 min. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, màu sắc và kích thước so với vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (2) cho 3 vết chính tách nhau rõ ràng.
B. Lấy 2 ml chế phẩm, thêm 5 ml *dung dịch ninhydrin 0,1 % trong ethanol 96 %*, và đun trong cách thủy 3 min. Màu xanh tím xuất hiện.

pH
Từ 7,0 đến 8,0 (Phụ lục 6.2).

Định lượng
Định lượng theo phương pháp Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật (Phụ lục 13.9). 1000 IU tương đương với 1 mg tobramycin, $C_{18}H_{37}N_5O_9$.

Bảo quản
Bảo quản trong lọ kín, ở nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
Dung dịch 0,3 %.

THUỐC TIÊM TOBRAMYCIN
Injectio Tobramycini

Là dung dịch vô khuẩn của tobramycin trong nước để pha thuốc tiêm có thêm acid sulfuric.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu chung trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng tobramycin, $C_{18}H_{37}N_5O_9$, từ 90,0 % đến 120,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Dung dịch trong, không màu.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Methanol - amoniac đậm đặc - cloroform (60 : 40 : 20).
Dung dịch thử: Pha loãng một thể tích thích hợp thuốc tiêm với *nước* để thu được dung dịch có nồng độ tobramycin 4 mg/ml.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20,0 mg tobramycin chuẩn trong *nước* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 4,0 mg kanamycin sulfat chuẩn và 4,0 mg neomycin sulfat chuẩn trong 1 ml dung dịch đối chiếu (1).
Cách tiến hành: Chấm riêng rẽ 5 µl mỗi dung dịch lên bản mỏng. Triển khai trong bình bão hòa dung môi đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra và làm khô bằng luồng khí ấm. Phun lên bản mỏng hỗn hợp đồng thể tích của *dung dịch 1,3-dihydroxynaphtalen 0,2 % trong ethanol 96 %* và *dung dịch acid sulfuric 46,0 %*. Sấy ở 105 °C trong 5 - 10 min. Vết chính thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, màu sắc và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch đối chiếu (2) cho 3 vết tách ra rõ ràng.
B. Lấy một thể tích chế phẩm tương đương với khoảng 6 mg tobramycin, thêm 2 ml *nước*. Thêm tiếp 5 ml *dung dịch ninhydrin 0,1 % trong ethanol 96 %* và đun trong cách thủy 3 min. Màu xanh tím xuất hiện.
C. Chế phẩm cho các phép thử định tính của sulfat (Phụ lục 8.1).

pH
Từ 3,5 đến 6,0 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel H.
Dung môi khai triển: Amoniac đậm đặc - butan-2-on - ethanol 96 % (1 : 1 : 1).
Dung dịch thử: Pha loãng một thể tích thích hợp thuốc tiêm với *dung dịch amoniac 0,01 M* để thu được dung dịch chứa 40 mg tobramycin trong 4 ml. Lắc 4 ml dung dịch này với 10 ml *ether (TT)*, sử dụng lớp nước.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 1 ml dung dịch thử thành 50 ml với *dung dịch amoniac 0,01 M*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 4 µl mỗi dung dịch lên bản mỏng. Triển khai trong bình bão hòa dung môi đến

khi dung môi đi được khoảng 15 cm. Lấy bản mỏng ra và để khô ngoài không khí. Sấy ở 110 °C trong 10 min. Phun ngay bản mỏng khi còn nóng với dung dịch được pha ngay trước khi dùng, bằng cách pha loãng *dung dịch natri hypoclorid* (3 % clor) với *nước* để thu được dung dịch chứa 0,5 % clor. Làm khô bản mỏng bằng luồng không khí lạnh cho đến khi phần bản mỏng được phun thuốc thử dưới vạch xuất phát chỉ cho màu xanh rất nhạt với 1 giọt *dung dịch hồ tinh bột có kali iodid (TT)* (tránh để lâu ngoài không khí lạnh). Phun bản mỏng với *dung dịch hồ tinh bột có kali iodid (TT)*. Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm màu hơn vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2 %).

Nội độc tố vi khuẩn
Pha loãng chế phẩm với nước BET (nếu cần) để thu được dung dịch có nồng độ tobramycin 10 mg/ml (dung dịch A). Nồng độ giới hạn nội độc tố của dung dịch A là 20 EU/ml. Tiến hành thử nghiệm sử dụng độ pha loãng tối đa của dung dịch A được tính từ độ nhạy của thuốc thử lysat dùng trong phép thử (Phụ lục 13.2).

Định lượng
Định lượng theo phương pháp Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật (Phụ lục 13.9). 1000 IU tương đương với 1 mg tobramycin, $C_{18}H_{37}N_5O_9$.

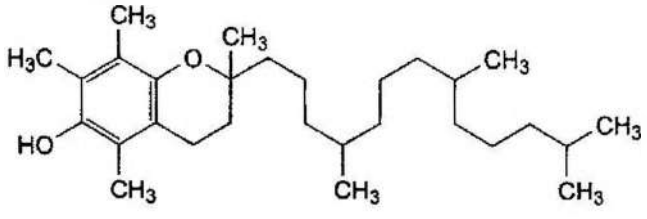
Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh.

Nồng độ thường dùng
20 mg/ml; 80 mg/ml.

all-*rac*-ALPHA TOCOPHEROL

Alpha tocopherolum



$C_{29}H_{50}O_2$ P.t.l: 430,7

all-*rac*-Alpha tocopherol là all-*rac*-2,5,7,8-tetramethyl-2-(4,8,12-trimethyltridecyl)-3,4-dihydro-2*H*-1-benzopyran-6-ol, phải chứa từ 96,0 % đến 101,5 % $C_{29}H_{50}O_2$.

Tính chất
Chất lỏng sánh như dầu, không màu hoặc màu nâu hơi vàng. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong aceton, ethanol khan, dicloromethan và trong các dầu béo.

Định tính
Có thể chọn một trong 2 nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B.
Nhóm II: B, C.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của α-tocopherol chuẩn.
B. Góc quay cực: Từ -0,01° đến +0,01° (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *ethanol khan (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel F_{254}.
Dung môi khai triển: Cyclohexan - ether (80 : 20).
Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong *2 ml cyclohexan (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 10 mg α-tocopherol chuẩn trong 2 ml *cyclohexan (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, làm khô bằng luồng không khí và quan sát dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử có vị trí và kích thước tương tự vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2). Dùng phương pháp chuẩn hóa diện tích pic.
Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan 1,0 g *squalan (TT)* trong *cyclohexan (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 10,0 ml dung dịch chuẩn nội.
Dung dịch thử (2): Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 10,0 ml *cyclohexan (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,100 g α-tocopherol chuẩn trong 10,0 ml dung dịch chuẩn nội.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg chế phẩm và 10 mg *α-tocopheryl acetat (TT)* trong *cyclohexan (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10 mg chuẩn all-*rac*-α-tocopherol để định tính pic (chứa các tạp chất A, B và D) trong *cyclohexan (TT)* và pha loãng thành 1 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (2) thành 100,0 ml bằng *cyclohexan (TT)*, sau đó lại pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng *cyclohexan (TT)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột mao quản, dài 30 m, đường kính 0,25 mm, pha tĩnh là *poly(dimethyl)siloxan (TT)* (bề dày lớp phim 0,25 µm).
Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký khí*.
Detector: Ion hóa ngọn lửa.
Nhiệt độ cột là 280 °C, buồng tiêm và detector là 290 °C.
Tốc độ dòng 1 ml/min.
Tỷ lệ chia dòng: 1 : 100.
Thể tích tiêm: 1 µl.

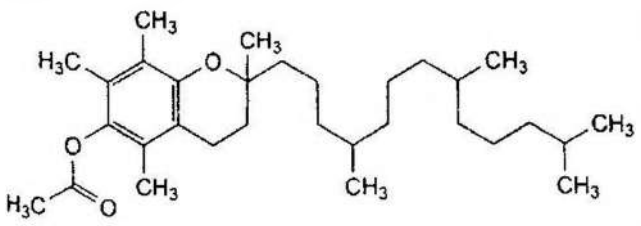
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký dung dịch thử (2) và các dung dịch đối chiếu (2), (3) và (4).
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của pic all-*rac*-α-tocopherol.
Định tính các tạp chất: Dùng sắc ký đồ của chuẩn all-*rac*-α-tocopherol để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định các pic do các tạp chất A, B, C và D. Thời gian lưu tương đối so với all-*rac*-α-tocopherol (thời gian lưu khoảng 13 min): Squalan khoảng 0,5; tạp chất A khoảng 0,7; tạp chất B khoảng 0,8; tạp chất C khoảng 1,05 và tạp chất D cũng khoảng 1,05.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic all-*rac*-α-tocopherol và pic α-tocopheryl acetat ít nhất là 3,5.
Giới hạn:
Tạp chất A: Tối đa 0,5 %.
Tạp chất B: Tối đa 1,5 %.
Tổng tạp chất C và D: Tối đa 1,0 %.
Bất kỳ tạp chất nào khác: Mỗi tạp chất tối đa 0,25 %.
Tổng tất cả các tạp chất: Tối đa 2,5 %.
Giới hạn loại bỏ: Diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,1 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: all-*rac-trans*-2,3,4,6,7-pentamethyl-2-(4,8, 12-trimethyltridecyl) -2,3-dihydrobenzofuran-5-ol.
Tạp chất B: all-*rac-cis*-2,3,4,6,7-pentamethyl-2-(4,8,12-trimethyltridecyl)-2,3-dihydrobenzofuran-5-ol.
Tạp chất C: 4-methoxy-2,3,6-trimethyl-5-[(all-*RS,E*)-3,7,11,15-tetramethylhexadec-2-enyl]phenol.
Tạp chất D: (all-*RS*,all-*E*)-2,6,10,14,19,23,27,31-octa-methyldotriaconta-12,14,18-trien.

Định lượng
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (1). Tính hàm lượng phần trăm $C_{29}H_{50}O_2$ dựa vào hàm lượng công bố trên nhãn của α-tocopherol chuẩn.

Bảo quản
Trong khí trơ, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Vitamin.

all-*rac*-ALPHA TOCOPHERYL ACETAT
Alpha tocopheryli acetas



$C_{31}H_{52}O_3$ P.t.l: 472,7

all-*rac*-Alpha tocopheryl acetat là 2,5,7,8-tetramethyl-2-(4,8,12-trimethyltridecyl)-3,4-dihydro-2*H*-1-benzopyran-6-yl acetat, phải chứa từ 96,5 % đến 101,0 % $C_{31}H_{52}O_3$.

Tính chất
Chất lỏng sánh như dầu, trong, không màu hoặc màu vàng hơi ánh lục. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong aceton, trong ethanol khan và trong các dầu béo.

Định tính
Có thể chọn một trong 2 nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B.
Nhóm II: B, C.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của α-tocopheryl acetat chuẩn.
B. Góc quay cực: Từ -0,01° đến +0,01° (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 2,50 g chế phẩm trong *ethanol khan (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel F_{254}.
Dung môi khai triển: Cyclohexan - ether (80 : 20).
Dung dịch thử: Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 2 ml *cyclohexan (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan khoảng 10 mg α-tocopheryl acetat chuẩn trong 2 ml *cyclohexan (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được 2/3 chiều dài của bản mỏng. Lấy bản mỏng ra và làm khô trong luồng không khí. Kiểm tra bản mỏng dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử có vị trí và kích thước tương tự vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2). Dùng phương pháp chuẩn hóa diện tích pic.
Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan 1,0 g *squalan (TT)* trong *cyclohexan (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 10,0 ml dung dịch chuẩn nội.
Dung dịch thử (2): Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong 10,0 ml *cyclohexan (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 0,100 g α-tocopheryl acetat chuẩn trong 10,0 ml dung dịch chuẩn nội.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg chế phẩm và 10 mg *α-tocopherol (TT)* trong *cyclohexan (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml bằng *cyclohexan (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 10 mg chuẩn all-*rac*-α-tocopheryl acetat để định tính pic (chứa các tạp chất A, B, E) trong *cyclohexan (TT)* và pha loãng thành 1 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử (2) thành 100,0 ml bằng *cyclohexan (TT)*. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng *cyclohexan (TT)*.

Điều kiện sắc ký:
Cột mao quản, dài 30 m, đường kính 0,25 mm, chất mang *poly(dimethyl)siloxan (TT)* (bề dày phim 0,25 µm).
Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký*.
Detector: Ion hóa ngọn lửa.
Nhiệt độ: Cột 280 °C; buồng tiêm và detector 290 °C.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Tỷ lệ chia dòng: 1 : 100.
Thể tích tiêm: 1 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký dung dịch thử (2) và các dung dịch đối chiếu (1), (2), (3) và (4).
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 2 lần thời gian lưu của all-*rac*-α-tocopheryl acetat.
Định tính các tạp chất: Dùng sắc ký đồ của chuẩn all-*rac*-α-tocopheryl acetat để định tính pic và sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) để xác định các pic của các tạp chất A, B, D, và E.
Thời gian lưu tương đối so với all-*rac*-α-tocopheryl acetat (thời gian lưu khoảng 15 min): Squalan khoảng 0,4; tạp chất A khoảng 0,7; tạp chất B khoảng 0,8; tạp chất C khoảng 0,9; tạp chất D khoảng 1,05 và tạp chất E khoảng 1,05.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất C và pic của all-*rac*-α-tocopheryl acetat ít nhất là 3,5. Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), diện tích của pic tương ứng với tạp chất C không được lớn hơn 0,2 % so với diện tích của pic tương ứng với all-*rac*-α-tocopheryl acetat.
Giới hạn:
Các tạp chất A và C: Tối đa mỗi tạp chất không quá 0,5 %.
Tạp chất B: Tối đa 1,5 %.
Tổng tạp chất D và E: Tối đa 1,0 %.
Bất kỳ tạp chất nào khác, mỗi tạp chất tối đa 0,25 %.
Tổng tất cả các tạp chất: Tối đa 2,5 %.
Giới hạn loại bỏ: Diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (0,1 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: all-*rac-trans*-2,3,4,6,7-pentamethyl-2-(4,8,12-trimethyltridecyl)-2,3-dihydrobenzofuran-5-yl acetat.
Tạp chất B: all-*rac*-cis-2,3,4,6,7-pentamethyl-2-(4,8. 12-trimethyl tridecyl)-2,3-dihydrobenzofuran-5-yl acetat.
Tạp chất C: all-*rac*-α-tocopherol.
Tạp chất D: 4-methoxy-2,3,6-trimethyl-5-[(all-*RS,E*)-3,7,11,15-tetramethylhexadec-2-enyl]phenyl acetat.
Tạp chất E: (all-*RS*,all-*E*)-2,6,10,14,19,23,27,31-octamethyl dotriaconta-12,14,18-trien.

Định lượng
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2). Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan.
Tiến hành sắc ký dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (1). Tính hàm lượng phần trăm $C_{31}H_{52}O_3$ dựa vào hàm lượng công bố trên nhãn của all-*rac*-α-tocopheryl acetat chuẩn.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Vitamin.

NANG MỀM VITAMIN E
Molles capsulae Vitamini E

Là nang mềm chứa một trong các dạng vitamin E: d- hoặc dl-alpha tocopherol ($C_{29}H_{50}O_2$); d- hoặc dl-alpha tocopheryl acetat ($C_{31}H_{52}O_3$).
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nang" (Phụ lục 1.13) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng vitamin E, từ 95,0 % đến 120,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Dung dịch thử cho alpha tocopheryl acetat (Dùng dụng cụ thủy tinh tránh ánh sáng): Cân chính xác một lượng thuốc trong nang tương ứng với khoảng 220 mg d- hoặc dl-alpha tocopheryl acetat vào bình nón có nút mài 150 ml, cho vào 25 ml *ethanol (TT)* để hòa tan. Thêm 20 ml hỗn hợp gồm *acid sulfuric (TT)* và *ethanol (TT)* (1 : 7) và đun hồi lưu trong 3 h trong điều kiện tránh ánh sáng. Làm nguội, chuyển vào bình định mức 200 ml rồi pha loãng bằng hỗn hợp gồm *acid sulfuric (TT)* và *ethanol (TT)* (1 : 72) vừa đủ đến vạch và trộn đều.
A. Chuẩn bị dung dịch chứa một lượng thuốc trong nang tương ứng với khoảng 10 mg alpha tocopherol trong 10 ml *ethanol (TT)* hoặc dùng 10 ml dung dịch thử cho alpha tocopheryl acetat, vừa lắc vừa thêm 2 ml *acid nitric (TT)*, đun nóng khoảng 75 °C trong 15 min sẽ xuất hiện màu đỏ sáng hoặc màu cam.
B. Chuẩn bị dung dịch chứa một lượng thuốc trong nang tương ứng với khoảng 100 mg alpha tocopherol trong 50 ml *ether (TT)*. Đối với alpha tocopheryl acetat, lấy 100 ml dung dịch thử cho alpha tocopheryl acetat vào bình gạn và thêm 200 ml nước, chiết lần đầu với 75 ml, rồi với 25 ml *ether (TT)*, gộp dịch chiết ether vào một bình gạn khác. Thêm vào dịch chiết ether hoặc dung dịch ether ở trên 20 ml dung dịch *kali fericyanid* 10 % trong *dung dịch natri hydroxyd 0,2 M (TT)* và lắc 3 min. Rửa lớp ether 4 lần, mỗi lần với 50 ml nước, bỏ nước rửa và làm khan dịch ether bằng *natri sulfat khan (TT)*. Bốc hơi dịch ether trên cách thủy ở áp suất giảm hoặc trong bầu khí nitơ cho đến khi còn khoảng 7 đến 8 ml rồi ngừng cung cấp nhiệt và để ether bốc hơi trong không khí đến khi thu được cắn. Lập tức hòa tan cắn trong 5,0 ml *isooctan (TT)* và tiến hành xác định góc quay cực (Phụ lục 6.4). Tính góc quay cực riêng với C là nồng độ (%) tocopherol trong dung dịch đem thử được xác định từ phần Định lượng. Dạng đồng phân d- có góc quay cực riêng không nhỏ hơn +24°, dạng dl- có góc quay cực riêng bằng 0.
C. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

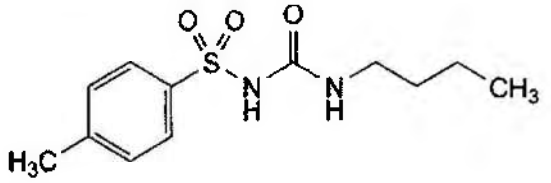
Pha động: *Methanol - nước* (49 : 1).
Dung dịch thử: Cân và xác định chính xác khối lượng của 20 nang. Dùng một dao nhọn hay dụng cụ khác mở các nang ra sao cho không bị thất thoát các mảnh vỏ nang. Chuyển toàn bộ lượng thuốc trong nang vào cốc có mỏ 100 ml. Rửa vỏ nang bằng *ether ethylic (TT)* hoặc *n-hexan (TT)*, làm khô vỏ nang dưới dòng khí nóng cho tới khi không còn ngửi thấy mùi dung môi, để nguội trong bình hút ẩm. Cân và xác định chính xác khối lượng của 20 vỏ nang, tính khối lượng trung bình thuốc trong nang. Cân chính xác một lượng thuốc trong nang tương đương khoảng 50 mg vitamin E vào bình định mức 50 ml, thêm *ethanol (TT)* vừa đủ, lắc đều.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg vitamin E chuẩn [alpha tocopherol ($C_{29}H_{50}O_2$) hoặc alpha tocopheryl acetat ($C_{31}H_{52}O_3$)] vào bình định mức 50 ml, thêm *ethanol (TT)* vừa đủ, lắc đều.
Dung dịch phân giải: Hòa tan 50 mg alpha tocopherol chuẩn và 50 mg alpha tocopheryl acetat chuẩn trong 50 ml *ethanol (TT)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm đến 30 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 hoặc 10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 284 nm đối với alpha tocopherol acetat và 292 nm đối với alpha tocopheryl.
Tốc độ dòng: 1 đến 2 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành
Tính phù hợp của hệ thống sắc ký:
Tiêm dung dịch phân giải: Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa 2 pic alpha tocopherol và alpha tocopheryl acetat không nhỏ hơn 2,6.
Tiêm dung dịch chuẩn: Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic giữa các lần tiêm nhắc lại dung dịch chuẩn không được lớn hơn 0,8 %.
Tiêm dung dịch thử. Tính hàm lượng vitamin E theo diện tích pic chính của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng vitamin E trong dung dịch chuẩn.
Hoạt lực của vitamin E được tính theo đơn vị USP.
1 mg dl-alpha tocopherol = 1,1 đơn vị USP vitamin E.
1 mg dl-alpha tocopheryl acetat = 1 đơn vị USP vitamin E.
1 mg d-alpha tocopherol = 1,49 đơn vị USP vitamin E.
1 mg d-alpha tocopheryl acetat = 1,36 đơn vị USP vitamin E.

Bảo quản
Đựng trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Vitamin.

Hàm lượng thường dùng
100 IU, 400 IU.

TOLBUTAMID
Tolbutamidum



$C_{12}H_{18}N_2O_3S$ P.t.l: 270,3

Tolbutamid là 1-butyl-3-[(4-methylphenyl) sulfonyl] ure, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{12}H_{18}N_2O_3S$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng. Thực tế không tan trong nước, tan trong aceton và ethanol 96 %, tan trong các dung dịch hydroxyd kiềm loãng.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, B.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của tolbutamid chuẩn.
B. Điểm chảy từ 126 °C đến 130 °C (Phụ lục 6.7).
C. Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng bước sóng từ 245 nm đến 300 nm, có 3 cực đại hấp thụ ở 258 nm, 263 nm, 275 nm và một vai tại 268 nm.
Pha loãng 10,0 ml dung dịch trên thành 250,0 ml bằng *methanol (TT)*. Đo phổ hấp thụ trong khoảng bước sóng 220 nm đến 235 nm, dung dịch có một cực đại hấp thụ tại 228 nm, giá trị A (1 %, 1 cm) tại 228 nm từ 480 đến 520.
D. Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong 8 ml *dung dịch acid sulfuric 50 % (TT)* và đun nóng dưới sinh hàn hồi lưu 30 min. Để nguội, thu được các tinh thể sau khi kết tinh lại từ nước nóng và sấy ở 105 °C, có điểm chảy (Phụ lục 6.7) từ 135 °C đến 140 °C.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong 5 ml *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)* và thêm 5 ml *nước*. Dung dịch phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Từ 4,5 đến 5,5 (Phụ lục 6.2).
Lấy 2,0 g chế phẩm, thêm 50 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* và đun nóng ở 70 °C trong 5 min. Làm nguội nhanh và lọc.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng.
Pha động: *Acetonitril (TT_1) - Dung dịch đệm pH 3,5* (35 : 65).

Dung dịch đệm pH 3,5: Dung dịch kali dihydrophosphat 1,36 g/l được điều chỉnh đến pH 3,5 bằng *acid phosphoric (TT).*
Dung dịch thử: Hòa tan 50 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng pha động. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg *toluensulfonamid (TT)* (tạp chất A) và 10 mg *toluensulfonylure (TT)* (tạp chất B) trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 1,5 lần thời gian lưu của tolbutamid.
Định tính các tạp chất: Sử dụng sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) để xác định pic của tạp chất A và B.
Thời gian lưu tương đối so với tolbutamid (thời gian lưu khoảng 18 min): Tạp chất B khoảng 0,2; tạp chất A khoảng 0,3.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất A và pic của tạp chất B không được nhỏ hơn 2,0.
Giới hạn:
Các tạp chất: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: (4-methylphenyl)sulfonamid (toluenesulfonamid).
Tạp chất B: 1-[(4-methylphenyl)sulfonyl]ure (toluenesulfonylure).
Tạp chất C: 1-azepan-1-yl-3-[(4-methylphenyl)sulfonyl]ure (tolazamid).

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4).
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong hỗn hợp *aceton - nước* (85 : 15) và pha loãng thành 20 ml với cùng hỗn hợp dung môi. Lấy 12 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo phương pháp 2.
Chuẩn bị dung dịch chì mẫu 0,5 phần triệu Pb bằng cách pha loãng *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb (TT)* bằng hỗn hợp *aceton - nước* (85 : 15).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong hỗn hợp 20 ml *nước* và 40 ml *ethanol 96 % (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*, dùng 1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 27,03 mg $C_{12}H_{18}N_2O_3S$.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Chống đái tháo đường.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN TOLBUTAMID
Tabellae Tolbutamidi

Là viên nén chứa tolbutamid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng tolbutamid, $C_{12}H_{18}N_2O_3S$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
Lấy một lượng bột viên tương ứng với 1 g tolbutamid, chiết với 10 ml *cloroform (TT)*, lọc vào cốc nhỏ, dùng đũa thủy tinh cọ vào thành cốc để tinh thể hình thành, lọc lấy tinh thể, làm bay hơi dung môi cho tới khô và sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 30 min. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn phải phù hợp với phổ hồng ngoại của tolbutamid chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch có chứa 2,04 % *dinatri hydrophosphat* và 0,135 % *kali dihydrophosphat*.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành: Lấy một phần dung dịch môi trường sau khi hòa tan, lọc, bỏ 20 ml dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc với môi trường hòa tan để có nồng độ thích hợp. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 228 nm, dùng môi trường hòa tan làm mẫu trắng. Tính hàm lượng tolbutamid, $C_{12}H_{18}N_2O_3S$, đã hòa tan theo A (1 %, 1 cm). Lấy 417 làm giá trị A (1 %,1 cm) ở bước sóng cực đại 228 nm.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng tolbutamid, $C_{12}H_{18}N_2O_3S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi triển khai: Acid formic khan - methanol - cloroform (2 : 8 : 90).
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương ứng với khoảng 0,5 g tolbutamid với 10 ml *aceton (TT)*, lọc (giấy lọc Whatman số 1).
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch chứa 0,015 % *toluen-p-sulphonamid (TT)* trong *aceton (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Hỗn hợp đồng thể tích của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1) và 10 µl dung dịch đối chiếu (2). Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí, sấy bản mỏng ở 110 °C trong 10 min, khi bản mỏng còn nóng, đặt vào bình đã có sẵn cốc nhỏ chứa *dung dịch kali permanganat 5 % (TT)* và thêm vào đó một lượng đồng thể tích *acid hydrocloric (TT);* đậy nắp bình, để yên bản mỏng trong bình 2 min, lấy bản mỏng ra đặt trước luồng khí lạnh đến khi khí clor thừa bay hết và phần bản mỏng dưới vạch xuất phát cho màu xanh nhạt với *dung dịch kali iodid - hồ tinh bột (TT)* (không để bản mỏng quá lâu trước luồng khí lạnh). Phun *dung dịch kali iodid - hồ tinh bột (TT)* để yên 5 min.
Bất kỳ vết phụ nào trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,3 %). Thử nghiệm chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách rõ ràng.

Định lượng
Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng khoảng 0,5 g tolbutamid, thêm 50 ml *ethanol 96 % (TT)* đã được trung hòa trước với dung dịch *phenolphtalein (TT)*, lắc, làm nóng nhẹ trong nồi cách thủy để hòa tan, thêm 25 ml *nước*, chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*, dùng *dung dịch phenolphthalein (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương ứng với 27,03 mg $C_{12}H_{18}N_2O_3S$.

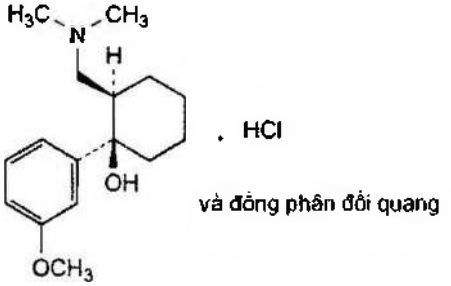
Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc chống đái tháo đường loại sulphonyl ure.

Hàm lượng thường dùng
0,25 g; 0,50 g.

TRAMADOL HYDROCLORID

Tramadoli hydrochloridum



$C_{16}H_{25}NO_2.HCl$ P.t.l: 299,8

Tramadol hydroclorid là (1*RS*,2*RS*)-2-[(dimethylamino) methyl]-1-(3-methoxyphenyl)-cyclohexanol hydroclorid phải chứa từ 98,0 % đến 102,0 % $C_{16}H_{25}NO_2.HCl$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan trong nước và trong methanol, rất khó tan trong aceton.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của tramadol hydroclorid chuẩn.
B. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic tramadol trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
C. Dung dịch chế phẩm 1 % phải cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid
Thêm 0,2 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)* và 0,2 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* vào 10 ml dung dịch S. Dung dịch có màu đỏ. Màu của chỉ thị phải chuyển sang vàng khi thêm không quá 0,4 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)*.

Góc quay cực
Từ -0,10° đến +0,10° (Phụ lục 6.4).
Dùng dung dịch S để đo.

Hàm lượng clorid
Từ 11,6 % đến 12,1 %.
Hòa tan 150 mg chế phẩm trong 40 ml *nước*, vừa thêm 7,5 ml *dung dịch acid nitric 4 N (TT)* và 15,0 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* vừa khuấy đều. Chuẩn độ bằng *dung dịch amoni thiocyanat 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế, dùng hệ điện cực

bạc - thủy tinh (Phụ lục 10.2). Thực hiện song song mẫu trắng trong cùng điều kiện.
1 ml *dung dịch amoni thiocyanat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 3,545 mg clorid.

Tạp chất B
Không được quá 0,2 %.
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel.
Dung môi khai triển: Toluen - 2-propanol - dung dịch amoniac 25 % (80 : 19 : 1).
Dung dịch thử: Dung dịch chế phẩm nồng độ 50 mg/ml trong *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch tạp chất B chuẩn nồng độ 0,1 mg/ml trong *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Đặt bản mỏng trong bình sắc ký đã được bão hòa với hơi amoniac và để yên ít nhất 20 min. Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm. Lấy bản mỏng ra, phun lên bản mỏng *thuốc thử Dragendorff (TT)* và làm khô trong 5 min. Phun bản mỏng đã làm khô với dung dịch *natri nitrit (TT)* 50 mg/ml đến khi vết tạp chất B trong dung dịch đối chiếu xuất hiện. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử, bất kỳ vết phụ nào tương ứng với vết tạp chất B không được đậm màu hơn vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (0,2 %).
Ghi chú:
Tạp chất B: (2-[(Dimethylamino)methyl]cyclohexanon hydroclorid.

Tạp chất hữu cơ
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, dung dịch kiểm tra tính phù hợp của hệ thống, dung dịch thử, điều kiện sắc ký và quy định sự phù hợp của hệ thống sắc ký như mô tả trong phần Định lượng.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký dung dịch thử với thời gian gấp 4 lần thời gian lưu của pic tramadol.
Tính phần trăm mỗi tạp chất (nếu có) dựa vào diện tích pic của mỗi tạp chất và tổng diện tích của tất cả các pic trên sắc ký đồ dung dịch thử.
Giới hạn:
Tạp chất A: Không được quá 0,2 %.
Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, không được quá 0,1 %.
Tổng các tạp chất: Không được quá 0,4 %.
Ghi chú:
Tạp chất A: (*RS,SR*)-1-(3-Methoxyphenyl)-2-(dimethylaminomethyl) cyclohexanol hydroclorid.

Nước
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

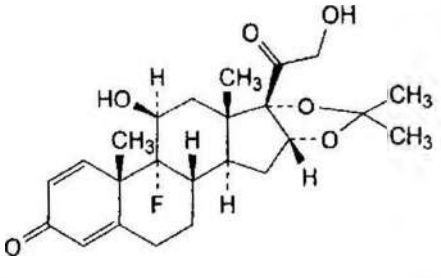
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch A: Hòa tan 2 ml *acid trifluoroacetic (TT)* trong 1000 ml *nước*.
Pha động: *Acetonitril - dung dịch A* (30 : 70). Nếu cần thì điều chỉnh tỷ lệ các thành phần trong pha động để đạt yêu cầu về tính phù hợp của hệ thống.
Dung dịch thử: Hòa tan một lượng chính xác chế phẩm trong pha động và pha loãng bằng pha động để thu được dung dịch có nồng độ tramadol hydroclorid 1,5 mg/ml.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng chính xác tramadol hydroclorid chuẩn trong pha động và pha loãng bằng pha động để thu được dung dịch có nồng độ tramadol hydroclorid 1,5 mg/ml.
Dung dịch kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Dung dịch chứa tramadol hydroclorid chuẩn 0,05 mg/ml và tạp chất A chuẩn 0,05 mg/ml trong pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 270 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch kiểm tra tính phù hợp của hệ thống và ghi lại sắc ký đồ. Thời gian lưu tương đối của pic tạp chất A là 0,9 và của pic tramadol là 1,0; độ phân giải giữa pic tạp chất A và tramadol không được nhỏ hơn 2,0; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic giữa các lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng $C_{16}H_{25}NO_2.HCl$ dựa vào diện tích pic tramadol thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{16}H_{25}NO_2.HCl$ trong tramadol hydroclorid chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Thuốc giảm đau loại opioid.

Chế phẩm
Viên nén, nang.

TRIAMCINOLON ACETONID
Triamcinoloni acetonidum



$C_{24}H_{31}FO_6$ P.t.l: 434,5

Triamcinolon acetonid là 9-fluoro-11β,21-dihydroxy-16α, 17-(1-methylethylidendioxy)pregna-1,4-dien-3,20-dion, phải chứa từ 97,0 % đến 103,0 % $C_{24}H_{31}FO_6$, tính theo chế phẩm khan.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hay gần như trắng, đa hình.

Thực tế không tan trong nước, hơi tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, B

Nhóm II: C, D

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của triamcinolon acetonid chuẩn. Nếu phổ hấp thụ hồng ngoại của mẫu thử và mẫu chuẩn ở trạng thái rắn khác nhau thì hòa tan riêng biệt chế phẩm và triamcinolon acetonid chuẩn trong một lượng tối thiểu *methanol (TT)*, bốc hơi đến khô. Ghi phổ mới các cặn thu được bằng cách tạo đĩa với muối halogen hoặc tạo bột nhão với *parafin lỏng (TT)*.

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

Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng và tránh ánh sáng.

Bản mỏng: Silica gel F_{254}.

Dung môi khai triển: Trộn hỗn hợp gồm 1,2 thể tích *nước* và 8 thể tích *methanol (TT)* với hỗn hợp gồm 15 thể tích *ether (TT)* và 77 thể tích *methylen clorid (TT)*.

Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg triamcinolon acetonid chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10 mg triamcinolon hexacetonid chuẩn trong dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 10 ml với dung dịch đối chiếu (1).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát ngay dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách rõ ràng.

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

Chuẩn bị các dung dịch ngay trước khi dùng và tránh ánh sáng.

Bản mỏng: Silica gel F_{254}.

Dung môi khai triển: Trộn hỗn hợp gồm 1,2 thể tích *nước* và 8 thể tích *methanol (TT)* với hỗn hợp gồm 15 thể tích *ether (TT)* và 77 thể tích *methylen clorid (TT)*.

Dung dịch thử (1): Hòa tan 10 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Trong một bình gạn, hòa tan 10 mg chế phẩm trong 1,5 ml *acid acetic băng (TT)*, thêm 0,5 ml dung dịch *crom trioxyd (TT)* 2 % và để yên 60 min. Thêm 5 ml *nước*, 2 ml *methylen clorid (TT)*, lắc mạnh trong 2 min. Để cho tách lớp và sử dụng lớp dưới.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg triamcinolon acetonid chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Trong một bình gạn, hòa tan 10 mg triamcinolon acetonid chuẩn trong 1,5 ml *acid acetic băng (TT)*, thêm 0,5 ml dung dịch *crom trioxyd (TT)* 2 % và để yên 60 min. Thêm 5 ml *nước*, 2 ml *methylen clorid (TT)*, lắc mạnh trong 2 min. Để cho tách lớp và sử dụng lớp dưới.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Để bản mỏng khô ngoài không khí và quan sát ngay dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về vị trí, kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu tương ứng. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (2) có giá trị R_f cao hơn rõ rệt so với giá trị R_f của vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (1).

D. Trộn khoảng 5 mg chế phẩm với 45 mg *magnesi oxyd nặng (TT)* và nung trong chén nung đến khi thu được cặn gần như trắng (thường ít hơn 5 min). Để nguội, thêm 1 ml *nước*, 0,05 ml *dung dịch phenolphtalein (TT_1)* và khoảng 1 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* để làm cho dung dịch mất màu. Lọc. Thêm 1,0 ml dịch lọc vào một hỗn hợp mới pha gồm 0,1 ml *dung dịch alizarin S (TT)* và 0,1 ml *dung dịch zirconyl nitrat (TT)*. Trộn đều, để yên 5 min và so sánh màu của dung dịch thu được với màu của mẫu trắng được chuẩn bị trong cùng điều kiện. Dung dịch thử có màu vàng và dung dịch mẫu trắng có màu đỏ.

Góc quay cực riêng

Từ +100° đến +107°, tính theo chế phẩm khan (Phụ lục 6.4). Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *dioxan (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Quá trình thử được tiến hành tránh ánh sáng.

Pha động: Trong một bình định mức dung tích 1000 ml, trộn 525 ml *methanol (TT)* với 400 ml *nước* và để cân bằng, điều chỉnh thể tích đến 1000 ml bằng *nước*, trộn đều.

Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong 7 ml *methanol (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với nước.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 2 mg triamcinolon acetonid chuẩn và 2 mg triamcinolon (tạp chất A) trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng pha động

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 254 nm.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Cân bằng cột với pha động trong khoảng 10 min.
Tiêm dung dịch đối chiếu (1). Thời gian lưu của triamcinolon khoảng 5 min và triamcinolon acetonid khoảng 17 min. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa các pic tương ứng với triamcinolon và triamcinolon acetonid không nhỏ hơn 15; nếu cần điều chỉnh nồng độ methanol trong pha động.
Tiêm lần lượt dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (2). Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 3,5 lần thời gian lưu của triamcinolon acetonid.
Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử: Diện tích của pic tương ứng với pic triamcinolon (tạp chất A) không được lớn hơn 0,25 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,25 %). Tổng diện tích các pic, ngoài pic chính không được lớn hơn 0,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %). Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Nước
Không được quá 2,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,500 g chế phẩm.

Định lượng
Chú ý tránh ánh sáng trong quá trình định lượng.
Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml với *ethanol 96 % (TT)*. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng cực đại 238,5 nm. Tính hàm lượng triamcinolon acetonid, $C_{24}H_{31}FO_6$, theo A (1 %, 1 cm). Lấy 355 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 238,5 nm.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Glucocorticoid.

Chế phẩm
Kem bôi da.

KEM TRIAMCINOLON ACETONID
Cremoris Triamcinoloni acetonidi

Là kem bôi trên da có chứa triamcinolon acetonid trong tá dược kem thích hợp.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc mềm dùng trên da và niêm mạc" (Phụ lục 1.12) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng triamcinolon acetonid, $C_{24}H_{31}FO_6$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Thuốc kem có màu trắng hoặc trắng hơi ngà, đồng nhất.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của pic triamcinolon acetonid trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Ethyl acetat.
Dung dịch thử: Lấy một lượng chế phẩm tương đương với khoảng 5 mg triamcinolon acetonid cho vào bình nón, thêm 50 ml *cloroform (TT)* và 15 g *natri sulfat khan (TT)*, lắc mạnh đến khi tan, lọc và làm trong dịch lọc (nếu cần) bằng cách thêm *natri sulfat khan (TT)* và lọc lại. Làm bay hơi dung dịch thu được đến gần khô và hòa tan cắn bằng 10 ml *cloroform (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch triamcinolon acetonid chuẩn 0,05 % trong *cloroform (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Hỗn hợp đồng thể tích dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 10 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra để ngoài không khí. Phun hỗn hợp đồng thể tích *dung dịch natri hydroxyd 20 % (TT)* và dung dịch *xanh tetrazolium 0,2 %* trong *methanol (TT)* lên bản mỏng. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về màu sắc và vị trí với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1). Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) chỉ có một vết chính.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - nước (30 : 70), điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 37 mg triamcinolon acetonid chuẩn vào bình định mức 50 ml, hòa tan bằng *isopropanol (TT)* và pha loãng đến định mức với cùng dung môi, lắc đều. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với *isopropanol (TT)*. Pha loãng dung dịch thu được với cùng một thể tích pha động.
Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng kem chứa khoảng 1,5 mg triamcinolon acetonid trong ống nghiệm 50 ml có nút đậy, thêm 20,0 ml dung dịch *isopropanol (TT)*, đậy chặt nắp. Đun nóng 60 °C trong 5 min trong cách thủy, lắc cẩn thận 30 s. Lặp lại đun và lắc 3 lần. Làm lạnh trong nước đá từ 15 min đến 20 min. Ly tâm trong 15 min ở -5 °C, pha loãng dung dịch ly tâm với đồng lượng thể tích pha động. Làm lạnh trong nước đá từ 10 min đến 15 min. Lọc qua bông thủy tinh và lọc qua giấy lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:
Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng triamcinolon acetonid, $C_{24}H_{31}FO_6$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{24}H_{31}FO_6$ của triamcinolon acetonid chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng

Loại thuốc
Chống viêm steroid dùng tại chỗ.

Hàm lượng thường dùng
Kem bôi da 0,1 %.

TRIGLYCERID MẠCH TRUNG BÌNH
Triglycerida saturata media

Triglycerid mạch trung bình là hỗn hợp các triglycerid của các acid béo bão hòa, chủ yếu là acid caprylic (*acid octanoic*) và acid capric (*acid decanoic*), phải chứa ít nhất 95,0 % các acid béo bão hòa có 8 và 10 nguyên tử carbon. Triglycerid mạch trung bình thu được bằng cách chiết xuất dầu từ phần nội nhũ khô cứng của *Cocos nucifera L.* hoặc từ nội nhũ khô của *Elaeis guineensis* Jacq.
Triglycerid mạch trung bình được điều chế từ nội nhũ của *Cocos nucifera L.*, có thể được gọi là dầu dừa phân đoạn.

Tính chất
Chất lỏng dạng dầu, không màu hoặc hơi có ánh vàng. Thực tế không tan trong nước, trộn lẫn được với ethanol 96 %, methylen clorid, ether dầu hỏa (khoảng sôi 50 °C đến 70 °C) và với các dầu béo.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: B, C.
Nhóm II: A, D.
A. Đun nóng 3,0 g chế phẩm dưới sinh hàn hồi lưu, trong 30 min với 50 ml hỗn hợp đồng thể tích của *ethanol 96 % (TT)* và *dung dịch kali hydroxyd 2 M trong ethanol (TT)*. Giữ lại 10 ml hỗn hợp thu được để thử phản ứng định tính D. Thêm 30 ml *nước* vào 40 ml hỗn hợp thu được ở trên, làm bay hơi ethanol trên cách thủy và acid hóa dung dịch thu được khi còn nóng bằng 25 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*. Sau khi để nguội, lắc dung dịch với 50 ml *ether không có peroxyd (TT)*. Rửa lớp ether 3 lần, mỗi lần với 10 ml *dung dịch natri clorid 0,9 % (TT)*, làm khan bằng *natri sulfat khan (TT)* và lọc. Bay hơi ether và xác định chỉ số acid của cắn (Phụ lục 7.2), dùng 0,300 g cắn thu được. Chỉ số acid phải từ 350 đến 390.
B. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Chỉ số xà phòng hóa.
C. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Thành phần các acid béo.
D. Bốc hơi 10 ml hỗn hợp ethanol thu được ở phép thử định tính A trên cách thủy đến khô. Chuyển cắn vào một ống nghiệm, thêm 0,3 ml *acid sulfuric (TT)*, đậy ống nghiệm bằng một nút có gắn xuyên qua 1 ống thủy tinh hình chữ U. Một đầu ống thủy tinh hình chữ U nhúng ngập trong 3 ml *dung dịch tryptophan 1 %* pha trong hỗn hợp đồng thể tích của *acid sulfuric (TT)* và *nước*. Đun nóng ống nghiệm trong dầu silicon ở 180 °C trong 10 min và thu khói được giải phóng ra vào thuốc thử tryptophan. Đun nóng thuốc thử tryptophan trong cách thủy 1 min. Màu tím xuất hiện.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Chế phẩm phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu của dung dịch đối màu chiếu V_3 (Phụ lục 9.3, phương pháp 1).

Tạp chất kiềm
Hòa tan 2,00 g chế phẩm trong một hỗn hợp gồm 1,5 ml *ethanol 96 % (TT)* và 3,0 ml *ether (TT)*. Thêm 0,05 ml *dung dịch xanh bromophenol (TT)*. Lượng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* cần dùng để làm chuyển màu của chỉ thị sang vàng không được quá 0,15 ml.

Tỷ trọng tương đối
Từ 0,93 đến 0,96 (Phụ lục 6.5).

Chỉ số khúc xạ
Từ 1,440 đến 1,452 (Phụ lục 6.1).

Độ nhớt
Từ 25 mPa·s đến 33 mPa·s (Phụ lục 6.3).

Chỉ số acid
Không được quá 0,2 (Phụ lục 7.2).

Chỉ số hydroxyl
Không được quá 10 (Phụ lục 7.4, phương pháp A).

Chỉ số Iod
Không được quá 1,0 (Phụ lục 7.5).

Chỉ số peroxyd
Không được quá 1,0 (Phụ lục 7.6, phương pháp A).

Chỉ số xà phòng hóa
Từ 310 đến 360 (Phụ lục 7.7).

Chất không bị xà phòng hóa
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 7.8).
Dùng 5,0 g chế phẩm.

Thành phần các acid béo
Tiến hành phép thử các dầu tạp bằng phương pháp sắc ký khí. Phụ lục 12.9, phương pháp C.
Điều kiện sắc ký:
Cột sắc ký: Silica nung chảy (30 m × 0,32 mm) được phủ pha tĩnh *macrogol 20 000 (TT)* (lớp phim dày 0,5 µm).
Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký khí (TT)*.
Tốc độ dòng: 1,3 ml/min.
Tỷ lệ chia dòng: 1 : 100.

Detector ion hóa ngọn lửa.
Thể tích tiêm: 1 µl.
Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 1	70
	1 - 35	70 → 240
	35 - 50	240
Buồng tiêm		250
Detector		250

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống:
Độ phân giải: Không dưới 1,8 giữa pic methyl oleat và methyl stearat trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (a).
Tỷ lệ tín hiệu trên nhiễu: Không dưới 5 với pic methyl myristat trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (b).
Số đĩa lý thuyết: Không dưới 30 000 tính theo pic methyl stearat trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (a).
Thành phần các acid béo trong chế phẩm phải đạt yêu cầu như sau:
Acid caproic: Không được quá 2,0 %.
Acid caprylic: 50,0 % đến 80,0 %.
Acid capric: 20,0 % đến 50,0 %.
Acid lauric: Không được quá 3,0 %.
Acid myristic: Không được quá 1,0 %.

Crom
Không được quá 0,05 phần triệu nếu mục đích sử dụng là để sản xuất dịch truyền dinh dưỡng, tiến hành phép thử như sau:
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 2).
Dung dịch thử: Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *methyl isobutyl ceton (TT_3)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch A: Pha loãng 0,100 ml *dung dịch mẫu crom 1000 phần triệu Cr pha trong dầu (TT)* thành 10,0 ml bằng *methyl isobutyl ceton (TT_3)*.
Dung dịch gốc: Pha loãng 0,100 ml *dung dịch A* thành 10,0 ml bằng *methyl isobutyl ceton (TT_3)*.
Các dung dịch chuẩn: Pha 3 dung dịch chuẩn. Mỗi dung dịch chuẩn được chuẩn bị bằng cách hòa tan 2,0 g chế phẩm trong một lượng tối thiểu *methyl isobutyl ceton (TT_3)*, rồi thêm lần lượt vào các dung dịch riêng biệt: 0,5 ml; 1,0 ml và 2,0 ml dung dịch gốc và pha loãng thành 10,0 ml bằng *methyl isobutyl ceton (TT_3)*.
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 357,8 nm, dùng đèn cathod rỗng crom làm nguồn phát xạ và lò graphit, khí mang là khí trơ *argon (TT)*.

Đồng
Không được quá 0,1 phần triệu nếu mục đích sử dụng là để sản xuất dịch truyền dinh dưỡng, tiến hành phép thử như sau:
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 2).
Dung dịch thử: Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *methyl isobutyl ceton (TT_3)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch A: Pha loãng 0,100 ml *dung dịch đồng mẫu 1000 phần triệu Cu pha trong dầu (TT)* thành 10,0 ml bằng *methyl isobutyl ceton (TT_3)*.
Dung dịch gốc: Pha loãng 0,100 ml *dung dịch A* thành 10,0 ml bằng *methyl isobutyl ceton (TT_3)*.
Các dung dịch chuẩn: Pha 3 dung dịch chuẩn. Mỗi dung dịch chuẩn được chuẩn bị bằng cách hòa tan 2,0 g chế phẩm trong một lượng tối thiểu *methyl isobutyl ceton (TT_3)*, rồi thêm lần lượt vào các dung dịch riêng biệt: 1,0 ml; 2,0 ml và 4,0 ml dung dịch gốc và pha loãng thành 10,0 ml bằng *methyl isobutyl ceton (TT_3)*.
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 324,7 nm, dùng đèn cathod rỗng đồng làm nguồn phát xạ và lò graphit, khí mang là khí trơ *argon (TT)*.

Chì
Không được quá 0,1 phần triệu nếu mục đích sử dụng là để sản xuất dịch truyền dinh dưỡng, tiến hành phép thử như sau:
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 2).
Dung dịch thử: Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *methyl isobutyl ceton (TT_3)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch A: Pha loãng 0,100 ml *dung dịch chì mẫu 1000 phần triệu Pb pha trong dầu (TT)* thành 10,0 ml bằng *methyl isobutyl ceton (TT_3)*.
Dung dịch gốc: Pha loãng 0,100 ml *dung dịch A* thành 10,0 ml bằng *methyl isobutyl ceton (TT_3)*.
Các dung dịch chuẩn: Pha 3 dung dịch chuẩn. Mỗi dung dịch chuẩn được chuẩn bị bằng cách hòa tan 2,0 g chế phẩm trong một lượng tối thiểu *methyl isobutyl ceton (TT_3)*, rồi thêm lần lượt vào các dung dịch riêng biệt: 1,0 ml; 2,0 ml và 4,0 ml dung dịch gốc và pha loãng thành 10,0 ml bằng *methyl isobutyl ceton (TT_3)*.
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 283,3 nm, dùng đèn cathod rỗng chì làm nguồn phát xạ và lò graphit được phủ bên trong bằng carbon paladi; sự nung đốt được diễn ra với sự có mặt của oxy ở nhiệt độ dưới 800 °C, khí mang là khí trơ *argon (TT)*.

Nickel
Không được quá 0,2 phần triệu, nếu mục đích sử dụng là để sản xuất dịch truyền dinh dưỡng, tiến hành phép thử như sau:
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 2).
Dung dịch thử: Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *methyl isobutyl ceton (TT_3)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch A: Pha loãng 0,100 ml *dung dịch nickel 1000 phần triệu Ni pha trong dầu (TT)* thành 10,0 ml bằng *methyl isobutyl ceton* (TT_3).
Dung dịch gốc: Pha loãng 0,100 ml *dung dịch A* thành 10,0 ml bằng *methyl isobutyl ceton* (TT_3).
Các dung dịch chuẩn: Pha 3 dung dịch chuẩn. Mỗi dung dịch chuẩn được chuẩn bị bằng cách hòa tan 2,0 g chế phẩm trong một lượng tối thiểu *methyl isobutyl ceton* (TT_3), rồi thêm lần lượt vào các dung dịch riêng biệt: 1,0 ml; 2,0 ml và 4,0 ml dung dịch gốc và pha loãng thành 10,0 ml bằng *methyl isobutyl ceton* (TT_3).
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 232 nm, dùng đèn cathod rỗng nickel làm nguồn phát xạ và lò graphit, khí mang là khí trơ *argon (TT)*.

Thiếc
Không được quá 0,1 phần triệu nếu mục đích sử dụng là để sản xuất dịch truyền dinh dưỡng, tiến hành phép thử như sau:
Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 2).
Dung dịch thử: Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *methyl isobutyl ceton* (TT_3) và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch A: Pha loãng 0,100 ml *dung dịch thiếc mẫu 1000 phần triệu Sn pha trong dầu (TT)* thành 10,0 ml bằng *methyl isobutyl ceton* (TT_3).
Dung dịch gốc: Pha loãng 0,100 ml *dung dịch A* thành 10,0 ml bằng *methyl isobutyl ceton* (TT_3).
Các dung dịch chuẩn: Pha 3 dung dịch chuẩn. Mỗi dung dịch chuẩn được chuẩn bị bằng cách hòa tan 2,0 g chế phẩm trong một lượng tối thiểu *methyl isobutyl ceton* (TT_3), rồi thêm lần lượt vào các dung dịch riêng biệt: 1,0 ml; 2,0 ml và 4,0 ml dung dịch gốc và pha loãng thành 10,0 ml bằng *methyl isobutyl ceton* (TT_3).
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 286,3 nm, dùng đèn cathod rỗng thiếc làm nguồn phát xạ và lò graphit được phủ bên trong bằng carbon paladi, khí mang là khí trơ *argon (TT)*.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8), nếu mục đích sử dụng không phải để sản xuất dịch truyền dinh dưỡng.
Lấy 2,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 4.
Dùng 2,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Không được quá 0,2 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 10,00 g chế phẩm.

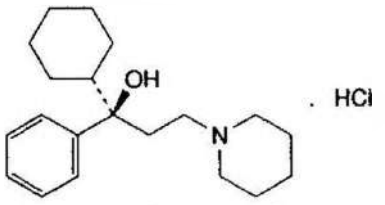
Tro toàn phần
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.8, phương pháp 2).
Dùng 2,0 g chế phẩm.

Bảo quản
Trong lọ kín, đóng đầy lọ, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Tá dược.

Nhãn
Phải ghi rõ nếu sử dụng để sản xuất dịch truyền dinh dưỡng.

TRIHEXYPHENIDYL HYDROCLORID
Trihexiphenydyli hydrochloridum



và đồng phân đối quang

$C_{20}H_{31}NO.HCl$ P.t.l: 337,9

Trihexyphenidyl hydroclorid là (1*RS*)-1-cyclohexyl-1-phenyl-3-(piperidin-1-yl)propan-1-ol hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{20}H_{31}NO.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh trắng. Khó tan trong nước, hơi ít tan trong ethanol 96 % và methylen clorid.
Điểm chảy khoảng 250 °C, kèm theo sự phân hủy.

Định tính
Có thể chọn 1 trong 2 nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại của chế phẩm (Phụ lục 4.2) phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của trihexyphenidyl hydroclorid chuẩn.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi triển khai: Diethylamin - hexan (5 : 95).
Dung dịch thử: Hòa tan 25 mg chế phẩm trong hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (20 : 80) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 25 mg trihexyphenidyl hydroclorid chuẩn trong hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (20 : 80) và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng rẽ 5 µl mỗi dung dịch lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm. Làm khô bản mỏng trong không khí, phun bằng *dung dịch acid cloroplatinic 0,01 % pha trong acid hydrocloric 0,4 %* (tt/tt). Vết chính thu được trên sắc ký đồ từ dung dịch thử phải tương đương về vị trí, màu sắc và kích thước so với vết chính thu được trên sắc ký đồ từ dung dịch đối chiếu.
C. Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 5 ml *methanol (TT)* nóng và điều chỉnh độ kiềm bằng *dung dịch natri hydroxyd (TT)*

đối chiếu với *giấy qui đỏ (TT)*. Tủa tạo thành, sau khi kết tinh lại trong *methanol (TT)*, có điểm chảy khoảng 113 °C đến 115 °C (Phụ lục 6.7).
D. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của ion clorid (Phụ lục 8.1).

pH
Từ 5,2 đến 6,2 (Phụ lục 6.2).
Hòa tan 0,5 g chế phẩm bằng cách đun nóng trong 25 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*. Làm nguội đến nhiệt độ phòng và pha loãng thành 50 ml bằng *nước không có carbon dioxyd (TT)*.

Góc quay cực
Từ -0,10° đến +0,10° (Phụ lục 6.4).
Hòa tan 1,25 g chế phẩm trong hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (20 : 80) và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Trộn 200 ml *nước* với 0,2 ml *triethylamin (TT)*. Điều chỉnh đến pH 4,0 bằng *acid phosphoric (TT)* và thêm tiếp 800 ml *acetonitril (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 200,0 ml bằng pha động. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg tạp chất A chuẩn của trihexyphenidyl [1-phenyl-3-(piperidin-1-yl)-propan-1-on] trong pha động và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 100,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (4): Thêm 1,0 ml dung dịch thử vào 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2), pha loãng thành 100,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Thời gian rửa giải: Thời gian rửa giải gấp 3 lần thời gian lưu của trihexyphenidyl.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4), độ phân giải giữa pic của trihexynidyl và tạp chất A ít nhất là 4,0.
Tiến hành sắc ký dung dịch đối chiếu (1), dung dịch đối chiếu (3) và dung dịch thử.
Giới hạn: Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử:
Diện tích pic của tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (3) (0,5 %).
Diện tích của bất kỳ pic phụ nào khác, không được lớn hơn diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).
Tổng hàm lượng của tất cả các pic tạp chất không được lớn hơn 0,5 %.
Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,2 lần diện tích của pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) (0,02 %).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 50 ml *ethanol 96 % (TT)* và thêm 5,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*. Tiến hành chuẩn độ theo phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2) dùng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Lấy giá trị thể tích dung dịch chất chuẩn độ giữa 2 điểm uốn.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương 33,79 mg $C_{20}H_{32}ClNO$.

Loại thuốc
Ức chế cholinergic. Điều trị bệnh Parkinson.

Chế phẩm
Viên nén, viên tác dụng kéo dài.

VIÊN NÉN TRIHEXYPHENIDYL
Tabellae Trihexyphenidyli

Là viên nén chứa trihexyphenidyl hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau:

Hàm lượng trihexyphenidyl hydroclorid, $C_{20}H_{31}NO.HCl$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Cân một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 20 mg trihexyphenidyl hydroclorid, thêm 25 ml *cloroform (TT)*, lắc kỹ. Lọc và bốc hơi dịch lọc bằng cách làm nóng nhẹ đến còn khoảng 10 ml. Thêm 100 ml *n-hexan (TT)*, tủa trắng tạo thành. Để yên hỗn hợp trong 30 min và lấy tủa bằng cách lọc qua màng lọc 1 µm. Rửa tủa với một lượng nhỏ *n-hexan (TT)* và làm khô tủa trong không khí. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của tủa thu được phải phù hợp với phổ của trihexyphenidyl hydroclorid chuẩn.
B. Tủa thu được trong phép thử A cho phản ứng đặc trưng của ion clorid (Phụ lục 8.1).
C. Trong phần Định lượng, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian

lưu của pic trihexyphenidyl hydroclorid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu giỏ quay.
Môi trường hòa tan: 900 ml dung dịch đệm acetat pH 4,5 được chuẩn bị bằng cách hòa tan 2,99 g *natri acetat (TT)* và 1,66 ml *acid acetic băng (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml, thu được dung dịch có pH 4,50 ± 0,05.
Tốc độ quay: 100 r/min.
Thời gian: 45 min.
Dung dịch lục bromocresol: Hòa tan 250 mg *lục bromocresol (TT)* trong hỗn hợp gồm 15 ml *nước* và 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M*, pha loãng bằng môi trường hòa tan vừa đủ 500 ml. Chiết 250 ml dung dịch trên 2 lần, mỗi lần 100 ml *cloroform (TT)* và loại bỏ dịch chiết cloroform.
Dung dịch thử: Lấy một phần dung dịch môi trường đã hòa tan mẫu thử, lọc và bỏ 20 ml dịch lọc đầu.
Dung dịch chuẩn: Chuẩn bị dung dịch của trihexyphenidyl hydroclorid chuẩn trong môi trường hòa tan có cùng nồng độ với dung dịch thử.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy chính xác một thể tích dịch hòa tan có chứa 50 µg trihexyphenidyl hydroclorid vào ống ly tâm 50 ml. Thêm 5,0 ml dung dịch xanh bromocresol và 10,0 ml *cloroform (TT)*, đậy nắp ống ly tâm và lắc mạnh không dưới 20 s. Ly tâm để hỗn hợp phân lớp hoàn toàn, hút và loại bỏ lớp nước phía trên. Lọc lớp cloroform qua giấy lọc. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại khoảng 415 nm, cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là đồng thể tích môi trường hòa tan và được tiến hành như với dung dịch thử. Tính hàm lượng trihexyphenidyl hydroclorid, $C_{20}H_{31}NO.HCl$, hòa tan trong mỗi viên dựa theo dung dịch chuẩn được tiến hành tương tự như dung dịch thử.
Yêu cầu: Không ít hơn 75 % (Q) lượng trihexyphenidyl hydroclorid, $C_{20}H_{31}NO.HCl$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

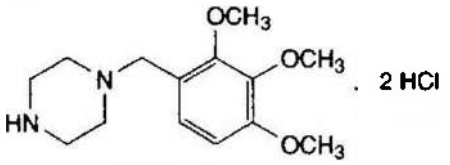
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hỗn hợp *acetonitril - nước - triethylamin* (920 : 80 : 0,2) được điều chỉnh đến pH 4,0 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng trihexyphenidyl hydroclorid chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,2 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình của viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 20 mg trihexyphenidyl vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml pha động và lắc siêu âm 5 min. Pha loãng bằng pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (8 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của trihexyphenidyl hydroclorid chuẩn, tính hàm lượng trihexyphenidyl hydroclorid, $C_{20}H_{31}NO.HCl$, có trong một đơn vị chế phẩm.

Bảo quản
Trong bao bì kín. Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Điều trị bệnh Parkinson.

Hàm lượng thường dùng
2 mg, 5 mg.

TRIMETAZIDIN HYDROCLORID
Trimetazidini hydrochloridum



$C_{14}H_{22}N_2O_3.2HCl$ P.t.l : 339,3

Trimetazidin hydroclorid là 1-(2,3,4-trimethoxybenzyl) piperazin dihydroclorid, phải chứa từ 98,5 % đến 101,5 % $C_{14}H_{22}N_2O_3.2HCl$, tính theo chất đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hay gần như trắng, hút ẩm nhẹ.
Dễ tan trong nước, hơi tan trong ethanol 96 %.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của trimetazidin dihydroclorid.
B. Hòa tan 25 mg chế phẩm trong 5 ml *nước* lấy 2 ml dung dịch thu được để tiến hành phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và có màu không được đậm màu hơn màu mẫu VN_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Methanol - dung dịch natri heptansulphonat 2,87 g/l được chỉnh đến pH 3,0 bằng dung dịch acid phosphoric 25 % (357 : 643).

Pha động B: Methanol.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20,0 mg trimetazidin chuẩn dùng cho thử tính phù hợp của hệ thống trong *nước* và pha loãng tới 5,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 2,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với *nước*. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 25,0 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 50,0 ml bằng *nước*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh là các hạt *octadecylsilyl silica gel hình cầu dùng cho sắc ký* (5 µm).
Nhiệt độ cột: 30 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 240 nm.
Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với chương trình pha động như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 50	95 → 75	5 → 25
50 - 52	75 → 95	25 → 5

Cân bằng cột với pha động có thành phần ban đầu trong thời gian ít nhất 1 h.
Tiêm mẫu trắng, dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1), (2) và (3).
Thời gian lưu tương đối so với trimetazidin (thời gian lưu khoảng 25 min) của tạp chất D khoảng 0,2; tạp chất C khoảng 0,4; tạp chất H khoảng 0,6; tạp chất A và tạp chất I khoảng 0,9; tạp chất E khoảng 0,95; tạp chất F khoảng 1,4; tạp chất B khoảng 1,8.
Tính phù hợp của hệ thống:
Tỷ số đỉnh - hõm (H_p/H_v): Ít nhất bằng 3,0. Trong đó H_p là chiều cao của pic tạp chất E so với đường nền; H_V là chiều cao so với đường nền của điểm thấp nhất của đường cong phân tách giữa pic tạp chất E khỏi pic chính thu được trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (1).
Tỷ số tín hiệu - nhiễu: Phép thử chỉ có giá trị khi pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (3) có giá trị tỉ số giữa tín hiệu và nhiễu đường nền ít nhất là 10.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính toán hàm lượng các tạp chất, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng. Tạp chất B có hệ số hiệu chỉnh bằng 0,55; tạp chất C có hệ số hiệu chỉnh bằng 0,37; Tạp chất F có hệ số hiệu chỉnh bằng 0,71.
Từng tạp chất A, B, C, D, E, F, H, I, mỗi tạp có diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu cần, không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).
Từng tạp chất khác, mỗi tạp có diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %).
Tổng diện tích các pic tạp chất không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).
Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3) (0,05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: 1-(3,4,5-trimethoxybenzyl)piperazin,
Tạp chất E: 1-(2,4,5-trimethoxybenzyl)piperazin,
Tạp chất F: 1-(2,4,6-trimethoxybenzyl)piperazin,
Tạp chất B: 1,4-bis(2,3,4-trimethoxybenzyl)piperazin,
Tạp chất C: 2,3,4-trimethoxybenzaldehyd,
Tạp chất D: (2,3,4-trimethoxyphenyl)methanol,
Tạp chất G: Piperazin,
Tạp chất H: Ethyl 4-(2,3,4-trimethoxybenzyl)piperazin-1-carboxylat,
Tạp chất I: 1-methyl-4-(2,3,4-trimethoxybenzyl)piperazin (N-methyl trimetazidin).

Piperazin (tạp chất G)
Không được quá 0,1 % (tính theo piperazin khan).
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Amoniac - ethanol 96 % (20 : 80).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 22,6 mg *piperazin hydrat (TT)* trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10 ml dung dịch này thành 100 ml với *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 2/3 bản mỏng. Lấy bản sắc ký ra và sấy khô bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong 30 min. Phun *thuốc thử iodoplatinat (TT)*. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, vết tương ứng với piperazin không được đậm hơn vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 2,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, 105 °C, phosphor pentoxyd, áp suất không quá 15 kPa).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,120 g chế phẩm trong 50 ml *nước*. Thêm 1 ml *acid nitric (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CD)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CD)* tương đương với 16,96 mg $C_{14}H_{22}N_2O_3.2HCl$

Bảo quản
Đựng trong bao bì kín.

Loại thuốc
Thuốc giãn mạch.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN TRIMETAZIDIN
Tabellae Trimetazidini

Là viên nén chứa trimetazidin hydroclorid.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng trimetazidin hydroclorid, $C_{14}H_{22}N_2O_3.2HCl$, từ 94,0 % đến 106,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Lắc một lượng bột viên đã nghiền mịn tương đương khoảng 10 mg trimetazidin hydroclorid với 10 ml hỗn hợp *ethanol 95 % - nước* (3 : 1), lọc. Bốc hơi dịch lọc đến khô trên cách thủy. Hòa tan cặn bằng 2 ml *nước*. Lấy 1 ml dung dịch thu được, thêm 1 ml *dung dịch p-benzoquinon (TT)*, đun sôi khoảng 2 - 3 min, để nguội, xuất hiện màu đỏ.
B. Trong mục Định lượng, trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải có pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động, điều kiện sắc ký và cách tiến hành như mô tả trong mục Định lượng.
Dung dịch thử: Cho một viên vào một bình định mức dung tích 100 ml, thêm khoảng 70 ml hỗn hợp *ethanol - dung dịch acid hydrocloric 0,1 M* (1 : 1), lắc đến khi viên rã hoàn toàn, lắc siêu âm khoảng 10 min, thêm cùng dung môi tới vạch, lắc đều, lọc. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng trimetazidin hydroclorid chuẩn tương đương với lượng trimetazidin có trong một viên và chuyển vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 70 ml hỗn hợp *ethanol - dung dịch acid hydrocloric 0,1 M* (1 : 1), lắc siêu âm khoảng 10 min, thêm cùng dung môi tới vạch, lắc đều, lọc. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* để được dung dịch có nồng độ trimetazidin hydroclorid khoảng 10 µg/ml.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 20,0 mg trimetazidin hydroclorid chuẩn cho vào bình định mức 100 ml, hòa tan và thêm môi trường hòa tan vừa đủ 100,0 ml, pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với pha động, điều kiện sắc ký như mô tả trong mục Định lượng.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính lượng trimetazidin hydroclorid, $C_{14}H_{22}N_2O_3.2HCl$, đã hòa tan trong mỗi viên.
Yêu cầu: Không ít hơn 80 % (Q) lượng trimetazidin hydroclorid, $C_{14}H_{22}N_2O_3.2HCl$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

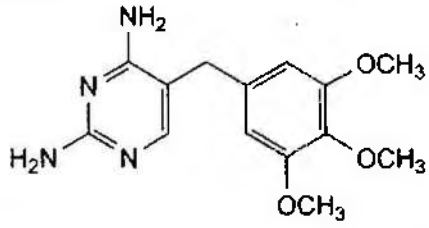
Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch kali dihydrophosphat 0,05 M điều chỉnh đến pH 3,0 bằng acid phosphoric - methanol (17 : 3). Điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 20 mg trimetazidin hydroclorid vào bình định mức 100 ml, thêm khoảng 70 ml hỗn hợp gồm *ethanol - dung dịch acid hydrocloric 0,1 M* (1 : 1), lắc siêu âm trong 10 min, thêm cùng dung môi vừa đủ tới vạch, lắc đều, lọc. Pha loãng 5,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác 20,0 mg trimetazidin hydroclorid chuẩn và chuyển vào bình định mức 100 ml, hòa tan bằng hỗn hợp *ethanol - dung dịch acid hydrocloric 0,1 M* (1 : 1) và thêm cùng dung môi vừa đủ tới vạch, lắc đều. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) chứa pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột: 40 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min, điều chỉnh tốc độ dòng để thời gian lưu của trimetazidin hydroclorid khoảng 7 min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng thu được từ pic chính trimetazidin hydroclorid không lớn hơn 1,5; hiệu lực cột xác định trên pic chính trimetazidin hydroclorid không ít hơn 5000 đĩa lý thuyết; độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích đáp ứng từ 6 lần tiêm lặp lại không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng trimetazidin hydroclorid, $C_{14}H_{22}N_2O_3.2HCl$, có trong chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{14}H_{22}N_2O_3.2HCl$ trong trimetazidin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, nơi khô mát.

Loại thuốc
Thuốc giãn mạch.

Hàm lượng thường dùng
20 mg.

TRIMETHOPRIM
Trimethoprimum



$C_{14}H_{18}N_4O_3$ P.t.l: 290,3

Trimethoprim là 5-(3,4,5-trimethoxybenzyl)pyrimidin-2,4-diamin, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_{14}H_{18}N_4O_3$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột trắng hoặc trắng hơi vàng. Rất khó tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của trimethoprim chuẩn. Chuẩn bị mẫu đo dạng đĩa nén.
B. Hòa tan 20 mg chế phẩm trong *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 10,0 ml bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*. Tiến hành đo phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được trong khoảng 230 nm đến 350 nm. Dung dịch cho một cực đại hấp thụ ở 287 nm và A (1 %, 1 cm) ở bước sóng cực đại từ 240 đến 250.
C. Điểm chảy của chế phẩm phải từ 199 °C đến 203 °C (Phụ lục 6.7).
D. Hòa tan khoảng 25 mg chế phẩm trong 5 ml *dung dịch acid sulfuric 0,005 M (TT)* (đun nóng nếu cần), thêm 2 ml *dung dịch kali permanganat 1,6 %* trong *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*. Đun sôi và cho vào dung dịch này 0,4 ml *dung dịch formaldehyd (TT)*. Trộn đều, thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT)*, trộn và đun sôi. Làm lạnh và lọc. Thêm vào dịch lọc 2 ml *methylen clorid (TT)*, lắc mạnh. Lớp dung môi hữu cơ có huỳnh quang xanh lục khi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm.

Màu sắc của dung dịch
Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 10 ml hỗn hợp *methylen clorid - methanol - nước* (5 : 4,5 : 1).
Dung dịch thu được không được có màu đậm hơn màu mẫu VN_7 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan
A. Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - dung dịch natri perclorat 1,4 g/l được điều chỉnh đến pH 3,6 bằng *acid phosphoric* (30 : 70).
Dung dịch thử. Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 200,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan một lọ trimethoprim chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (chứa tạp chất E) trong 1 ml pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh *base-deactivated octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.
Tốc độ dòng: 1,3 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 11 lần thời gian lưu của trimethoprim.
Thời gian lưu tương đối so với trimethoprim (thời gian lưu khoảng 5 min): Tạp chất C khoảng 0,8; tạp chất E khoảng 0,9; tạp chất A khoảng 1,5; tạp chất D khoảng 2,0; tạp chất G khoảng 2,1; tạp chất B khoảng 2,3; tạp chất J khoảng 2,7; tạp chất F khoảng 4,0.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất E và pic của trimethoprim ít nhất là 2,5.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng: Tạp chất B là 0,43; tạp chất E là 0,53; tạp chất J là 0,66.
Tạp chất bất kỳ: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu cần, không được lớn hơn 0,2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 0,4 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,04 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,02 %) và bỏ qua pic tương ứng với pic tạp chất H (thời gian lưu tương đối so với trimethoprim khoảng 10,3).
B. Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 1,14 g *natri hexan sulfonat (TT)* trong 600 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 1,36 % (TT)* và điều chỉnh đến pH 3,1 bằng *acid phosphoric (TT)*. Trộn đều dung dịch thu được với 400 ml *methanol(TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 200,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5,0 mg trimethoprim chuẩn và 5,0 mg tạp chất B chuẩn của trimethoprim trong pha động và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,0 mm) được nhồi pha tĩnh *nitril silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm), với diện tích bề mặt riêng 350 m^2/g và đường kính lỗ xốp là 10 nm.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.
Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 6 lần thời gian lưu của trimethoprim.
Thời gian lưu tương đối so với trimethoprim (thời gian lưu khoảng 4 min): Tạp chất H khoảng 1,8; tạp chất I khoảng 4,9.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của trimethoprim và pic của tạp chất B ít nhất là 2,0.
Giới hạn:
Hệ số hiệu chỉnh: Để tính hàm lượng, nhân diện tích pic của các tạp chất sau với hệ số hiệu chỉnh tương ứng: Tạp chất H là 0,50; tạp chất I là 0,28.
Tạp chất bất kỳ: Với mỗi tạp chất, diện tích pic đã hiệu chỉnh, nếu cần, không được lớn hơn 0,2 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,1 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 0,4 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,2 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,04 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,02 %) và bỏ qua pic tạp chất B (thời gian lưu tương đối so với trimethoprim khoảng 1,3).
Ghi chú:
Tạp chất A: *N*²-methyl-5-(3,4,5-trimethoxybenzyl)pyrimidin-2,4-diamin.
TạpchấtB:(2,4-diaminopyrimidin-5-yl)(3,4,5-trimethoxyphenyl) methanon.
TạpchấtC:(*RS*)-(2,4-diaminopyrimidin-5-yl)(3,4,5-trimethoxyphenyl) methanol.
Tạp chất D: 2-amino-5-(3,4,5-trimethoxybenzyl)pyrimidin-4-ol.
Tạp chất E: 4-amino-5-(3,4,5-trimethoxybenzyl)pyrimidin-2-ol.
Tạp chất F: 5-(3-bromo-4,5-dimethoxybenzyl)pyrimidine-2,4-diamin.
Tạp chất G: 5-(4-ethoxy-3,5-dimethoxybenzyl)pyrimidine-2,4-diamin.
Tạp chất H: Methyl 3,4,5-trimethoxybenzoat.
Tạp chất J: Acid 3,4,5-trimethoxybenzoic.
Tạp chất I: 3-(phenylamino)-2-(3,4,5-trimethoxybenzyl)prop-2-enenitril.

Tạp chất K
Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,500 g chế phẩm trong 35,0 ml *dung dịch đệm citrat pH 5,0 (TT)*, thêm 10,0 ml *1,1-dimethylethyl methyl ether (TT)*, lắc kỹ và ly tâm 10 min. Dùng lớp trên.
Dung dịch đối chiếu: Pha loãng 5,0 ml *acid hydrocloric (TT)* thành 50,0 ml bằng *nước*, thêm 12,5 mg *anilin (TT)* và lắc kỹ. Thêm 10,0 µl dung dịch thu được và 10,0 ml *1,1-dimethylethyl methyl ether (TT)* vào 35 ml bằng *dung dịch đệm citrat pH 5,0 (TT)*, lắc kỹ và ly tâm 10 min. Dùng lớp trên.
Điều kiện sắc ký:
Cột silica nung chảy, kích thước (30 m × 0,53 mm) được phủ pha tĩnh là *poly(dimethyl)siloxan* (độ dày phim 3 µm).
Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký*.
Tốc độ dòng: 12 ml/min.
Nhiệt độ: Cột 80 °C, buồng tiêm 230 °C, detector 270 °C.
Detector: Nitrogen-phosphor.
Thể tích tiêm: 3µl.
Thời gian tiến hành sắc ký: 15 min.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu, độ lệch chuẩn tương đối của 6 lần tiêm không được lớn hơn 5,0 %.
Giới hạn:
Tạp chất K: Diện tích pic tạp chất K không được lớn hơn diện tích pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (5 phần triệu).
Ghi chú:
Tạp chất K: Anilin.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,250 g chế phẩm trong 50 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 29,03 mg $C_{14}H_{18}N_4O_3$.

Loại thuốc
Kháng sinh.

Chế phẩm
Viên nén, viên nén phối hợp với sulfamethoxazol.

VIÊN NÉN COTRIMOXAZOL
Tabellae Cotrimoxazoli

Viên nén cotrimoxazol là viên nén chứa trimethoprim và sulfamethoxazol theo tỷ lệ 1 : 5 theo khối lượng.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng trimethoprim, $C_{14}H_{18}N_4O_3$, từ 93,0 % đến 107,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng sulfamethoxazol, $C_{10}H_{11}N_3O_3S$, từ 93,0 % đến 107,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - dimethyl formamid (100 : 10 : 5).
Dung dịch thử: Lắc một lượng bột viên tương đương 0,4 g sulfamethoxazol với 20 ml *methanol (TT)* và lọc.
Dung dịch đối chiếu (1): Dung dịch sulfamethoxazol chuẩn 2 % trong *methanol (TT).*
Dung dịch đối chiếu (2): Dung dịch trimethoprim chuẩn 0,4 % trong *methanol (TT).*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng và phun *thuốc thử kali iodobismuthat loãng (TT).* Nếu chưa quan sát được các vết sắc ký, sấy bản mỏng ở 100 °C trong 5 đến 10 min. Trên sắc ký đồ, dung dịch thử cho hai vết chính, một vết tương ứng với vết thu được từ dung dịch đối chiếu (1) và vết kia tương ứng với vết thu được từ dung dịch đối chiếu (2).
B. Trong phần Định lượng, hai pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của hai pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Môi trường hòa tan: 900 ml *acid hydrocloric 0,1 M(TT).*
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 60 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan qui định, lấy một phần dịch hòa tan, lọc, bỏ. Pha loãng dịch lọc thu được tới nồng độ thích hợp với pha động (nếu cần). Tiến hành định lượng trimethoprim và sulfamethoxazol hòa tan bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với pha động, điều kiện sắc ký và dung dịch chuẩn như phần Định lượng.
Yêu cầu:
Không ít hơn 70 % (Q) lượng trimethoprim, $C_{14}H_{18}N_4O_3$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 min.
Không ít hơn 70 % (Q) lượng sulfamethoxazol, $C_{10}H_{11}N_3O_3S$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 60 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Trộn 1400 ml *nước*, 400 ml *acetonitril(TT)* và 2,0 ml *triethylamin (TT)* trong một bình dung tích 2000 ml. Để cân bằng ở nhiệt độ phòng, điều chỉnh đến pH 5,9 ± 0,1 bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,2 M (TT)* hoặc *dung dịch acid acetic 1% (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 2000 ml, lắc đều.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng chính xác trimethoprim chuẩn và sulfamethoxazol chuẩn trong *methanol (TT)* để thu được dung dịch chuẩn gốc có nồng độ lần lượt là 0,32 mg/ml và 1,6 mg/ml. Pha loãng 5,0 ml dung dịch chuẩn gốc thành 50,0 ml bằng pha động, lắc đều để thu được dung dịch chuẩn có nồng độ trimethoprim và sulfamethoxazol lần lượt là 0,032 mg/ml và 0,16 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, xác định khối lượng trung bình viên, nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 160 mg sulfamethoxazol vào bình định mức 100 ml. Thêm 50 ml *methanol (TT),* siêu âm khoảng 5 min. Để cân bằng ở nhiệt độ phòng, thêm *methanol (TT)* đến vạch, lắc đều, lọc. Hút 5,0 ml dịch lọc vào bình định mức 50 ml, thêm pha động đến vạch, lắc đều. Lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (3 µm đến 10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn, thứ tự rửa giải lần lượt là trimethoprim rồi đến sulfamethoxazol; hệ số phân giải giữa trimethoprim và sulfamethoxazol không nhỏ hơn 5,0; hệ số đối xứng của các pic trimethoprim và sulfamethoxazol không lớn hơn 2,0 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic trimethoprim và sulfamethoxazol từ các lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng trimethoprim, $C_{14}H_{18}N_4O_3$ và sulfamethoxazol, $C_{10}H_{11}N_3O_3S$, có trong một đơn vị chế phẩm dựa vào diện tích pic thu được từ sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{14}H_{18}N_4O_3$ của trimethoprim chuẩn và $C_{10}H_{11}N_3O_3S$ của sulfamethoxazol chuẩn.

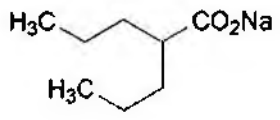
Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
80 mg trimethoprim và 400 mg sulfamethoxazol.

VALPROAT NATRI

Valproas natrii



$C_8H_{15}NaO_2$ P.t.l: 166,2

Valproat natri là 2-propylpentanoat natri, phải chứa từ 98,5 % đến 101,0 % $C_8H_{15}NaO_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng, đa hình, dễ hút ẩm. Rất tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 %.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của valproat natri chuẩn.

Nếu phổ hồng ngoại ở trạng thái rắn của mẫu thử khác với phổ hồng ngoại của valproat natri chuẩn thì ghi phổ mới bằng cách nhỏ 50 µl dung dịch chế phẩm 10 % trong *methanol (TT)* lên đĩa *kali bromid (TT)*, bốc hơi dung môi trong chân không. Tiến hành đo ngay.

B. *Dung dịch S:* Hòa tan 1,25 g chế phẩm trong 20 ml *nước cất* trong một bình gạn, thêm 5 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)*, lắc. Để yên hỗn hợp trong 12 h. Sử dụng lớp nước ở dưới.

2 ml dung dịch S phải cho phản ứng của natri (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 2,0 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thu được không đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2) và không đậm màu hơn dung dịch màu đối chiếu V_6 (Phụ lục 9.3).

Giới hạn acid - kiềm

Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 10 ml *nước*. Thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* làm chỉ thị. Màu của chỉ thị phải thay đổi khi thêm không quá 0,75 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* hay *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch thử: Hoà tan 0,500 g chế phẩm trong 10 ml *nước*. Thêm 5 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)* và lắc 3 lần mỗi lần với 20 ml *heptan (TT)*. Tập hợp lấy lớp trên và pha loãng thành 100,0 ml bằng *heptan (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg acid valproic chuẩn dùng để kiểm tra tính phù hợp của hệ thống (có chứa tạp chất K) trong 1,0 ml *heptan (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với *heptan (TT)*.

Điều kiện sắc ký:

Cột mao quản kích thước (30 m × 0,32 mm) làm bằng silica nung chảy được phủ pha tĩnh *macrogol 20 000 2-nitroterephthalat* (phim dày 0,5 µm).

Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký.*

Tốc độ dòng: 8 ml/min.

Chương trình nhiệt độ như sau:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 5	80
	5 - 15	80 → 150
	15 - 28,3	150 → 190
	28,3 - 30	190
Buồng tiêm		220
Detector		220

Detector ion hóa ngọn lửa.

Thể tích tiêm: 1 µl.

Cách tiến hành:

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

Thời gian lưu tương đối so với acid valproic (thời gian lưu khoảng 17 min) của tạp chất K khoảng 0,97.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic của tạp chất K với pic của acid valproic ít nhất là 2,0.

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

Tạp chất K: Diện tích pic tạp chất K không được lớn hơn 0,15 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,15 %).

Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn 0,05 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,05 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 0,2 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,2 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,03 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (0,03 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: Acid pentanoic (acid valeric).

Tạp chất B: Acid (2*RS*)-2-ethylpentanoic.

Tạp chất C: Acid (2*RS*)-2-(1-methylethyl)pentanoic.

Tạp chất D: Acid 2,2-dipropylpentanoic.

Tạp chất F: 2-propylpentanamid.

Tạp chất G: 2,2-dipropylpentanamid.

Tạp chất I: 2-propylpentanenitril.

Tạp chất J: 2,2-dipropylpentanenitril.

Tạp chất K: Acid (2*RS*)-2-ethyl-2-methylpentanoic.

Tạp chất L: Acid (2*RS*)-2-methylpentanoic.

Clorid

Không được quá 200 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).

Thêm 10 ml *nước* vào 5 ml dung dịch S và tiến hành thử.

Sulfat
Không được quá 200 phần triệu (Phụ lục 9.4.14).
Dùng dung dịch S để thử.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 2,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, 105 °C).

Định lượng
Hòa tan 0,150 g chế phẩm trong 25 ml *acid acetic khan (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 16,62 mg $C_8H_{15}NaO_2$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng

Loại thuốc
Chống động kinh.

Chế phẩm
Viên nén.

VIÊN NÉN VALPROAT NATRI
Tabellae natrii valproatis

Là viên nén có chứa valproat natri.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng valproat natri, $C_8H_{15}NaO_2$, từ 95,0 % đến 105,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Trong phần Định lượng, sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải có một pic chính tương ứng với pic của valproat natri trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch chuẩn.
B. Lắc một lượng bột viên đã nghiền nhỏ có chứa khoảng 0,25 g valproat natri với 3 ml *nước*, ly tâm. Lấy 2 ml dung dịch trong phía trên thêm 0,5 ml *dung dịch cobalt nitrat 10 % (TT)*. Tủa màu tím tạo thành và tan được trong *dichloromethan (TT)*.

Độ hoà tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hoà tan: 900 ml *đệm phosphat chuẩn pH 6,8 (TT)*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 45 min.
Cách tiến hành:
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với pha động và các điều kiện sắc ký như phần Định lượng.
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan qui định, hút dịch hòa tan, lọc và pha loãng dịch lọc bằng *đệm phosphat chuẩn pH 6,8 (TT)* để được dung dịch có nồng độ valproat natri 0,02 mg/ml.
Dung dịch chuẩn: Dung dịch valproat natri chuẩn trong *đệm phosphat chuẩn pH 6,8 (TT)* nồng độ 0,02 mg/ml.
Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng valproat natri, $C_8H_{15}NaO_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 45 min.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch kali dihydrophosphat 0,32 % đã được chỉnh tới pH 3,0 bằng acid phosphoric - acetonitril (45 : 55).
Dung dịch chuẩn: Dung dịch valproat natri trong pha động có nồng độ 0,5 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân 20 viên, tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương đương với 100 mg valproat natri vào bình định mức 200 ml, thêm 160 ml pha động, lắc siêu âm để hòa tan. Để nguội, thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.
Tốc độ dòng: 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, hệ số đối xứng của pic valproat natri không được lớn hơn 1,5. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic valproat natri từ các lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng valproat natri, $C_8H_{15}NaO_2$, có trong viên từ diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_8H_{15}NaO_2$ của valproat natri chuẩn.

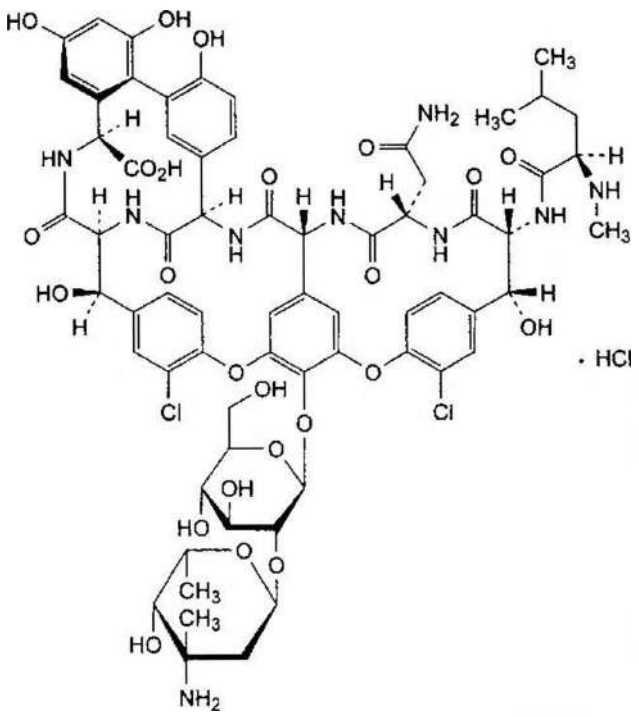
Bảo quản
Trong bao bì kín, nơi khô mát.

Loại thuốc
Thuốc chống động kinh.

Hàm lượng thường dùng
200 mg, 300 mg, 500 mg.

VANCOMYCIN HYDROCLORID

Vancomycini hydrochloridum



$C_{66}H_{75}Cl_2N_9O_{24}$. HCl P.t.l: 1486,0

Vancomycin hydroclorid là muối hydroclorid của hỗn hợp các glycopeptid có liên quan với nhau, chủ yếu dưới dạng mono hydroclorid của (3*S*,6*R*,7*R*,22*R*,23*S*,26*S*,*aS*,36*R*,38a*R*)-3-(2-amino-2-oxoethyl)-44-[[2-*O*-3-amino-2,3,6-trideoxy-3-*C*-methyl-α-L-*lyxo*-hexopyranosyl)-β-D-glucopyranosyl]oxy]-10,19-dicloro-7,22,28,30,32-pentahydroxy-6-[[(2*R*)-4-methyl-2-(methylamino)-pentanoyl]amino]-2,5,24,38,39-pentaoxo-2,3,4,5,6,7,23,24,25,26,36,37,38,38a-tetradecahydro-22*H*-8,11,18,21-dietheno-23,36-(iminomethano)-13,16:31,35-dime-theno-1*H*,13*H*-[1,6,9]oxadiazacyclohexadecino[4,5*m*][10,2,16]benzoxadiaza-cyclotetracosin-26-carboxylic acid (vancomycin B).

Vancomycin hydroclorid được điều chế từ một số loài *Amycolaptosis orientalis* hoặc bằng phương pháp khác. Hoạt lực không được ít hơn 1050 IU/mg, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột trắng hoặc gần như trắng, dễ hút ẩm. Dễ tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính

A. Trong phần Vancomycin B, thời gian lưu của pic chính trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (1) tương đương với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2). Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch trên đo ở bước sóng 450 nm không được lớn hơn 0,10.

pH

Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. pH của dung dịch phải từ 2,5 đến 4,5 (Phụ lục 6.2).

Vancomycin B

Không được ít hơn 93,0 %.

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Thêm 1996 ml nước vào 4,0 ml *triethylamin (TT)* và chỉnh đến pH 3,2 bằng *acid phosphoric (TT)*. Lấy 920 ml dung dịch vừa pha, thêm 10 ml *tetrahydrofuran (TT)* và 70 ml *acetonitril (TT)*.

Pha động B: Thêm 1996 ml *nước* vào 4,0 ml *triethylamin (TT)* và chỉnh đến pH 3,2 bằng *acid phosphoric (TT)*. Lấy 700 ml dung dịch vừa pha, thêm 10 ml *tetrahydrofuran (TT)* và 290 ml *acetonitril (TT)*.

Dung dịch thử (1): Hòa tan 10,0 mg chế phẩm trong pha động A và pha loãng thành 5,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thử (2): Pha loãng 2,0 ml dung dịch thử (1) thành 50,0 ml bằng pha động A.

Dung dịch thử (3): Pha loãng 0,5 ml dung dịch thử (2) thành 20,0 ml bằng pha động A.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 5,0 mg vancomycin hydroclorid chuẩn trong 4 ml *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Đun nóng ở 65 °C trong 24 h. Để nguội.

Dùng các dung dịch này trong vòng 4 h sau khi pha chế.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

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

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Rửa giải cột khởi đầu với pha động A. Sau 13 min, tiến hành rửa giải gradient tăng dần nồng độ pha động B khoảng 11 % (tt/tt) cho mỗi phút. Cuối cùng, rửa giải cột trong 4 min, bằng pha động B.

Tiêm dung dịch thử (3). Phép thử chỉ có giá trị khi pic chính trong sắc ký đồ thu được có giá trị tỉ số giữa tín hiệu và nhiễu đường nền nhỏ nhất là 5. Tiêm dung dịch thử (2). Phép thử này chỉ có giá trị khi hệ số đối xứng của pic vancomycin tối đa là 1,6. Tiêm dung dịch đối chiếu. Phép thử này chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa 2 pic chính ít nhất là 5,0. Tiêm dung dịch thử (1).

Tính kết quả hàm lượng phần trăm vancomycin B hydroclorid theo công thức sau:

$$\frac{A_b \times 100}{A_b + (A_t/25)}$$

Trong đó:
A_b là diện tích pic vancomycin B trong sắc ký đồ của dung dịch thử (2).
A_t là tổng diện tích tất cả các pic tạp chất trong sắc ký đồ của dung dịch thử (1).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3), như mô tả trong phần Vancomycin B.
Tiêm riêng rẽ dung dịch thử (1), dung dịch thử (2) và dung dịch thử (3).
Tính hàm lượng phần trăm cho mỗi tạp chất bằng công thức sau:

$$\frac{(A_i/25)\times 100}{A_b + (A_t/25)}$$

Trong đó:
A_i là diện tích pic của tạp chất trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (1);
A_b là diện tích pic vancomycin B trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (2);
A_t là tổng diện tích tất cả các pic tạp chất trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (1).
Hàm lượng các chất không phải là các tạp chất như mô tả phải lớn hơn 4,0 % và hàm lượng tạp chất toàn phần không được nhiều hơn 7,0 %. Không tính đến những pic có diện tích nhỏ hơn diện tích pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch thử (3).

Kim loại nặng
Không được quá 30 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Dùng 1,0 g chế phẩm thử theo phương pháp 3. Dùng 3,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Nước
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,5 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.9).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Thử vô khuẩn
Nếu chế phẩm dự định dùng làm nguyên liệu để bào chế thuốc tiêm mà không có giai đoạn tiệt khuẩn trong qui trình sản xuất, chế phẩm phải đạt chỉ tiêu về độ vô khuẩn (Phụ lục 15.4).

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 0,25 EU/mg (Phụ lục 13.2). Nếu dự định dùng làm nguyên liệu để bào chế thuốc tiêm phân liều mà không có giai đoạn loại bỏ nội độc tố vi khuẩn thích hợp trong qui trình sản xuất, chế phẩm phải đạt chỉ tiêu về nội độc tố vi khuẩn.

Định lượng
Tiến hành theo phương pháp xác định hoạt lực kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật (Phụ lục 13.9). Dùng vancomycin hydroclorid chuẩn làm chất đối chiếu.

Bảo quản
Trong chai lọ kín, tránh ánh sáng. Nếu đã được tiệt trùng trước, phải bảo quản trong chai lọ kín và vô trùng.

Nhãn
Nhãn ghi rõ chế phẩm đã được tiệt trùng, không có nội độc tố vi khuẩn.

Loại thuốc
Kháng sinh.

Chế phẩm
Thuốc tiêm, thuốc nang.

BỘT PHA TIÊM VANCOMYCIN
Vancomycini pulvis ad injectionem

Là bột vô khuẩn của vancomycin hydroclorid có thể có thêm các tá dược và được đóng trong lọ nút kín.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu chung trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng vancomycin, từ 90,0 % đến 115,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột trắng hoặc gần như trắng.

Định tính
A. Trong mục Vancomycin B, pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Chế phẩm cho phản ứng định tính (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong của dung dịch
Dung dịch 10 % chế phẩm phải trong (Phụ lục 9.2). Độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1) của dung dịch này ở bước sóng 450 nm không được lớn hơn 0,10.

pH
Dung dịch 5 % chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* có pH từ 2,5 đến 4,5 (Phụ lục 6.2).

Vancomycin B
Không ít hơn 88,0 %.
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Dung dịch A: Thêm 1996 ml *nước* vào 4,0 ml *triethylamin (TT)* và chỉnh đến pH 3,2 với *acid phosphoric (TT).*

Pha động A: Dung dịch A - acetonitril - tetrahydrofuran (920 : 70 : 10).
Pha động B: Dung dịch A - acetonitril - tetrahydrofuran (700 : 290 : 10).
Dung dịch thử (1): Hòa tan một lượng chế phẩm tương đương 50 000 IU vancomycin trong pha động A và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 2,0 ml dung dịch thử (1) thành 50,0 ml bằng pha động A.
Dung dịch thử (3): Pha loãng 0,5 ml dung dịch thử (2) thành 20,0 ml bằng pha động A.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 5,0 mg vancomycin hydroclorid chuẩn trong 10 ml *nước*. Đun nóng ở 65 °C trong 24 h, để nguội.
Dùng các dung dịch này trong vòng 4 h sau khi pha chế.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi *end-capped octadecylsilyl silicagel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)	Ghi chú
0 - 13	100	0	Đẳng dòng
13 - 21	100 → 0	0 → 100	Gradient tuyến tính
21 - 25	0	100	Đẳng dòng
25 - 35	100	0	Cân bằng lại cột

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiêm dung dịch thử (3), phép thử chỉ có giá trị khi pic chính thu được trên sắc ký đồ có tỉ số giữa tín hiệu và nhiễu đường nền ít nhất là 5. Tiêm dung dịch thử (2), phép thử chỉ có giá trị khi hệ số đối xứng của pic vancomycin không lớn hơn 1,6. Tiêm dung dịch đối chiếu, phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa 2 pic chính ít nhất là 5,0.
Tiêm dung dịch thử (1).
Tính hàm lượng phần trăm vancomycin B theo công thức sau:

$$\frac{(A_b \times 100)}{A_b + (A_t / 25)}$$

Trong đó:
A_b là diện tích pic vancomycin B trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2);
A_t là tổng diện tích tất cả các pic tạp chất trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1).

Tạp chất liên quan
Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) như mô tả trong mục Vancomycin B.
Tiêm riêng rẽ dung dịch thử (1), dung dịch thử (2) và dung dịch thử (3).
Tính hàm lượng phần trăm cho mỗi tạp chất bằng công thức sau:

$$\frac{(A_i / 25) \times 100)}{A_b + (A_t / 25)}$$

Trong đó:
A_i là diện tích pic của từng tạp chất trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1);
A_b là diện tích pic vancomycin B trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2);
A_t là tổng diện tích tất cả các pic tạp chất trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1).
Hàm lượng của từng tạp không được lớn hơn 4,0 % và tổng hàm lượng của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 12,0 %. Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử (3).

Nước
Không quá 5,0% (Phụ lục 10.3).
Dùng 0,5 g chế phẩm.

Nội độc tố vi khuẩn
Hòa tan một lượng chế phẩm với *dung dịch đệm tris-clorid pH 7,4 pha trong nước BET* để thu được dung dịch có nồng độ vancomycin 1000 IU/ml (dung dịch A). Nồng độ giới hạn nội độc tố của dung dịch A là 2,5 EU /ml. Tiến hành thử nghiệm sử dụng độ pha loãng tối đa của dung dịch A được tính từ độ nhạy của thuốc thử lysat dùng trong phép thử (Phụ lục 13.2).

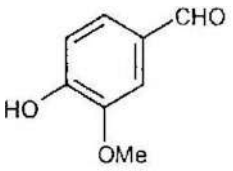
Định lượng
Cân 20 lọ, xác định khối lượng trung bình của bột thuốc trong lọ và trộn đều. Tiến hành định lượng hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật (Phụ lục 13.9).

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng sinh.

Hàm lượng thường dùng
0,5 g; 1 g.

VANILIN
Vanillinum



$C_8H_8O_3$ P.t.l: 152,1

Vanilin là 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyd, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_8H_8O_3$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột tinh thể hay tinh thể hình kim, màu trắng hay vàng nhạt. Khó tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 % và methanol, tan trong các dung dịch hydroxyd kiềm loãng.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A.
Nhóm II: B, C, D.
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của vanilin chuẩn.
B. Điểm chảy của chế phẩm phải từ 81 °C đến 84 °C (Phụ lục 6.7).
C. Trong phần Tạp chất liên quan, quan sát bản mỏng dưới ánh sáng thường sau khi phun thuốc thử hiện màu, vết chính của dung dịch thử (2) phải có vị trí, màu sắc và kích thước giống với vết chính của dung dịch đối chiếu (1).
D. Thêm 0,2 ml *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)* vào 5 ml dung dịch bão hòa chế phẩm, màu xanh lam xuất hiện. Đun nóng đến 80 °C, dung dịch trở nên nâu. Để nguội, có tủa trắng tạo thành.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong *ethanol 96 % (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu N6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Tạp chất liên quan
Không được quá 0,5 %.
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254} *(TT)*.
Dung môi khai triển: *Acid acetic khan - methanol - methylen clorid* (0,5 : 1 : 98,5).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml bằng *methanol (TT)*.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 1 ml dung dịch thử (1) thành 10 ml bằng *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10 mg vanilin chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml bằng *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 0,5 ml dung dịch thử (1) thành 100 ml bằng *methanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai trong bình không bão hòa dung môi đến khi dung môi đi được 10 cm. Để khô bản mỏng trong luồng khí lạnh. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết phụ nào của dung dịch thử (1) không được đậm màu hơn vết của dung dịch đối chiếu (2). Phun *dung dịch dinitrophenylhydrazin-aceto-hydrocloric (TT)* và quan sát dưới ánh sáng thường: Bất kỳ vết phụ nào của dung dịch thử (1) không được đậm màu hơn vết của dung dịch đối chiếu (2).

Phản ứng với acid sulfuric
Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 5 ml *acid sulfuric (TT)*. Sau 5 min, dung dịch không được đậm màu hơn màu của hỗn hợp gồm 4,9 ml dung dịch gốc màu vàng và 0,1 ml dung dịch gốc màu đỏ hoặc hỗn hợp gồm 4,9 ml dung dịch gốc màu vàng và 0,1 ml dung dịch gốc màu xanh (Phụ lục 9.3, phương pháp 1).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; trong bình hút ẩm; 4 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,05 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 2,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,120 g chế phẩm trong 20 ml *ethanol 96 % (TT)* và thêm 60 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 15,21 mg $C_8H_8O_3$.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Tá dược tạo mùi.

VASELIN
Vaselinum album

Vaselin là một hỗn hợp các hydrocarbon lấy từ dầu mỏ, đã được tinh chế và tẩy màu.

Tính chất
Vaselin là một chất nhờn quánh mà độ đặc loãng tuỳ thuộc vào nhiệt độ của môi trường, màu trắng ngà, lớp mỏng thì trong suốt hầu như không màu, có huỳnh quang nhẹ dưới ánh sáng ban ngày khi ở trạng thái tan chảy. Chế phẩm gần như khan.
Tan chảy ở nhiệt độ 36 °C đến 60 °C. Ở trạng thái tan chảy có thể hòa trộn theo mọi tỷ lệ với methylen clorid.
Hầu như không tan trong nước và ethanol, tan trong cloroform, ether. Các dung dịch vaselin có thể đục lờ.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm, xác định dưới dạng màng mỏng trên một phiến kính halogenid, phải có các cực đại hấp thụ ở các bước sóng 2950 cm^{-1}, 2920 cm^{-1}, 2850 cm^{-1}, 1460 cm^{-1}, 1375 cm^{-1}, 725 cm^{-1} và 715 cm^{-1}. Để đo cần phải làm một màng mỏng trên một phiến kính halogenid sao cho độ truyền qua ở 2915 cm^{-1} là 5 %.
B. Làm tan chảy 2 g chế phẩm để được một pha đồng nhất, thêm 2 ml *nước* và 0,2 ml *dung dịch iod 0,1 N*. Đun nóng cho đến khi nhận được hai pha lỏng và lắc đều. Sau khi để nguội lớp ở trên đặc lại và có màu tím hồng.

Tính đồng nhất
Duy trì ở nhiệt độ 20 °C, tức là dưới điểm chảy của chế phẩm trong 1 h, chế phẩm vẫn ở trạng thái đồng nhất.

Giới hạn acid
Thêm 20 ml *nước* sôi vào 10 g chế phẩm và lắc thật mạnh trong 1 min. Để nguội và gạn lấy lớp nước. Thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* vào 10 ml nước vừa gạn ra, dung dịch không màu. Màu của chỉ thị phải chuyển sang hồng khi thêm không quá 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)*.

Chất dễ carbon hóa
Cho 0,5 g chế phẩm vào một ống nghiệm có nút mài. Thêm 20,0 ml *acid sulfuric (TT)*. Đun cách thủy trong 10 min, cứ 2 min lắc một lần khoảng 5 s. Để nguội rồi rót sang một bình gạn thật khô. Để yên 10 min. Rút lấy lớp dưới và lọc nếu cần qua phễu xốp số 4. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng từ 400 nm đến 450 nm dùng *acid sulfuric (TT)* làm mẫu trắng. Độ hấp thụ không được lớn hơn 0,40.

Độ hấp thụ
Hòa tan 0,100 g chế phẩm trong *hexan (TT)* và pha loãng thành 200,0 ml với cùng dung môi. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch ở bước sóng từ 250 nm đến 275 nm và từ 300 nm đến 350 nm, độ hấp thụ lần lượt không được quá 0,20 và 0,05.

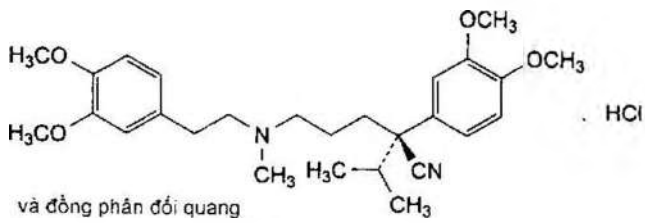
Chỉ số xà phòng hóa
Không được lớn hơn 2 (Phụ lục 7.7).
Dùng 2,00 g chế phẩm.

Tro sulfat
Không được quá 0,03 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 1).
Dùng 4,0 g chế phẩm.

Bảo quản
Trong đồ đựng kín, ở chỗ mát.

Loại thuốc
Tá dược.

VERAPAMIL HYDROCLORID
Verapamili hydrochloridum



$C_{27}H_{38}N_2O_4.HCl$ P.t.l: 491,1

Verapamil hydroclorid là (2*RS*)-2-(3,4-dimethoxyphenyl)-5-[[2-(3,4-dimethoxyphenyl)ethyl](methyl)amino]-2-(1-methylethyl)pentannitril hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{27}H_{38}N_2O_4.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hay gần như trắng.
Tan trong nước, dễ tan trong methanol, hơi tan trong ethanol 96 %.
Nhiệt độ nóng chảy khoảng 144 °C.

Định tính
Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:
Nhóm I: A, D
Nhóm II: B, C, D
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của verapamil hydroclorid chuẩn. Chuẩn bị mẫu đo dưới dạng đĩa nén.
B. Phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1)
Hòa tan 20,0 mg chế phẩm trong *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung dịch acid. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này thành 50,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M*. Đo phổ hấp thụ tử ngoại trong khoảng từ 210 nm đến 340 nm, dung dịch phải cho hai cực đại hấp thụ ở 229 nm và 278 nm và vai hấp thụ ở 282 nm. Tỉ lệ độ hấp thụ ở hai bước sóng cực đại (A_{278}/A_{229}) phải từ 0,35 đến 0,39.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel F_{254}.
Dung môi khai triển: Diethylamin - cyclohexan (15 : 85)
Dung dịch thử: Hòa tan 10 mg chế phẩm trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg verapamil hydroclorid chuẩn trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5 mg papaverin hydroclorid chuẩn trong dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 5 ml với dung dịch đối chiếu (1).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl các dung dịch thử, dung dịch đối chiếu (1) và dung dịch đối chiếu (2). Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản sắc ký ra và để khô ngoài không khí. Kiểm tra dưới ánh sáng đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải phù hợp với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) về vị trí và kích thước. Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) cho 2 vết tách rõ ràng.
D. Chế phẩm phải cho phản ứng (B) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S: Hòa tan bằng cách đun nóng nhẹ 1,0 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

pH
Từ 4,5 đến 6,0 (Phụ lục 6.2).
Xác định trên dung dịch S.

Góc quay cực
Góc quay cực (Phụ lục 6.4) của dung dịch S từ -0,10° đến +0,10°.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Hòa tan 6,97 g *dikali hydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*, điều chỉnh pH tới 7,2 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Pha động B: Acetonitril (TT).
Dung môi pha mẫu: Hỗn hợp *pha động A - pha động B* (63 : 37)
Dung dịch thử: Hòa tan 25,0 mg chế phẩm trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5 mg verapamil hydroclorid chuẩn, 5 mg tạp chất I chuẩn của verapamil và 5 mg tạp chất M chuẩn của verapamil trong dung môi pha mẫu và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Pha loãng 1 ml dung dịch này thành 10 ml với dung môi pha mẫu.
Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml với dung môi pha mẫu. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này thành 10,0 ml với dung môi pha mẫu.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi *end-capped palmitamidopropylsilyl silica gel* dùng cho sắc ký (5 µm).
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 278 nm.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Cân bằng cột bằng hỗn hợp pha động A - pha động B (63 : 37) trong khoảng 60 min.
Tiến hành sắc ký với chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 22	63	37
22 - 27	63 → 35	37 → 65
27 - 35	35	65
35 - 36	35 → 63	65 → 37
36 - 50	63	37

Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), thời gian lưu của verapamil khoảng 16 min, của tạp chất I khoảng 21 min và tạp chất M khoảng 32 min (gấp đôi thời gian lưu của verapamil).
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa hai pic verapamil và tạp chất I không được nhỏ hơn 5,0 và tạp chất M phải được rửa giải ra khỏi cột sắc ký.
Tiến hành sắc ký lần lượt với mẫu trắng là hỗn hợp pha động A - pha động B (63 : 37), dung dịch đối chiếu (2) và dung dịch thử.
Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, diện tích của bất kỳ pic nào khác với pic chính và khác với các pic thu được trên sắc ký đồ của mẫu trắng không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,1 %); tổng diện tích các pic này không được lớn hơn 3 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,3 %); bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 0,1 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,01 %).

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành theo phương pháp 3. Dùng 1 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

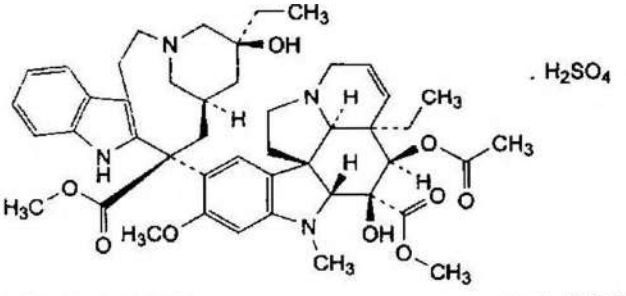
Định lượng
Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong 50 ml *ethanol (TT)*, thêm 5,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Đọc thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tiêu thụ giữa hai điểm uốn của đường chuẩn độ.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 49,11 mg $C_{27}H_{38}N_2O_4.HCl$.

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Chẹn kênh calci, chống loạn nhịp, chống đau thắt ngực, điều trị tăng huyết áp.

Chế phẩm
Viên nén.

VINBLASTIN SULFAT
Vinblastini sulfas



$C_{46}H_{58}N_4O_9.H_2SO_4$ P.t.l: 909,0

Vinblastin sulfat là methyl (3a*R*,4*R*,5*S*, 5a*R*,10b*R*, 13a*R*)-4-(acetyloxy)-3a-ethyl-9-[(5*S*,7*R*,9*S*)-5-ethyl-5-hydroxy-9-(methoxycarbonyl)-1,4,5,6,7,8,9,10-octahydro-2*H*-3,7-methanoazacycloundecino[5,4-*b*]indol-9-yl]-5-hydroxy-8-methoxy-6-methyl-3a,4,5,5a,6,11,12,13a-octahydro-1*H*-indolizino[8,1-*cd*]carbazol-5-carboxylat sulfat, phải chứa từ 95,0 % đến 104,0 % $C_{46}H_{58}N_4O_9.H_2SO_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc hơi vàng nhạt, rất dễ hút ẩm.

Dễ tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %.

Định tính

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của vinblastin sulfat chuẩn.

B. Trong phần Định lượng, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu V_7 (Phụ lục 9.3, phương pháp 1).

pH

Pha loãng 3 ml dung dịch S thành 10 ml bằng *nước không có carbon dioxyd (TT)*, dung dịch thu được phải có pH từ 3,5 đến 5,0 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan

Trong phần Định lượng, trên sắc ký đồ của dung dịch thử: Diện tích của bất kỳ pic phụ nào đều không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (2,0 %).

Tổng diện tích của các pic phụ không lớn hơn 2,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (5,0 %) và bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 15,0 % (Phụ lục 9.6).

(0,050 g; chân không; 105 °C; 2 h).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Methanol - dung dịch diethylamin 1,5 % (tt/tt)* đã được điều chỉnh đến pH 7,5 bằng *acid phosphoric - acetonitril* (50 : 38 : 12).

Dung dịch thử: Pha loãng 1,0 ml dung dịch S thành 5,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5,0 mg vinblastin sulfat chuẩn trong *nước* để được 5,0 ml.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 50,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 20,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 1,0 mg vincristin sulfat chuẩn trong 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1).

Bảo quản các dung dịch trên trong nước đá trước khi dùng.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm) (cột Zorbax C8 là thích hợp).

Cột bảo vệ được nhồi silica gel thích hợp nằm giữa buồng tiêm và cột phân tích.

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 262 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của pic tương ứng với vinblastin.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa các pic tương ứng với vincristin và vinblastin ít nhất là 4 và tỷ số giữa tín hiệu và nhiễu đường nền của pic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) ít nhất là 5.

Tính hàm lượng phần trăm của $C_{46}H_{58}N_4O_9.H_2SO_4$ dựa theo diện tích của pic chính của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng của vinblastin sulfat chuẩn.

Thử vô khuẩn

Nếu chế phẩm dự định dùng để sản xuất thuốc tiêm phân liều mà không tiến hành tiệt khuẩn nữa thì phải đáp ứng phép thử này (Phụ lục 13.7).

Bảo quản

Trong bình thủy tinh kín, tránh ánh sáng và bảo quản ở nhiệt độ không quá -20 °C. Nếu chế phẩm là vô khuẩn thì phải đựng trong bình thủy tinh vô khuẩn, đậy thật kín để tránh nhiễm vi khuẩn. Trên nhãn cần ghi rõ chế phẩm là vô khuẩn hay không.

Loại thuốc

Chống ung thư.

Chế phẩm

Thuốc tiêm.

BỘT PHA TIÊM VINBLASTIN SULFAT

Vinblastini sulfatis pro Injectione

Bột pha tiêm vinblastin sulfat là bột vô khuẩn vinblastin sulfat và tá dược (nếu có) đóng trong lọ thủy tinh kín, vô trùng.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng vinblastin sulfat, $C_{46}H_{58}N_4O_9.H_2SO_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột màu trắng.

Định tính
A. Trong phần Tạp chất liên quan, thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch (1) phải tương đương với thời gian lưu của pic vinblastin sulfat trên sắc ký đồ của dung dịch (3).
B. Lấy một lượng chế phẩm tương đương khoảng 1 mg vinblastin sulfat cho vào ống nghiệm, thêm 0,2 ml *dung dịch vanilin 1 % trong acid hydrocloric đậm đặc (TT)* vừa mới pha, sẽ xuất hiện màu hồng sau khoảng 1 min (phân biệt với vincristin sulfat).
C. Hòa tan một lượng chế phẩm tương đương khoảng 5 mg vinblastin sulfat trong 2 ml nước, dung dịch cho phản ứng của sulfat (Phụ lục 8.1).

pH
Hòa tan một lượng chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* để được dung dịch có nồng độ vinblastin sulfat khan 0,15 %. pH của dung dịch phải từ 3,5 đến 5,0 (Phụ lục 6.2).

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 10,0 EU/mg vinblastin sulfat (Phụ lục 13.2).

Độ trong của dung dịch
Hòa tan bột thuốc trong một lọ chế phẩm với 10 ml *nước không có carbon dioxyd* (TT), dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hỗn hợp của 12 thể tích *acetonitril (TT)*, 38 thể tích *dung dịch diethylamin 1,5 % (tt/tt)* được điều chỉnh tới pH 7,5 bằng *acid phosphoric (TT)* và 50 thể tích *methanol (TT)*.
Dung dịch (1): Hòa tan chế phẩm trong *nước* để được dung dịch vinblastin sulfat khan 0,1 %.
Dung dịch (2): Dung dịch có chứa 0,10 % vinblastin sulfat chuẩn và 0,10 % vincristin sulfat chuẩn trong *nước*.
Dung dịch (3): Dung dịch vinblastin sulfat chuẩn 0,10 % trong *nước*.
Dung dịch (4): Dung dịch vinblastin sulfat chuẩn 0,0020 % trong *nước*.
Dung dịch (5): Dung dịch vinblastin sulfat chuẩn 0,00010 % trong *nước*.
Tất cả các dung dịch trên phải để lạnh trong nước đá trước khi sử dụng.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh *end-capped octylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm) (cột Zorbax C8 là thích hợp).
Cột bảo vệ được nhồi silica gel thích hợp đặt ở giữa hệ thống bơm và bộ phận tiêm mẫu.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 262 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic vinblastin và pic vincristin trên sắc ký đồ của dung dịch (2) ít nhất là 4 và tỷ số giữa tín hiệu trên nhiễu của pic trên sắc ký đồ của dung dịch (5) ít nhất là 5.
Tiến hành sắc ký với dung dịch (1) trong khoảng thời gian bằng 3 lần thời gian lưu của pic vinblastin. Trên sắc ký đồ của dung dịch (1), diện tích của bất kỳ pic phụ nào cũng không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch (4) (2 %) và tổng diện tích các pic phụ không lớn hơn 2,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch (4) (5 %). Loại bỏ bất kỳ pic nào có diện tích nhỏ hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch (5) (0,1 %).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 17,0 % (Phụ lục 9.6).
(60 °C, áp suất không quá 0,7 kPa, 16 h).

Độ đồng đều hàm lượng
Từ kết quả thu được trong phần Định lượng, hàm lượng vinblastin sulfat, $C_{46}H_{58}N_4O_9.H_2SO_4$ trong mỗi lọ phải từ 90,0 % đến 110,0 % của hàm lượng trung bình và không quá 1 lọ trong số 10 lọ định lượng có hàm lượng từ 80,0 % đến 120,0 % của hàm lượng trung bình.

Định lượng
Hòa tan bột thuốc trong một lọ chế phẩm với một thể tích *methanol (TT)* thích hợp để được dung dịch có nồng độ khoảng 0,004 % vinblastin sulfat khan. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 267 nm, dùng mẫu trắng là *methanol (TT)*.
Tính hàm lượng của vinblastin sulfat, $C_{46}H_{58}N_4O_9.H_2SO_4$, theo A (1 %, 1 cm). Lấy 185 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 267 nm hoặc tiến hành song song với dung dịch chuẩn có nồng độ tương đương trong cùng điều kiện.
Thực hiện như vậy trên 9 lọ nữa. Hàm lượng vinblastin sulfat, $C_{46}H_{58}N_4O_9.H_2SO_4$, trong chế phẩm được tính theo hàm lượng trung bình từ 10 kết quả định lượng trên.

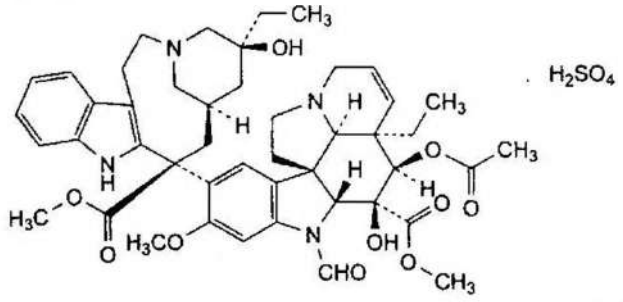
Bảo quản
Nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.

Loại thuốc
Điều trị ung thư.

Hàm lượng thường dùng
10 mg.

VINCRISTIN SULFAT

Vincristini sulfas



$C_{46}H_{56}N_4O_{10}.H_2SO_4$ P.t.l: 923,1

Vincristin sulfat là methyl (3a*R*,4*R*,5*S*,5a*R*,10b*R*,13a*R*) -4-(acetyloxy)-3aethyl-9-[(5*S*,7*R*,9*S*)-5-ethyl-5-hydroxy-9-(methoxycarbonyl)-1,4,5,6,7,8,9,10-octahydro-2*H*-3,7-methanoazacycloundecino[5,4-*b*]indol-9-yl]-6-formyl-5-hydroxy-8-methoxy-3a,4,5,5a,6,11,12,13a-octahydro-1*H*-indolizino[8,1-*cd*]carbazol-5-carboxylat sulfat, phải chứa từ 95,0 % đến 104,0 % $C_{46}H_{56}N_4O_{10}.H_2SO_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột kết tinh trắng hoặc hơi vàng nhạt, rất dễ hút ẩm. Dễ tan trong nước, khó tan trong ethanol 96 %.

Định tính

Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại đối chiếu của vincristin sulfat chuẩn.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml bằng cùng dung môi. Dung dịch S được bảo quản trong nước đá để tiến hành phép thử Tạp chất liên quan.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và màu không được đậm hơn màu mẫu V_7 (Phụ lục 9.3, phương pháp 1).

pH

Pha loãng 2 ml dung dịch S thành 10 ml bằng *nước không có carbon dioxyd (TT)*, dung dịch thu được phải có pH từ 3,5 đến 4,5 (Phụ lục 6.2).

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Dung dịch diethylamin 1,5 % (tt/tt) đã được điều chỉnh đến pH 7,5 bằng *acid phosphoric (TT)*.

Pha động B: *Methanol (TT)*.

Dung dịch thử: Pha loãng 1,0 ml dung dịch S thành 5,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 5,0 mg vincristin sulfat chuẩn trong *nước* để được 5,0 ml.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 20,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 1,0 mg vinblastin sulfat chuẩn trong 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1).

Bảo quản các dung dịch trên trong nước đá trước khi dùng.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm) (cột Zorbax C8 là thích hợp).

Tiến cột được nhồi pha tĩnh B.

Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 297 nm.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 12	38	62
12 - 27	38 → 8	62 → 92
27 - 29	8 → 38	92 → 62
29 - 34	38	62

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch phân giải, độ phân giải giữa pic vincristin và vinblastin ít nhất là 4.

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

Diện tích của bất kỳ pic phụ nào đều không được lớn hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (2,0 %).

Tổng diện tích của các pic phụ không được lớn hơn 2,5 lần diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) (5,0 %).

Bỏ qua các pic phụ có diện tích nhỏ hơn diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,1 %).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 12,0 % (Phụ lục 9.6).

(0,0500 g; chân không; 105 °C; 2 h).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3), Điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Tạp chất liên quan, với những thay đổi như sau:

Pha động: Methanol - dung dịch diethylamin 1,5 % (tt/tt) đã được điều chỉnh đến pH 7,5 bằng *acid phosphoric* (7 : 3).

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Tính hàm lượng phần trăm của $C_{46}H_{56}N_4O_{10}.H_2SO_4$ theo diện tích của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (1) và hàm lượng đã biết của vincristin sulfat chuẩn.

Thử vô khuẩn

Nếu chế phẩm dự định dùng để sản xuất thuốc tiêm phân liều mà không tiến hành tiệt khuẩn nữa thì phải đáp ứng phép thử này (Phụ lục 13.7).

Bảo quản

Trong bình thủy tinh kín, tránh ánh sáng và bảo quản ở nhiệt độ không quá -20 °C. Nếu chế phẩm là vô khuẩn thì

phải đựng trong bình thủy tinh vô khuẩn, đậy thật kín để tránh nhiễm vi khuẩn. Trên nhãn cần ghi rõ chế phẩm là vô khuẩn hay không.

Loại thuốc
Chống ung thư.

Chế phẩm
Thuốc tiêm.

BỘT PHA TIÊM VINCRISTIN SULFAT
Vincristini sulfatis pro Injectione

Bột pha tiêm vincristin sulfat là bột vô khuẩn vincristin sulfat đóng trong lọ thủy tinh kín, vô trùng. Có thể có tá dược.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền" (Phụ lục 1.19) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng vincristin sulfat, $C_{46}H_{56}N_4O_{10}.H_2SO_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất
Bột màu trắng.

Định tính
A. Trong phần Tạp chất liên quan, pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch (1) phải có cùng thời gian lưu với pic vincristin sulfat trên sắc ký đồ của dung dịch (3).
B. Lắc một lượng chế phẩm tương đương khoảng 1 mg vincristin sulfat khan với 3 ml *cloroform (TT)*, lọc và rửa giấy lọc với 2 ml *cloroform (TT)*. Tập hợp dịch lọc và dịch rửa, làm bay hơi cloroform đến cắn ở nhiệt độ khoảng 40 °C. Thêm 0,2 ml *dung dịch vanilin 1 % trong acid hydrocloric đậm đặc (TT)* mới pha vào cắn, sẽ xuất hiện màu cam sau khoảng 1 min (phân biệt với vinblastin sulfat).

Độ trong của dung dịch
Hòa tan bột thuốc trong một lọ chế phẩm với 10 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, dung dịch thu được phải trong (Phụ lục 9.2).

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 100,0 EU/mg vincristin sulfat (Phụ lục 13.2).

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hỗn hợp của 30 thể tích *dung dịch diethylamin 1,5 % (tt/tt)* được điều chỉnh tới pH 7,5 bằng *acid phosphoric (TT)* và 70 thể tích *methanol (TT)*.
Dung dịch (1): Hòa tan chế phẩm trong *nước* để được dung dịch 0,10 % vincristin sulfat khan.
Dung dịch (2): Dung dịch có chứa 0,10 % vincristin sulfat chuẩn và 0,10 % vinblastin sulfat chuẩn trong *nước*.
Dung dịch (3): Dung dịch vincristin sulfat chuẩn 0,10 % trong *nước*.
Dung dịch (4): Dung dịch vincristin sulfat chuẩn 0,0020 % trong *nước*.
Dung dịch (5): Dung dịch vincristin sulfat chuẩn 0,00010 % trong *nước*.
Tất cả các dung dịch trên phải để lạnh trong nước đá trước khi sử dụng.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh *end-capped octylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm) (cột Zorbax C8 là thích hợp).
Cột bảo vệ được nhồi silica gel thích hợp đặt ở giữa hệ thống bơm và bộ phận tiêm mẫu.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 297 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic vincristin và pic vinblastin trên sắc ký đồ của dung dịch (2) ít nhất là 4 và tỷ số giữa tín hiệu trên nhiễu của pic trên sắc ký đồ của dung dịch (5) ít nhất là 10.
Tiến hành sắc ký với dung dịch (1) trong khoảng thời gian bằng 3 lần thời gian lưu của pic vincristin.
Trên sắc ký đồ của dung dịch (1), diện tích của bất kỳ pic phụ nào cũng không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch (4) (2 %) và tổng diện tích các pic phụ không lớn hơn 2,5 lần diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch (4) (5 %). Loại bỏ bất kỳ pic nào có diện tích nhỏ hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch (5) (0,1 %).

Độ đồng đều hàm lượng
Từ kết quả thu được trong phần Định lượng, hàm lượng vincristin sulfat, $C_{46}H_{56}N_4O_{10}.H_2SO_4$ trong mỗi lọ phải từ 90,0 % đến 110,0 % của hàm lượng trung bình và không quá 1 lọ trong số 10 lọ định lượng có hàm lượng từ 80,0 % đến 120,0 % của hàm lượng trung bình.

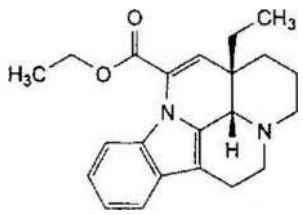
Định lượng
Hòa tan bột thuốc trong một lọ chế phẩm với một thể tích *methanol (TT)* thích hợp để thu được dung dịch vincristin sulfat khan có nồng độ khoảng 0,005 %. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng hấp thụ cực đại 297 nm, dùng mẫu trắng là *methanol (TT)*.
Tính hàm lượng vincristin sulfat, $C_{46}H_{56}N_4O_{10}.H_2SO_4$, theo A (1 %, 1 cm). Lấy 177 là giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 297 nm hoặc tiến hành song song với dung dịch vincristin sulfat chuẩn có nồng độ tương đương trong cùng điều kiện.
Thực hiện như vậy trên 9 lọ nữa. Hàm lượng vincristin sulfat, $C_{46}H_{56}N_4O_{10}.H_2SO_4$, trong chế phẩm được tính theo hàm lượng trung bình từ 10 kết quả định lượng trên.

Bảo quản
Nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.

Loại thuốc
Điều trị ung thư.

Hàm lượng thường dùng
1 mg.

VINPOCETIN
Vinpocetinum



$C_{22}H_{26}N_2O_2$ P.t.l: 350,5

Vinpocetin là ethyl (13a*S*,13b*S*)-13a-ethyl-2,3,5,6,13a,13b-hexahydro-1*H*-indolo[3,2,1-*de*]pyrido[3,2,1-*ij*][1,5] naphthyridin-12-carboxylat, phải chứa từ 98,5 % đến 101,5 % $C_{22}H_{26}N_2O_2$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc vàng nhạt.
Thực tế không tan trong nước, tan trong methylen clorid, khó tan trong ethanol khan.

Định tính
A. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của vinpocetin chuẩn.
B. Chế phẩm phải đáp ứng phép thử Góc quay cực riêng.

Góc quay cực riêng
Từ +127° đến +134°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).
Hoà tan 0,25 g chế phẩm trong *dimethylformamid (TT)* và pha loãng thành 25,0 ml với cùng dung môi.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch amoni acetat 1,54 % - acetonitril (45 : 55).
Dung dịch thử: Hoà tan 50,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 50,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hoà tan 5,0 mg tạp chất B chuẩn của vinpocetin, 6,0 mg tạp chất A chuẩn của vinpocetin, 5,0 mg tạp chất C chuẩn của vinpocetin và 5,0 mg tạp chất D chuẩn của vinpocetin trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 1,0 ml dung dịch đối chiếu (1) và 1,0 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 20,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 280 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 15 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với thời gian gấp 3 lần thời gian lưu của vinpocetin.
Thời gian lưu tương đối so với vinpocetin (thời gian lưu khoảng 16 min): tạp chất A khoảng 0,4; tạp chất D khoảng 0,68; tạp chất B khoảng 0,75; tạp chất C khoảng 0,83.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3), độ phân giải giữa pic của tạp chất D với pic của tạp chất B ít nhất là 2,0.
Giới hạn:
Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,6 %).
Tạp chất B, D: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,5 %).
Tạp chất C: Diện tích pic tạp chất C không được lớn hơn 0,6 lần diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,3 %).
Các tạp chất khác: Diện tích pic của mỗi tạp chất không được lớn hơn diện tích pic vinpocetin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,10 %).
Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 10 lần diện tích pic vinpocetin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (1,0 %).
Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic vinpocetin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0.05 %).
Ghi chú:
Tạp chất A: Ethyl (12*S*,13a*S*,13b*S*)-13a-ethyl-12-hydroxy-2,3,5,6,12,13,13a,13b-octahydro-1*H*-indolo[3,2,1-*de*]pyrido[3,2,1-*ij*][1,5]naphthyridin-12-carboxylat (ethyl vincaminat),
Tạp chất B: Methyl (13a*S*,13b*S*)-13a-ethyl-2,3,5,6,13a,13b-hexahydro-1*H*-indolo[3,2,1-*de*]pyrido[3,2,1-ij][1,5] naphthyridin-12-carboxylat (apovincamin),
Tạp chất C: Ethyl (13a*S*,13b*S*)-13a-ethyl-10-methoxy-2,3,5,6,13a,13b-hexahydro-1*H*-indolo[3,2,1-*de*]pyrido[3,2,1-*ij*][1,5]naphthyridin-12-carboxylat (methoxyvinpocetin),
Tạp chất D: Ethyl (12*RS*,13a*RS*,13b*RS*)-13a-ethyl-2,3,5,6,12,13,13a,13b-octahydro-1*H*-indolo[3,2,1-*de*]pyrido[3,2,1-*ij*][1,5]naphthyridin-12-carboxylat (dihydrovinpocetin).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g, 100 °C, chân không, 3 h).

Tro sulfat
Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Hòa tan 0,300 g chế phẩm trong 50 ml hỗn hợp đồng thể tích của *anhydrid acetic (TT)* và *acid acetic khan (TT)*.

Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).
1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 35,05 mg $C_{22}H_{26}N_2O_2$.

Bảo quản
Trong bao bì kín.

Loại thuốc
Giãn mạch.

Chế phẩm
Viên nén, nang.

VIÊN NÉN VINPOCETIN
Tabellae Vinpocetini

Là viên nén chứa vinpocetin.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1.20) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng vinpocetin, $C_{22}H_{26}N_2O_2$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Toluen - ethanol 96 % - cloroform (4 : 2 : 8).
Dung dịch thử: Cân một lượng bột viên đã nghiền mịn tương ứng với khoảng 10 mg vinpocetin, thêm 5 ml *cloroform* (TT), lắc trong 30 min, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Cân khoảng 10 mg chất chuẩn vinpocetin, thêm 5 ml *cloroform (TT)*, lắc trong 30 min.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch thử và đối chiếu. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 bản mỏng. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và soi dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải phù hợp về vị trí, hình dạng và kích thước với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Phương pháp quang phổ tử ngoại (Phụ lục 4.1). Dung dịch thử ở phần Định lượng phải cho phổ hấp thụ tử ngoại giống với phổ hấp thụ tử ngoại của dung dịch chuẩn trong khoảng bước sóng từ 220 nm đến 360 nm.

Độ hoà tan (Phụ lục 11.4).
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hoà tan: 500 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Tốc độ quay: 75 r/min.
Thời gian: 30 min.
Cách tiến hành: Sau thời gian hòa tan quy định, hút một phần dịch hòa tan, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Đo độ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1) của dung dịch thu được ở bước sóng 269 nm, sử dụng cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là môi trường hòa tan. So sánh với dung dịch vinpocetin chuẩn pha trong môi trường hòa tan có nồng độ tương đương.
Yêu cầu: Không ít hơn 70 % (Q) lượng vinpocetin, $C_{22}H_{26}N_2O_2$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

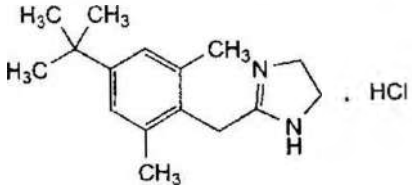
Định lượng
Phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến (Phụ lục 4.1).
Dung dịch thử: Cân 20 viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với khoảng 20 mg vinpocetin cho vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml *ethanol 96 % (TT)*, lắc kỹ để hòa tan. Thêm *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ đến vạch, trộn đều, lọc. Pha loãng 10,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml bằng *ethanol 96 % (TT)*.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 20 mg vinpocetin chuẩn vào bình định mức 100 ml, thêm 70 ml *ethanol 96 % (TT)*, lắc kỹ để hòa tan, thêm *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ đến vạch, trộn đều. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *ethanol 96 % (TT)*.
Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch thu được ở bước sóng 314 nm, trong cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *ethanol 96 % (TT)*.
Tính hàm lượng của vinpocetin, $C_{22}H_{26}N_2O_2$, trong viên dựa vào độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{22}H_{26}N_2O_2$ của vinpocetin chuẩn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng, nơi khô mát.

Loại thuốc
Thuốc giãn mạch, cải thiện tuần hoàn não.

Hàm lượng thường dùng
5 mg, 10 mg.

XYLOMETAZOLIN HYDROCLORID
Xylomethazolini hydrochloridum



$C_{16}H_{24}N_2.HCl$ P.t.l: 280,8

Xylometazolin hydroclorid là 2-[4-(1,1-dimethylethyl)-2,6-dimethylbenzyl]-4,5-dihydro-1*H*-imidazol hydroclorid, phải chứa từ 99,0 % đến 101,0 % $C_{16}H_{24}N_2.HCl$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất
Bột kết tinh màu trắng hoặc gần như trắng.
Dễ tan trong nước, trong ethanol 96 % và methanol.

Định tính

Có thể chọn một trong hai nhóm định tính sau:

Nhóm I: A, E.

Nhóm II: B, C, D, E.

A. Phổ hấp thụ hồng ngoại của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của xylometazolin hydroclorid chuẩn (Phụ lục 4.2).

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

Bản mỏng: *Silica gel G.*

Dung môi khai triển: *Amoniac - methanol* (5 : 100).

Dung dịch thử: Hòa tan 20 mg chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20 mg xylometazolin hydroclorid chuẩn trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 5 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành:

Xử lý bản mỏng bằng clorin: Đặt một cốc thủy tinh có chứa 1 thể tích *dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT)*, 1 thể tích *nước* và 2 thể tích dung dịch *kali permanganat* 1,5 % *(TT)* vào đáy bình triển khai sắc ký. Đóng nắp bình và để yên 15 min. Để bản mỏng khô vào bình và đóng nắp lại. Để bản mỏng tiếp xúc với hơi clorin trong 5 min. Lấy bản mỏng ra và để dưới luồng không khí lạnh đến khi không còn hơi clorin và phần bản mỏng ở dưới vạch chấm sắc ký không được có màu xanh khi nhỏ *dung dịch kali iodid - hồ tinh bột (TT)* lên.

Chấm riêng biệt 5 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng đã được xử lý bằng clorin. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 2/3 bản mỏng. Để khô bản mỏng ngoài không khí và phun *dung dịch kali iodid - hồ tinh bột (TT)*. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải giống với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu về vị trí, màu sắc và kích thước.

C. Hòa tan khoảng 0,5 mg chế phẩm trong 1 ml *methanol (TT)*, thêm 0,5 ml dung dịch *natri nitroprusiat (TT) 5 %* vừa mới pha và 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,5 M (TT)*. Để yên hỗn hợp trong 10 min, thêm 1 ml dung dịch *natri bicarbonat (TT)* 8 %. Màu tím xuất hiện.

D. Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong 1 ml *nước*, thêm 2,5 ml *ethanol 96 % (TT)* và 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*. Trộn đều và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 365 nm. Dung dịch không có huỳnh quang, hoặc có huỳnh quang tương tự với dung dịch mẫu trắng được chuẩn bị trong cùng điều kiện. Phép thử này chỉ có giá trị khi một dung dịch được chuẩn bị trong cùng điều kiện dùng naphazolin hydroclorid chuẩn thay cho chế phẩm phải cho huỳnh quang xanh dương rõ rệt.

E. Chế phẩm phải cho phản ứng (A) của clorid (Phụ lục 8.1).

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S: Hòa tan 2,5 g chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không được có màu đậm hơn màu mẫu V_6 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Hòa tan 0,25 g chế phẩm trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi. Thêm 0,1 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)* và 0,1 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*. Dung dịch có màu đỏ. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)* cần dùng để làm chuyển màu chỉ thị sang màu vàng không quá 0,2 ml.

Tạp chất liên quan

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Dung dịch *kali dihydrophosphat (TT)* 1,36 g/l được điều chỉnh đến pH 3,0 bằng *acid phosphoric (TT)*.

Pha động B: Acetonitril (TT_1).

Dung dịch thử: Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Để yên 1 h trước khi tiêm.

Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 5,0 ml dung dịch thử thành 100,0 ml bằng *nước*. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 100,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 5,0 mg tạp chất A chuẩn của xylometazolin và 5,0 mg chế phẩm trong *nước* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 10,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch đối chiếu (3): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (2) thành 50,0 ml bằng *nước*.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh *end-capped octadecylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 220 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 5	70	30
5 - 20	70 → 15	30 → 85
20 - 35	15	85

Thời gian lưu tương đối so với xylometazolin (thời gian lưu khoảng 7,2 min): Tạp chất A khoảng 0,79.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của tạp chất A và pic của xylometazolin ít nhất là 2,5.

Giới hạn:

Tạp chất A: Diện tích pic tạp chất A không được lớn hơn diện tích pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (3) (0,2 %).

Tạp chất khác: Với mỗi tạp chất, diện tích pic không được lớn hơn diện tích pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,10 %).

Tổng diện tích pic của tất cả các tạp chất không được lớn hơn 5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,5 %).

Bỏ qua những pic có diện tích nhỏ hơn 0,5 lần diện tích pic chính thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) (0,05 %).

Ghi chú:

Tạp chất A: *N*-(2-aminoethyl)-2-[4-(1,1-dimethylethyl)-2,6-dimethylphenyl]acetamid.

Tạp chất B: 2-(cloromethyl)-5-(1,1-dimethylethyl)-1,3-dimethylbenzen.

Tạp chất C: [4-(1,1-dimethylethyl)-2,6-dimethylphenyl]acetonitril.

Tạp chất D: 1-(1,1-dimethylethyl)-3,5-dimethylbenzen.

Tạp chất F: Acid [4-(1,1-dimethylethyl)-2,6-dimethylphenyl]acetic

Tạp chất E: Ethan-1,2-diamin mono(4-methylbenzenesulfonat).

Mất khối lượng do làm khô

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.6).

(1,000 g; 105 °C).

Tro sulfat

Không được quá 0,1 % (Phụ lục 9.9, Phương pháp 2).

Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng

Hòa tan 0,200 g chế phẩm trong 25 ml *acid acetic khan (TT)* và thêm 10 ml *anhydrid acetic (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2).

1 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 28,08 mg $C_{16}H_{25}ClN_2$.

Bảo quản

Tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Đồng vận alpha-adrenoceptor.

Chế phẩm

Thuốc nhỏ mũi.

THUỐC NHỎ MŨI XYLOMETAZOLIN

Nasalia Xylometazolini

Thuốc nhỏ mũi xylometazolin là dung dịch xylometazolin hydroclorid trong nước, có thể có thêm tá dược thích hợp. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc nhỏ mũi và thuốc xịt mũi dạng lỏng" (Phụ lục 1.15) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng xylometazolin hydroclorid, $C_{16}H_{24}N_2.HCl$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Tính chất

Dung dịch trong, không màu.

Định tính

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

B. Lấy một thể tích chế phẩm tương ứng với khoảng 0,5 mg xylometazolin hydroclorid, thêm 0,2 ml *dung dịch natri nitroprusiat 5 % (TT)* và 0,1 ml *dung dịch natri hydroxyd 5 M (TT)* và để yên trong 10 min. Thêm 1 ml *dung dịch natri hydrocarbonat 10 %*. Màu tím xuất hiện.

pH

Từ 5,0 đến 7,5 (Phụ lục 6.2).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Dung dịch đệm pH 2,7: Hòa tan 2,5 *g amoni sulfat khan (TT)* trong 1000 ml *nước*. Điều chỉnh đến pH 2,7 bằng *dung dịch acid phosphoric 1 M*.

Pha động: Dung dịch đệm pH 2,7 - acetonitril (65 : 35). Điều chỉnh tỉ lệ nếu cần.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 100 mg xylometazolin hydroclorid vào bình định mức dung tích 100 ml, thêm 10 ml *methanol (TT)*, lắc kỹ để hòa tan và pha loãng bằng nước đến vạch, lắc đều. Hút 5,0 ml dung dịch thu được vào bình định mức 20 ml, pha loãng bằng *nước* vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Dung dịch thử: Dung dịch chế phẩm hoặc dung dịch pha loãng với *nước* để được dung dịch có nồng độ tương ứng với nồng độ của dung dịch chuẩn.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 225 nm.

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Hệ số đối xứngcủa pic xylometazolin hydroclorid không được lớn hơn 3,5 và độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic trong 6 lần tiêm lặp lại không được quá 2,0 %.

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

Tính hàm lượng, $C_{16}H_{24}N_2.HCl$, trong chế phẩm dựa vào diện tích pic của xylometazolin hydroclorid trong dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{24}N_2.HCl$ trong xylometazolin hydroclorid chuẩn.

Bảo quản

Nơi mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

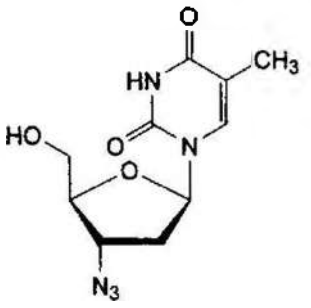
Chống sung huyết mũi.

Nồng độ thường dùng

0,05 % và 0,1 %.

ZIDOVUDIN

Zidovudinum



$C_{10}H_{13}N_5O_4$ P.t.l: 267,2

Zidovudin là 1-(3-azido-2,3-dideoxy-β-D-*erythro*-pento furanosyl)-5-methylpyrimidin-2,4-(1*H*,3*H*)-dion, phải chứa từ 97,0 % đến 102 % $C_{10}H_{13}N_5O_4$, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Tính chất

Bột trắng hoặc ánh nâu. Hơi tan trong nước, tan trong ethanol. Điểm chảy khoảng 124 °C. Dạng vô định hình.

Định tính

Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của zidovudin chuẩn. Nếu phổ thu được từ dạng rắn có sự khác biệt, tiến hành hòa tan chế phẩm và chất chuẩn riêng rẽ trong một lượng tối thiểu *nước* sau đó bay hơi đến khô trong bình hút ẩm dưới áp suất giảm và có mặt của *diphosphor pentoxyd (TT)*. Ghi và so sánh phổ mới của các cắn thu được.

Màu sắc của dung dịch

Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 50 ml *nước*, đun nóng nếu cần thiết. Màu của dung dịch thu được không được đậm hơn màu mẫu VN_5 (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Góc quay cực riêng

Từ +60,5° đến +63.0°, tính theo chế phẩm đã làm khô (Phụ lục 6.4).

Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong *ethanol (TT)* và pha loãng thành 50.0 ml với cùng dung môi. Dùng dung dịch thu được đo ở 25 °C.

Tạp chất liên quan

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

Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.

Dung môi triển khai: *Methanol - methylen clorid* (10 : 90).

Dung dịch thử : Hòa tan 0,2 g chế phẩm trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg mỗi chất sau đây: *thymin (TT)*, tạp chất A của zidovudin, *triphenylmethanol (TT)* trong *methanol (TT)*, thêm 1,0 ml dung dịch thử và pha loãng thành 100 ml bằng *methanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (1) thành 10 ml bằng *methanol (TT)*.

Cách tiến hành:

Chấm riêng rẽ lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 12 cm. Làm khô bản mỏng ngoài không khí, quan sát dưới ánh sáng UV 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử: vết phụ tương ứng với tạp chất A của zidovudin không được đậm màu hơn vết tương ứng trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %), và bất cứ vết phụ nào khác ngoài vết chính, và các vết tương ứng với tạp chất A của zidovudin, thymin (chất này được kiểm tra giới hạn bằng sắc ký lỏng) đều không được đậm màu hơn vết tương ứng với zidovudin trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %). Phun bản mỏng với *dung dịch vanillin 1 % pha trong acid sulfuric*. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, vết tương ứng với triphenylmethanol không được đậm màu hơn vết tương ứng thu được của dung dịch đối chiếu (2) (0,5 %). Thử nghiệm chỉ có giá trị khi sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) có 4 vết tách biệt rõ ràng tương ứng với thymin, tạp chất A của zidovudin, zidovudin, và triphenylmethanol theo thứ tự R_f tăng dần.

B. Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Tiến hành theo mô tả trong phần Định lượng.

Tiêm riêng rẽ 10 µl mỗi dung dịch: Dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (2), dung dịch đối chiếu (4) và dung dịch đối chiếu (5). Thực hiện sắc ký với thời gian gấp 1,5 lần thời gian lưu của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch thử (1). Khi sắc ký đồ ghi được trong điều kiện như mô tả, các chất xuất hiện theo thứ tự thymin, zidovudin, tạp chất B của zidovudin.

Giới hạn: Trong sắc ký đồ của dung dịch thử (1):

Diện tích của bất cứ pic nào tương ứng với thymin không được lớn hơn diện tích pic chính thu được từ dung dịch đối chiếu (2) (2 %); diện tích của pic tương ứng với tạp chất B của zidovudin không được lớn hơn diện tích pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) (1 %); diện tích của bất cứ pic phụ nào khác, không được lớn hơn diện tích pic chính thu được từ dung dịch đối chiếu (5) (0,5 %).

Tổng diện tích của tất cả các pic khác với pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (1) không được lớn hơn 6 lần diện tích pic chính thu được từ dung dịch đối chiếu (5) (3,0 %).

Bỏ qua các pic có diện tích nhỏ hơn 10 % so với diện tích pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (5).

Ghi chú:

Tạp chất A: 1-[(2*R*,5*S*)-5-(hydroxymethyl)-2,5-dihydrofuran-2-yl)-5-methylpyrimidin-2,4(1*H*,3*H*)dion (stavudin).

Tạp chất B: 1-(3-cloro-2,3-dideoxy-β-D-*erythro*-pento-furanosyl)-5-methylpyrimidin-2,4-(1*H*,3*H*)dion.

Tạp chất C: 5-methylpyrimidin-2,4(1*H*,3*H*)-dion (thymin).

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8, phương pháp 4). Dùng 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 4. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.6).
(1,000 g; 100 °C đến 105 °C).

Tro sulfat
Không được quá 0,25 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g chế phẩm.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - nước (20 : 80).
Dung dịch thử (1): Hòa tan 50,0 mg chế phẩm trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử (2): Pha loãng 10,0 ml dung dịch thử (1) thành 50,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 10,0 mg zidovudin chuẩn trong pha động và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 10,0 mg *thymin (TT)* trong *methanol (TT)* và pha loãng thành 50,0 ml với cùng dung môi. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 5,0 mg tạp chất B chuẩn của zidovudin trong 25,0 ml dung dịch đối chiếu (1) và pha loãng thành 50,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (4): Pha loãng 5,0 ml dung dịch đối chiếu (3) thành 50,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (5): Pha loãng 0,25 ml dung dịch thử (1) thành 50,0 ml bằng pha động.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt bước sóng ở 265 nm.
Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Ổn định cột với pha động ở tốc độ dòng 1,2 ml/min trong 45 min.
Tiêm 10 µl dung dịch đối chiếu (3). Điều chỉnh độ nhạy của detector sao cho chiều cao của pic chính trên sắc ký đồ thu được không nhỏ hơn 70 % của thang đo. Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa các pic của zidovudin và tạp chất B ít nhất bằng 1,0. Tiêm dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (1). Điều chỉnh độ nhạy của detector sao cho chiều cao của pic trên sắc ký đồ thu được không nhỏ hơn 50 % của thang đo.
Tính hàm lượng của $C_{10}H_{13}N_5O_4$ từ diện tích của các pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (1) và từ nồng độ của zidovudin trong dung dịch đối chiếu (1).

Bảo quản
Tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng virus.

Chế phẩm
Viên nén, dung dịch uống. Viên nén kết hợp lamivudin.

DUNG DỊCH UỐNG ZIDOVUDIN
Zidovudini solutionum peroralium

Là dung dịch thuốc uống chứa zidovudin trong dung môi thích hợp.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu chung trong chuyên luận "Dung dịch thuốc" (Phụ lục 1.3) và các yêu cầu sau đây:

Hàm lượng zidovudin, $C_{10}H_{13}N_5O_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silicagel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Dichloromethan - methanol - acid acetic băng (90 : 10 : 3).
Dung dịch đối chiếu: Pha dung dịch của zidovudin chuẩn trong *methanol (TT)* có nồng độ khoảng 1 mg/ml.
Dung dịch thử: Pha loãng một thể tích chế phẩm chứa 20 mg zidovudin thành 20 ml với *methanol (TT)*. Lọc nếu cần.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 chiều dài bản mỏng. Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu phải tương ứng về màu sắc, hình dạng và giá trị R_f.
B. Thời gian lưu của pic chính trên sắc ký đồ của dung dịch thử trong phần Định lượng phải tương ứng với thời gian lưu của pic zidovudin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

pH (Phụ lục 6.2)
Từ 3,0 đến 4,0.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với pha động và các điều kiện sắc ký như mô tả trong phần Định lượng.
Dung dịch thử: Pha loãng chế phẩm với pha động để thu được dung dịch có nồng độ zidovudin 0,2 mg/ml.
Dung dịch đối chiếu (1): Pha loãng 1,0 ml dung dịch thử thành 200,0 ml bằng pha động.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 1 mg thymin chuẩn (tạp chất C của zidovudin), trong 10 ml pha động. Hút 1,0 ml dung dịch này vào bình định mức 10 ml đã chứa sẵn 5 mg zidovudin chuẩn, hòa tan và thêm vừa đủ đến định mức bằng pha động.
Dung dịch giả dược (thực hiện khi có đủ điều kiện): Hòa tan tất cả các thành phần tá dược (bao gồm cả các parahydroxy benzoat) bằng dung môi thích hợp (dung môi sử dụng trong công thức bào chế) để thu được dung dịch có nồng độ các chất này giống như chế phẩm. Pha loãng dung dịch thu được với pha động với như cách pha dung dịch thử.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử, các dung dịch đối chiếu và dung dịch giả dược. Thời gian chạy sắc ký dung

dịch thử gấp 4 lần thời gian lưu của zidovudin. Với chế phẩm chứa các chất bảo quản parahydroxybenzoat, tiến hành sắc ký dung dịch thử với thời gian gấp 8 lần thời gian lưu của zidovudin để rửa giải hết các tá dược này ra khỏi cột sắc ký.

Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2), thời gian lưu tương đối của các pic thu được so với pic zidovudin (thời gian lưu khoảng 12 min) như sau: Tạp chất C (thymin) khoảng 0,3, tạp chất A (stavudin) khoảng 0,4 và tạp chất B khoảng 1,2. Độ phân giải giữa pic tạp chất C và pic zidovudin không nhỏ hơn 5,0; giữa pic zidovudin và tạp chất B không nhỏ hơn 2,0; hệ số đối xứng của pic zidovudin không lớn hơn 2,0.

Giới hạn: Đáp ứng yêu cầu A và B dưới đây. Nếu không có đầy đủ các thông tin về tá dược hoặc sắc ký đồ của dung dịch giả dược cho pic có thời gian lưu trùng với bất cứ pic nào trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), hoặc có bất cứ ảnh hưởng nào do tá dược thì chỉ áp dụng yêu cầu A.

A. Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, diện tích của pic tạp chất C, sau khi nhân với hệ số hiệu chỉnh 0,6, không lớn hơn 6 lần diện tích pic chính thu được từ dung dịch đối chiếu 1 (3,0 %).

B. Trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, diện tích của bất cứ pic phụ nào đều không được lớn hơn 2 lần diện tích pic chính thu được từ dung dịch đối chiếu 1 (1,0 %) và không nhiều hơn 1 pic phụ có diện tích lớn hơn diện tích pic chính thu được từ dung dịch đối chiếu 1 (0,5 %). Tổng diện tích pic tạp chất C (sau khi nhân với hệ số đáp ứng 0,6) và diện tích của tất cả các pic phụ khác ngoài pic chính không lớn hơn 12 lần diện tích pic chính thu được từ dung dịch đối chiếu 1 (6,0 %). Bỏ qua các pic có thời gian lưu trùng với các pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch giả dược, các pic có thời gian lưu tương đối so với zidovudin lớn hơn 2,0 (tương ứng với các pic parahydroxybenzoat) và bất cứ pic nào có diện tích nhỏ hơn 0,2 lần diện tích pic chính thu được từ dung dịch đối chiếu 1 (0,1 %).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Methanol - Dung dịch đệm pH 5,3 (20 : 80).

Dung dịch đệm pH 5,3: Dung dịch natri acetat 0,045 M, điều chỉnh đến pH 5,3 với *acid acetic băng (TT)*.

Dung dịch chuẩn: Pha dung dịch của zidovudin chuẩn trong pha động có nồng độ chính xác khoảng 0,2 mg/ml.

Dung dịch thử: Xác định khối lượng riêng của dung dịch thuốc (Phụ lục 6.5). Cân một lượng dung dịch thuốc tương ứng với 20 mg zidovudin vào bình định mức 100 ml, thêm pha động vừa đủ đến định mức, lắc đều, lọc.

Dung dịch phân giải: Hòa tan 2 mg thymin chuẩn trong 10 ml *methanol (TT)*. Hút 1,0 ml dung dịch thu được vào bình định mức dung tích 50 ml và thêm dung dịch thử vừa đủ đến định mức.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 265 nm.

Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù thích hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch phân giải. Trên sắc ký đồ thu được, thời gian lưu tương đối của pic thymin so với pic zidovudin (thời gian lưu khoảng 12 min) là 0,3. Độ phân giải giữa pic thymin và pic zidovudin không nhỏ hơn 5,0; hệ số đối xứng của pic zidovudin không lớn hơn 2,0.

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Từ diện tích pic của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{10}H_{13}N_5O_4$ trong zidovudin chuẩn và khối lượng riêng của dung dịch thuốc, tính hàm lượng zidovudin trong dung dịch thuốc so với lượng ghi trên nhãn.

Bảo quản

Trong bao bì kín. Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc

Thuốc kháng virus.

Hàm lượng thường dùng

50 mg/5 ml.

VIÊN NÉN ZIDOVUDIN

Tabellae Zidovudini

Là viên nén hoặc viên nén bao phim chứa zidovudin.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc viên nén" (Phụ lục 1. 20) và các yêu cầu sau đây.

Hàm lượng zidovudin, $C_{10}H_{13}N_5O_4$, từ 90,0 % đến 110,0 % so với lượng ghi trên nhãn.

Định tính

A. Phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến (Phụ lục 4.1).

Dung môi pha mẫu: Methanol - nước (75 : 25).

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch zidovudin chuẩn trong dung môi pha mẫu có nồng độ khoảng 15 µg/ml.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột viên (đã bỏ lớp bao phim nếu cần) tương đương với khoảng 150 mg zidovudin vào bình định mức dung tích 100 ml. Thêm khoảng 70 ml dung môi pha mẫu. Siêu âm khoảng 5 min để hòa tan, pha loãng với dung môi pha mẫu vừa đủ đến vạch. Lắc đều. Lọc hoặc ly tâm. Hút 1 ml dung dịch trong và pha loãng thành 100 ml với dung môi pha mẫu.

Đo phổ hấp thụ tử ngoại của dung dịch đối chiếu và dung dịch thử ở trong khoảng bước sóng từ 200 nm đến 400 nm. Sử dụng cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là dung môi pha mẫu. Phổ hấp thụ tử ngoại của dung thử phải cho các bước sóng cực đại và cực tiểu hấp thụ tương tự như dung dịch đối chiếu.

B. Trong mục Định lượng, sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử cho pic chính có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic zidovudin thu được từ sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)
Thiết bị: Kiểu cánh khuấy.
Môi trường hòa tan: 900 ml *nước*.
Tốc độ quay: 50 r/min.
Thời gian: 30 min.
Tiến hành định lượng zidovudin bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với *pha động, dung dịch chuẩn* và *các điều kiện sắc ký* như ở mục định lượng.
Dung dịch thử: Sau thời gian hòa tan quy định, hút một phần dịch hòa tan, lọc, bỏ dịch lọc đầu. Pha loãng dịch lọc với *nước* để thu được dung dịch có nồng độ zidovudin khoảng 0,12 mg/ml.
Yêu cầu: Không ít hơn 75% (Q) lượng zidovudin, $C_{10}H_{13}N_5O_4$, so với lượng ghi trên nhãn được hòa tan trong 30 min.

Tạp chất liên quan
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) với pha động, dung dịch chuẩn, dung dịch thử, các điều kiện sắc ký và cách tiến hành như mô tả ở mục Định lượng.
Hàm lượng mỗi tạp chất nếu có được tính theo công thức sau:

$$100(1/F)(S_i/S_s)$$

Trong đó:
F: Hệ số đáp ứng tương đối, hệ số này là 1,7 cho tạp chất C của zidovudin và 1,0 cho các tạp khác.
S_i: Diện tích pic của từng tạp chất trên sắc ký đồ của dung dịch thử.
S_s: Diện tích pic zidovudin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
Yêu cầu:
Tạp chất C của zidovudin: Không được quá 1,5 %.
Tạp chất khác: Không được quá 0,2 %.
Tổng tạp: Không được quá 2,0 %.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 3,0 g *natri acetat (TT)* và 1,3 g *natri octansulfonat (TT)* trong 900 ml *nước*. Thêm 90 ml *methanol (TT)* và 40 ml *acetonitril (TT)*, trộn đều. Điều chỉnh với *acid acetic băng (TT)* đến pH 5,3. Lọc và đuổi khí. Điều chỉnh tỉ lệ nếu cần.
Dung dịch tạp chất B chuẩn (dung dịch gốc): Cân chính xác một lượng tạp chất B chuẩn của zidovudin, hòa tan và pha loãng bằng *methanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,1 mg/ml.
Dung dịch tạp chất C chuẩn (dung dịch gốc): Cân chính xác một lượng tạp chất C chuẩn của zidovudin, hòa tan và pha loãng bằng *methanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,2 mg/ml.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 30 mg zidovudin chuẩn và chuyển vào bình định mức dung tích 250 ml, thêm 3 ml *methanol (TT)* lắc để hòa tan. Thêm 2,5 ml dung dịch tạp chất B chuẩn, thêm 5 ml dung dịch tạp chất C chuẩn, lắc đều và thêm *nước* vừa đủ đến định mức. Dung dịch thu được có chứa zidovudin nồng độ 0,12 mg/ml, tạp chất B của zidovudin nồng độ 0,001 mg/ml, tạp chất C của zidovudin nồng độ 0,004 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân 20 viên (đã bỏ lớp bao phim, nếu cần), tính khối lượng trung bình viên và nghiền thành bột mịn. Cân chính xác một lượng bột viên tương ứng với 300 mg zidovudin vào bình định mức dung tích 100 ml. Thêm khoảng 10 ml *nước*, lắc đều để phân tán bột viên, thêm 30 ml *methanol (TT)* và lắc siêu âm 10 min để hòa tan. Pha loãng với *nước* vừa đủ đến vạch, trộn đều. Lọc. Pha loãng 4,0 ml dịch lọc thành 100,0 ml bằng *nước*.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 265 nm.
Tốc độ dòng: 1,3 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, thời gian lưu tương đối của tạp chất C là 0,17, zidovudin là 1,0, tạp chất B là 1,2. Độ phân giải giữa pic zidovudin và pic tạp chất B không nhỏ hơn 2,5. Hệ số đối xứng của pic zidovudin không lớn hơn 2,0. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic zidovudin từ sáu lần tiêm lặp lại dung dịch chuẩn không lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử. Từ diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{10}H_{13}N_5O_4$ trong zidovudin chuẩn, tính hàm lượng zidovudin trong viên so với lượng ghi trên nhãn.

Bảo quản
Trong bao bì kín, nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Loại thuốc
Kháng virus.

Hàm lượng thường dùng
200 mg; 300 mg.

MỤC LỤC TRA CỨU

Theo tên Việt Nam

A

Abacavir sulfat, 3, P-5
Acebutolol hydroclorid, 4, P-5
Acenocoumarol, 7, P-6
Acetazolamid, 9, P-6
Acetylcystein, 11, P-7
Aciclovir, 14
Acid acetylsalicylic, 17
Acid aminocaproic, 22
Acid ascorbic, 23
Acid L-ascorbic, 23
Acid benzoic, 26, P-8
Acid boric, 27
Acid citric ngậm một phân tử nước, 29
Acid folic, 30
Acid hydrocloric, 32
Acid hydrocloric loãng, 33
Acid mefenamic, 33, P-8
Acid methacrylic và ethyl acrylat đồng trùng hợp (1 : 1), 36
Acid methacrylic và methyl methacrylat đồng trùng hợp (1 : 1), 38
Acid methacrylic và methyl methacrylat đồng trùng hợp (1 : 2), 39
Acid nalidixic, 40, P-9
Acid nicotinic, 42
Acid salicylic, 43, P-9
Acid tranexamic, 44, P-10
Actisô (lá), 1063
Adrenalin, 47, P-10
Adrenalin acid tartrat, 49
Adrenalin tartrat, 49
Albendazol, 51
Alcol khan, 399
Alcol tuyệt đối, 399
Alimemazin tartrat, 53, P-11
All-*rac*-alpha tocopherol, 948
All-*rac*-alpha tocopheryl acetat, 949
Alopurinol, 55
Alverin citrat, 58, P-11
Ambroxol hydroclorid, 60
Amikacin, 64
Aminophylin, 66
Amiodaron hydroclorid, 69, P-12
Amitriptylin hydroclorid, 72
Amlodipin besilat, 74
Amodiaquin hydroclorid, 76
Amoni clorid, 78
Amoxicilin natri, 79, P-12
Amoxicilin trihydrat, 83, P-13
Amphotericin B, 89
Ampicilin, 92
Ampicilin natri, 93, P-13
Ampicilin trihydrat, 98, P-14
An tức hương, 1099
Aralen, 296
Arginin, 100, P-14
Arginin aspartat, 102
Arginin hydroclorid, 103
Argyrol, 133
Artemether, 105, P-15
Artemisinin, 110, P-15
Artesunat, 111, P-16
Aspartam, 114
Aspirin, 17
Atenolol, 116, P-16
Atorvastatin calci trihydrat, 119
Atropin sulfat, 122
Attapulgit, 125
Azithromycin, 126

B

B.A.L, 355
Ba kích (rễ), 1064
Bá bệnh, 1067
Bá tử nhân, 1065
Bạc hà, 1066
Bạc nitrat, 132
Bạc vitelinat, 133
Bách bệnh (rễ), 1067
Bách bộ (rễ), 1068
Bách hợp (thân hành), 1069
Bạch biển đậu, 1161
Bạch cập (thân rễ), 1070
Bạch chỉ (rễ), 1070
Bạch cương tàm, 1326
Bạch đậu khấu (quả), 1072
Bạch đồng nữ (cành mang lá), 1072
Bạch giới tử, 1074
Bạch hoa xà thiệt thảo, 1074
Bạch linh, 1292
Bạch mai, 1255
Bạch mao căn, 1118
Bạch tật lê (quả), 1075
Bạch thược (rễ), 1076
Bạch truật (thân rễ), 1077
Bacitracin, 129
Bài hương thảo, 1223
Bán biên liên, 1078
Bán biên tô, 1223
Bán chi liên, 1079
Bán hạ (thân rễ), 1080
Bán hạ bắc, 1080
Bán hạ nam, 1126
Bảng liên hệ giữa phần trăm ethanol theo thể tích, phần trăm ethanol theo khối lượng, khối lượng riêng của hỗn hợp ethanol và nước, PL-467

Bảng nguyên tử lượng các nguyên tố, PL-465
Bari sulfat pha hỗn dịch, 134
Bari sulfat, 133
Băng thạch, 1329
Benzalkonium clorid, 135
Benzathin benzylpenicilin, 136
Benzylpenicilin kali, 139
Benzylpenicilin natri, 140
Bèo cái, 1150
Bèo tấm, 1082
Bèo tấm tía, 1082
Berberin clorid, 142
Betamethason, 144, P-17
Betamethason dipropionat, 147
Betamethason natri phosphat, 149
Betamethason valerat, 152
Bìm bìm biếc (hạt), 1082
Binh lang, 1097
Binh vôi, 1083
Biotin, 153
Bisacodyl, 154
Bisoprolol fumarat, 157
Bồ bồ, 1084
Bồ công anh, 1085
Bồ kết (gai), 1086
Bồ kết (quả), 1087
Bồ cốt chỉ (quả), 1088
Bố chính sâm, 1310
Bối mẫu (thân hành), 1089
Bông hút nước tiệt khuẩn, 160
Bông hút nước, 158
Bông sứ, 1146
Bồng bồng, 1224
Bột bình vị, 1407
Bột bó, 160
Bột pha hỗn dịch acetylcystein, 13
Bột pha hỗn dịch amoxicilin, 84
Bột pha hỗn dịch amoxicilin và acid clavulanic, 87
Bột pha hỗn dịch azithromycin, 129
Bột pha hỗn dịch cefaclor, 195
Bột pha hỗn dịch cefadroxil, 199
Bột pha hỗn dịch cefdinir, 211
Bột pha hỗn dịch cefixim, 216
Bột pha hỗn dịch cefpodoxim, 227
Bột pha hỗn dịch cefuroxim, 239
Bột pha hỗn dịch cephalexin, 251
Bột pha hỗn dịch roxithromycin, 846
Bột pha tiêm amoxicilin, 81
Bột pha tiêm amoxicilin và acid clavulanic, 82
Bột pha tiêm ampicilin, 95
Bột pha tiêm ampicilin và sulbactam, 97
Bột pha tiêm artesunat, 113
Bột pha tiêm benzylpenicilin, 142
Bột pha tiêm benzathin benzylpenicilin, 137
Bột pha tiêm cefazolin, 208
Bột pha tiêm cefoperazon, 221
Bột pha tiêm cefoperazon và sulbactam, 222
Bột pha tiêm cefotaxim, 224
Bột pha tiêm ceftazidim, 234
Bột pha tiêm ceftriaxon, 237
Bột pha tiêm cefuroxim, 242
Bột pha tiêm cloramphenicol, 292
Bột pha tiêm imipenem và cilastatin, 502
Bột pha tiêm streptomycin, 878
Bột pha tiêm vancomycin, 970
Bột pha tiêm vinblastin sulfat, 975
Bột pha tiêm vincristin sulfat, 978
Bột talc, 160
Bơm tiêm vô khuẩn bằng chất dẻo sử dụng một lần, PL-430
Bromhexin hydroclorid, 162
Bupivacain hydroclorid, 164, P-17

C

Cà độc dược (hoa), 1090
Cà độc dược (lá), 1091
Cà gai leo, 1092
Cà ngoi, 1266
Cá ngựa, 1093
Các chất chỉ thị, PL-89
Các chất đối chiếu (ĐC), PL-113
Các chuyên luận cao dược liệu, dầu, tinh dầu, 1385
Các chuyên luận dược liệu, 1061
Các chuyên luận huyết thanh, sinh phẩm và vắc xin, 987
Các chuyên luận nguyên liệu hóa dược và thành phẩm hóa dược, 1
Các chuyên luận thuốc cổ truyền, 1405
Các cơ quan và đơn vị tham gia xây dựng Dược điển Việt Nam V, xxi
Các cộng tác viên, xix
Các dung dịch chuẩn độ (CĐ), PL-95
Các dung dịch đệm, PL-101
Các dung dịch mẫu, PL-109
Các ethanol loãng, 400
Các kỹ thuật ELISA (phương pháp miễn dịch gắn men, phương pháp ELISA), PL-401
Các kỹ thuật sắc ký, PL-138
Các macrogol, 595
Các phản ứng định tính, PL-186
Các phép thử của tinh dầu, PL-275
Các phụ gia cho chất dẻo, PL- 438
Các phụ lục, PL-1
Các phương pháp tiệt khuẩn, PL-414
Các thuốc thử chung, PL-38
Cafein, 166
Cải củ (hạt), 1094
Calci carbonat, 168
Calci clorid dihydrat, 170
Calci gluconat, 171

Calci gluconat để pha thuốc tiêm, 173
Calci glycerophosphat, 175
Calci hydroxyd, 176
Calci lactat pentahydrat, 177
Calci lactat trihydrat, 178
Calci pantothenat, 179
Calci phosphat, 180
Calci sulfat khô, 160
Calciferol, 378
Calcitriol, 181
Cam cúc, 1130
Cam thảo (rễ và thân rễ), 1095
Cam thảo đất, 1096
Cam thảo nam, 1096
Camphor racemic, 182
Camphor thiên nhiên, 183
Can khương, 1179
Cánh kiến trắng, 1099
Cao Ban long, 1234
Cao bổ phổi, 1407
Cao đặc actisô, 1387
Cao đặc diệp hạ châu đắng, 1387
Cao đặc đinh lăng, 1388
Cao đặc ích mẫu, 1390
Cao gạc Hươu, 1234
Cao hy thiêm, 1410
Cao ích mẫu, 1410
Cao khô chè dây, 1390
Cao khô huyết giác, 1392
Cao khô lá bạch quả, 1393
Cao lỏng hoắc hương chỉnh khí, 1409
Cao lỏng tứ nghịch, 1411
Cao tang cúc âm, 1412
Cao thuốc, PL-9
Captopril, 185, P-18
Carbamazepin, 188, P-18
Carbidopa, 190
Carbomer, 191
Carmelose calci, 192
Carmelose natri, 193
Cát căn, 1310
Cát cánh (rễ), 1100
Cát sâm (rễ), 1102
Cau (hạt), 1097
Cau (vỏ quả), 1099
Cắn khô của các chất chiết được trong dược liệu, PL-280
Cân và xác định khối lượng, PL-115
Cần tây (quả), 1102
Cần tây (toàn cây), 1103
Câu đằng, 1104
Câu kỷ tử, 1105
Cẩu tích (thân rễ), 1106
Cây loét mồm, 1131
Cefaclor, 194
Cefadroxil monohydrat, 198
Cefalotin natri, 202
Cefamandol nafat, 203
Cefazolin natri, 205
Cefdinir, 209
Cefepim hydroclorid monohydrat, 213
Cefixim, 215
Cefoperazon natri, 220
Cefotaxim natri, 223, P-19
Cefpodoxim proxetil, 225
Cefradin, 229, P-19
Ceftazidim pentahydrat, 232
Ceftriaxon natri, 236, P-20
Cefuroxim axetil, 238, P-20
Cefuroxim natri, 241, P-21
Celecoxib, 243
Celulose acetat, 244
Celulose vi tinh thể, 245
Cephalexin, 250, P-21
Cetirizin dihydroclorid, 254, P-22
Cetostearyl alcol, 256
Cetyl alcol, 257
Chè dây (lá), 1107
Chè đắng (lá), 1108
Chè đồng, 1356
Chè thuốc, PL-33
Chè vằng (lá), 1109
Chi tử, 1132
Chỉ thị sinh học dùng cho tiệt khuẩn, PL-416
Chỉ thực, 1110
Chỉ xác, 1111
Chiêu liêu (vỏ thân), 1112
Chiêu liêu, 1212
Chiêu liêu nghệ, 1112
Chó đẻ răng cưa, 1142
Chó đẻ răng cưa thân xanh, 1143
Chóc chuột, 1126
Chymotrypsin, 258
Cilastatin natri, 260
Cimetidin, 262, P-22
Cinarizin, 265
Cineol, 267
Ciprofloxacin hydroclorid, 268
Clarithromycin, 271, P-23
Clavulanat kali, 274
Clindamycin hydroclorid, 276, P-23
Clofazimin, 278, P-24
Clopidogel bisulfat, 280
Clopidogrel hydrosulfat, 280
Cloral hydrat, 282
Cloramphenicol, 283
Cloramphenicol natri succinat, 291
Cloramphenicol palmitat, 290
Cloroform, 295, P-25
Cloroquin diphosphat, 296
Cloroquin phosphat, 296, P-25

Clorpheniramin maleat, 298
Clorpromazin hydroclorid, 300, P-26
Clotrimazol, 304
Cloxacilin natri, 306
Co kin lang, 1263
Cỏ bấc đèn, 1159
Cỏ cứt lợn, 1113
Cỏ dùi trống, 1121
Cỏ đĩ, 1206
Cỏ hôi, 1113
Cỏ lá tre, 1151
Cỏ mần trầu, 1115
Cỏ mực, 1117
Cỏ ngọt (lá), 1116
Cỏ nhọ nồi, 1117
Cỏ the, 1120
Cỏ tranh (thân rễ), 1118
Cỏ xước (rễ), 1119
Cóc mần, 1120
Cocain hydroclorid, 309, P-26
Codein, 310, P-27
Codein monohydrat, 310
Codein phosphat, 311
Colchicin, 313
Colecalciferol, 316
Cortison acetat, 317
Cốc tinh thảo, 1121
Cối xay, 1122
Côn bố, 1122
Cồn thuốc, PL-10
Cốt khí (rễ), 1123
Cốt toái bổ (thân rễ), 1124
Cỡ bột và rây, PL-119
Cơm cháy (hoa), 1125
Cơm cháy (lá), 1125
Củ cây cơm nếp, 1192
Củ chóc (thân rễ), 1126
Củ gấu, 1204
Củ gấu biển, 1204
Củ gấu vườn, 1204
Củ mài (củ), 1127
Củ súng, 1128
Cúc gai (quả), 1129
Cúc hoa vàng (cụm hoa), 1130
Culi, 1106
Cương tàm, 1326
Cyanocobalamin, 320
Cyproheptadin hydroclorid, 322, P-27

D

Dã cam thảo, 1096
Dạ cẩm, 1131
Dạ giao đằng, 1180
Danh mục các chuyên luận, xxiii
Danh mục chuyên luận mới so với DĐVN IV, xxxvii
Dapson, 324, P-28
Danh mục các chuyên luận của DĐVN IV không đưa vào DĐVN V, xli
Dành dành (quả), 1132
Dâm dương hoắc, 1134
Dâu (cành), 1135
Dâu (lá), 1136
Dâu (quả), 1137
Dâu (vỏ rễ), 1137
Dầu bẻo, PL-275
Dầu gấc, 1395
Dầu mù u, 1397
Dầu parafin, 325
Dây đau xương (thân), 1138
Dây ruột gà, 1064
Dây thìa canh, 1139
Dây vằng, 1109
Dexamethason, 326, P-28
Dexamethason acetat, 329
Dexamethason natri phosphat, 331
Dexclorpheniramin maleat, 334
Dexpanthenol, 337
Dextromethorphan hydrobromid, 338
Dextrose, 459
Dextrose ngậm một phân tử nước, 460
Diazepam, 340
Dịch phân tán 30 % của acid methacrylic và ethyl acrylat đồng trùng hợp (1 : 1), 37
Dịch truyền Ringer - Lactat, 359
Diclofenac diethylamin, 343, P-29
Diclofenac natri, 344, P-29
Dicloxacilin natri, 347
Diethyl phtalat, 349
Diêm mai, 1255
Diên hồ sách (rễ củ), 1140
Diếp cá, 1141
Diệp hạ châu, 1142
Diệp hạ châu đắng, 1143
Diltiazem hydroclorid, 350
Dimenhydrinat, 352, P-30
Dimercaprol, 355
Diphenhydramin hydroclorid, 356, P-30
Domperidon maleat, 360
Doxycyclin hyclat, 363
Doxycyclin hydroclorid, 363
Dụng cụ đo thể tích, PL-117
Dụng cụ tiêm truyền đã tiệt khuẩn (bộ dây truyền dịch), PL-427
Dung dịch acid boric 3 %, 28
Dung dịch clorhexidin gluconat, 293, P-24
Dung dịch đậm đặc pha tiêm kali clorid, 530
Dung dịch formaldehyd, 425

Dung dịch glyceryl trinitrat, 468
Dung dịch iod 1 %, 514
Dung dịch lugol, 514
Dung dịch methadon hydroclorid đậm đặc, 625
Dung dịch povidon iod, 784
Dung dịch rửa vết thương, PL-33
Dung dịch thuốc, PL-11
Dung dịch thuốc diphenhydramin, 357
Dung dịch uống lamivudin, 548
Dung dịch uống zidovudin, 984
Dư lượng hóa chất bảo vệ thực vật, PL-280
Dừa cạn (lá), 1144
Dừa cạn (rễ), 1145

Đ

Đại (hoa), 1146
Đại hoàng (thân rễ), 1147
Đại hoàng tinh, 1192
Đại hồi (quả), 1149
Đại phù bình, 1150
Đại phúc bì, 1099
Đại phúc mao, 1099
Đại táo (quả), 1151
Đại thạch cao, 1329
Đạm trúc diệp, 1151
Đan sâm (rễ và thân rễ), 1152
Đảng sâm (rễ), 1154
Đảng sâm bắc, 1154
Đảng sâm Việt Nam (rễ), 1156
Đảng sâm Việt Nam chế, 1157
Đăng tâm thảo, 1159
Đào (hạt), 1157
Đào nhân, 1157
Đậu đen (hạt), 1160
Đậu miêu, 1088
Đậu ván trắng (hạt), 1161
Đậu xanh (hạt), 1161
Địa cốt bì, 1162
Địa du (rễ), 1163
Địa hoàng (rễ), 1164
Địa liền (thân rễ), 1165
Địa long, 1166
Đinh hương (nụ hoa), 1167
Đinh lăng (rễ), 1168
Định lượng acid 2-ethylhexanoic, PL-237
Định lượng acid omega-3 trong dầu cá, PL-241
Định lượng aldehyd trong tinh dầu, PL-272
Định lượng các kháng sinh họ penicilin bằng phương pháp đo iod, PL-209
Định lượng các steroid bằng tetrazolium, PL-210
Định lượng cineol trong tinh dầu, PL-273
Định lượng *N,N*-dimethylanilin, PL-236
Định lượng hoạt tính vitamin B_{12} bằng phương pháp vi sinh vật, PL-355
Định lượng nitrogen trong hợp chất hữu cơ, PL-210
Định lượng nước, PL-205
Định lượng taninoid trong dược liệu, PL-273
Định lượng tinh dầu trong dược liệu, PL-274
Định lượng vitamin A, PL-211
Định lượng vitamin D, PL-244
Định tính các penicilin, PL-190
Định tính dược liệu và các chế phẩm bằng kính hiển vi, PL-283
Đỏ ngọn, 1263
Đồ đựng bằng chất dẻo dùng cho chế phẩm nhỏ mắt, PL-426
Đồ đựng bằng chất dẻo dùng cho chế phẩm thuốc tiêm, PL-422
Đồ đựng bằng chất dẻo dùng cho những chế phẩm không phải thuốc tiêm, PL-421
Đồ đựng bằng kim loại cho thuốc mỡ tra mắt, PL-420
Đồ đựng bằng thủy tinh dùng cho chế phẩm dược, PL-418
Đồ đựng cấp 1 dùng cho các chế phẩm dược, PL-418
Đồ đựng máu và các chế phẩm máu, PL-434
Đồ đựng và nút bằng chất dẻo, PL-421
Đỗ trọng (vỏ thân), 1169
Độc hoạt (rễ), 1171
Độc hoạt ký sinh thang, 1413
Đơn buốt, 1172
Đơn kim, 1172
Đơn lá đỏ (lá), 1173
Đơn mặt trời, 1173
Đơn tía, 1173
Đồng sulfat, 366
Đồng sulfat khan, 366
Đồng tiền lông, 1222
Đốt trong oxygen, PL-238
Đùm đũm, 1245
Đương quy (rễ), 1173
Đương quy di thực (rễ), 1175
Đường trắng, 367

E

É tía, 1202
É trắng,1204
Efavirenz, 369
Emetin hydroclorid, 372
Enalapril maleat, 373
Ephedrin hydroclorid, 375, P-31
Epinephrin, 47
Ergocalciferol, 378
Erythromycin, 380, P-31
Erythromycin ethyl succinat, 383, P-32
Erythromycin stearat, 385, P-32
Erythrosin, 388
Esomeprazol magnesi trihydrat, 390

Ethambutol hydroclorid, 396, P-33
Ethanol, 399
Ethanol 96 %, 400
Ether mê, 401
Ether thường, 402
Ethinylestradiol, 403
Ethylcelulose, 405
Eucalyptol, 267
Eugenol, 406

F

Famotidin, 408
Felodipin, 410
Fenofibrat, 412
Fexofenadin hydroclorid, 414, P-33
Flucloxacilin natri, 417, P-34
Fluconazol, 419
Fluocinolon acetonid, 421
Fluocinolon acetonid dihydrat, 422, P-34
Formalin, 425
Furosemid, 425

G

Gabapentin, 428
Gạc hươu, 1234
Gai (rễ), 1176
Gai chống, 1075
Gai sầu, 1075
Gấc (áo hạt), 1176
Gấc (hạt), 1177
Gelatin, 432
Gentamicin sulfat, 435
Giảo cổ lam, 1178
Giảng xay, 1122
Giần sàng, 1375
Giới hạn cho phép về thể tích của các thuốc dạng lỏng, PL-248
Giun đất, 1166
Glibenclamid, 438
Gliclazid, 443, P-35
Glimepirid, 445, P-35
Glipizid, 449, P-36
Globulin miễn dịch người, 989
Glucosamin hydroclorid, 454
Glucosamin sulfat kali clorid, 455
Glucosamin sulfat natri clorid, 456
Glucose khan, 459
Glucose ngậm một phân tử nước, 460
Glutathion, 462
Glycerin, 464, P-36, P-37
Glycerol, 464
Glycerol monostearat 40 - 55, 466
Gỗ vang, 1354
Griseofulvin, 470, P-37
Guaifenesin, 473
Gừng (thân rễ), 1179

H

Hà thủ ô đỏ (rễ), 1180
Hà thủ ô trắng (rễ), 1181
Hạ khô thảo (cụm quả), 1182
Hải mã, 1093
Hài sài, 1237
Haloperidol, 474, P-38
Halothan, 476, P-38
Hành lào, 1312
Hạnh đắng,
Hạnh nhân đắng, 1214
Hạt cải trắng, 1074
Hắc sửu, 1082
Hậu phác (vỏ), 1183
Heptaminol hydroclorid, 477
Histidin, 479
Histidin hydroclorid monohydrat, 480
Hoa ngũ sắc, 1113
Hoa sứ trắng, 1146
Hoa tiêu, 1382
Hóa chất và thuốc thử, PL-38
Hoài sơn, 1127
Hoàn an thai, 1413
Hoàn bát trân, 1414
Hoàn bát vị, 1415
Hoàn bổ trung ích khí, 1416
Hoàn lục vị, 1417
Hoàn minh mục địa hoàng, 1418
Hoàn ngân kiều giải độc, 1419
Hoàn nhị trần, 1420
Hoàn ninh khôn, 1421
Hoàn phì nhi, 1422
Hoàn quy tỳ, 1423
Hoàn sâm nhung bổ thận, 1424
Hoàn thập toàn đại bổ, 1425
Hoàn thiên vương bổ tâm, 1426
Hoàn tiêu dao, 1427
Hoàng bá (vỏ thân), 1184
Hoàng cầm (rễ), 1185
Hoàng cầm râu, 1079
Hoàng đằng (thân và rễ), 1186
Hoàng kỳ (rễ), 1188
Hoàng liên (thân rễ), 1190
Hoàng nàn (vỏ thân, vỏ cành), 1191
Hoàng tinh (thân rễ), 1192
Hoàng tinh dạng gừng, 1192
Hoàng tinh đầu gà, 1192

Hoạt thạch, 1193
Hoắc hương, 1194
Hòe (nụ hoa), 1195
Hồ tiêu (quả), 1196
Hội đồng Dược điển Việt Nam V, xvii
Hỗn dịch thuốc, PL-12
Hồng hoa (hoa), 1197
Húng chanh (lá), 1199
Hương gia bì (vỏ rễ), 1202
Hương nhu tía, 1202
Hương nhu trắng, 1204
Hương phụ (thân rễ), 1204
Hướng dẫn thiết lập dấu vân tay hóa học của dược liệu bằng phương pháp sắc ký lỏng hoặc sắc ký khí, PL-290
Hướng dẫn xử trí các vấn đề thường gặp trong thử nghiệm ELISA, PL-406
Huyền hồ sách, 1140
Huyền sâm (rễ), 1199
Huyết đằng, 1211
Huyết giác (lõi gỗ), 1201
Huyết thanh kháng bạch hầu, 991
Huyết thanh kháng dại, 991
Huyết thanh kháng nọc rắn, 992
Huyết thanh kháng uốn ván, 993
Huyết thanh miễn dịch dùng cho người, 989
Huyết thanh miễn dịch viêm gan B, 993
Hy thiêm, 1206
Hydroclorothiazid, 481, P-39
Hydrocortison acetat, 484, P-39
Hydroxocobalamin acetat, 488
Hydroxocobalamin clorid, 489
Hydroxocobalamin sulfat, 490
Hydroxyethylcelulose, 492
Hydroxyethylmethylcelulose, 494
Hydroxypropylcelulose, 495
Hyoscin butylbromid, 496, P-40

I

Ibuprofen, 498, P-40
Ích mẫu, 1207
Ích trí (quả), 1209
Imipenem, 501
Imipramin hydroclorid, 503
Indapamid, 505
Indinavir sulfat, 508, P-41
Indomethacin, 511, P-41
Interferon alpha 2, 994
Iod, 514
Irbesartan, 515, P-42
Isoleucin, 517
Isoniazid, 518, P-42
Isosorbid dinitrat hỗn hợp, 520, P-43
Isosorbid mononitrat hỗn hợp, 522
Itraconazol, 525

K

Kali bromid, 528
Kali clorid, 529
Kali iodid, 531
Kali permanganat, 532
Kanamycin monosulfat, 532
Kanamycin sulfat, 532
Kaolin nặng, 534
Kaolin nhẹ, 535
Kaolin nhẹ thiên nhiên, 536
Ké đầu ngựa (quả), 1210
Kem aciclovir, 16
Kem cloramphenicol và dexamethason natri phosphat, 287
Kem clotrimazol, 305
Kem fluocinolon, 423
Kem ketoconazol, 538
Kem promethazin hydroclorid, 800
Kem triamcinolon acetonid, 956
Kem ketoconazol và neomycin, 540
Kẽm oxyd, 543
Kẽm sulfat, 545
Ketoconazol, 537
Ketoprofen, 541, P-43
Kê huyết đằng (thân), 1211
Kê nội kim, 1212
Kha tử (quả), 1212
Khiếm thực (hạt), 1213
Khiếm thực nam, 1128
Khiên ngưu tử, 1082
Khoản đông hoa, 1213
Khổ hạnh nhân, 1214
Khổ qua, 1257
Khổ sâm (lá và cành), 1215
Khôi (lá), 1217
Khúc khắc, 1344
Khương hoàng, 1264
Khương hoạt (thân rễ và rễ), 1218
Kiểm tra độc tính đặc hiệu (an toàn đặc hiệu) trong vắc xin BCG đông khô, PL-371
Kiểm tra *Mycoplasma* trong vắc xin/sinh phẩm (phương pháp nuôi cấy hoặc dùng chỉ thị tế bào), PL-411
Kiểm tra vô trùng vắc xin/sinh phẩm, PL-368
Kim anh (quả), 1219
Kim cúc, 1130
Kim ngân (cuộng), 1220
Kim ngân (hoa), 1221
Kim tiền thảo, 1222
Kinh giới, 1223
Ký hiệu các chữ viết tắt, xlvii

L

La bặc tử, 1094
Lá hen, 1224
Lá lốt, 1225
Lá móng (lá), 1226
Lạc tiên, 1226
Lactose, 545
Lai phục tử, 1094
Lamivudin, 547, P-44
Lanolin khan, 552
Lansoprazol, 557
Lấy mẫu dược liệu, PL-271
Lẹo trắng,1250
Levamisol hydroclorid, 559
Levodopa, 561, P-44
Levofloxacin, 564
Levomepromazin maleat, 566
Levonorgestrel, 568
Levothyroxin natri, 571
Lịch sử Dược điển nước Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam, xiii
Lidocain hydroclorid, 573, P-45
Liên diệp, 1316
Liên kiều (quả), 1228
Liên nhục, 1315
Liên tâm, 1314
Lincomycin hydroclorid, 575, P-45
Linh chi, 1229
Long đởm (rễ và thân rễ), 1230
Long não racemic, 182
Long não thiên nhiên, 183
Long nha thảo, 1231
Long nhãn, 1232
Loperamid hydroclorid, 578
Lopinavir, 581
Loratadin, 583, P-46
Losartan kali, 586, P-46
Lovastatin, 589
Lô hội (nhựa), 1233
Lỗ khí và chỉ số lỗ khí, PL-291
Lộc giác, 1234
Lộc giác giao, 1234
Lộc giác sương, 1235
Lộc nhung, 1236
Lời nói đầu, xi
L-Tetrahydropalmatin, 842
Lức (lá), 1236
Lức (rễ), 1237
Lumefantrin, 592
Luminal, 749
Lương khương, 1165
Lysin acetat, 594

M

Ma bàn thảo, 1122
Ma hoàng, 1237
Mã đề (hạt), 1239
Mã đề (lá), 1239
Mã tiền (hạt), 1240
Mạch môn (rễ), 1241
Mạch nha, 1242
Magnesi carbonat nặng, 597
Magnesi carbonat nhẹ, 598
Magnesi clorid, 598
Magnesi clorid hexahydrat, 598
Magnesi hydroxyd, 599
Magnesi lactat dihydrat, 601
Magnesi oxyd nặng, 603
Magnesi oxyd nhẹ, 604
Magnesi stearat, 604
Magnesi sulfat, 606
Magnesi trisilicat, 606
Mai ba ba, 1249
Mai mực, 1243
Mai rùa và yếm rùa, 1297
Mạn kinh tử, 1244
Mangiferin, 608
Màng mề gà, 1212
Manitol, 608
Mâm xôi (quả), 1245
Mắt trâu, 1222
Mần trắng, 1250
Măng cụt (vỏ quả), 1245
Mất khối lượng do làm khô của các chất chiết được trong dược liệu, PL-280
Mật nhân, 1067
Mật ong, 1246
Mẫu đơn bì (vỏ rễ), 1248
Mẫu lệ, 1248
Mè đen, 1374
Mebendazol, 610
Mefloquin hydroclorid, 612
Meloxicam, 615, P-47
Menthol racemic, 617
Menthol tá tuyền, 619
Meprobamat, 620
Mercurocrom, 621
Metformin hydroclorid, 622, P-47
Methadon hydroclorid, 624, P-48
DL-Methionin, 626
Methyl parahydroxybenzoat, 627
Methyl salicylat, 629
Methylcelulose, 629
Methyldopa, 631, P-49
Methylparaben, 627
Methylprednisolon, 633, P-48
Methylprednisolon acetat, 636, P-49

Metoclopramid, 639
Metoclopramid hydroclorid, 640
Metronidazol, 643, P-50
Miconazol, 647
Miên tỳ giải, 1366
Miết giáp, 1249
Mò đỏ, 1376
Mò hoa trắng, 1250
Mò mâm xôi, 1250
Mỏ quạ (lá), 1250
Morphin hydroclorid, 649, P-50
Mộc hoa trắng, 1251
Mộc hương (rễ), 1252
Mộc miết tử, 1177
Mộc qua (quả), 1253
Mộc tặc, 1254
Môi trường dùng để phát hiện vi khuẩn hiếu khí, kỵ khí và nấm, PL-370
Một dược (gôm nhựa), 1255
Một số phương pháp miễn dịch sử dụng trong kiểm định vắc xin, PL-399
Mơ muối, 1255
Mục lục tra cứu theo tên Latin, ML-19
Mục lục tra cứu theo tên Việt Nam, ML-1
Muồng trâu (lá), 1256
Mực hoa trắng, 1251
Mướp đắng (quả), 1257

N

Naloxon hydroclorid, 651
Naloxon hydroclorid dihydrat, 651
Nam tỳ bà, 1224
Nang acetylcystein, 13
Nang acid tranexamic, 45
Nang alverin, 59
Nang ambroxol hydroclorid, 62
Nang amoxicilin, 85
Nang amoxicilin và cloxacilin, 88
Nang ampicilin, 99
Nang arginin, 104
Nang artemether, 106
Nang azithromycin, 128
Nang cefaclor, 197
Nang cefadroxil, 200
Nang cefdinir, 212
Nang cefixim, 217
Nang cefpodoxim, 227
Nang cefradin, 231
Nang cephalexin, 252
Nang clarithromycin, 272
Nang clindamycin, 277
Nang clofazimin, 279
Nang cloramphenicol, 284
Nang cloxacilin, 308
Nang doxycyclin, 365
Nang efavirenz, 371
Nang erythromycin stearat, 387
Nang fenofibrat, 413
Nang flucloxacilin, 418
Nang fluconazol, 420
Nang gabapentin, 429
Nang indinavir, 510
Nang indomethacin, 512
Nang itraconazol, 527
Nang ketoprofen, 542
Nang lincomycin, 576
Nang loperamid, 579
Nang mềm calcitriol, 182
Nang mềm progesteron, 797
Nang mềm vitamin A, 830
Nang mềm vitamin A và D, 830
Nang mềm vitamin E, 950
Nang ofloxacin, 698
Nang oseltamivir, 708
Nang oxytetracyclin, 719
Nang paracetamol, 728
Nang piracetam, 770
Nang piroxicam, 773
Nang rifampicin, 836
Nang rifampicin và isoniazid, 838
Nang sulpirid, 896
Nang tan trong ruột esomeprazol, 392
Nang tan trong ruột lansoprazol, 558
Nang tan trong ruột omeprazol, 702
Nang tetracyclin hydroclorid, 916
Náng hoa trắng (lá), 1258
Naphazolin nitrat, 653
Natri benzoat, 654
Natri bicarbonat, 662
Natri bromid, 655
Natri calci edetat, 656
Natri camphosulfonat, 657
Natri citrat, 658
Natri clorid, 659
Natri hydrocarbonat, 662
Natri hyposulfit, 667
Natri salicylat, 663
Natri sulfacetamid, 664
Natri sulfat, 665
Natri sulfat khan, 666
Natri sulfat ngậm mười phân tử nước, 665
Natri thiosulfat, 667
Nấm lim, 1229
Nấm trường thọ, 1229
Nần nghệ (thân rễ), 1259
Neomycin sulfat, 668
Nevirapin khan, 670
Nga truật (thân rễ), 1261
Ngải cứu, 1262

Ngải tím, 1261
Ngành ngạnh (lá), 1263
Nghệ (thân rễ), 1264
Nghệ đen, 1261
Ngọc mễ tu, 1301
Ngọc trúc (thân rễ), 1265
Ngoi (lá), 1266
Ngô công, 1267
Ngô thù du (quả), 1268
Ngũ bội tử, 1269
Ngũ gia bì chân chim (vỏ thân, vỏ cành), 1270
Ngũ gia bì gai (vỏ rễ, vỏ thân), 1271
Ngũ gia bì hương (vỏ rễ, vỏ thân), 1272
Ngũ vị tử, 1273
Nguyên hồ, 1140
Nguyên liệu để sản xuất đồ đựng máu và các chế phẩm máu, PL-441
Nguyên liệu làm đồ đựng, PL-438
Ngư tinh thảo, 1141
Ngưu bàng (quả), 1274
Ngưu bàng tử, 1274
Ngưu tất (rễ), 1275
Nha đảm tử, 1276
Nha loát thảo, 1079
Nhàu (quả), 1277
Nhàu (rễ), 1278
Nhân sâm (thân rễ và rễ), 1279
Nhân sâm Phú Yên, 1310
Nhân trần, 1280
Nhân trần tía, 1282
Nhiệt kế, PL-117
Nhót Nhật Bản, 1365
Nhót tây, 1365
Nhôm hydroxyd khô, 672
Nhôm phosphat khô, 672
Nhũ hương (gôm nhựa), 1282
Nhũ tương thuốc, PL-12
Nhục đậu khấu (hạt), 1283
Nhục thung dung (thân), 1284
Nhung hươu, 1236
Những quy định chung về kiểm tra chất lượng dược liệu, PL-271
Niclosamid khan, 673, P-51
Niclosamid monohydrat, 675
Nicotinamid, 677, P-51
Nifedipin, 678, P-52
Nifuroxazid, 681
Nikethamid, 682, P-52
Nipagin M, 627
Nipasol M, 804
Nitrazepam, 683
Nitrofurantoin, 684
Nivaquin phosphat, 296
Norfloxacin, 686
Núc nác (vỏ thân), 1285
Nút cao su dùng cho chai đựng thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền, PL-429
Nước cất, 688
Nước để pha thuốc tiêm, 688
Nước oxy già đậm đặc, 692
Nước oxy già loãng 3 %, 693
Nước oxy già loãng 10 %, 693
Nước tinh khiết, 690
Nước vô khuẩn để tiêm, 691
Nystatin, 694

O

Omeprazol, 701
Oresol, 704
Oseltamivir phosphat, 706
Ouabain, 709
Oxacilin natri monohydrat, 710
Oxygen, 712
Oxymetazolin hydroclorid, 714
Oxytetracyclin dihydrat, 716
Oxytetracyclin hydroclorid, 717

Ô

Ofloxacin, 697
Ô dược (rễ), 1287
Ô đầu (rễ củ), 1286
Ô tặc cốt, 1243
Ổi (lá), 1288
Ống nghiệm dùng trong các phép thử so sánh, PL-193

P

Pantoprazol natri, 721
Pantoprazol natri sesquihydrat, 721
Papaverin hydroclorid, 724, P-53
Paracetamol, 726, P-53
Pefloxacin mesilat, 737
Penicilamin, 740
Pepsin, 742
Perindopril Erbumin, 744
Perindopril *tert*-butylamin, 744
Pethidin hydroclorid, 747, P-54
Phá cố chỉ, 1088
Phản ứng màu của các penicilin và cephalosporin, PL-192
Phát hiện *Mycoplasma* bằng phương pháp nuôi cấy, PL-394
Phân tích nhiệt, PL-174
Phân tích thống kê kết quả định lượng sinh học, PL-328
Phấn phòng kỷ, 1289
Phenobarbital, 748, P-54
Phenol, 750
Phenoxymethylpenicilin, 751

Phenoxymethylpenicilin kali, 753
Phenylpropanolamin hydroclorid, 755
Phenytoin, 756, P-55
Phép thử các chất hạ áp, PL-298
Phép thử chất gây sốt, PL-298
Phép thử độ đồng đều đơn vị liều, PL-265
Phép thử độ đồng đều hàm lượng, PL-249
Phép thử độ đồng đều khối lượng, PL-249
Phép thử độ giải phóng dược chất của thuốc dán thấm qua da, PL-268
Phép thử độ hòa tan của dạng thuốc rắn phân liều, PL-250
Phép thử độ rã của thuốc đạn và thuốc trứng, PL-259
Phép thử độ rã của viên bao tan trong ruột, PL-263
Phép thử độ rã của viên nén và nang, PL-260
Phép thử histamin, PL-293
Phép thử nội độc tố vi khuẩn, PL-293
Phép thử xác định chiết kiệt alcaloid, PL-272
Phễu lọc thủy tinh xốp, PL-118
Phòng đảng sâm, 1156
Phòng kỷ (rễ), 1289
Phòng kỷ bắc, 1289
Phòng phong (rễ), 1289
Phổ hồng ngoại, P-1
Phổ huỳnh quang tia X, PL-130
Phổ khối, PL-125
Phổ khối - plasma cảm ứng (ICP-MS), PL-128
Phổ Raman, PL-131
Phthalylsulfathiazol, 758
Phù bình, 1082
Phụ tử, 1291
Phục linh, 1292
Phương pháp chế biến đông dược, PL-285
Phương pháp chuẩn độ bằng nitrit, PL-208
Phương pháp chuẩn độ complexon, PL-208
Phương pháp chuẩn độ đo ampe, PL-205
Phương pháp chuẩn độ đo điện thế, PL-205
Phương pháp chuẩn độ trong môi trường khan, PL-209
Phương pháp điện di, PL-154
Phương pháp điện di mao quản, PL-157
Phương pháp lấy mẫu và lưu mẫu, PL-373
Phương pháp phân tích acid amin, PL-214
Phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến, PL-120
Phương pháp quang phổ hồng ngoại, PL-122
Phương pháp quang phổ huỳnh quang, PL-123
Phương pháp quang phổ nguyên tử phát xạ và hấp thụ, PL-124
Phương pháp sắc ký giấy, PL-144
Phương pháp sắc ký khí, PL-145
Phương pháp sắc ký lỏng, PL-147
Phương pháp sắc ký lớp mỏng, PL-149
Phương pháp sắc ký rây phân tử, PL-151
Phytomenadion, 760
Pilocarpin nitrat, 762, P-55
Piperacilin natri, 764
Piperazin adipat, 765
Piperazin citrat, 766
Piperazin hydrat, 767
Piperazin phosphat, 768
Piracetam, 769
Piroxicam, 771
Poly (ethylen-vinyl acetat) dùng sản xuất đồ đựng và dây truyền dịch dinh dưỡng, PL-453
Polyethylen, PL-446
Polyethylen terephthalat để sản xuất đồ đựng chế phẩm không phải là thuốc tiêm, PL-451
Polymyxin B sulfat, 775
Polyolefin, PL-456
Polyoxyethylen, 777
Polypropylen dùng làm đồ đựng và nút cho thuốc tiêm truyền và thuốc nhỏ mắt, PL-460
Polysorbat 20, 777
Polysorbat 60, 778
Polysorbat 80, 779
Povidon, 780
Povidon iod, 784
Praziquantel, 785
Prednisolon, 787, P-56
Prednison, 789
Primaquin diphosphat, 791
Procain hydroclorid, 793
Procainamid hydroclorid, 795, P-56
Progesteron, 796, P-57
Promethazin hydroclorid, 798, P-57
Propranolol hydroclorid, 802, P-58
Propyl parahydroxybenzoat, 804
Propylen glycol, 806, P-58
Propylparaben, 804
Propylthiouracil, 806, P-59
Pyrantel embonat, 808
Pyrantel pamoat, 808
Pyrazinamid, 810, P-59
Pyridoxin hydroclorid, 812, P-60
Pyrimethamin, 814, P-60

Q

Qua lâu (hạt), 1293
Qua lâu (quả), 1294
Qua lâu tử, 1293
Quan âm biển, 1244
Quế (cành), 1295
Quế (vỏ thân, vỏ cành), 1296
Quế chi, 1295
Qui định chung, xliii
Qui định đối với tạp chất là dung môi tồn dư, PL-230
Qui giáp và qui bản, 1297
Quinapril hydroclorid, 815
Quinidin bisulfat, 817
Quinin dihydroclorid, 819
Quinin hydroclorid, 820

Quinin sulfat, 822
Quy trình thử nghiệm công hiệu *(in vivo)* của vắc xin viêm gan B tái tổ hợp, PL-398
Quỳ châm thảo, 1172

R

Ramipril, 824, P-61
Ranitidin hydroclorid, 826, P-61
Rau đắng đất, 1298
Rau má, 1299
Rau sam, 1300
Râu mèo, 1301
Râu ngô, 1301
Rẻ quạt (thân rễ), 1302
Retinol (vitamin A) tổng hợp đậm đặc dạng bột, 829
Retinol (vitamin A) tổng hợp đậm đặc dạng dầu, 829
Rễ kế, 1363
Riboflavin, 831
Riboflavin natri phosphat, 833
Riềng (thân rễ), 1303
Riềng lá nhọn, 1209
Rifampicin, 834, P-62
Ritonavir, 841
Rong mơ, 1304
Rotundin, 842
Roxithromycin, 845
Rutin, 848
Rutosid, 848
Rửa dụng cụ thuỷ tinh, PL-119
Rượu thuốc, PL-31

S

Sa nhân (quả), 1305
Sa sâm (rễ), 1306
Sa sâm bắc, 1306
Sài đất, 1306
Sài hồ (rễ), 1307
Sài hồ nam, 1236
Salbutamol, 851, P-62
Salbutamol sulfat, 853, P-63
Sáp ong trắng, 1309
Sáp ong vàng, 1309
Sắt (II) sulfat, 860
Sắn dây (rễ củ), 1310
Sắt (II) sulfat khô, 861
Sắt fumarat, 856
Sắt oxyd, 858
Sâm bố chính (rễ), 1310
Sâm cau, 1312
Sâm cau (thân rễ), 1311
Sâm đại hành (thân hành), 1312
Sâm gỗ, 1102
Sâm K5, 1313
Sâm nam, 1102
Sâm Ngọc Linh, 1313
Sâm Việt Nam (thân rễ và rễ), 1313
Sầu đâu cứt chuột, 1276
Sen (cây mầm), 1314
Sen (hạt), 1315
Sen (lá), 1316
Silicon, PL-432
Simvastatin, 863, P-63
Sinh địa, 1164
Sirô alimemazin, 53
Sirô promethazin hydroclorid, 801
Sirô thuốc, PL-11
Sói rừng, 1317
Sorbitol, 865
Sơn liên ngẫu, 1102
Sơn thù (quả), 1318
Sơn thù du, 1318
Sơn tra (quả), 1319
Spartein sulfat, 868
Spectinomycin hydroclorid, 869
Spiramycin, 870
Stavudin, 872
Stearyl alcol, 875
Streptomycin sulfat, 876
Strychnin sulfat, 879
Sucralfat, 880
Sulbactam natri, 881
Sulfadiazin, 883, P-64
Sulfadimidin, 885
Sulfadoxin, 886
Sulfaguanidin, 888
Sulfamethoxazol, 889, P-64
Sulfamethoxypyridazin, 891
Sulfasalazin, 892, P-65
Sulfathiazol, 894
Sulpirid, 895, P-65
Sultamicilin, 897
Sultamicilin tosilat dihydrat, 899
Sử quân tử, 1320

T

Tai Hồng, 1337
Tam nại, 1261
Tam thất (rễ củ), 1321
Tamoxifen citrat, 901, P-66
Tang bạch bì, 1137
Tang chi, 1135
Tang diệp, 1136
Tang ký sinh, 1322
Tang thầm, 1137
Tartrazin, 902
Táo (hạt), 1323

Táo nhân, 1323
Tạo giác, 1087
Tạo giác thích, 1086
Tắc kè, 1324
Tầm vôi, 1326
Tâm sen, 1314
Tầm gửi, 1325
Tầm gửi trên cây dâu, 1322
Tần giao (rễ), 1326
Tất bát (quả), 1327
Telmisartan, 904
Tenoxicam, 906
Terbutalin sulfat, 909
Terfenadin, 910, P-66
Terpin hydrat, 912
Tetracain hydroclorid, 913
Tetracyclin hydroclorid, 915
Tế tân (rễ và thân rễ), 1328
Thạch cao, 1329
Thạch hộc (thân), 1330
Thạch xương bồ lá to, 1382
Than hoạt tính, 919
Thanh bì, 1333
Thanh cao, 1332
Thanh cao hoa vàng (lá), 1332
Thanh hao hoa vàng, 1332
Thảo quả (quả), 1335
Thảo quyết minh (hạt), 1335
Thăng ma (thân rễ), 1336
Theophylin, 920, P-67
Theophylin ethylendiamin, 66
Thị đế, 1337
Thiamin hydroclorid, 922
Thiamin nitrat, 925
Thiamphenicol, 928
Thiên đông, 1339
Thiên ma (thân rễ), 1338
Thiên môn đông (rễ), 1339
Thiên niên kiện (thân rễ), 1340
Thiên trúc hoàng, 1340
Thiền liền, 1165
Thiopental natri và natricarbonat, 929
Thiopental natri, 929, P-67
Thích tật lê, 1075
Thỏ ty tử, 1341
Thông thảo (lõi thân), 1345
Thổ cam thảo, 1096
Thổ hào sâm, 1310
Thổ hoàng liên (thân rễ), 1342
Thổ phục linh (thân rễ), 1344
Thuật ngữ dạng thuốc theo mô hình giải phóng (phóng thích) dược chất, PL-37
Thục địa, 1345
Thuốc bọt y tế, PL-30
Thuốc bột, PL-13
Thuốc bột aspartam, 116
Thuốc bột natri hydrocarbonat, 662
Thuốc bột sorbitol, 867
Thuốc bột uống bù dịch, 704
Thuốc cốm, PL-14
Thuốc dán thấm qua da và cao dán, PL-15
Thuốc đặt, PL-16
Thuốc đỏ, 621
Thuốc giọt niketharnid, 683
Thuốc hít, PL-23
Thuốc hoàn, PL-17
Thuốc khí dung, PL-23
Thuốc mềm dùng trên da và niêm mạc, PL-18
Thuốc mỡ acid boric 10 %, 28
Thuốc mỡ benzosali, 26
Thuốc mỡ hydrocortison acetat, 486
Thuốc mỡ kẽm oxyd, 544
Thuốc mỡ nystatin, 695
Thuốc mỡ tra mắt tetracyclin hydroclorid, 917
Thuốc nang, PL-19
Thuốc nhỏ mắt betamethason, 150
Thuốc nhỏ mắt ciprofloxacin, 269
Thuốc nhỏ mắt, PL-20
Thuốc nhỏ mắt cloramphenicol, 285
Thuốc nhỏ mắt cloramphenicol và dexamethason natri phosphat, 289
Thuốc nhỏ mắt gentamicin, 436
Thuốc nhỏ mắt hydrocortison và neomycin, 487
Thuốc nhỏ mắt kẽm sulfat, 545
Thuốc nhỏ mắt natri clorid 0,9 %, 660
Thuốc nhỏ mắt neomycin, 669
Thuốc nhỏ mắt ofloxacin, 699
Thuốc nhỏ mắt tobramycin, 946
Thuốc nhỏ mũi oxymetazolin, 715
Thuốc nhỏ mũi và thuốc xịt mũi dạng lỏng, PL-21
Thuốc nhỏ mũi xylometazolin, 982
Thuốc nhỏ tai cloramphenicol, 286
Thuốc nhỏ tai và thuốc xịt vào tai, PL-22
Thuốc thang, PL-32
Thuốc tiêm acid ascorbic, 24
Thuốc tiêm adrenalin, 50
Thuốc tiêm amikacin, 65
Thuốc tiêm aminophylin, 67
Thuốc tiêm atropin sulfat, 123
Thuốc tiêm cafein và natri benzoat, 168
Thuốc tiêm calci clorid 10 %, 171
Thuốc tiêm calci gluconat, 174
Thuốc tiêm clorpromazin hydroclorid, 302
Thuốc tiêm cyanocobalamin, 321
Thuốc tiêm dexamethason, 333
Thuốc tiêm diazepam, 341
Thuốc tiêm diclofenac natri, 345
Thuốc tiêm dimercaprol, 356
Thuốc tiêm epinephrin, 50
Thuốc tiêm ephedrin hydroclorid, 377

Thuốc tiêm gentamicin, 437
Thuốc tiêm glucose, 461
Thuốc tiêm hydrocortison acetat, 487
Thuốc tiêm hydroxocobalamin, 491
Thuốc tiêm kanamycin, 534
Thuốc tiêm lidocain, 574
Thuốc tiêm lincomycin, 577
Thuốc tiêm methylprednisolon acetat, 638
Thuốc tiêm metoclopramid, 641
Thuốc tiêm morphin hydroclorid, 650
Thuốc tiêm natri clorid, 661
Thuốc tiêm natri hydrocarbonat, 663
Thuốc tiêm piracetam, 771
Thuốc tiêm procain hydroclorid, 794
Thuốc tiêm progesteron, 798
Thuốc tiêm pyridoxin hydroclorid, 813
Thuốc tiêm quinin dihydroclorid, 820
Thuốc tiêm spartein sulfat, 868
Thuốc tiêm thiamin hydroclorid, 924
Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền, PL-26
Thuốc tiêm tobramycin, 947
Thuốc tiêm truyền glucose, 462
Thuốc tiêm truyền metronidazol, 644
Thuốc tiêm truyền natri clorid đẳng trương, 661
Thuốc tiêm truyền paracetamol, 729
Thuốc tiêm vitamin B_1, 924
Thuốc tiêm vitamin B_6, 813
Thuốc tiêm vitamin C, 24
Thuốc viên nén, PL-28
Thuyền thoái, 1346
Thủy xương bồ, 1382
Thử độc tính bất thường, PL-299
Thử giới hạn nhiễm khuẩn, PL-300
Thử nghiệm nhận dạng huyết thanh miễn dịch, PL-371
Thử nghiệm nhận dạng thành phần bạch hầu - uốn ván - ho gà trong vắc xin DTwP hấp phụ, PL-378
Thử vô khuẩn, PL-311
Thừng mực lá to, 1251
Thương lục (rễ củ), 1347
Thương nhĩ tử, 1210
Thương truật (thân rễ), 1348
Tía tô (lá), 1349
Tía tô (quả), 1350
Tía tô (thân), 1351
Ticarcilin natri, 930, P-68
Tiên hạc thảo, 1231
Tiên mao, 1311
Tiền hồ (rễ), 1351
Tiêu đài, 1327
Tiêu lá tim, 1327
Tiêu lốt, 1327
Tiêu thất, 1327
Tiểu hồi (quả), 1352
Tiểu kinh giới, 1223
Timolol maleat, 932, P-68
Tinh bột biến tính natri glycolat typ A, 935
Tinh bột biến tính natri glycolat typ B, 936
Tinh bột biến tính natri glycolat typ C, 937
Tinh bột gạo, 938
Tinh bột khoai tây, 939
Tinh bột lúa mì, 939
Tinh bột ngô, 940
Tinh bột sắn, 941
Tinh bột thủy phân, 941
Tinh dầu bạc hà, 1398
Tinh dầu bạch đàn, 1399
Tinh dầu gừng, 1399
Tinh dầu hồi, 1400
Tinh dầu húng chanh, 1400
Tinh dầu hương nhu trắng, 1400
Tinh dầu long não, 1401
Tinh dầu nghệ, 1402
Tinh dầu quế, 1402
Tinh dầu Tần dày lá, 1400
Tinh dầu tràm, 1403
Tinh tuyết thảo, 1299
Tinidazol, 942
Titan dioxyd, 944
Toan táo nhân, 1323
Toàn yết, 1353
Tobramycin, 945
Tóc tiên leo, 1339
Tỏi (căn hành), 1354
Tỏi lào, 1312
Tolbutamid, 951, P-69
Tô diệp, 1349
Tô mộc, 1354
Tô ngạnh, 1351
Tô tử, 1350
Trạch tả (thân rễ), 1355
Tràm (cành và lá), 1356
Tramadol hydroclorid, 953, P-69
Trắc bá, 1357
Trắc bách diệp, 1357
Trần bì, 1358
Tri mẫu (thân rễ), 1360
Triamcinolon acetonid, 954, P-70
Tricloromethan, 295
Triglycerid mạch trung bình, 957
Trihexyphenidyl hydroclorid, 959
Trimetazidin hydroclorid, 961
Trimethoprim, 964, P-70
Trinh nữ hoàng cung (lá), 1360
Trư linh, 1362
Trư nha tạo, 1087
Trữ ma căn, 1176
Tử bình, 1082
Tử uyển (rễ và thân rễ), 1364
Tuberculin PPD, 996
Tục đoạn (rễ), 1363

Tỳ bà diệp, 1365
Tỳ giải (thân rễ), 1366

U

Uất kim, 1264
Uy linh tiên (rễ và thân rễ), 1367

V

Valproat natri, 967
Vancomycin hydroclorid, 969
Vàng đắng (thân), 1368
Vanilin, 971
Vaselin, 972
Vắc xin bạch hầu hấp phụ, 998
Vắc xin bạch hầu, uốn ván hấp phụ dùng cho người lớn và vị thành niên, 1002
Vắc xin bạch hầu, uốn ván, ho gà, viêm gan B và HIB (DT_aP - HEB - HIB), 1007
Vắc xin bạch hầu, uốn ván và ho gà hấp phụ (DTwP), 1000
Vắc xin bại liệt bất hoạt (IPV), 1014
Vắc xin bại liệt uống, 1015
Vắc xin BCG, 1016
Vắc xin cúm bất hoạt, 1017
Vắc xin dại tế bào dùng cho người, 1020
(Các) Vắc xin dùng cho người, 997
Vắc xin *Haemophilus influenzae* typ b cộng hợp, 1022
Vắc xin não mô cầu Polysaccharid cộng hợp, 1024
Vắc xin phế cầu, 1025
Vắc xin phế cầu cộng hợp hấp phụ, 1027
Vắc xin phối hợp bạch hầu, uốn ván, ho gà vô bào (DTaP) hấp phụ, 1004
Vắc xin phối hợp viêm gan A bất hoạt, hấp thụ và vắc xin viêm gan B tái tổ hợp, hấp thụ, 1056
Vắc xin phòng Papillomavirus ở người (tái tổ hợp), 1029
Vắc xin quai bị, 1034
Vắc xin rota sống giảm độc lực (uống), 1036
Vắc xin rubella, 1038
Vắc xin sởi, 1041
Vắc xin sởi, quai bị và rubella (vắc xin MMR), 1041
Vắc xin tả uống bất hoạt, 1043
Vắc xin thủy đậu, 1049
Vắc xin thương hàn uống, 1045
Vắc xin thương hàn Vi polysaccharid, 1047
Vắc xin uốn ván hấp phụ, 1013
Vắc xin viêm gan A bất hoạt, hấp thụ, 1050
Vắc xin viêm gan A bất hoạt, virosom, 1052
Vắc xin viêm gan A sống giảm độc lực, 1053
Vắc xin viêm gan B tái tổ hợp, 1054
Vắc xin viêm não Nhật Bản, 1058
Vẩy rồng, 1222
Vẩy Tê tê, 1379
Vẩy Trút, 1379
Verapamil hydroclorid, 973, P-71
Viên bao tan trong ruột aspirin, 19
Viên đặt nystatin, 696
Viên đặt paracetamol, 730
Viên nén acebutolol, 6
Viên nén acenocoumarol, 8
Viên nén acetazolamid, 10
Viên nén aciclovir, 16
Viên nén acid acetylsalicylic, 19
Viên nén acid ascorbic, 25
Viên nén acid folic, 31
Viên nén acid mefenamic, 34
Viên nén acid nalidixic, 41
Viên nén acid tranexamic, 46
Viên nén albendazol, 52
Viên nén alimemazin, 54
Viên nén alopurinol, 57
Viên nén ambroxol hydroclorid, 63
Viên nén aminophylin, 68
Viên nén amiodaron, 70
Viên nén amitriptylin, 73
Viên nén amlodipin, 75
Viên nén amodiaquin hydroclorid, 77
Viên nén amoxicilin, 86
Viên nén amoxicilin và acid clavulanic, 87
Viên nén artemether, 107
Viên nén artemether và lumefantrin, 108
Viên nén aspirin, 19
Viên nén aspirin và cafein, 21
Viên nén atenolol, 118
Viên nén atorvastatin, 121
Viên nén atropin sulfat, 124
Viên nén bao tan trong ruột acid acetylsalicylic, 19
Viên nén bao tan trong ruột bisacodyl, 156
Viên nén bao tan trong ruột diclofenac, 346
Viên nén bao tan trong ruột esomeprazol, 394
Viên nén bao tan trong ruột pantoprazol, 722
Viên nén berberin clorid, 144
Viên nén betamethason, 146
Viên nén biotin, 154
Viên nén bromhexin hydroclorid, 163
Viên nén calci và vitamin D_3, 169
Viên nén captopril, 187
Viên nén carbamazepin, 189
Viên nén cefadroxil, 201
Viên nén cefixim, 219
Viên nén cefpodoxim, 228
Viên nén cefuroxim, 240
Viên nén cephalexin, 253
Viên nén cetirizin, 255
Viên nén chymotrypsin, 259
Viên nén cimetidin, 264
Viên nén cinarizin, 266
Viên nén ciprofloxacin, 270
Viên nén clarithromycin, 273

Viên nén clopidogrel, 282
Viên nén cloramphenicol, 287
Viên nén cloroquin phosphat, 297
Viên nén clorpheniramin, 299
Viên nén clorpromazin hydroclorid, 303
Viên nén codein phosphat, 313
Viên nén colchicin, 315
Viên nén colecalciferol, 317
Viên nén cortison, 319
Viên nén cotrimoxazol, 966
Viên nén cyproheptadin hydroclorid, 323
Viên nén dapson, 324
Viên nén dexamethason, 328
Viên nén dexclorpheniramin, 336
Viên nén dexpanthenol, 338
Viên nén dextromethorphan hydrobromid, 340
Viên nén diazepam, 342
Viên nén diltiazem, 351
Viên nén dimenhydrinat, 354
Viên nén diphenhydramin, 358
Viên nén domperidon, 362
Viên nén đặt âm đạo clotrimazol, 306
Viên nén enalapril, 374
Viên nén ephedrin hydroclorid, 377
Viên nén ergocalciferol, 380
Viên nén erythromycin, 382
Viên nén erythromycin stearat, 387
Viên nén ethambutol, 397
Viên nén ethambutol và isoniazid, 398
Viên nén ethinylestradiol, 404
Viên nén famotidin, 409
Viên nén fexofenadin, 415
Viên nén furosemid, 427
Viên nén gabapentin, 430
Viên nén Gardenal, 749
Viên nén glibenclamid, 440
Viên nén glibenclamid và metformin, 441
Viên nén gliclazid, 444
Viên nén glimepirid, 446
Viên nén glimepirid và metformin, 448
Viên nén glipizid, 451
Viên nén glipizid và metformin, 452
Viên nén glucosamin, 458
Viên nén glyburid và metformin, 441
Viên nén glyceryl trinitrat, 469
Viên nén griseofulvin, 471
Viên nén haloperidol, 475
Viên nén heptaminol, 478
Viên nén hydroclorothiazid, 483
Viên nén hyoscin butylbromid, 497
Viên nén ibuprofen, 500
Viên nén imipramin, 504
Viên nén indapamid, 507
Viên nén indomethacin, 513
Viên nén irbesartan, 516
Viên nén isoniazid, 519
Viên nén isosorbid dinitrat, 522
Viên nén isosorbid mononitrat, 524
Viên nén kali clorid, 530
Viên nén ketoconazol, 539
Viên nén lamivudin, 549
Viên nén lamivudin và zidovudin, 551
Viên nén levodopa, 562
Viên nén levodopa và carbidopa, 563
Viên nén levofloxacin, 565
Viên nén levomepromazin, 567
Viên nén levonorgestrel, 570
Viên nén levothyroxin, 572
Viên nén loperamid, 580
Viên nén loratadin, 585
Viên nén losartan kali, 588
Viên nén lovastatin, 591
Viên nén magnesi - B6, 602
Viên nén magnesi - nhôm hydroxyd, 600
Viên nén mebendazol, 611
Viên nén mefloquin, 614
Viên nén meloxicam, 616
Viên nén metformin, 623
Viên nén methionin, 627
Viên nén methyldopa, 633
Viên nén methylprednisolon, 635
Viên nén metoclopramid, 642
Viên nén metronidazol, 644
Viên nén metronidazol và nystatin, 645
Viên nén metronidazol và spiramycin, 646
Viên nén natri thiosulfat, 667
Viên nén nevirapin, 671
Viên nén niclosamid, 676
Viên nén nicotinamid, 677
Viên nén nifedipin, 679
Viên nén nitrofurantoin, 685
Viên nén norfloxacin, 687
Viên nén nystatin, 696
Viên nén ofloxacin, 700
Viên nén papaverin hydroclorid, 725
Viên nén paracetamol, 731
Viên nén paracetamol và cafein, 733
Viên nén paracetamol và clorpheniramin, 734
Viên nén paracetamol và codein, 735
Viên nén paracetamol và ibuprofen, 736
Viên nén pefloxacin mesylat, 739
Viên nén penicilin V, 752
Viên nén penicilin V kali, 754
Viên nén perindopril *tert*-butylamin, 746
Viên nén phenobarbital, 749
Viên nén phenytoin, 757
Viên nén phthalylsulfathiazol, 759
Viên nén phytomenadion, 761
Viên nén piperazin phosphat, 769
Viên nén piroxicam, 774

Viên nén praziquantel, 786
Viên nén prednisolon, 788
Viên nén primaquin diphosphat, 792
Viên nén promethazin hydroclorid, 801
Viên nén propranolol, 803
Viên nén propylthiouracil, 807
Viên nén pyrantel pamoat, 809
Viên nén pyrazinamid, 811
Viên nén pyridoxin hydroclorid, 814
Viên nén quinin sulfat, 823
Viên nén ramipril, 825
Viên nén ranitidin, 828
Viên nén riboflavin, 833
Viên nén rifampicin, 837
Viên nén rifampicin, isoniazid và pyrazinamid, 839
Viên nén rotundin, 844
Viên nén roxithromycin, 847
Viên nén Rutin C, 850
Viên nén rutin, 849
Viên nén rutin và acid ascorbic, 850
Viên nén salbutamol, 855
Viên nén sắt (II) sulfat, 862
Viên nén sắt fumarat và acid folic, 857
Viên nén simvastatin, 864
Viên nén spiramycin, 872
Viên nén stavudin, 874
Viên nén sủi calci gluconat, 172
Viên nén sulfadoxin và pyrimethamin, 887
Viên nén sulfaguanidin, 889
Viên nén sulfamethoxazol, 890
Viên nén telmisartan, 905
Viên nén tenoxicam, 908
Viên nén terfenadin, 911
Viên nén tetracyclin hydroclorid, 918
Viên nén theophylin, 922
Viên nén thiamin, 926
Viên nén timolol, 934
Viên nén tinidazol, 943
Viên nén tolbutamid, 952
Viên nén trihexyphenidyl, 960
Viên nén trimeprazin, 54
Viên nén trimetazidin, 963
Viên nén valproat natri, 968
Viên nén vinpocetin, 980
Viên nén vitamin B_1, 926
Viên nén vitamin B_1, B_6 và B_{12}, 927
Viên nén vitamin B_2, 833
Viên nén vitamin B_6, 814
Viên nén vitamin C, 25
Viên nén zidovudin, 985
Viên ngậm amphotericin, 91
Viên sủi paracetamol, 732
Viễn chí (rễ), 1369
Vinblastin sulfat, 974, P-71
Vincristin sulfat, 977, P-72
Vinpocetin, 979
Vitamin B_6, 812
Vitamin C, 23
Vitamin D_2, 378
Vitamin D_3, 316
Vitamin K_1, 760
Vitamin P, 848
Vỏ hà, 1248
Vỏ hàu, 1248
Vỏ nang cứng gelatin, 433
Vỏ rễ dâu, 1137
Vọng cách (lá), 1370
Vối (lá), 1371
Vối (nụ hoa), 1372
Vông nem (lá), 1373
Vừng đen (hạt), 1374

X

Xa tiền tử, 1239
Xà sàng (quả), 1375
Xạ can, 1302
Xác định acid acetic trong peptid tổng hợp, PL-237
Xác định acid aristolochic I trong dược liệu, PL-290
Xác định an toàn chung của vắc xin và sinh phẩm, PL-372
Xác định BSA tồn dư trong vắc xin, PL-400
Xác định các chất bảo quản kháng khuẩn, PL-238
Xác định các chất chiết được trong dược liệu, PL-278
Xác định các chất oxy hóa, PL-184
Xác định carbon hữu cơ toàn phần trong nước dùng cho ngành dược, PL-184
Xác định chất gây sốt trong vắc xin và sinh phẩm, PL-372
Xác định chất không bị xà phòng hóa, PL-183
Xác định chỉ số acetyl, PL-180
Xác định chỉ số acid, PL-180
Xác định chỉ số ester, PL-180
Xác định chỉ số hydroxyl, PL-180
Xác định chỉ số iod, PL-181
Xác định chỉ số khúc xạ, PL-163
Xác định chỉ số peroxyd, PL-182
Xác định chỉ số pH, PL-163
Xác định chỉ số trương nở, PL-285
Xác định chỉ số xà phòng hóa, PL-182
Xác định công hiệu của vắc xin bại liệt uống, PL-381
Xác định công hiệu thành phần bạch hầu trong vắc xin hấp phụ chứa giải độc tố bạch hầu, PL-383
Xác định công hiệu thành phần ho gà toàn tế bào trong vắc xin phối hợp, hấp phụ, PL-385
Xác định công hiệu thành phần uốn ván trong vắc xin hấp phụ chứa giải độc tố uốn ván, PL-382
Xác định đậm độ vi khuẩn ho gà, PL-367
Xác định điện dẫn suất, PL-172
Xác định độ ẩm tồn dư trong vắc xin, sinh phẩm đông khô, PL-394
Xác định độ chân không của vắc xin BCG, PL-365

Xác định độ nhớt của chất lỏng, PL-164
Xác định độ phân tán của vắc xin BCG, PL-366
Xác định độ sống của vắc xin BCG, PL-364
Xác định độ thẩm thấu, PL-171
Xác định độ tinh khiết kháng nguyên HBsAg, PL-396
Xác định độ trong của dung dịch, PL-193
Xác định độc tố thần kinh tồn dư trong vắc xin bại liệt uống, PL-380
Xác định dung môi tồn dư, PL-225
Xác định ethylen oxyd và dioxan tồn dư, PL-235
Xác định giới hạn Amoni, PL-195
Xác định giới hạn Arsen, PL-195
Xác định giới hạn các tạp chất, PL-195
Xác định giới hạn Calci, PL-196
Xác định giới hạn carbon monoxyd trong khí y tế, PL-202
Xác định giới hạn Chì trong đường, PL-196
Xác định giới hạn Clorid, PL-196
Xác định giới hạn Fluorid, PL-196
Xác định giới hạn Kali, PL-197
Xác định giới hạn kim loại nặng trong dược liệu và trong dầu béo, PL-200
Xác định giới hạn kim loại nặng, PL-197
Xác định giới hạn Magnesi, PL-202
Xác định giới hạn Magnesi và kim loại kiềm thổ, PL-202
Xác định giới hạn Nhôm, PL-200
Xác định giới hạn Nickel trong polyol, PL-200
Xác định giới hạn Phosphat, PL-201
Xác định giới hạn Sắt, PL-202
Xác định giới hạn Sulfat, PL-202
Xác định giới hạn tiểu phân, PL-263
Xác định góc quay cực và góc quay cực riêng, PL-166
Xác định hàm lượng aflatoxin B_1 trong dược liệu, PL-288
Xác định hàm lượng cesi trong vắc xin và sinh phẩm, PL-397
Xác định hàm lượng ethanol, PL-222
Xác định hàm lượng formaldehyd tồn dư trong vắc xin và sinh phẩm, PL-387
Xác định hàm lượng lipid trong vắc xin và sinh phẩm, PL-396
Xác định hàm lượng methanol và propan-2-ol, PL-225
Xác định hàm lượng natri clorid với sự có mặt của protein bằng phương pháp định lượng gián tiếp (phương pháp Charpentier-Volhard), PL-388
Xác định hàm lượng nhôm (Al^{+++}) trong vắc xin và sinh phẩm, PL-388
Xác định hàm lượng nitơ protein của vắc xin và sinh phẩm bằng thuốc thử Nessler, PL-391
Xác định hàm lượng nitơ toàn phần của vắc xin và sinh phẩm bằng thuốc thử Nessler, PL-377
Xác định hàm lượng nước bằng phương pháp cất với dung môi, PL-279
Xác định hàm lượng phenol trong vắc xin và sinh phẩm, PL-389
Xác định hàm lượng polysaccharid trong vắc xin và sinh phẩm, PL-396
Xác định hàm lượng protein toàn phần trong vắc xin và sinh phẩm, PL-392
Xác định hàm lượng saccharid tổng số bằng phương pháp orcinol, PL-397
Xác định hàm lượng thimerosal trong vắc xin và sinh phẩm, PL-389
Xác định hàm lượng Tween 20 trong vắc xin và sinh phẩm, PL-367
Xác định hàm lượng Vi polysaccharid của vắc xin thương hàn Vi polysaccharid, PL-395
Xác định hiệu giá huyết thanh kháng dại, PL 377
Xác định hiệu giá huyết thanh kháng độc tố bạch hầu, PL-375
Xác định hiệu giá huyết thanh kháng độc tố uốn ván, PL-376
Xác định hiệu lực vắc xin dại theo phương pháp NIH, PL-390
Xác định hiệu quả kháng khuẩn của chất bảo quản, PL-316
Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật, PL-318
Xác định khối lượng riêng của chất rắn, PL-173
Xác định khối lượng riêng thô và khối lượng riêng gõ của bột, PL-177
Xác định khối lượng riêng và tỷ trọng, PL-166
Xác định lưu huỳnh dioxyd, PL-183
Xác định mất khối lượng do làm khô, PL-203
Xác định màu sắc của dung dịch, PL-193
Xác định nhiệt độ đông đặc, PL-167
Xác định nhiệt độ nóng chảy, khoảng nóng chảy và điểm nhỏ giọt, PL-168
Xác định nhiệt độ sôi và khoảng chưng cất, PL-170
Xác định pH của vắc xin và sinh phẩm, PL-392
Xác định tạp chất lẫn trong dược liệu, PL-279
Xác định tính an toàn vắc xin DTwP hấp phụ, PL-366
Xác định tro không tan trong acid, PL-203
Xác định tro sulfat, PL-204
Xác định tro tan trong nước, PL-204
Xác định tro toàn phần, PL-204
Xác định tỷ lệ vụn nát của dược liệu, PL-279
Xác ve sầu, 1346
Xích đồng nam (rễ), 1376
Xích thược (rễ), 1377
Xoan rừng, 1276
Xương bồ, 1382
Xuyên bối mẫu, 1089
Xuyên khung (thân rễ), 1378
Xuyên sơn giáp, 1379
Xuyên tâm liên, 1380
Xuyên tiêu (quả), 1382
Xylometazolin hydroclorid, 980, P-72

Y

Ý dĩ (hạt), 1384
Yêu cầu chung đối với các chế phẩm probiotic, PL-34

Z

Zidovudin, 983, P-73

MỤC LỤC TRA CỨU

Theo tên Latin

A

Abacaviri sulfas, 3
Acebutolol hydrochloridum, 4
Acenocoumarolum, 7
Acetazolamidum, 9
Acetylcysteinum, 11
Aciclovirum, 14
Acid mefenamicum, 33
Acidi methacrylici et ethylis acrylatis polymerisati 1 : 1 dispersio 30 per centum, 37
Acidi methacrylici et ethylis acrylatis polymerisatum (1 : 1), 36
Acidi methacrylici et methylis methacrylatis polymerisatum (1 : 1), 38
Acidi methacrylici et methylis methacrylatis polymerisatum (1 : 2), 39
Acidum acetylsalicylicum, 17
Acidum aminocaproicum, 22
Acidum ascorbicum, 23
Acidum benzoicum, 26
Acidum boricum, 27
Acidum citricum monohydricum, 29
Acidum folicum, 30
Acidum hydrochloricum dilutum, 33
Acidum hydrochloricum, 32
Acidum nalidixicum, 40
Acidum nicotinicum, 42
Acidum salicylicum, 43
Acidum tranexamicum, 44
Adrenalinum acidum tartras, 49
Adrenalinum, 47
Aerosolum, PL-23
Aether anaesthesicus, 401
Aether medicinalis, 402
Aetheroleum Anisi stellati, 1400
Aetheroleum Cajuputi, 1403
Aetheroleum Cinnamomi camphorae, 1401
Aetheroleum Cinnamomi, 1402
Aetheroleum Curcumae, 1402
Aetheroleum Eucalypti, 1399
Aetheroleum Menthae arvensis, 1398
Aetheroleum Ocimi gratissimi, 1400
Aetheroleum Plectranthi amboinici, 1400
Aetheroleum Zingiberis, 1399
Albendazolum, 51
Alcohol cetylicus et stearylicus, 256
Alcohol cetylicus, 257
Alcohol stearylicus, 875
Alcoholaturae, PL-31
Alimemazini tartras, 53
Allopurinolum, 55
Aloe, 1233
Alpha tocopherolum, 948
Alpha tocopheryli acetas, 949
Aluminii hydroxydum siccum, 672
Aluminii phosphas siccum, 672
Alverin citratum, 58
Ambroxoli hydrochloridum, 60
Amikacinum, 64
Aminophyllinum, 66
Amiodaroni hydrochloridum, 69
Amitriptylini hydrochloridum, 72
Amlodipini besilas, 74
Amodiaquini hydrochloridum, 76
Amonii chloridum, 78
Amophotericincum B, 89
Amoxicillini et Acidi clavulanici pulvis ad injectionem, 82
Amoxicillini pro injectione, 81
Amoxicillinum natricum, 79
Amoxicillinum trihydricum, 83
Ampicillini et Sulbactami pulvis ad injectionem, 97
Ampicillini pro injectione, 95
Ampicillinum natricum, 93
Ampicillinum trihydratum, 98
Ampicillinum, 92
Amylum Manihoti, 941
Amylum mays, 940
Amylum oryzae, 938
Amylum pregelificatum, 941
Amylum Solani, 939
Amylum Tritici, 939
Aqua destillata, 688
Aqua pro injectione, 688
Aqua purificata, 690
Aqua sterilis pro injectione, 691
Argenti nitras, 132
Argentum vitellinicum, 133
Arginini aspartas, 102
Arginini hydrochloridum, 103
Argininum, 100
Arillus Longan, 1232
Arillus Momordicae cochinchinensis, 1176
Artemetherum, 105
Artemisinium, 110
Artesunati pulvis ad injectionem, 113
Artesunatum, 111
Aspartamum, 114
Atenololum, 116
Atorvastatinum calcium trihydricum, 119
Atropini sufas, 122
Attapulgitum, 125
Auricularia Chloramphenicoli, 286
Azithromycinum, 126

B

Bacitracinum, 129
Barii sulfas pro suspensio, 134
Barii sulfas, 133
Benzalkonii chloridum, 135

Benzathini benzylpenicillini ad injectionem, 137
Benzathinum benzylpenicillinum, 136
Benzoinum, 1099
Benzylpenicilinum kalicum, 139
Benzylpenicilinum natricum, 140
Benzylpenicillini pro injectione, 142
Berberini chloridum, 142
Betamethasoni dipropionas, 147
Betamethasoni natrii phosphas, 149
Betamethasoni valeras, 152
Betamethasonium, 144
Biotinum, 153
Bisacodylum, 154
Bisoprololi fumaras, 157
Bombyx Botryticatus, 1326
Bromhexini hydrochloridum, 162
Bulbus Allii sativi, 1354
Bulbus Eleutherinis subaphyllae, 1312
Bulbus Fritillariae, 1089
Bulbus Lilii, 1069
Bupivacaini hydrochloridum, 164
tert-Butylamini Perindoprilum, 744

C

Cacumen Platycladi, 1357
Caffeinum, 166
Calci sulfat ustus, 160
Calcii carbonas, 168
Calcii chloridum dihydricum, 170
Calcii gluconas pro injectione, 173
Calcii gluconas, 171
Calcii glycerophosphas, 175
Calcii hydroxydum, 176
Calcii lactas pentahydricus, 177
Calcii lactas trihydricus, 178
Calcii pantothenas, 179
Calcii phosphas, 180
Calcitriolum, 181
Calyx Kaki, 1337
Camphora racemica, 182
Camphora, 183
Capsulae Acetylcysteini, 13
Capsulae Acidi tranexamici, 45
Capsulae Alverini, 59
Capsulae Ambroxoli hydrochloridi, 62
Capsulae Amoxicillini et Cloxacillini, 88
Capsulae Amoxicillini, 85
Capsulae Ampicillini, 99
Capsulae Arginini, 104
Capsulae Artemetheri, 106
Capsulae Azithromycini, 128
Capsulae Cefaclori, 197
Capsulae Cefadroxili, 200
Capsulae Cefdiniri, 212
Capsulae Cefiximi, 217
Capsulae Cefpodoximi, 227
Capsulae Cefradini, 231
Capsulae Cephalexini, 252
Capsulae Chloramphenicoli, 284
Capsulae Clarithromycini, 272
Capsulae Clindamycini, 277
Capsulae Clofazimini, 279
Capsulae Cloxacillini, 308
Capsulae Doxycyclini, 365
Capsulae Efavirenzi, 371
Capsulae Erythromycini stearatis, 387
Capsulae Esomeprazoli, 392
Capsulae Fenofibratis, 413
Capsulae Flucloxacillini, 418
Capsulae Fluconazoli, 420
Capsulae Gabapentini, 429
Capsulae Indinaviri, 510
Capsulae Indomethacini, 512
Capsulae Itraconazoli, 527
Capsulae Ketoprofeni, 542
Capsulae Lansoprazoli, 558
Capsulae Lincomycini, 576
Capsulae Loperamidi, 579
Capsulae Ofloxacini, 698
Capsulae Omeprazoli, 702
Capsulae Oxytetracyclini, 719
Capsulae Paracetamoli, 728
Capsulae Piracetami, 770
Capsulae Piroxicami, 773
Capsulae Rifampicini et Isoniazidi, 838
Capsulae Rifampicini, 836
Capsulae Sulpiridi, 896
Capsulae Tetracyclini hydrocloridi, 916
Capsulae, PL-19
Capsulea Oseltamiviri, 708
Captoprilum, 185
Carapax et Plastrum Testudinis, 1297
Carapax Trionycis, 1249
Carbamazepinum, 188
Carbidopum, 190
Carbo activatus, 919
Carbomera, 191
Carboxymethylamylum natricum A, 935
Carboxymethylamylum natricum B, 936
Carboxymethylamylum natricum C, 937
Carmellosum natricum, 193
Carmelosum calcicum, 192
Caulis Coscinii fenestrati, 1368
Caulis cum folium Lonicerae, 1220
Caulis et folium Gymnemae sylvestris, 1139
Caulis et Radix Fibraureae, 1186
Caulis Perillae frutescensis, 1351
Caulis Spatholobi suberecti, 1211
Caulis Tinosporae sinensis, 1138

Cefaclorum, 194
Cefadroxilum monohydricum, 198
Cefalotinum natricum, 202
Cefamandoli nafas, 203
Cefazolini pulvis ad injectionem, 208
Cefazolinum natricum, 205
Cefdinirum, 209
Cefepimi hydrochloridum monohydricum, 213
Cefiximum, 215
Cefoperazoni et Sulbactami pulvis ad injectionem, 222
Cefoperazoni pulvis ad injectionem, 221
Cefoperazonum natricum, 220
Cefotaximi pulvis ad injectionem, 224
Cefotaximum natricum, 223
Cefpodoximum proxetili, 225
Cefradinum, 229
Ceftazidimi pulvis ad injectionem, 234
Ceftazidimum pentahydricum, 232
Ceftriaxoni pulvis ad injectionem, 237
Ceftriaxonum natricum, 236
Cefuroximi pulvis ad injectionem, 242
Cefuroximum axetili, 238
Cefuroximum natricum, 241
Celecoxibum, 243
Cellulosi acetas, 244
Cellulosum microcrystallinum, 245
Cephalexinum, 250
Cera alba, 1309
Cera flava, 1309
Cetirizini hydrocloridum, 254
Chlofaziminum, 278
Chloramphenicoli natrii succinas, 291
Chloramphenicoli palmitas, 290
Chloramphenicoli pro injectione, 292
Chloramphenicolum, 283
Chlorhexidini digluconatis solutio, 293
Chloroformium, 295
Chlorpheniramini maleas, 298
Chlorpromazini hydrochloridum, 300
Cholecalciferolum, 316
Chymotrypsinum, 258
Cilastatinum natricum, 260
Cimetidinum, 262
Cineolum, 267
Cinnarizinum, 265
Ciprofloxacini hydrochloridum, 268
Clarithromycinum, 271
Clindamycini hydrochloridum, 276
Clopidogreli hydrogenosulfas, 280
Clorali hydras, 282
Cloroquini phosphas, 296
Clotrimazolum, 304
Cloxacilinum natricum, 306
Cocaini hydrochloridum, 309
Codeini phosphas, 311
Codeinum monohydricum, 310
Colchicinum, 313
Colla Cornus Cervi, 1234
Collyria, PL-20
Collyrium Betamethasoni, 150
Collyrium Chloramphenicoli et Dexamethasoni natrii phosphas, 289
Collyrium Chloramphenicoli, 285
Collyrium Ciprofloxacini, 269
Collyrium Gentamicini, 436
Collyrium Hydrocortisoni et Neomycini, 487
Collyrium Natrii chloridi, 660
Collyrium Neomycini, 669
Collyrium Ofloxacini, 699
Collyrium Tobramycin, 946
Collyrium Zinci sulfatis, 545
Concha Ostreae, 1248
Concretio Silicae Bambusae, 1340
Cornu Cervi, 1234
Cornu Cervi degelatinatum, 1235
Cornu Cervi Pantotrichum, 1236
Cortex Acanthopanacis gracilistyli, 1272
Cortex Acanthopanacis trifoliati, 1271
Cortex Cinnamomi, 1296
Cortex Eucommiae, 1169
Cortex Holarrhenae, 1251
Cortex Magnoliae officinalis, 1183
Cortex Mori albae radicis, 1137
Cortex Oroxyli, 1285
Cortex Periplocae, 1202
Cortex Phellodendri, 1184
Cortex Radicis Lycii, 1162
Cortex Radicis Paeoniae suffruticosae, 1248
Cortex Schefflerae heptaphyllae, 1270
Cortex Strychni wallichianae, 1191
Cortex Terminaliaen nigrovenulosae, 1112
Cortisoni acetas, 317
Cremoris Acicloviri, 16
Cremoris Chloramphenicoli et Dexamethasoni natrii phosphas, 287
Cremoris Clotrimazoli, 305
Cremoris Fluocinoloni, 423
Cremoris Ketoconazoli et Neomycini, 540
Cremoris Ketoconazoli, 538
Cremoris Promethazini hydrochloridi, 800
Cremoris Triamcinoloni acetonidi, 956
Cupri sulfas anhydricus, 366
Cupri sulfas, 366
Cyanocobalaminum, 320
Cyproheptadini hydrochloridum, 322

D

Dapsonum, 324
Dexamethasoni acetas, 329

Dexamethasoni natrii phosphas, 331
Dexamethasonum, 326
Dexchlorpheniramini maleas, 334
Dexpanthenolum, 337
Dextromethorphani hydrobromidum, 338
Diazepamum, 340
Diclofenacum diethylaminum, 343
Diclofenacum natricum, 344
Dicloxacillinum natricum, 347
Diethylis phthalas, 349
Diltiazemi hydrochloridum, 350
Dilutum ethanolum, 400
Dimenhydrinatum, 352
Dimercaprolum, 355
Diphenhydraminum hydrochloridum, 356
Domperidoni maleas, 360
Doxycyclini hydrochloridum, 363

E

Efavirenzum, 369
Effervescentis tabellae Paracetamoli, 732
Embryo Nelumbinis nuciferae, 1314
Emetini hydrochloridum, 372
Emulsiones, PL-12
Enalaprili maleas, 373
Endothelium Corneum Gigeriae Galli, 1212
Ephedrini hydrochloridum, 375
Ergocalciferolum, 378
Erythromycini ethyl succinas, 383
Erythromycini stearas, 385
Erythromycinum, 380
Erythrosinum, 388
Esomeprazolum magnesicum trihydricum, 390
Ethambutoli hydrochloridum, 396
Ethanolum 96 %, 400
Ethanolum, 399
Ethinylestradiolum, 403
Ethylcellulosum, 405
Eugenolum, 406
Extracta, PL-9
Extractum Ampelopsis siccus, 1390
Extractum Cynarae spissum, 1387
Extractum Dracaenae siccus, 1392
Extractum Folii Ginkgo siccus, 1393
Extractum Leonuri japonici spissum, 1390
Extractum Phyllanthi amari spissum, 1387
Extractum Polysciacis fruticosae spissum, 1388

F

Famotidinum, 408
Felodipinum, 410
Fenofibratum, 412
Ferrici oxydum, 858
Ferrosi fumaras, 856
Ferrosi sulfas siccum, 861
Ferrosi sulfas, 860
Fexofenadini hydrochloridum, 414
Flos Carthami tinctorii, 1197
Flos Chrysanthemi indici, 1130
Flos Cleistocalysis operculati, 1372
Flos Daturae metelis, 1090
Flos Eriocauli, 1121
Flos Lonicerae, 1221
Flos Plumeriae rubrae, 1146
Flos Sambuci javanicae, 1125
Flos Styphnolobii japonici imaturi, 1195
Flos Syzygii aromatici, 1167
Flos Tussilaginis farfarae, 1213
Flucloxacillinum natricum, 417
Fluconazolum, 419
Fluocinolonum acetonidum dihydricum, 422
Fluocinolonum acetonidum, 421
Folium Ampelopsis, 1107
Folium Ardisiae, 1217
Folium Artemisiae annuae, 1332
Folium Calotropis, 1224
Folium Catharanthi rosei, 1144
Folium Cleistocalysis operculati, 1371
Folium Clerodendri chinense, 1072
Folium Cratoxyli pruniflori, 1263
Folium Crini asiatici, 1258
Folium Crini latifolii, 1360
Folium Cynarae scolymi, 1063
Folium Daturae metelis, 1091
Folium Eriobotryae, 1365
Folium Erythrinae variegatae, 1373
Folium et Ramulus Crotonis tonkinensis, 1215
Folium Excoecariae, 1173
Folium Ilexi kaushii, 1108
Folium Jasmini subtriplinervis, 1109
Folium Lawsoniae, 1226
Folium Maclurae cochinchinensis, 1250
Folium Mori albae, 1136
Folium Nelumbinis nuciferae, 1316
Folium Perillae frutescensis, 1349
Folium Plantaginis, 1239
Folium Plectranthi amboinici, 1199
Folium Plucheae pteropodae, 1236
Folium Premnae corymbosae, 1370
Folium Psidii guajavae, 1288
Folium Sambuci javanicae, 1125
Folium Senna alatae, 1256
Folium Solani erianthi, 1266
Folium Steviae rebaudianae, 1116
Formaldehydi solutio, 425
Fructus Alpiniae oxyphyllae, 1209
Fructus Amomi aromatici, 1335

Fructus Amomi, 1072
Fructus Amomi, 1305
Fructus Apii graveolens, 1102
Fructus Arctii lappae, 1274
Fructus Armeniacae praeparatus, 1255
Fructus Aurantii immaturus, 1110
Fructus Aurantii, 1111
Fructus Bruceae javanicae, 1276
Fructus Chaenomelis, 1253
Fructus Cnidii, 1375
Fructus Corni officinalis, 1318
Fructus Evodiae rutaecarpae, 1268
Fructus Foeniculi, 1352
Fructus Forsythiae suspensae, 1228
Fructus Gardeniae, 1132
Fructus Gleditsiae australis, 1087
Fructus Hordei germinatus, 1242
Fructus Illicii veri, 1149
Fructus Lycii, 1105
Fructus Mali, 1319
Fructus Momordicae charantiae, 1257
Fructus Mori albae, 1137
Fructus Morindae citrifoliae, 1277
Fructus Perillae frutescensis, 1350
Fructus Piperis longi, 1327
Fructus Piperis nigri, 1196
Fructus Psoraleae corylifoliae, 1088
Fructus Rosae laevigatae, 1219
Fructus Rubi, 1245
Fructus Schisandrae chinensis, 1273
Fructus Silybi, 1129
Fructus Terminaliae chebulae, 1212
Fructus Tribuli terrestris, 1075
Fructus Trichosanthis, 1294
Fructus Viticis trifoliae, 1244
Fructus Xanthii strumarii, 1210
Fructus Zanthoxyli, 1382
Fructus Ziziphi jujubae, 1151
Furosemidum, 425

G

Gabapentinum, 428
Galla chinensis, 1269
Ganoderma, 1229
Gekko, 1324
Gelatinum, 432
Gentamicini sulfas, 435
Glibenclamidum, 438
Gliclazidum, 443
Glimepiridum, 445
Glipizidum, 449
Glucosamini hydrochloridum, 454
Glucosamini sulfas kalii chloridum, 455
Glucosamini sulfas natrii chloridum, 456
Glucosum anhydricum, 459
Glucosum monohydricum, 460
Glutathionum, 462
Glycerinum, 464
Glyceroli monostearas 40 - 55, 466
Granulae, PL-14
Griseofulvinum, 470
Guaifenesinum, 473
Gummi resina Olibanum, 1282
Gypsum fibrosum, 1329

H

Haloperidolum, 474
Halothanum, 476
Heptaminoli hydrochloridum, 477
Herba Abutili indici, 1122
Herba Adenosmatis bracteosi, 1282
Herba Adenosmatis caerulei, 1280
Herba Adenosmatis indiani, 1084
Herba Agerati conyzoides, 1113
Herba Agrimoniae, 1231
Herba Andrographii, 1380
Herba Apii graveolens, 1103
Herba Artemisiae apiaceae, 1332
Herba Artemisiae vulgaris, 1262
Herba Bidensis pilosae, 1172
Herba Centellae asiaticae, 1299
Herba Centipedae minimae, 1120
Herba Cistanches, 1284
Herba Clerodendri philippini, 1250
Herba Dendrobii, 1330
Herba Desmodii styracifolii, 1222
Herba Ecliptae, 1117
Herba Eleusinis indicae, 1115
Herba Elsholtziae ciliatae, 1223
Herba Ephedrae, 1237
Herba Epimedii, 1134
Herba Equiseti debilis, 1254
Herba et Radix Scopariae, 1096
Herba Glini oppositifolii , 1298
Herba Gynostemmae, 1178
Herba Hedyotidis capitellatae, 1131
Herba Hedyotis diffusae, 1074
Herba Houttuyniae cordatae, 1141
Herba Lactucae indicae, 1085
Herba Leonuri japonici, 1207
Herba Lobeliae chinensis, 1078
Herba Lophatheri, 1151
Herba Loranthi Gracifilolii, 1322
Herba Loranthi, 1325
Herba Menthae, 1066
Herba Ocimi gratissimi, 1204
Herba Ocimi tenuiflori, 1202
Herba Orthosiphonis spiralis, 1301

Herba Passiflorae foetidae, 1226
Herba Phyllanthi amari, 1143
Herba Phyllanthi urinariae, 1142
Herba Piperis lolot, 1225
Herba Pistiae, 1150
Herba Pogostemonis, 1194
Herba Portulacae, 1300
Herba Sarcandrae glabrae, 1317
Herba Scutellariae barbatae, 1079
Herba Siegesbeckiae, 1206
Herba Solani procumbensis, 1092
Herba Spirodelae polyrrhizae, 1082
Herba Wedeliae, 1306
Hippocampus, 1093
Histidini hydrochloridum monohydricum, 480
Histidinum, 479
Hydrochlorothiazidum, 481
Hydrocortisoni acetas, 484
Hydroxocobalamini acetas, 488
Hydroxocobalamini chloridum, 489
Hydroxocobalamini sulfas, 490
Hydroxyethylcellulosum, 492
Hydroxyethylmethylcellulosum, 494
Hyoscini butylbromidum, 496
Hyroxypropylcellulosum, 495

I

Ibuprofenum, 498
Imipemeni et Cilastatini pulvis ad injectionem, 502
Imipenemum, 501
Imipramini hydrochloridum, 503
Immunoglobulinum humanum hepatitidis B, 993
Immunoglobulinum humanum normale, 989
Immunosera ad usum humanum, 989
Immunoserum contra venena, 992
Immunoserum diphthericum, 991
Immunoserum tetanicum ad usum humanum, 993
Indapamidum, 505
Indinaviri sulfas, 508
Indomethacinum, 511
Infusio Glucosi, 462
Infusio Metronidazoli, 644
Infusio Natrii chloridi isotonica, 661
Infusio Ringer-Lactate, 359
Inhalationis, PL-23
Injectio Acidi ascorbici, 24
Injectio Adrenalini, 50
Injectio Amikacini, 65
Injectio Aminophyllini, 67
Injectio Atropini sulfatis, 123
Injectio Calcii chloridi 10 %, 171
Injectio Calcii gluconatis, 174
Injectio Chlorpromazini hydrochloridi, 302
Injectio Coffeini et Natrii benzoas, 168
Injectio Cyanocobalamini, 321
Injectio Dexamethasoni, 333
Injectio Diazepami, 341
Injectio Diclofenaci natrii, 345
Injectio Dimercaproli, 356
Injectio Ephedrini hydrocloridi, 377
Injectio Gentamicini, 437
Injectio Glucosi, 461
Injectio Hydrocortisoni acetas, 487
Injectio Hydroxocobalamini, 491
Injectio Kalii chloridi concentrata, 530
Injectio Kanamycini, 534
Injectio Lidocaini, 574
Injectio Lincomycini, 577
Injectio Methylprednisoloni acetas, 638
Injectio Metoclopramidi, 641
Injectio Morphini hydrochloridi, 650
Injectio Natrii bicarbonas, 663
Injectio Natrii chloridi, 661
Injectio Paracetamoli, 729
Injectio Piracetami, 771
Injectio Procaini hydrochloridi, 794
Injectio Progesteroni, 798
Injectio Pyridoxini hydrochloridi, 813
Injectio Quinini dihydrochloridi, 820
Injectio Sparteini sulfatis, 868
Injectio Thiamini hydrochloridi, 924
Injectio Tobramycini, 947
Injectiones, infusiones, PL-26
Interferoni alfa 2, 994
Iodum, 514
Irbesartanum, 515
Isoleucinum, 517
Isoniazidum, 518
Isosorbidi dinitras dilutus, 520
Isosorbidi mononitras dilutus, 522
Itraconazolum, 525

K

Kalii bromidum, 528
Kalii chloridum, 529
Kalii clavulanas, 274
Kalii iodidum, 531
Kalii permanganas, 532
Kanamycini sulfas, 532
Kaolinum leve naturale, 536
Kaolinum leve, 535
Kaolinum ponderosum, 534
Ketoconazolum, 537
Ketoprofenum, 541

L

Lactosum, 545
Laminariae Thallus, 1122
Lamivudini solutionum peroralum, 548
Lamivudinum, 547
Lanolinum anhydricum, 552
Lansoprazolum, 557
Lanugo gossypii absorbens sterilis, 160
Lanugo gossypii absorbens, 158
Levamisoli hydrochloridum, 559
Levodopum, 561
Levofloxacinum, 564
Levomepromazini maleas, 566
Levonorgestrelum, 568
Levothyroxinum natricum, 571
Lidocaini hydrochloridum, 573
Lignum Dracaenae, 1201
Lignum Sappan, 1354
Lincomycini hydrochloridum, 575
Loperamidi hydrochloridum, 578
Lopinavirum, 581
Loratadinum, 583
Losartanum Kalium, 586
Lovastatinum, 589
Lumefantrinum, 592
Lysini acetas, 594

M

Macrogola, 595
Magnesii chloridum, 598
Magnesii hydroxydum, 599
Magnesii lactas dihydricus, 601
Magnesii oxydum levis, 604
Magnesii oxydum ponderosus, 603
Magnesii subcarbonas levis, 598
Magnesii subcarbonas ponderosus, 597
Magnesii sulfas, 606
Magnesii trisilicas, 606
Magnessii stearas, 604
Mangiferinum, 608
Mannitolum, 608
Mebendazolum, 610
Medulla Junci effusi, 1159
Medulla Tetrapanacis papyriferi, 1345
Mefloquini hydrochloridum, 612
Mel, 1246
Meloxicamum, 615
Mentholum racemicum, 617
Mentholum, 619
Meprobamatum, 620
Mercuresceinum natricum, 621
Metformini hydrocloridum, 622
Methadoni hydrochloridum, 624
DL-Methioninum, 626
Methylcellulosum, 629
Methyldopum, 631
Methylis parahydroxybenzoas, 627
Methylis salicylas, 629
Methylprednisoloni acetas, 636
Methylprednisolonum, 633
Metoclopramidi hydrochloridum, 640
Metoclopramidum, 639
Metronidazolum, 643
Miconazolum, 647
Molles capsulae calcitrioli, 182
Molles capsulae Progesteroni, 797
Molles capsulae Vitamini A et D, 830
Molles capsulae Vitamini A, 830
Molles capsulae Vitamini E, 950
Morphini hydrochloridum, 649
Musci medicati, PL-30
Myrrha, 1255

N

Naloxoni hydrochloridum, 651
Naphazolini nitras, 653
Nasalia Oxymetazolini, 715
Nasalia Xylometazolini, 982
Natrii benzoas, 654
Natrii bromidum, 655
Natrii calcii edetas, 656
Natrii camphosulfonas, 657
Natrii chloridum, 659
Natrii citras, 658
Natrii hydrocarbonas, 662
Natrii salicylas, 663
Natrii sulfas anhydricum, 666
Natrii sulfas, 665
Natrii thiosulfas, 667
Neomycini sulfas, 668
Nevirapinum anhydricum, 670
Niclosamidi monohydratum, 675
Niclosamidum anhydricum, 673
Nicotinamidum, 677
Nifedipinum, 678
Nifuroxazidum, 681
Nikethamidum, 682
Nitrazepamum, 683
Nitrofurantoinum, 684
Norfloxacinum, 686
Nystatinum, 694

O

Ofloxacinum, 697
Oleum Calophylli inophylli, 1397

Oleum Momordicae, 1395
Omeprazolum, 701
Os Sepiae, 1243
Oseltamiviri phosphas, 706
Ouabainum, 709
Oxacillininum natricum monohydricum, 710
Oxygenium, 712
Oxymetazolini hydrocloridum, 714
Oxytetracyclinum dihydratum, 716
Oxytetracyclinum hydrochloridum, 717

P

Pantoprazolum natricum sesquihydricum, 721
Papaverini hydrochloridum, 724
Paracetamolum, 726
Paraffinum liquidum, 325
Pefloxacini mesilas, 737
Penicillaminum, 740
Pepsinum, 742
Pericarpium Arecae catechi, 1099
Pericarpium Citri reticulatae perenne, 1358
Pericarpium Citri reticulatae viride, 1333
Pericarpium Garciniae mangostanae, 1245
Periostracum Cicadae, 1346
Pethidini hydrocloridum, 747
Phenobarbitalum, 748
Phenolum, 750
Phenoxymethylpenicillinum kalicum, 753
Phenoxymethylpenicillinum, 751
Phenylpropanolamini hydrochloridum, 755
Phenytoinum, 756
Pheretima, 1166
Phthalylsulfathiazolum, 758
Phytomenadionum, 760
Pilocarpini nitras, 762
Pilula, PL-17
Piperacillinum natricum, 764
Piperazini adipas, 765
Piperazini citras, 766
Piperazini hydras, 767
Piperazini phosphas, 768
Piracetamum, 769
Piroxicamum, 771
Polymyxini B sulfas, 775
Polyporus, 1362
Polysorbatum 20, 777
Polysorbatum 60, 778
Polysorbatum 80, 779
Poria, 1292
Povidonum iodinatum, 784
Povidonum, 780
Praeparationes molles ad usum dermicum, PL-18
Praziquantelum, 785
Prednisolonum, 787
Prednisonum, 789
Primaquini diphosphas, 791
Procainamidi hydrochloridum, 795
Procaini hydrochloridum, 793
Progesteronum, 796
Promethazini hydrochloridum, 798
Propranololi hydrochloridum, 802
Propylenglycolum, 806
Propylis parahydroxybenzoas, 804
Propylthiouracillum, 806
Pulveres Acetylcysteini, 13
Pulveres Amoxicillini ad suspensionum peroralum, 84
Pulveres Amoxicillini et Acidi clavulanici ad suspensionum peroralum, 87
Pulveres Azithromycini ad suspensionum peroralum, 129
Pulveres Cefaclori ad suspensionum peroralum, 195
Pulveres Cefadroxili ad suspensionum peroralum, 199
Pulveres Cefdiniri ad suspensionum peroralum, 211
Pulveres Cefuximi ad suspensionum peoralum, 216
Pulveres Cefpodoximi ad suspensionum peroralum, 227
Pulveres Cefuroximi ad suspensionum peoralum, 239
Pulveres Cephalexini ad suspensionum peroralum, 251
Pulveres Natrii hydrocarbonas, 662
Pulveres Roxithromycini ad suspensionum peroralum, 846
Pulveres Sorbitoli, 867
Pulveres, PL-13
Pulveres Aspartami, 116
Pyranteli pamoatum, 808
Pyrazinamidum, 810
Pyridoxini hydrochloridum, 812
Pyrimethaminum, 814

Q

Quinaprili hydrochloridum, 815
Quinini dihydrochloridum, 819
Quinini hydrochloridum, 820
Quinini sulfas, 822
Quininidini bisulfas, 817

R

Radix Abelmoschi sagittifolii, 1310
Radix Achyranthis asperae, 1119
Radix Achyranthis bidentatae, 1275
Radix Aconiti lateralis, 1291
Radix Aconiti, 1286
Radix Angelicae acutilobae, 1175
Radix Angelicae dahuricae, 1070
Radix Angelicae pubescentis, 1171
Radix Angelicae sinensis, 1173
Radix Asparagi cochinchinensis, 1339
Radix Astragali membranacei, 1188
Radix Boehmeriae niveae, 1176

Radix Bupleuri chinensis, 1307
Radix Catharanthi rosei, 1145
Radix Clerodendri japonici, 1376
Radix Codonopsis javanicae praeparata, 1157
Radix Codonopsis javanicae, 1156
Radix Codonopsis, 1154
Radix Dipsaci, 1363
Radix et Rhizoma Asari, 1328
Radix et Rhizoma Asteris tatarici, 1364
Radix et rhizoma Clematidis, 1367
Radix et Rhizoma Gentianae, 1230
Radix et Rhizoma Glycyrrhizae, 1095
Radix et Rhizoma Salviae miltiorrhizae, 1152
Radix Eurycomae longifoliae , 1067
Radix Fallopiae multiflorae, 1180
Radix Gentianae, 1326
Radix Glehniae, 1306
Radix Linderae, 1287
Radix Millettiae speciosae, 1102
Radix Morindae citrifoliae, 1278
Radix Morindae officinalis, 1064
Radix Nymphaeae stellatae, 1128
Radix Ophiopogonis japonici, 1241
Radix Paeoniae lactiflorae, 1076
Radix Paeoniae, 1377
Radix Panasis notoginseng, 1321
Radix Peucedani, 1351
Radix Phytolaccae, 1347
Radix Platycodi grandiflori, 1100
Radix Plucheae pteropodae, 1237
Radix Polygalae, 1369
Radix Polygoni cuspidati, 1123
Radix Polysciacis, 1168
Radix Puerariae thomsonii, 1310
Radix Rehmanniae glutinosae praeparata, 1345
Radix Rehmanniae glutinosae, 1164
Radix Sanguisorbae, 1163
Radix Saposhnikoviae divaricatae, 1289
Radix Saussureae lappae, 1252
Radix Scrophulariae, 1199
Radix Scutellariae, 1185
Radix Stemonae tuberosae, 1068
Radix Stephaniae tetrandrae, 1289
Radix Streptocauli, 1181
Ramiprilum, 824
Ramulus Cinnamomi, 1295
Ramulus cum folio Melaleucae, 1356
Ramulus cum Unco Uncariae, 1104
Ramulus Mori albae, 1135
Ranitidini hydrochloridum, 826
Rhizoma Acori, 1382
Rhizoma Alismatis, 1355
Rhizoma Alpiniae officinari, 1303
Rhizoma Anemarrhenae, 1360
Rhizoma Atractylodis macrocephalae, 1077
Rhizoma Atractylodis, 1348
Rhizoma Belamcandae chinensis, 1302
Rhizoma Bletillae striatae, 1070
Rhizoma Cibotii, 1106
Rhizoma Cimicifugae, 1336
Rhizoma Coptidis, 1190
Rhizoma Curculiginis, 1311
Rhizoma Curcumae longae, 1264
Rhizoma Curcumae zedoariae, 1261
Rhizoma Cyperi, 1204
Rhizoma Dioscoreae collettii, 1259
Rhizoma Dioscoreae, 1366
Rhizoma Drynariae, 1124
Rhizoma et Radix Ginseng, 1279
Rhizoma et Radix Notopterygii, 1218
Rhizoma et Radix Panacis vietnamensis, 1313
Rhizoma Gastrodiae elatae, 1338
Rhizoma Homalomenae occultae, 1340
Rhizoma Imperatae cylindricae, 1118
Rhizoma Kaempferiae galangae, 1165
Rhizoma Ligustici wallichii, 1378
Rhizoma Pinelliae, 1080
Rhizoma Polygonati odorati, 1265
Rhizoma Polygonati, 1192
Rhizoma Rhei, 1147
Rhizoma Smilacis glabrae, 1344
Rhizoma Thalictri foliolosi, 1342
Rhizoma Typhonii trilobati, 1126
Rhizoma Zingiberis, 1179
Riboflavini natrii phosphas, 833
Riboflavinum, 831
Rifampicinum, 834
Ritonavirum, 841
Rotundinum, 842
Roxithromycinum, 845
Rutinum, 848

S

Saccharum, 367
Salbutamoli sulfas, 853
Salbutamolum, 851
Sales perorales ad rehydratationem, 704
Sargassum, 1304
Scolopendra, 1267
Scorpio, 1353
Semen Lablab, 1161
Semen Arecae catechi, 1097
Semen Armeniacae amarum, 1214
Semen Coicis, 1384
Semen Cuscutae, 1341
Semen Euryales, 1213
Semen Momordicae cochinchinensis, 1177
Semen Myristicae, 1283

Semen Nelumbinis nuciferae, 1315
Semen Pharbitidis, 1082
Semen Plantaginis, 1239
Semen Platycladi orientalis, 1065
Semen Pruni, 1157
Semen Quisqualis, 1320
Semen Raphani sativi, 1094
Semen Sennae torae, 1335
Semen Sesami Nigrum, 1374
Semen Sinapis albae, 1074
Semen Strychni, 1240
Semen Trichosanthis, 1293
Semen Vignae cylindricae, 1160
Semen Vignae radiatae, 1161
Semen Ziziphi mauritianae, 1323
Serum antirabicum, 991
Simvastatinum, 863
Sirupi Alimemazini, 53
Sirupi Promethazini hydrochloridi, 801
Sirupi, PL-11
Solutio Acidi borici 3 %, 28
Solutio Diphenhydramini, 357
Solutio glycerylis trinitras, 468
Solutio Hydrogenii peroxydi concentrata, 692
Solutio Hydrogenii peroxydi diluta 10 %, 693
Solutio Hydrogenii peroxydi diluta 3 %, 693
Solutio Iodo Iodidata 1 %, 514
Solutio Methadoni hydrochloridi concentrata peroralum, 625
Solutio Nikethamidi, 683
Solutio Povidoni Iodini, 784
Solutiones, PL-11
Sorbitolum, 865
Sparteini sulfas, 868
Spectinomycini hydrocloridum, 869
Spica Prunellae, 1182
Spina Gleditsiae australis, 1086
Spiramicinum, 870
Squama Manis, 1379
Stavudinum, 872
Streptomycini pro injectione, 878
Streptomycini sulfas, 876
Strychnini sulfas, 879
Styli et stigmata Maydis, 1301
Sucralfatum, 880
Sulbactamum Natricum, 881
Sulfacetamidum natricum, 664
Sulfadiazinum, 883
Sulfadimidinum, 885
Sulfadoxinum, 886
Sulfaguanidinum, 888
Sulfamethoxazolum, 889
Sulfametoxypyridazinum, 891
Sulfasalazinum, 892
Sulfathiazolum, 894
Sulpiridum, 895
Sultamicillini tosilas dihydricus, 899
Sultamicillinum, 897
Suppositoria Nystatini, 696
Suppositoria Paracetamoli, 730
Suppositoria, PL-16
Suspensiones, PL-12

T

Tabellae Acebutololi, 6
Tabellae Acenocoumaroli, 8
Tabellae Acetazolamidi, 10
Tabellae Acicloviri, 16
Tabellae Acidi acetylsalicylici solvae in intestino, 19
Tabellae Acidi acetylsalicylici, 19
Tabellae Acidi ascorbici, 25
Tabellae Acidi folici, 31
Tabellae Acidi mefenamici, 34
Tabellae Acidi nalidixici, 41
Tabellae Acidi tranexamici, 46
Tabellae Albendazoli, 52
Tabellae Allopurinoli, 57
Tabellae Aluminii hydroxydi - Magnesii hydroxydi, 600
Tabellae Ambroxoli hydrochloridi, 63
Tabellae Aminophyllini, 68
Tabellae Amiodaroni, 70
Tabellae Amitriptylini, 73
Tabellae Amlodipini, 75
Tabellae Amodiaquini hydrochloridi, 77
Tabellae Amoxicillini et Acidi clavulanici, 87
Tabellae Amoxicillini, 86
Tabellae Amphotericini, 91
Tabellae Artemetheri et Lumefantrini, 108
Tabellae Artemetheri, 107
Tabellae Aspirini et Caffeini, 21
Tabellae Atenololi, 118
Tabellae Atorvastatini, 121
Tabellae Atropini sulfatis, 124
Tabellae Berberini chloridi, 144
Tabellae Betamethasoni, 146
Tabellae Biotini, 154
Tabellae Bisacodyli, 156
Tabellae Bromhexini hydrochloridi, 163
Tabellae Calcii carbonatis et Vitamini D_3, 169
Tabellae Captoprili, 187
Tabellae Carbamazepini, 189
Tabellae Cefadroxili, 201
Tabellae Cefiximi, 219
Tabellae Cefpodoximi, 228
Tabellae Cefuroximi, 240
Tabellae Cephalexini, 253
Tabellae Cetirizini, 255
Tabellae Chloramphenicoli, 287
Tabellae Chloroquini phosphatis, 297
Tabellae Chlorpheniramini, 299

Tabellae Chlorpromazini hydrochloridi, 303
Tabellae Chymotrypsini, 259
Tabellae Cimetidini, 264
Tabellae Cinnarizini, 266
Tabellae Ciprofloxacini, 270
Tabellae Clarithromycini, 273
Tabellae Clopidogreli, 282
Tabellae Codeini phosphatis, 313
Tabellae Colchicin, 315
Tabellae Colecalciferoli, 317
Tabellae Cortisoni, 319
Tabellae Cotrimoxazoli, 966
Tabellae Cyproheptadini hydrocloridi, 323
Tabellae Dapsoni, 324
Tabellae Dexamethasoni, 328
Tabellae Dexchlorpheniramini, 336
Tabellae Dexpanthenoli, 338
Tabellae Dextromethorphani hydrobromidi, 340
Tabellae Diazepami, 342
Tabellae Diclofenaci, 346
Tabellae Diltiazemi, 351
Tabellae Dimenhydrinati, 354
Tabellae Diphenhydramini, 358
Tabellae Domperidoni, 362
Tabellae effervescenti Calcii gluconatis, 172
Tabellae Enalaprili, 374
Tabellae Ephedrini hydrochloridi, 377
Tabellae Ergocalciferoli, 380
Tabellae Erythromycini stearatis, 387
Tabellae Erythromycini, 382
Tabellae Esomeprazoli, 394
Tabellae Ethambutoli et Isoniazidi, 398
Tabellae Ethambutoli, 397
Tabellae Ethinylestradioli, 404
Tabellae Famotidini, 409
Tabellae Ferrosi fumaratis et Acidi folici, 857
Tabellae Ferrosi sulfatis, 862
Tabellae Fexofenadini, 415
Tabellae Furosemidi, 427
Tabellae Gabapentini, 430
Tabellae Glibenclamidi et Metformini, 441
Tabellae Glibenclamidi, 440
Tabellae Glicerylis trinitratis, 469
Tabellae Gliclazidi, 444
Tabellae Glimepiridi et Metformini, 448
Tabellae Glimepiridi, 446
Tabellae Glipizidi et Metformini, 452
Tabellae Glipizidi, 451
Tabellae Glucosamini, 458
Tabellae Griseofulvini, 471
Tabellae Haloperidoli, 475
Tabellae Heptaminoli, 478
Tabellae Hydrochlorothiazidi, 483
Tabellae Hyoscini butylbromidi, 497
Tabellae Ibuprofeni, 500
Tabellae Imipramini, 504
Tabellae Indapamidi, 507
Tabellae Indomethacini, 513
Tabellae Irbesartani, 516
Tabellae Isoniazidi, 519
Tabellae Isosorbidi dinitras, 522
Tabellae Isosorbidi mononitras, 524
Tabellae Kalii chloridi, 530
Tabellae Kalii Losartanas, 588
Tabellae Ketoconazoli, 539
Tabellae Lamivudini et Zidovudinum, 551
Tabellae Lamivudini, 549
Tabellae Levodopi et Carbidopi, 563
Tabellae Levodopi, 562
Tabellae Levofloxacini, 565
Tabellae Levomepromazini, 567
Tabellae Levonorgestreli, 570
Tabellae Levothyroxini, 572
Tabellae Loperamidi, 580
Tabellae Loratadini, 585
Tabellae Lovastatini, 591
Tabellae Magnesii - Pyridoxini hydrochloridi, 602
Tabellae Mebendazoli, 611
Tabellae Mefloquini, 614
Tabellae Meloxicami, 616
Tabellae Metformini, 623
Tabellae Methionini, 627
Tabellae Methyldopi, 633
Tabellae Methylprednisoloni, 635
Tabellae Metoclopramidi, 642
Tabellae Metronidazoli et Nystatini, 645
Tabellae Metronidazoli et Spiramycini, 646
Tabellae Metronidazoli, 644
Tabellae Natrii thiosulfas, 667
Tabellae natrii valproatis, 968
Tabellae Nevirapini, 671
Tabellae Niclosamidi, 676
Tabellae Nicotinamidi, 677
Tabellae Nifedipini, 679
Tabellae Nitrofurantoini, 685
Tabellae Norfloxacini, 687
Tabellae Nystatini, 696
Tabellae Ofloxacini, 700
Tabellae Pantoprazoli, 722
Tabellae Papaverini hydrochloridi, 725
Tabellae Paracetamoli et Chlorpheniramini, 734
Tabellae Paracetamoli et Codeini, 735
Tabellae Paracetamoli et Coffeini, 733
Tabellae Paracetamoli et Ibuprofeni, 736
Tabellae Paracetamoli, 731
Tabellae Pefloxacini mesylati, 739
Tabellae Phenobarbitali, 749
Tabellae Phenoxymethylpenicillini Kalii, 754
Tabellae Phenoxymethylpenicillini, 752
Tabellae Phenytoini, 757

Tabellae Phthalylsulfathiazoli, 759
Tabellae Phytomenadioni, 761
Tabellae Piperazini phosphatis, 769
Tabellae Piroxicami, 774
Tabellae Praziquanteli, 786
Tabellae Prednisoloni, 788
Tabellae Primaquini diphosphas, 792
Tabellae Promethazini hydrochloridi, 801
Tabellae Propranololi, 803
Tabellae Propylthiouracili, 807
Tabellae Pyranteli pamoati, 809
Tabellae Pyrazinamidi, 811
Tabellae Pyridoxini hydrochloridi, 814
Tabellae Quinini sulfatis, 823
Tabellae Ramiprili, 825
Tabellae Ranitidini, 828
Tabellae Riboflavini, 833
Tabellae Rifampicini, 837
Tabellae Rifampicini, Isoniazidi et Pyrazinamidi, 839
Tabellae Rotundini, 844
Tabellae Roxithromycini, 847
Tabellae Rutini et Acidi ascorbici, 850
Tabellae Rutini, 849
Tabellae Salbutamoli, 855
Tabellae Simvastatini, 864
Tabellae Spiramycini, 872
Tabellae Stavudini, 874
Tabellae Sulfadoxini et Pyrimethamini, 887
Tabellae Sulfaguanidini, 889
Tabellae Sulfamethoxazoli, 890
Tabellae Telmisartani, 905
Tabellae Tenoxicami, 908
Tabellae Terfenadini, 911
Tabellae tert-Butylamini perindoprilum, 746
Tabellae Tetracyclini hydrocloridi, 918
Tabellae Theophyllini, 922
Tabellae Thiamini, 926
Tabellae Timololi, 934
Tabellae Tinidazoli, 943
Tabellae Tolbutamidi, 952
Tabellae Trihexyphenidyli, 960
Tabellae Trimetazidini, 963
Tabellae vaginalis Clotrimazoli, 306
Tabellae Vinpocetini, 980
Tabellae Vitamini B_1, B_6 et B_{12}, 927
Tabellae Zidovudini, 985
Tabellae, PL-28
Tabellea Alimemazini, 54
Talcum, 1193
Talcum, 160
Tamoxifeni Citras, 901
Tartrazinum, 902
Telmisartanum, 904
Tenoxicamun, 906
Terbutalini sulfas, 909
Terfenadinum, 910
Terpinum hydratum, 912
Tetracaini hydrochloridum, 913
Tetracyclini hydrochloridum, 915
Theophyllinum, 920
Thiamini hydrochloridum, 922
Thiamini mononitras, 925
Thiamphenicolum, 928
Thiopentalum natritricum, 929
Ticarcillinum natricum, 930
Timololi maleas, 932
Tincturae, PL-10
Tinidazolum, 942
Titanii dioxidum, 944
Tobramycinum, 945
Tolbutamidum, 951
Tramadoli hydrochloridum, 953
Triamcinoloni acetonidum, 954
Triglycerida saturata media, 957
Trihexiphenydyli hydrochloridum, 959
Trimetazidini hydrochloridum, 961
Trimethoprimum, 964
Tuber Corydalis, 1140
Tuber Dioscoreae persimilis, 1127
Tuber Stephaniae, 1083
Tuberculini derivatum proteinosum purificatum, 996

U

Unguentum Acidi borici 10 %, 28
Unguentum Benzosalicylici, 26
Unguentum Hydrocortisoni acetas, 486
Unguentum Nystatini, 695
Unguentum Tetracyclini hydrochloridi, 917
Unguentum Zinci oxydi, 544

V

Vaccina ad usum humanum, 997
Vaccinum BCG cryodessicatum, 1016
Vaccinum cholerae perorale inactivatum, 1043
Vaccinum diphtheria, tetani et pertussis adsorbatum, 1000
Vaccinum diphtheriae adsorbatum, 998
Vaccinum diphtheriae et tetani ad usum adulti et adulescentis adsorbatum, 1002
Vaccinum diphtheriae, tetani et pertussis sine cellulis ex elementis praeparatum adsorbatum, 1004
Vaccinum diphtheriae, tetani, pertussis, hepatitidis B et haemophili stirpis b coniugatum adsorbatum, 1007
Vaccinum Encephalitidis japonicae, 1058
Vaccinum febris typhoidi perorale vivum, 1045
Vaccinum haemophili stirpis b coniugatum, 1022
Vaccinum hepatitidis A inactivatum adsorbatum, 1050

Vaccinum hepatitidis A inactivatum et hepatitidis B (ADNr) adsorbatum, 1056
Vaccinum hepatitidis A inactivatum virosomale, 1052
Vaccinum hepatitidis A vivum, 1053
Vaccinum hepatitidis B recombinatum, 1054
Vaccinum influenzae inactivatum, 1017
Vaccinum meningococcale polysaccharidum, 1024
Vaccinum morbillorum vivum, 1041
Vaccinum morbillorum, parotitidis et rubellae vivum, 1041
Vaccinum papillomaviri humani (ADNr), 1029
Vaccinum parotitidis vivum, 1034
Vaccinum pneumococcale polysaccharidicum coniugatum adsorbatum, 1027
Vaccinum pneumococcale polysaccharidicum, 1025
Vaccinum poliomyelitidis inactivatum, 1014
Vaccinum poliomyelitidis perorale, 1015
Vaccinum rabiei ex cellulis ad usum humanum, 1020
Vaccinum rotaviri vivum perorale, 1036
Vaccinum rubellae vivum, 1038
Vaccinum tetani adsorbatum, 1013
Vaccinum varicella vivum, 1049
Vaccinum Vi polysacaridi typhoidi, 1047
Valproas natrii, 967
Vancomycini hydrochloridum, 969
Vancomycini pulvis ad injectionem, 970
Vanilinum, 971
Vaselinum album, 972
Verapamili hydrochloridum, 973
Vinblastini sulfas, 974
Vinblastini sulfatis pro Injectione, 975
Vincristini sulfas, 977
Vincristini sulfatis pro Injectione, 978
Vinpocetinum, 979
Vitamini synthetici densati A pulvis, 829
Vitaminum A syntheticum densatum oleosum, 829

X

Xylomethazolini hydrochloridum, 980

Z

Zidovudini solutionum peroralum, 984
Zidovudinum, 983
Zinci oxydum, 543
Zinci sulfas, 545

NHÀ XUẤT BẢN Y HỌC
Địa chỉ: Số 352 - Đội Cấn - Ba Đình - Hà Nội
Email: xuatbanyhoc@fpt.com.vn; xbyh@xuatbanyhoc.vn
Số điện thoại: 024.37625934 - Fax: 024.37625923

DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM

Lần xuất bản thứ năm

Tập 1

Chịu trách nhiệm xuất bản
TỔNG GIÁM ĐỐC
Chu Hùng Cường

Chịu trách nhiệm nội dung
PHÓ TỔNG BIÊN TẬP
BSCKI. Nguyễn Tiến Dũng
HỘI ĐỒNG DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM

Biên tập:	BS. **Đặng Thị Cẩm Thúy**
Sửa bản in:	**Đặng Thị Cẩm Thúy**
Trình bày bìa:	**Nguyệt Thu**
Kt vi tính:	Mai Kim Anh - **Nguyễn Thị Ân**

Đối tác liên kết xuất bản
TRUNG TÂM DƯỢC ĐIỂN - DƯỢC THƯ VIỆT NAM

In 1.000 cuốn, khổ A4 tại Công ty TNHH một thành viên Nhà xuất bản Y học.
Địa chỉ: Số 352 Đội Cấn - Ba Đình - Hà Nội.
Số xác nhận đăng ký xuất bản: 4514 - 2017/CXBIPH/5 - 176/YH.
Quyết định xuất bản số: 489/QĐ - XBYH ngày 13 tháng 12 năm 2017.
In xong và nộp lưu chiểu năm 2017.
Mã số sách chuẩn quốc tế - ISBN Tập 1: 978-604-66-3045-6
Mã số sách chuẩn quốc tế - ISBN Tập 2: 978-604-66-3046-3

DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM V

Tập 2

CỘNG HÒA XÃ HỘI CHỦ NGHĨA VIỆT NAM

BỘ Y TẾ



DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM

Lần xuất bản thứ năm

TẬP 2

Kính biếu

NHÀ XUẤT BẢN Y HỌC
HÀ NỘI - 2017

Hội đồng Dược điển Việt Nam, Trung tâm Dược điển - Dược thư Việt Nam, Bộ Y tế giữ bản quyền Dược điển Việt Nam lần xuất bản thứ năm

Trung tâm Dược điển - Dược thư Việt Nam
48 Hai Bà Trưng, Hoàn Kiếm, Hà Nội
Điện thoại : (84-24) 38256905
Fax: : (84-24) 39343547
E-mail: hdddvn@hn.vnn.vn

PHARMACOPOEIA VIETNAMICA

EDITIO V

Tomus 2

NỘI DUNG

Trang

TẬP 1

Lời nói đầu xi
Lịch sử Dược điển nước Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam xiii
Hội đồng Dược điển Việt Nam V xvii
Các cộng tác viên xix
Các cơ quan và đơn vị tham gia xây dựng Dược điển Việt Nam V xxi
Danh mục các chuyên luận xxiii
Danh mục chuyên luận mới so với DĐVN IV xxxvii
Danh mục các chuyên luận của DĐVN IV không đưa vào DĐVN V xliii
Qui định chung xlv
Ký hiệu các chữ viết tắt xlix
Các chuyên luận
Nguyên liệu hóa dược và thành phẩm hóa dược 1
Mục lục tra cứu theo tên Việt Nam ML-1
Mục lục tra cứu theo tên Latin ML-21

TẬP 2

Qui định chung xlv
Ký hiệu các chữ viết tắt xlix
Các chuyên luận
Huyết thanh, sinh phẩm và vắc xin 987
Dược liệu 1061
Cao dược liệu, dầu, tinh dầu 1385
Thuốc cổ truyền 1405
Phổ hấp thụ hồng ngoại P-1
Các phụ lục PL-1
Mục lục tra cứu theo tên Việt Nam ML-1
Mục lục tra cứu theo tên Latin ML-21

QUI ĐỊNH CHUNG

1. Tên chính của các chuyên luận là tên Việt Nam, sau tên Việt Nam là tên Latin và những tên Việt Nam thông dụng khác nếu có.
Đối với dược liệu: Có thể dùng tên qui ước của dược liệu hoặc dùng tên cây, con kèm theo bộ phận dùng làm thuốc để làm tên chuyên luận, những từ chỉ bộ phận dùng làm thuốc để trong dấu ngoặc đơn, ví dụ: (Lá), (Quả), (Thân rễ).... Tên qui ước của dược liệu là tên của vị thuốc đã được dùng trong y học cổ truyền, ví dụ: Phù bình, Bạch giới tử...
Mỗi chuyên luận của Dược điển Việt Nam V (chuyên luận riêng hay phụ lục) là một tiêu chuẩn về chất lượng thuốc hoặc phương pháp kiểm nghiệm thuốc của Việt Nam.
2. Nguyên tử lượng các nguyên tố trong Dược điển Việt Nam V là các giá trị đã được thừa nhận ghi trong Phụ lục 18. Bảng nguyên tử lượng các nguyên tố.
3. Các đơn vị đo lường dùng trong Dược điển Việt Nam V đều tuân theo Luật Đo lường ban hành ngày 11/11/2011 và Nghị định của Chính phủ số 86/2012/NĐ-CP ngày 19/10/2012 quy định chi tiết và hướng dẫn thi hành một số điều của Luật Đo lường.
4. Các đơn vị đo lường được viết tắt như sau:

Mét: m	Giờ: h
Decimét : dm	Phút: min
Centimét: cm	Giây: s
Milimét: mm	KilôPascan: kPa
Micrômét: µm	Pascan: Pa
Nanômét: nm	Pascan giây: Pa·s
Lít: l hoặc L	Ampe: A
Mililít: ml hoặc mL	Miliampe: mA
Microlít: µl hoặc µL	Vôn: V
Kilôgam: kg	Milivôn: mV
Gam: g	Mol: mol
Miligam: mg	Mol trên lít: mol/l, Mol/L, M
Centigam: cg	Becơren: Bq
Microgam: µg	Đơn vị quốc tế: IU hoặc đvqt
Nanôgam: ng	Độ Celsius: °C
	Phần trăm: %

5. Nếu không có chỉ dẫn khác, mọi nhiệt độ được ghi trong Dược điển Việt Nam V đều được biểu thị bằng độ bách phân Celsius, ký hiệu là "°C".
6. Nhiệt độ tiêu chuẩn được qui định là 20 °C, nhiệt độ bình thường của phòng thí nghiệm (nhiệt độ phòng) được qui định là 20 °C đến 30 °C. Nếu không có chỉ dẫn gì khác, tất cả thử nghiệm đối với thuốc phải thực hiện ở nhiệt độ phòng (20 °C đến 30 °C) và những nhận xét kết quả phải thực hiện ngay sau khi thao tác. Tuy nhiên khi đánh giá kết quả một thử nghiệm bị ảnh hưởng bởi nhiệt độ thì phải thực hiện ở điều kiện nhiệt độ tiêu chuẩn (20 °C).
Trong thử nghiệm "Mất khối lượng do làm khô", nếu chỉ qui định tiến hành ở một nhiệt độ nào đó, thì giới hạn cho phép về nhiệt độ được hiểu là: Nhiệt độ qui định ± 2 °C (ví dụ: 100 °C nghĩa là 100 °C ± 2 °C).
7. Nhiệt độ nước: Nước cách thủy là nước có nhiệt độ 98 °C đến 100 °C, trừ khi có chỉ dẫn khác; cụm từ "trong cách thủy" có nghĩa là dụng cụ ngâm trong nước đun sôi, "trên cách thủy" có nghĩa là dụng cụ chỉ tiếp xúc với hơi nước đun sôi.
Nước nóng: 70 °C đến 80 °C.
Nước ấm: 40 °C đến 50 °C.
Nước lạnh: 2 °C đến 10 °C.
Nước đá: 0 °C.
8. Nhiệt độ nơi bảo quản:
Lạnh sâu: Dưới -10 °C.
Lạnh: 2 °C đến 10 °C.

Mát: 10 °C đến 20 °C.
Nhiệt độ phòng: 20 °C đến 30 °C (là nhiệt độ phổ biến ở nơi làm việc).
Nhiệt độ phòng có điều nhiệt: 20 °C đến 25 °C (là nhiệt độ được duy trì bằng máy điều hòa nhiệt độ).
Nóng: 35 °C đến 40 °C.
Rất nóng: Trên 40 °C.
9. Áp suất được biểu thị bằng số đơn vị kilôPascan (kPa).
1 kPa = 7,5006 Torr.
1 Torr là áp suất dưới cột thủy ngân 1 mm.
Nếu ghi "chân không" mà không có chỉ dẫn gì khác thì có nghĩa là áp suất không quá 2,0 kPa (15 mm thủy ngân).
10. Khái niệm "cân chính xác" là cân tới 0,1 mg, 0,01 mg hoặc 0,001 mg tùy theo độ nhạy của loại cân phân tích dùng để cân sao cho sai số của phép cân không quá 0,1 %.
Khối lượng cân được có độ chính xác phù hợp với độ lặp lại xác định. Độ lặp lại đó tương ứng với +5 hoặc -5 đơn vị sau chữ số có nghĩa cuối cùng đã cho; ví dụ: Lượng cân 0,25 g nghĩa là lượng cân đó nằm trong khoảng 0,245 g đến 0,255 g.
Khái niệm "cân" nghĩa là phép cân được thực hiện với sai số dưới 1 %.
Khái niệm "cân khoảng" là cân để lấy một lượng không quá ± 10 % lượng chỉ định trong chuyên luận.
Khái niệm "sấy đến khối lượng không đổi" và "nung đến khối lượng không đổi" nghĩa là hai lần cân liên tiếp không khác nhau quá 0,5 mg. Lần cân thứ hai tiến hành sau một thời gian sấy hoặc nung thêm (thường 1 h là thích hợp) tùy theo tính chất và lượng cân.
Khái niệm "đã cân trước" (đối với chén nung, bình, vại...) nghĩa là dụng cụ được xử lý đến khối lượng không đổi. Nếu trong chuyên luận có qui định phải cân một cắn hay một tủa (sấy khô, nung, đun bốc hơi) trong những dụng cụ thì có nghĩa là những dụng cụ này được sấy hoặc nung đến khối lượng không đổi.
Khái niệm "cắn không đáng kể" hay "cắn không thể cân được" là cắn không nặng quá 0,5 mg.
11. Khi đo thể tích, nếu chữ số sau dấu thập phân là 0 hoặc tận cùng bằng 0 thì thể tích đó phải đong, đo chính xác (ví dụ 10,0 ml hoặc 0,50 ml). Khái niệm "đong, đo chính xác" để lấy một thể tích dung dịch hay chất lỏng là phải đong đo bằng pipet chính xác, bình định mức hay buret chuẩn. Còn "đong, đo" được hiểu là dùng ống đong hoặc những phương tiện khác thích hợp để đo thể tích. Những thể tích cỡ microlít được đo bằng micropipet hay microsyringe (bơm chất lỏng siêu vi).
Để đếm giọt, dùng ống đếm giọt chuẩn. 20 giọt nước tinh khiết của ống này ở 20 °C có khối lượng từ 0,90 g đến 1,10 g.
12. "*Nước*" có nghĩa là nước tinh khiết. Nước tinh khiết được sử dụng trong tất cả các thử nghiệm thuốc nhưng không dùng với những chế phẩm tiêm.
13. Một dung dịch, nếu không ghi rõ dung môi sử dụng thì được hiểu là dung dịch trong nước tinh khiết hay nước cất.
14. Khái niệm "ngay" và " ngay lập tức" dùng trong thử nghiệm thuốc có nghĩa là thao tác này phải thực hiện trong vòng 30 s sau thao tác trước đó.
15. Thử định tính là phép thử cần thiết để nhận biết một dược chất hay những thành phần chính của thuốc dựa trên tính chất vật lý hay hóa học đặc trưng. Nhận biết một dược liệu hay thuốc từ dược liệu dựa trên mô tả, đặc điểm vi phẫu, bột và các phép thử vật lý hóa học đặc trưng.
Phổ hấp thụ hồng ngoại là phương pháp chuẩn xác để định tính, vì mỗi một chất chỉ cho một vùng "điểm chỉ" của phổ, không trùng lặp với phổ của những chất khác. Những đặc tính của phổ hồng ngoại có thể được dùng như là phép thử hàng đầu để định tính. Thường thì phép thử phổ hồng ngoại tự nó đã đủ tin cậy và không cần thêm phép thử nào khác. Tuy nhiên, khi một sản phẩm là một muối thì cần thiết thử thêm "ion đặc hiệu". Những phép thử định tính tiếp theo trong mỗi chuyên luận là để khẳng định lại về định tính của phổ hồng ngoại đã làm trước. Trong trường hợp cần thiết, cần tiến hành xác định thêm điểm chảy của thuốc; khi điểm chảy không có sự lặp lại đúng như nhiệt độ đã qui định thì có thể dùng một giá trị xấp xỉ, giới hạn sai số được qui định trong chuyên luận riêng.
16. Thử tinh khiết là tập hợp các phép thử nhằm phát hiện những tạp chất nhiễm vào thuốc. Để kiểm tra độ tinh khiết, phải thử xác định sự có mặt các tạp chất, số lượng và giới hạn của chúng cũng như những yêu cầu khác tùy theo mỗi chuyên luận. Những tạp chất được coi là đối tượng phải thử là những chất thường được đưa vào trong quá trình sản xuất hoặc xuất hiện trong quá trình bảo quản và những tạp chất bất thường như những kim loại nặng, arsen...Dược điển chỉ quy định kiểm tra những tạp chất thường gặp. Điều này có nghĩa là Dược điển không chấp nhận những tạp chất khác có trong thuốc mặc dù không được ghi trong Dược điển. Mỗi khi có sự thay thế chất này bằng chất khác hoặc cho thêm một chất mới trong thực hiện qui trình thì phải có thêm những phép thử tương ứng. Nồng độ của tạp chất được biểu thị bằng phần triệu của khối lượng, hoặc khi giới hạn vượt quá 500 phần triệu thì được biểu thị bằng phần trăm (%). Những giá trị này chỉ là khoảng giá trị phù hợp với những yêu cầu đã được xác định dựa trên sự thích hợp với những thử nghiệm đã cho.

17. Trong chuyên luận kháng sinh, tại mục định lượng có ghi đồng thời hai phương pháp là phương pháp vi sinh vật và phương pháp hóa học hay hóa lý; mỗi phương pháp đều có thể được sử dụng. Phương pháp định lượng vi sinh vật được coi như phương pháp được khuyến cáo áp dụng, nếu dùng phương pháp khác để định lượng thì phương pháp đó không được kém tin cậy hơn phương pháp vi sinh vật. Nếu kết quả của hai phương pháp quá chênh lệch thì lấy kết quả theo phương pháp vi sinh vật để kết luận (trừ khi có chỉ dẫn khác).

18. Phương pháp thử qui định trong Dược điển Việt Nam có thể được thay thế bằng những phương pháp khác có độ đúng và độ chính xác cao hơn. Tuy nhiên, khi có sự chênh lệch, nghi ngờ, thì chỉ kết quả thu được từ phương pháp ghi trong Dược điển là có giá trị để đưa ra kết luận cuối cùng.

19. Nếu trong chuyên luận có ghi việc xác định phải tiến hành so sánh với một chất chuẩn hay chất đối chiếu (DC) thì phải dùng các chất này theo qui định tại Phụ lục 2.5.

20. Khi thử nghiệm hay định lượng (trừ chỉ dẫn khác) nếu qui định mẫu thử phải so sánh với mẫu kiểm tra trắng thì phải chuẩn bị mẫu này như mẫu thử nhưng không cho chất cần thử hay cần định lượng và phải tiến hành song song cùng điều kiện như mẫu thử. Cũng tương tự như vậy khi thử nghiệm được yêu cầu tiến hành song song với mẫu đối chiếu (chứng).

21. Các kết quả định lượng được tính đến một số lẻ thập phân cần thiết nhiều hơn yêu cầu một chữ số rồi làm tròn lên hay xuống như sau:

Nếu con số cuối cùng đã tính được là 5 đến 9 thì con số đứng trước nó được tăng thêm 1.

Nếu con số cuối cùng đã tính được là dưới 5 thì con số đứng trước nó không thay đổi.

Các phép tính khác, thí dụ chuẩn hóa các dung dịch chuẩn độ cũng tiến hành tương tự.

Thí dụ: 8,2758 làm tròn số là 8,276.

1,2634 làm tròn số là 1,263.

22. Hàm lượng tiêu chuẩn: Hàm lượng tiêu chuẩn của một chất qui định trong một chuyên luận được thể hiện tính theo công thức hóa học có thể có giới hạn trên 100 % của chất đó, giới hạn trên này áp dụng với kết quả định lượng tính theo hàm lượng tương đương của công thức hóa học mà chất đó qui định. Ví dụ: Ghi chứa không ít hơn 98,5 % và không lớn hơn 102,0 % của $C_{12}H_{22}CaO_{14}.H_2O$ nghĩa là kết quả định lượng không được ít hơn 98,5 % và không nhiều hơn 102,0 % tính theo hàm lượng tương đương của $C_{12}H_{22}CaO_{14}.H_2O$.

Nếu trong chuyên luận riêng không ghi giới hạn trên thì có nghĩa là giới hạn trên không quá 101,0 %.

23. Trong các chuyên luận, ở mục mô tả hoặc tính chất, thuật ngữ "trắng" có nghĩa là trắng hoặc gần như trắng; "không màu" có nghĩa là không có màu hoặc gần như không màu; "không mùi" có nghĩa là không có mùi hoặc thực tế không có mùi. Trừ khi có các chỉ dẫn khác, cách thử màu sắc hoặc mùi được tiến hành như sau:

a) Màu:

Chất rắn: Lấy 1 g chất thử cho lên trên một tờ giấy trắng hoặc mặt kính đồng hồ không màu đặt lên trên tờ giấy trắng rồi quan sát.

Chất lỏng: Cho chất thử vào trong một ống nghiệm không màu, đường kính bên trong 15 mm, đặt trước một nền trắng cách ống 30 mm, nhìn ngang ống dưới ánh sáng ban ngày.

b) Mùi:

Chất rắn: Trên một mặt kính đồng hồ, đường kính từ 6 cm đến 8 cm, lấy từ 0,5 g đến 2,0 g chất thử trải thành lớp mỏng, sau 15 min, xác định mùi bằng cảm quan.

Chất lỏng: Lấy 2 ml chất thử cho vào mặt kính đồng hồ như trên rồi xác định mùi bằng cảm quan.

24.Trong cách biểu thị nồng độ dung dịch, nếu không có chỉ dẫn gì khác, nồng độ được biểu thị là phần trăm (%) khối lượng trên thể tích (kl/tt), tính theo số gam chất hòa tan trong 100 ml dung dịch, ký hiệu là % (kl/tt) hoặc %.

Các trường hợp khác biểu thị bằng các ký hiệu và được hiểu như sau:

% (kl/kl): Số gam chất hòa tan trong 100 g dung dịch.

% (tt/tt): Số mililít chất hòa tan trong 100 ml dung dịch.

% (tt/kl): Số mililit chất hòa tan trong 100 g dung dịch.

25. Ethanol không có chỉ dẫn gì khác thì có nghĩa là ethanol tuyệt đối.

Khái niệm "alcol" không có chỉ dẫn gì có nghĩa là alcol chứa khoảng 96 % (tt/tt) ethanol (C_2H_6O). Dung dịch ethanol trong nước ở những nồng độ khác được chỉ bằng từ ethanol kèm theo tỷ lệ phần trăm (tt/tt) hoặc (kl/kl) ethanol (C_2H_6O) trong dung dịch đó. Nếu chỉ ghi ethanol kèm theo tỷ lệ phần trăm thì được hiểu là phần trăm theo thể tích (tt/tt), ví dụ: Ethanol 70 %.

26. Ether có nghĩa là ether ethylic.

Các ether dầu hỏa: Khi viết kèm giới hạn về nhiệt độ thì giới hạn này được hiểu là khoảng sôi. Ví dụ: Ether dầu hỏa (30 °C đến 40 °C) nghĩa là ether dầu hỏa có khoảng sôi từ 30 °C đến 40 °C.

27. Hỗn hợp của các chất lỏng được ghi theo ký hiệu 10 : 1, hoặc 50 : 9 : 1, v.v... có nghĩa là hỗn hợp các chất đó thứ tự theo thể tích. Thí dụ: *cloroform - methanol - amoniac* (50 : 9 : 1) có nghĩa là lấy lần lượt 50 ml cloroform trộn đều với 9 ml methanol và 1 ml amoniac thành một hỗn hợp. Trong chuyên luận, tên các chất lỏng trong hỗn hợp được in nghiêng và không có chữ (TT) đi kèm sau.

28. Trong chuyên luận, tên các hóa chất, thuốc thử, dung dịch thử, chất chỉ thị, dung dịch chuẩn độ, dung dịch mẫu, dung dịch đệm được trình bày bằng chữ nghiêng và có chữ *(TT)* nếu có trong Phụ lục 2.1. Các thuốc thử chung; Phụ lục 2.3. Các dung dịch đệm và Phụ lục 2.4. Các dung dịch mẫu hoặc có chữ *(CĐ)* nếu có trong Phụ lục 2.2. Các dung dịch chuẩn độ.

29. Các định nghĩa về độ tan như sau:

"Tan" có nghĩa là chất thử (đã được tán nhỏ thành bột nếu là chất rắn) hòa tan được trong dung môi tạo thành một dung dịch trong, đồng nhất, không còn những phần tử của chất thử. Xác định độ tan bằng cách cho lượng dung môi vào chất thử để ở nhiệt độ (25 ± 2) °C trong 30 min, cứ cách 5 min lại lắc 30 s.

Độ tan được biểu thị như sau:

Độ tan	Số ml dung môi hòa tan 1 g chất thử
Rất tan	Dưới 1
Dễ tan	Từ 1 đến 10
Tan	Trên 10 đến 30
Hơi tan	Trên 30 đến 100
Khó tan	Trên 100 đến 1 000
Rất khó tan	Trên 1 000 đến 10 000
Thực tế không tan	Trên 10 000

30. Độ acid hay độ kiềm của dung dịch, nếu không có chỉ dẫn gì khác, được xác định bằng giấy quỳ xanh hay đỏ. Muốn xác định những tính chất này chính xác hơn thì phải đo pH bằng pH kế.

31. Bình hút ẩm: Cụm từ "trong bình hút ẩm" có nghĩa là dùng một bình kín có kích thước thích hợp, bên trong chứa silica gel hoặc một chất làm khô khác để giữ cho không khí trong bình có độ ẩm thấp.

Bình hút ẩm chân không: Là bình hút ẩm chứa một chất làm khô thích hợp và có áp suất không quá 2,0 kPa (15 mm thủy ngân), nếu không có chỉ dẫn khác.

32. Danh pháp thực vật, động vật của cây, con làm thuốc gồm tên chi và tên loài, họ thực vật hay động vật.

33. Dược liệu được ghi trong Dược điển là bộ phận dùng làm thuốc có lưu hành trên thị trường, không lẫn tạp chất. Trong Dược điển, việc thu thập xử lý dược liệu tại chỗ chỉ bao hàm riêng bộ phận dùng.

34. Qui cách đặc điểm dược liệu được mô tả dựa trên dược liệu khô nói chung. Chất lượng tiêu chuẩn của dược liệu tươi cũng được qui định nếu đem dùng tươi.

35. Phần mô tả dược liệu chỉ đề cập đến bộ phận dùng làm thuốc, không mô tả toàn bộ con vật hay toàn bộ cây cung cấp dược liệu đó.

36. Việc làm khô dược liệu tại chỗ, hay làm khô trong quá trình thu hái dược liệu được hiểu như sau:

a. Thuật ngữ "làm khô", có nghĩa là có thể sấy, nướng khô, phơi dưới ánh sáng mặt trời hoặc phơi trong bóng râm (phơi âm can).

b. Thuật ngữ "làm khô ở nhiệt độ thấp" có nghĩa là phơi, sấy khô ở nhiệt độ không quá 60 °C, được dùng cho dược liệu không chịu được nhiệt độ cao.

c. Thuật ngữ "phơi âm can" có nghĩa là phơi trong bóng râm ngoài không khí, được dùng cho dược liệu không sấy, nướng, không phơi nắng được.

d. Trong một số trường hợp, dược liệu phải phơi khô trong thời gian ngắn, thuật ngữ được dùng là "phơi nhanh dưới nắng to", "phơi đúng thời gian".

e. Thuật ngữ "dược liệu khô kiệt" có nghĩa là dược liệu được điều chỉnh khối lượng bằng cách trừ đi khối lượng nước được xác định theo phương pháp sấy hoặc cất với dung môi ghi trong chuyên luận riêng.

37. Đặc điểm vi phẫu (thường là đặc điểm mặt cắt ngang dược liệu), soi bột dược liệu và những vi đặc điểm khác của một dược liệu là những đặc điểm của vật mẫu quan sát dưới kính hiển vi.

38. Các dược liệu, dược chất, tá dược và chất phụ gia dùng trong một chế phẩm phải tuân theo những qui định của Dược điển. Những điều Dược điển không qui định thì phải tuân theo qui định hiện hành của Bộ Y tế.

Tá dược, chất phụ gia đem dùng không được phương hại tới tính an toàn và tính hiệu quả của thuốc. Cần chú ý tránh làm cản trở phương pháp phân tích đã qui định trong chuyên luận Dược điển.

39. Dược liệu dùng sản xuất thuốc thành phẩm (thuốc dược liệu, thuốc cổ truyền) phải đạt tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam. Nếu có yêu cầu dùng dược liệu đã bào chế thì qui trình bào chế phải được tiến hành theo phương pháp qui định trong chuyên luận Dược điển. Trừ khi có những chỉ dẫn khác.
40. Khối lượng qui định cho mỗi thành phần trong công thức của một chế phẩm thuốc từ dược liệu được tính theo khối lượng dược liệu sạch, đã tán thành bột hoặc đã được xử lý.
41. Dược liệu sử dụng theo đường uống thường dùng dưới dạng thuốc sắc, trừ khi có những chỉ dẫn khác.
42. Liều lượng qui định dùng trong dược điển là liều dùng thông thường đối với người trưởng thành. Việc sửa đổi, điều chỉnh liều lượng tùy thuộc vào tình trạng bệnh tật của từng người bệnh cụ thể. Liều tối đa của một thuốc là liều cao nhất mà người trưởng thành có thể chịu được và không được dùng quá liều; trừ khi có những chỉ dẫn khác.
43. Nước dùng trong bào chế thuốc dược liệu, thuốc cổ truyền là nước sạch, nước uống đạt theo tiêu chuẩn vệ sinh y tế.
44. Rượu dùng trong bào chế dược liệu, thuốc dược liệu, thuốc cổ truyền là rượu được làm từ gạo, ngô, sắn... có hàm lượng ethanol từ 30 % đến 40 % trừ khi có qui định trong chuyên luận riêng.
45. Những yêu cầu cơ bản về bảo quản thuốc được ghi ở mục "Bảo quản". Đồ đựng là phương tiện để bảo quản thuốc, yêu cầu của đồ đựng cũng bao gồm cả những phần hợp thành như là nút hay nắp. Các đồ đựng phải kín, không được làm ảnh hưởng đến chất lượng thuốc đựng bên trong, không cho môi trường bên ngoài tác động ảnh hưởng đến chất lượng và phải đạt theo qui định của Dược điển Việt Nam.
Về nhiệt độ nơi bảo quản phải thực hiện đúng yêu cầu qui định.
"Tránh ánh sáng" có nghĩa là chất đựng được để trong chai lọ thủy tinh màu hổ phách, hoặc chai lọ thủy tinh màu, chai lọ thủy tinh bọc bằng giấy đen hoặc bất kỳ đồ đựng nào không bị ảnh hưởng bởi ánh sáng.
"Đậy kín" có nghĩa là đồ đựng có thể tránh cho các chất đựng bên trong không bị bụi bẩn và các chất lạ bên ngoài nhiễm vào.
"Hàn kín" có nghĩa là đồ đựng phải kín hơi và có thể bảo vệ chất đựng trong đó chống được hơi ẩm và các vi khuẩn.
46. Nhãn thuốc phải theo đúng quy định hiện hành.

KÝ HIỆU CÁC CHỮ VIẾT TẮT

DĐVN V:	Dược điển Việt Nam lần xuất bản thứ năm.
P.t.l:	Phân tử lượng
TT:	Thuốc thử.
TT_1, TT_2, TT_3:	Thuốc thử 1, thuốc thử 2, thuốc thử 3...
ĐC:	Chất đối chiếu.
CĐ:	Chuẩn độ (Dung dịch).
BCG:	Bacillus Calmette - Guérin.
Lf/ mg PN:	Đơn vị lên bông trong 1 mg nitơ protein.
Lf/ mg N:	Đơn vị lên bông trong 1 mg nitơ toàn phần.
Kf:	Thời gian xuất hiện hiện tượng lên bông (tính theo phút) khi được theo dõi trong phản ứng lên bông.
Lf:	Lượng độc tố hoặc giải độc tố khi trộn với 1 IU kháng độc tố sẽ xuất hiện lên bông trong thời gian ngắn nhất.
L+:	Lượng độc tố tối thiểu khi kết hợp với 1 IU kháng độc tố có thể giết chết một con vật có cân nặng xác định trong bốn ngày (Liều L+ phụ thuộc vào từng loại động vật thí nghiệm).
L+/ 10:	Lượng độc tố tối thiểu khi kết hợp với 0,1 IU kháng độc tố có thể giết chết một vật thí nghiệm có cân nặng xác định trong bốn ngày.
Lr:	Lượng độc tố tối thiểu khi kết hợp với một lượng kháng độc tố cố định (thường là 0,002 IU kháng độc tố) trong thể tích 0,2 ml sẽ gây phản ứng da tại chỗ có thể nhìn thấy được (chỉ đối với bạch cầu).
LD_{50}:	Lượng độc tố giết 50 % của một nhóm động vật trong vòng 4 ngày (LD_{50} khác nhau tùy theo từng loại động vật thí nghiệm)
MLD:	Liều gây chết nhỏ nhất, là lượng độc tố có thể giết chết các súc vật trong vòng 4 ngày (MLD khác nhau tùy theo loại động vật thí nghiệm). Nói chung, MLD đã được thay thế bằng LD_{50}.
ED_{50}:	Liều vắc xin bảo vệ được 50 % động vật đã được gây miễn dịch chống lại một liều thử thách của vi khuẩn độc hoặc độc tố.
ABV:	Đơn vị kết hợp kháng độc tố (Antitoxin Binding Value), là giá trị xác định lượng độc tố thêm vào giải độc tố thành một hỗn hợp (xác định kiểm tra trên động vật thí nghiệm).
CPE:	Tác động gây bệnh tế bào (Cytopathic effect).

MEM:	Môi trường MEM (Minimum Essential Medium).
FCS:	Huyết thanh bào thai bê (Foetal Calf Sera).
$CCID_{50}$:	Lượng virus gây nhiễm 50% tế bào (Cell culture infective dose).
NMSL:	Nước muối sinh lý.
EU:	Đơn vị nội độc tố (Endotoxin Unit).
Nước BET:	Nước để thử nội độc tố.
Me:	- CH_3 (methyl)
Et:	- CH_2CH_3 (ethyl)
Pr^i:	- $CH(CH_3)_2$ (*iso*-propyl)
Pr^n:	- $CH_2CH_2CH_3$ (*n*-propyl)
Bu^i:	- $CH_2CH(CH_3)_2$ (*iso*-butyl)
Bu^s:	- $CH(CH_3)CH_2CH_3$ (*sec*-butyl)
Bu^n:	- $CH_2CH_2CH_2CH_3$ (*n*-butyl)
Bu^t:	- $C(CH_3)_3$ (*tert*-butyl)
Ph:	- C_6H_5 (phenyl)
Ac:	- $COCH_3$ (acetyl)

Các chuyên luận

HUYẾT THANH, SINH PHẨM VÀ VẮC XIN

HUYẾT THANH MIỄN DỊCH DÙNG CHO NGƯỜI
Immunosera ad usum humanum

Huyết thanh miễn dịch dùng cho người là chế phẩm có chứa globulin miễn dịch có khả năng trung hòa kháng nguyên đặc hiệu.

Sản xuất
Huyết thanh miễn dịch thu được từ động vật hoặc từ người đã được gây miễn dịch. Huyết thanh miễn dịch phải được tinh chế để lượng globulin đạt theo quy định và để loại bỏ các protein không cần thiết.
Có thể cho thêm chất bảo quản vào thành phẩm.
Trong huyết thanh miễn dịch dạng đông khô, độ ẩm tồn dư không được quá 3 % (kl/kl).
Huyết thanh miễn dịch dạng lỏng phải không có màu hoặc màu vàng nhạt, không có cặn. Huyết thanh miễn dịch dạng đông khô phải dễ hòa tan thành dung dịch không màu hoặc màu vàng nhạt, có cùng đặc tính như sản phẩm ở dạng lỏng.

Các thử nghiệm kiểm định

pH
6,0 đến 7,0 (Phụ lục 15.33).

Protein ngoại lai
Chỉ có protein của loài động vật hoặc người dùng để sản xuất huyết thanh miễn dịch (Phụ lục 15.10).

Protein tổng số
Không quá 170 g/l (Phụ lục 15.18).

Albumin
Chỉ được ở dạng vết khi phát hiện bằng phương pháp điện di miễn dịch.

Chất bảo quản
Thimerosal: Không quá 0,02 % (Phụ lục 15.29).
Phenol: Không quá 0,25 % (Phụ lục 15.28).

Vô khuẩn
Có thể thực hiện bằng kỹ thuật nuôi cấy trực tiếp hoặc kỹ thuật nuôi cấy màng lọc (Phụ lục 15.7).
Tiêu chuẩn: Không có vi khuẩn hoặc vi nấm mọc trên môi trường thích hợp sau thời gian 14 ngày ở nhiệt độ 30 °C đến 35 °C đối với kiểm tra vi khuẩn và 20 °C đến 25 °C đối với kiểm tra vi nấm.

Công hiệu
Kiểm tra công hiệu được thực hiện theo hướng dẫn đối với mỗi loại huyết thanh miễn dịch và được biểu thị bằng số đơn vị quốc tế (IU) trong 1 ml.
Đơn vị quốc tế: Được xác định theo quy định của Tổ chức Y tế Thế giới.
Tiêu chuẩn: Mỗi loại huyết thanh miễn dịch có tiêu chuẩn công hiệu riêng.

An toàn chung
Dùng 5 chuột nhắt trắng nặng 17 g đến 22 g mỗi con và 2 chuột lang nặng 250 g đến 350 g mỗi con.
Tiêm phúc mạc chuột lượng huyết thanh miễn dịch bằng một liều dùng cho người, nhưng không quá 1 ml cho mỗi chuột nhắt trắng và không quá 5 ml cho mỗi chuột lang (Phụ lục 15.11).
Tiêu chuẩn: Sau ít nhất 7 ngày theo dõi, chuột không giảm cân và không có biểu hiện bệnh lý.

Chất gây sốt
Tiêm với liều từ 0,5 ml đến 10 ml cho 1 kg cân nặng thỏ tùy theo quy định đối với từng loại huyết thanh miễn dịch (Phụ lục 15.12).
Tiêu chuẩn: Thân nhiệt ban đầu phải nằm trong khoảng 38 °C đến 39,8 °C; hiệu số nhiệt giữa hai lần đo không quá 0,2 °C; thân nhiệt ban đầu giữa các thỏ chênh lệch không quá 1 °C; thân nhiệt cao nhất của thỏ đo được trong khoảng 3 h sau khi tiêm là giá trị cần xác định, giá trị này không quá 0,6 °C đối với mỗi thỏ và tổng giá trị của 3 thỏ không quá 1,3 °C (Phụ lục 15.12).

Bảo quản, hạn dùng
Sinh phẩm được giữ ở điều kiện lạnh, nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C. Không làm đông băng huyết thanh miễn dịch dạng lỏng.
Hạn dùng được tính từ khi bắt đầu kiểm tra công hiệu, tùy từng nhà sản xuất và được cơ quan kiểm định quốc gia phê chuẩn.

Nhãn, hộp
Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

GLOBULIN MIỄN DỊCH NGƯỜI
Immunoglobulinum humanum normale

Globulin miễn dịch người là chế phẩm dạng lỏng hoặc đông khô có chứa các globulin miễn dịch, chủ yếu là IgG từ huyết tương người bình thường.
Globulin miễn dịch ở dạng lỏng là dung dịch trong suốt, không màu hoặc có màu nâu-vàng nhạt.
Globulin miễn dịch đông khô là bột màu trắng hoặc vàng nhạt, có dạng khối xốp, mịn.
Globulin miễn dịch người không đặc hiệu được chỉ định dùng để điều trị phòng ngừa nhiễm viêm gan A, viêm gan B, sởi, rubella... hoặc trong các trường hợp bị thiếu hụt globulin gamma, các trường hợp đang điều trị ức chế miễn dịch, bị nhiễm trùng nhưng kháng thuốc kháng sinh.

Sản xuất
Globulin miễn dịch được điều chế từ huyết tương của tối thiểu 1000 người. Huyết tương nguồn có thể được chiết tách trực tiếp từ máu người hoặc từ huyết tương đông băng có chứa không ít hơn 0,1 đơn vị kháng độc tố bạch hầu hoặc kháng độc tố uốn ván và không ít hơn 0,25 đơn vị kháng thể kháng sởi.
Phần có chứa globulin miễn dịch lớp G được phân tách bằng phương pháp sắc ký cột sao cho không làm hỏng các

cấu trúc kháng thể, đảm bảo ngăn ngừa sự lan truyền của các virus viêm gan và các vi sinh vật khác, nồng độ của globulin miễn dịch phải đạt 50 g/l với nhiều loại kháng thể khác nhau và ít nhất 2 trong số đó (một loại kháng vi khuẩn và một loại kháng virus) phải có nồng độ cao hơn tối thiểu gấp 3 lần so với nồng độ ban đầu. Các chất bảo quản kháng vi sinh vật hoặc chất ổn định có thể được sử dụng nhưng không được làm ảnh hưởng đến hiệu giá của các kháng thể.

Nhận dạng

Nhận dạng Globulin miễn dịch có nguồn gốc từ huyết tương người:

Globulin miễn dịch người được nhận dạng qua thử nghiệm kết tủa bằng cách sử dụng các kháng huyết thanh đặc hiệu đối với protein huyết tương người.

Tiêu chuẩn đánh giá: Mẫu thử nghiệm phải có phản ứng dương tính với kháng huyết thanh đặc hiệu đối với người và phải có phản ứng âm tính với kháng huyết thanh đặc hiệu của loài khác.

Nhận dạng Globulin miễn dịch lớp G (IgG):

Sử dụng kháng huyết thanh đặc hiệu kháng huyết thanh người để so sánh giữa huyết thanh người bình thường và mẫu thử nghiệm bằng kỹ thuật điện di miễn dịch.

Tiêu chuẩn đánh giá: Thành phần chính của mẫu thử nghiệm phải tương ứng với thành phần IgG của huyết thanh người bình thường.

Hiệu giá

Hiệu giá của kháng độc tố bạch hầu hoặc kháng độc tố uốn ván

Hiệu giá của kháng độc tố bạch hầu: Phụ lục 15.15.

Hiệu giá của kháng độc tố uốn ván: Phụ lục 15.16.

Tiêu chuẩn đánh giá: Hàm lượng kháng độc tố bạch hầu hoặc kháng độc tố uốn ván không nhỏ hơn 2 IU/ml mẫu thử nghiệm.

Hiệu giá của kháng thể kháng sởi

Hiệu giá của kháng thể kháng sởi của globulin miễn dịch người không đặc hiệu được xác định bằng kỹ thuật trung hòa trên tế bào Vero và tính bằng số đơn vị quốc tế trong 1 ml (IU/ml).

Vật liệu:

Mẫu thử nghiệm: Globulin miễn dịch người.

Mẫu chuẩn quốc tế.

Huyết thanh bào thai bê.

Tế bào Vero

Virus sởi giảm độc lực để trung hòa.

Môi trường 199 có chứa 2 % huyết thanh bào thai bê.

Trypsin 0,25 %.

Phiến nhựa nuôi tế bào 96 giếng, đáy bằng.

Tiến hành: Tiến hành đồng thời trên 2 phiến cho 1 lần thử nghiệm.

Phiến 1:

Pha loãng mẫu chuẩn và mẫu thử nghiệm với môi trường 199 để có dung dịch chứa 5 IU/ml.

Tiếp tục pha loãng bậc 2 liên tiếp từ dung dịch pha loãng trên của mẫu thử nghiệm và mẫu chuẩn để có các dung dịch 2^{-1}; 2^{-2}; 2^{-3}; ... đến 2^{-12}.

Pha virus sởi trung hòa bằng môi trường 199 để có dung dịch chứa 100 $CCID_{50}$/50 µl (Cell Culture Infectious Dose - Liều gây hủy hoại 50 % tế bào).

Nhỏ 50 µl từ mỗi dung dịch đã pha loãng của mẫu thử nghiệm và mẫu chuẩn ở các độ pha từ 2^{-6} đến 2^{-12} vào 7 giếng theo sơ đồ bố trí trên phiến trước.

Nhỏ 50 µl dung dịch virus trung hòa.

Để ở tủ ấm 37 °C, 5 % CO_2 trong vòng 60 min đến 90 min.

Chuẩn bị dung dịch tế bào Vero có nồng độ 2×10^5/ml.

Nhỏ 100 µl dung dịch tế bào vào mỗi giếng.

Để ở tủ ấm 37 °C, 5 % CO_2 trong 7 ngày đến 9 ngày.

Theo dõi sự biến đổi tế bào (CPE) của virus sởi dưới kính hiển vi.

Phiến 2:

Hay được gọi là phiến "chứng", nhằm xác định số $CCID_{50}$/50 µl được dùng để trung hòa trong thử nghiệm xác định hiệu giá của kháng thể kháng sởi.

Từ dung dịch virus sởi gốc lưu giữ ở âm sâu (≤ -35 °C), pha để có 100 $CCID_{50}$/50 µl. Dung dịch này được ký hiệu là 10^0.

Tiếp tục pha loãng bậc 10 từ dung dịch 10^0 để có các độ pha loãng: 10^{-1}; 10^{-2}; 10^{-3} và 10^{-4}.

Nhỏ 50 µl từ mỗi độ pha loãng virus vào một dãy giếng của phiến.

Để ở tủ ấm 37 °C, 5 % CO_2 trong vòng 60 min đến 90 min.

Nhỏ 100 µl dung dịch tế bào có nồng độ 2×10^5/ml.

Để ở tủ ấm 37 °C, 5 % CO_2 trong 7 ngày đến 9 ngày.

Theo dõi CPE dưới kính hiển vi.

Tính số $CCID_{50}$/50 µl để trung hòa trong thử nghiệm:

Tính theo công thức Karber:

$\text{Log } CCID_{50} = -\log C - [(\text{Tổng số \% hủy hoại ở các nồng độ}/100 - 0,5) \times \log d]$

Trong đó:

$CCID_{50}$ là liều virus gây hủy hoại 50 % tế bào;

C là nồng độ virus cao nhất dùng trong thử nghiệm;

% hủy hoại là tỷ lệ giữa số giếng có sự hủy hoại tế bào và tổng số giếng của một độ pha;

d là hệ số (bậc) pha loãng.

Tiêu chuẩn đánh giá: Số $CCID_{50}$/50 µl phải nằm trong khoảng dao động từ 31 đến 316.

Tính liều bảo vệ 50 % tế bào:

Tính theo công thức Karber hoặc Reed-Muench:

$\text{Log } ED_{50} = -\log C - [(\text{Tổng số \% bảo vệ ở các nồng độ}/100 - 0,5) \times \log d]$

Trong đó:

ED_{50} là liều bảo vệ 50 % tế bào;

C là độ pha loãng thấp nhất của mẫu thử hoặc mẫu chuẩn quốc tế dùng trong thử nghiệm bảo vệ được 100% tế bào;

% bảo vệ là tỷ lệ giữa số giếng có tế bào được bảo vệ và tổng số giếng của một độ pha;

d là hệ số (bậc) pha loãng.

Tính hiệu giá:

HG (IU/ml) = (ED_{50} của mẫu chuẩn/ED_{50} của mẫu thử nghiệm) × 5 (IU)

Tiêu chuẩn đánh giá: Hiệu giá của kháng thể kháng sởi phải không được nhỏ hơn 5 IU/ml globulin miễn dịch người không đặc hiệu.

Hàm lượng globulin miễn dịch G (IgG)
Xác định hàm lượng IgG bằng kỹ thuật điện di (Phụ lục 5.6)
Tiêu chuẩn đánh giá: Không nhỏ hơn 90 % hàm lượng protein tổng.

Tính tan
Globulin miễn dịch người đông khô phải tan hoàn toàn trong vòng 20 min ở nhiệt độ 20 °C đến 25 °C sau khi được hoàn nguyên theo hướng dẫn ghi trên nhãn của sản phẩm.

An toàn chung
Phụ lục 15.11.

Chất gây sốt
Phụ lục 15.12.

Vô khuẩn
Đạt vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Nitơ toàn phần
Phụ lục 15.18.

Thimerosal
Không lớn hơn 0,012 % (Phụ lục 15.29).

pH
6,4 đến 7,2 (Phụ lục 15.33).

Đóng gói, bảo quản
Tùy theo nhà sản xuất, trong các lọ thủy tinh không màu, tránh ánh sáng.

Nhãn, hộp
Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

HUYẾT THANH KHÁNG BẠCH HẦU
Immunoserum diphthericum

Huyết thanh kháng độc tố bạch hầu là chế phẩm chứa globulin kháng độc tố, có khả năng trung hòa đặc hiệu ngoại độc tố của *Corynebacterium diphtheriae*.

Nhận dạng
Huyết thanh kháng độc tố bạch hầu trung hòa độc tố của *Corynebacterium diphtheriae* làm cho độc tố này trở nên không độc, vô hại đối với động vật cảm thụ.

Các thử nghiệm kiểm định
Huyết thanh kháng bạch hầu phải đáp ứng các thử nghiệm kiểm định ghi trong chuyên luận "Huyết thanh miễn dịch dùng cho người" và các yêu cầu sau đây:

Công hiệu
Công hiệu của huyết thanh kháng độc tố bạch hầu được thể hiện bằng số đơn vị quốc tế trong 1 ml (IU/ml).
Tiêu chuẩn: Không nhỏ hơn 500 IU/ml.
Xác định công hiệu của huyết thanh kháng độc tố bạch hầu được thực hiện bằng phương pháp trung hòa trong da thỏ hoặc bằng phương pháp trung hòa trên chuột lang có cân nặng mỗi chuột từ 250 g đến 350 g (Phụ lục 15.15).

Bảo quản
Huyết thanh kháng bạch hầu cần được bảo quản trong điều kiện lạnh, ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C, không để đông băng.

Nhãn
Các thông tin ghi trên nhãn được tuân thủ theo quy định chung ghi trong chuyên luận "Huyết thanh miễn dịch dùng cho người".

HUYẾT THANH KHÁNG DẠI
Serum antirabicum

Huyết thanh kháng dại là chế phẩm có chứa globulin miễn dịch kháng virus dại, có khả năng trung hòa đặc hiệu virus dại.

Nhận dạng
Huyết thanh kháng dại trung hòa virus dại làm cho virus mất khả năng gây bệnh, trở nên vô hại đối với động vật cảm thụ.

Các thử nghiệm kiểm định
Huyết thanh kháng dại phải đáp ứng các thử nghiệm kiểm định ghi trong chuyên luận "Huyết thanh miễn dịch dùng cho người" và các yêu cầu sau đây:

Protein ngoại lai: Không được có trong thành phẩm.

Công hiệu
Công hiệu của huyết thanh kháng dại được thể hiện bằng số đơn vị quốc tế trong 1 ml (IU/ml).
Tiêu chuẩn: Không nhỏ hơn 150 IU/ml.
Phương pháp xác định số IU/ml của huyết thanh kháng dại được thực hiện bằng phương pháp trung hòa trên chuột nhắt (Phụ lục 15.17). Phản ứng này dựa trên sự trung hòa một liều cố định hiệu giá virus dại thử thách với các độ pha loãng khác nhau của huyết thanh.

Bảo quản
Huyết thanh kháng dại cần được bảo quản trong điều kiện lạnh, ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C, không để đông băng.

Nhãn
Các thông tin ghi trên nhãn được tuân thủ theo quy định chung, ghi trong chuyên luận "Huyết thanh miễn dịch dùng cho người".

HUYẾT THANH KHÁNG NỌC RẮN

Immunoserum contra venena

Huyết thanh kháng nọc rắn là chế phẩm chứa các globulin miễn dịch kháng nọc rắn có khả năng trung hòa đặc hiệu nọc rắn tương ứng.

Huyết thanh kháng nọc rắn ở dạng lỏng là dung dịch không màu, trong suốt hoặc có màu vàng nhạt, hơi nhớt. Huyết thanh kháng nọc rắn có thể ở dạng đông khô kèm theo nước hồi chỉnh.

Huyết thanh kháng nọc rắn được chỉ định dùng để điều trị bệnh nhân bị rắn cắn.

Sản xuất

Huyết thanh kháng nọc rắn được tinh chế sản xuất từ huyết tương ngựa khỏe mạnh, tuổi từ 4 năm đến 7 năm, cân nặng từ 200 kg trở lên, ngựa đực phải thiến, ngựa cái không được sinh sản, đã được miễn dịch với kháng nguyên nọc rắn. Huyết thanh kháng nọc rắn được tinh chế, cô đặc bằng phương pháp Pope dùng pepsin, có chất bảo quản là merthiolat 1/10000. Sau đó được lọc vô trùng qua màng lọc 0,2 µm, pha chế đến hàm lượng thích hợp và đóng ống.

Nhận dạng

Huyết thanh kháng nọc rắn được nhận dạng thông qua thử nghiệm xác định hiệu giả.

Hiệu giá

Thử nghiệm xác định hiệu giá của huyết thanh kháng nọc rắn được thực hiện trên nguyên lý trung hòa nọc rắn với huyết thanh kháng nọc rắn tương ứng. Thử nghiệm được thực hiện trên chuột nhắt trắng Swiss để xác định số LD_{50} có trong 1 ml huyết thanh.

Phương pháp tiến hành

Vật liệu:

Huyết thanh kháng nọc rắn thử nghiệm.

Nọc rắn tinh chế.

Chuột nhắt trắng Swiss, cân nặng 18 g đến 20 g.

Nước muối sinh lý.

Tiến hành:

*Xác định LD_{50} của nọc rắn:

Pha dung dịch nọc rắn gốc: Pha dung dịch nọc rắn gốc có nồng độ 1000 µg/ml bằng cách cân 10 mg nọc rắn và hòa tan trong 10,0 ml nước muối sinh lý (bảo quản trong tủ lạnh từ 2 - 8 °C).

Pha dung dịch nọc rắn thử nghiệm: Từ dung dịch nọc rắn gốc pha loãng bằng nước muối sinh lý để được dung dịch có nồng độ 250 µg/ml hoặc 500 µg/ml (tùy theo độc lực của nọc rắn).

Từ dung dịch nọc rắn thử nghiệm tiến hành pha loãng cách nhau 1,1 hoặc 1,4 lần thành các độ pha liên tiếp, sao cho sau khi tiêm độ pha loãng thấp nhất chuột phải chết 100 % và độ pha loãng cao nhất chuột phải sống 100 % (sau khi pha xong lắc đều và để ở 37 °C trong 30 min, tránh ánh sáng).

Tiêm tĩnh mạch đuôi chuột với liều 0,5 ml/con. Mỗi độ pha tiêm 6 chuột.

Theo dõi kết quả sau 24 h đến 48 h, theo dõi số chuột sống chết trong mỗi độ pha.

Tính kết quả theo công thức Spearman-Karber:

$$\text{Log } LD_{50} = Xo + d/2 - d \times (\Sigma r_i/n)$$

Trong đó:

Xo là log của nồng độ nọc rắn thấp nhất gây ra chuột chết 100%;

d là log của bậc pha loãng;

r_i là số chuột chết của mỗi độ pha loãng;

n là số chuột được tiêm của mỗi độ pha loãng.

$$LD_{50} = \text{Antilog}LD_{50}$$

* Xác định hiệu giá huyết thanh kháng nọc rắn:

Chuẩn bị dung dịch nọc rắn có chứa 20 LD_{50}/ml: Từ dung dịch nọc rắn gốc (1000 µg/ml, giữ ở 2 - 8 °C), pha bằng nước muối sinh lý để có dung dịch chứa 20 LD_{50}/ml.

Chuẩn bị huyết thanh kháng nọc rắn thử nghiệm: Huyết thanh thử nghiệm (không pha loãng hoặc pha loãng 2 lần, 3 lần, 4 lần... trong trường hợp huyết thanh kháng nọc rắn có hiệu giá cao trên 200 LD_{50}) được lựa chọn tối thiểu 5 độ pha có nồng độ huyết thanh cách nhau liên tiếp 1,1 hoặc 1,4 lần sao cho sau khi trung hòa với một lượng nọc rắn cố định thì mức nồng độ huyết thanh cao nhất phải bảo vệ được 100 % số chuột được tiêm và mức nồng độ huyết thanh thấp nhất gây chết 100 % số chuột được tiêm.

Trung hòa:

Trong một dãy ống nghiệm, lần lượt cho vào mỗi ống:

2,5 ml dung dịch nọc rắn chứa 20 LD_{50}.

Một thể tích thay đổi đã lựa chọn của huyết thanh thử nghiệm.

Một lượng nước muối sinh lý để vừa đủ 5,0 ml trong mỗi ống.

Lắc nhẹ các ống nghiệm, trung hòa ở nhiệt độ 37 °C trong 30 min, tránh ánh sáng. Tiêm 0,5 ml/chuột vào tĩnh mạch đuôi. Dùng 6 chuột cho mỗi độ pha. Theo dõi kết quả sau 24 h đến 48 h.

Tính liều bảo vệ 50 % (ED_{50}) theo công thức Spearman-Karber:

$$\text{Log } ED_{50} = Xo + d/2 - d \times (\Sigma r_i/n)$$

Trong đó:

Xo là log của nồng độ huyết thanh thử nghiệm ít nhất bảo vệ được 100 % chuột;

d là log của bậc pha loãng;

r_i là số chuột sống của mỗi dung dịch trung hòa;

n là số chuột được tiêm của mỗi dung dịch trung hòa.

$$ED_{50} = \text{Antilog}ED_{50}$$

* Xác định số LD_{50} trung hòa (nhóm chứng): Từ dung dịch nọc rắn chứa 20 LD_{50}/ml pha loãng thành các độ pha 1/20; 1/14; 1/10; 1/7 và 1/5 (nếu xác định số LD_{50}, sử dụng hệ số pha loãng d=1,4), hoặc 1/12,1; 1/11; 1/10; 1/9,1; 1/8,3 (nếu xác định LD_{50} sử dụng hệ số pha loãng d=1,1) bằng nước muối sinh lý. Lắc nhẹ các ống, để ở 37 °C trong 30 min, tránh ánh sáng. Tiêm 0,5 ml vào tĩnh mạch đuôi cho mỗi chuột. Dùng 6 chuột cho mỗi độ pha. Theo dõi kết quả sau 24 - 48 h.

Tính số LD_{50} trung hòa (tính T) theo công thức:

$$\log T = - [X_o + d/2 - d_x (\Sigma r_i/n)]$$

Trong đó:
X_o là log của nồng độ nọc rắn gây chết chuột 100%;
d là log của bậc pha loãng;
r_i là số chuột chết của mỗi độ pha;
n là số chuột được tiêm của mỗi độ pha.
* Xác định hiệu giá (hay tính số LD_{50} có trong 1 ml huyết thanh thử nghiệm):

$$\text{Hiệu giá} = (T - 1)/ED_{50}$$

Trong đó:
T là số LD_{50} dùng để trung hòa trong 1 liều tiêm;
ED_{50} là liều bảo vệ 50 %.

Tiêu chuẩn đánh giá
Thử nghiệm xác định hiệu giá chỉ có giá trị khi T nằm trong khoảng từ 4 đến 6.
Hiệu giá của huyết thanh thử nghiệm phải không nhỏ hơn 1000 LD_{50}/lọ.

An toàn chung
Huyết thanh kháng nọc rắn phải đạt yêu cầu về thử nghiệm an toàn chung (Phụ lục 15.11).

Chất gây sốt
Phụ lục 15.12.

Vô khuẩn
Đạt vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Nitơ toàn phần
Không lớn hơn 15 % (Phụ lục 15.18).

Thimerosal
Không lớn hơn 0,01 % (Phụ lục 15.29).

Natri clorid
Từ 0,85 % đến 0,9 % (Phụ lục 15.26).

pH
6,0 đến 7,0 (Phụ lục 15.33).

Đóng gói, bảo quản
Mỗi lọ đóng từ 2,0 ml đến 5,0 ml hoặc dạng đông khô, tùy theo nhà sản xuất.
Bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C, tránh ánh sáng.

HUYẾT THANH KHÁNG UỐN VÁN
Immunoserum tetanicum ad usum humanum

Huyết thanh kháng độc tố uốn ván là chế phẩm có chứa globulin kháng độc tố, có khả năng trung hòa đặc hiệu độc tố của *Clostridium tetani*.

Nhận dạng
Huyết thanh kháng độc tố uốn ván trung hòa đặc hiệu ngoại độc tố của *Clostridium tetani*, làm cho độc tố này trở nên không độc, vô hại đối với động vật cảm thụ.

Các thử nghiệm kiểm định
Huyết thanh kháng độc tố uốn ván phải đáp ứng các thử nghiệm kiểm định ghi trong chuyên luận "Huyết thanh miễn dịch dùng cho người" và các yêu cầu sau đây:

Công hiệu
Công hiệu của huyết thanh kháng độc tố uốn ván được thể hiện bằng số đơn vị quốc tế trong 1 ml (IU/ml).
Tiêu chuẩn: Không nhỏ hơn 1000 IU/ml đối với loại dùng để phòng bệnh; không nhỏ hơn 3000 IU/ml đối với loại dùng để điều trị.
Số IU/ml huyết thanh kháng độc tố uốn ván được xác định bằng phương pháp trung hòa trên chuột nhắt (Phụ lục 15.16).

Bảo quản
Huyết thanh kháng độc tố uốn ván cần được bảo quản trong điều kiện lạnh, ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C, không để đóng băng.

Nhãn, hộp
Các thông tin ghi trên nhãn được tuân thủ theo quy định chung, được ghi trong chuyên luận chung "Huyết thanh miễn dịch dùng cho người".

HUYẾT THANH MIỄN DỊCH VIÊM GAN B
Immunoglobulinum humanum hepatitidis B

Huyết thanh miễn dịch viêm gan B dùng cho người là chế phẩm vô trùng dạng lỏng hoặc đông khô có chứa các globulin miễn dịch, chủ yếu là globulin miễn dịch lớp G, có khả năng trung hòa đặc hiệu kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B (HBsAg).

Sản xuất
Huyết thanh miễn dịch viêm gan B dùng cho người được sản xuất từ huyết tương của người cho đã được gây miễn dịch, có nồng độ kháng thể cao chống lại HBsAg. Huyết thanh miễn dịch cần phải được tách chiết để lượng globulin đạt được hàm lượng theo quy định và loại bỏ được các protein không cần thiết. Có thể cho thêm chất bảo quản vào thành phẩm. Đối với huyết thanh miễn dịch dạng đông khô, độ ẩm tồn dư không được quá 3 % (kl/kl).

Tính chất
Huyết thanh miễn dịch viêm gan B ở dạng lỏng phải không có màu hoặc màu vàng nhạt, không có cặn. Có thể đục nhẹ trong quá trình bảo quản.
Huyết thanh miễn dịch viêm gan B ở dạng đông khô là bột màu trắng hoặc vàng nhạt, có dạng rắn hoặc xốp.

Các thử nghiệm kiểm định

Nhận dạng (Phụ lục 15.10)
Thử nghiệm nhận dạng huyết thanh miễn dịch viêm gan B được kiểm tra bằng kỹ thuật điện di miễn dịch hoặc khuếch tán miễn dịch. Mục đích của thử nghiệm này là

khẳng định huyết thanh miễn dịch viêm gan B chỉ chứa kháng thể kháng HBsAg và protein của người.
Kỹ thuật khuếch tán miễn dịch:
Kỹ thuật này dựa trên nguyên lý khuếch tán kép tự do của kháng nguyên và kháng thể từ các giếng riêng biệt trên gel agarose 1 % vào môi trường và tạo thành cung tủa do phản ứng đặc hiệu của chúng.
Kỹ thuật điện di miễn dịch:
Dưới tác động của điện trường và trong môi trường gel agarose, kháng nguyên tích điện âm từ giếng ở phía cực âm và kháng thể tích điện dương ở phía cực dương sẽ di chuyển ngược chiều nhau, khi gặp nhau sẽ hình thành đường tủa có thể nhìn thấy được.
Tiêu chuẩn đánh giá:
Huyết thanh miễn dịch viêm gan B được nhận dạng đúng khi xuất hiện đường tủa giữa mẫu thử nghiệm và huyết thanh chứa kháng thể người tương ứng.

Hiệu giá
Hiệu giá miễn dịch của huyết thanh viêm gan B được xác định bằng cách so sánh hiệu giá kháng thể của huyết thanh miễn dịch đã được kiểm tra với mẫu chứng đã được hiệu chuẩn bằng đơn vị quốc tế, sử dụng thử nghiệm miễn dịch phù hợp và được biểu thị bằng số đơn vị quốc tế (IU) trong 1 ml hoặc có thể sử dụng phương pháp khác được cơ quan kiểm định quốc gia chấp thuận.
Tiêu chuẩn chấp thuận:
Đối với chế phẩm tiêm bắp: Không được thấp hơn 100 IU/ml và phải đạt từ 80 % đến 125 % lượng ghi trên nhãn (P = 0,95).
Đối với chế phẩm tiêm tĩnh mạch: Không được thấp hơn 50 IU/ml và phải đạt từ 80 % đến 125 % lượng ghi trên nhãn (P = 0,95).

pH (Phụ lục 15.33)
Từ 6,4 đến 7,2.

Protein tổng số (Phụ lục 15.34)
Protein tổng số trong huyết thanh miễn dịch viêm gan B phải đạt 100 - 180 g/l và từ 90 % đến 110 % protein tổng số ghi trên nhãn.

Vô khuẩn (Phụ lục 15.7)
Thực hiện bằng kỹ thuật nuôi cấy trực tiếp hoặc kỹ thuật nuôi cấy màng lọc.
Tiêu chuẩn chấp thuận: Không có vi khuẩn hoặc vi nấm mọc trên môi trường thích hợp sau thời gian 14 ngày ở nhiệt độ 30 °C đến 35 °C đối với vi khuẩn và 20 °C đến 25 °C đối với vi nấm.

An toàn chung (Phụ lục 15.11)
Dùng 5 chuột nhắt trắng có cân nặng từ 17 g đến 22 g mỗi con và 2 chuột lang cân nặng từ 250 g đến 350 g mỗi con. Tiêm đường phúc mạc cho chuột với lượng huyết thanh miễn dịch bằng một liều dùng cho người, nhưng không quá 1 ml cho mỗi chuột nhắt trắng và không quá 5 ml cho mỗi chuột lang.
Tiêu chuẩn: Sau ít nhất 7 ngày theo dõi, toàn bộ chuột thí nghiệm phải khỏe mạnh, tăng cân và không có biểu hiện bệnh lý.

Chất gây sốt (Phụ lục 15.12)
Tiêm với liều từ 0,5 ml đến 10 ml cho 1 kg cân nặng thỏ tùy theo quy định đối với từng loại huyết thanh miễn dịch . Thân nhiệt ban đầu của thỏ phải nằm trong khoảng 38 °C đến 39,8 °C; hiệu số giữa hai lần đo không quá 0,2 °C; thân nhiệt ban đầu giữa các thỏ chênh lệch không quá 1 °C; đo thân nhiệt cao nhất của thỏ đo được trong khoảng 3 h sau khi tiêm, giá trị này không quá 0,6 °C đối với mỗi thỏ và tổng giá trị của 3 thỏ không quá 1,3 °C.
Tiêu chuẩn: Không có chất gây sốt.

Đóng gói
Phải tuân thủ theo GMP và các quy định hiện hành.

Bảo quản
Đối với chế phẩm dạng lỏng, bảo quản trong lọ thủy tinh không màu, kín, tránh ánh sáng. Không làm đông băng.
Đối với chế phẩm dạng đông khô, bảo quản trong lọ thủy tinh không màu, kín, trong điều kiện chân không hoặc khí trơ, tránh ánh sáng.
Nhiệt độ bảo quản: Từ 2 °C đến 8 °C.

Nhãn
Những thông tin ghi trên nhãn, hộp, tờ hướng dẫn phải đáp ứng yêu cầu quy định hiện hành, đặc biệt phải ghi đầy đủ các thông tin về: Tên sản phẩm, hiệu giá, ngày sản xuất, hạn sử dụng, điều kiện bảo quản.

Hạn sử dụng
Hạn sử dụng được tính từ khi bắt đầu kiểm tra hiệu giá lần cuối có giá trị. Các tuyên bố về hạn sử dụng, nhiệt độ bảo quản sẽ phải dựa trên kết quả nghiên cứu về tính ổn định và phải được cơ quan kiểm định Quốc gia chấp thuận.

INTERFERON ALPHA 2
Interferoni alfa 2

Interferon alpha 2 là sinh phẩm ở dạng lỏng hoặc đông khô có chứa interferon alpha-2 người, tái tổ hợp.
Interferon alpha 2 dạng lỏng là dung dịch trong suốt, không màu.
Interferon alpha 2 đông khô có dạng khối xốp, trắng mịn, dễ hòa tan trong nước thành dung dịch trong suốt.
Interferon alpha 2 được dùng để kháng virus, ức chế tăng sinh tế bào ung thư và có chức năng điều hòa miễn dịch.

Sản xuất
Interferon alpha 2 được sản xuất theo công nghệ tái tổ hợp ADN: Gen mã hoá interferon alpha 2 được tách từ tế bào lympho của người và đưa vào vector biểu hiện; Sau đó vector này được đưa vào vi khuẩn. Vi khuẩn này được nuôi cấy trong môi trường đặc biệt để thu sinh khối và sau đó dùng kỹ thuật sinh hoá tách chiết và tinh sạch interferon alpha 2. Sản phẩm được đóng ống hoặc đông

khô với hàm lượng interferon alpha 2 khác nhau tùy theo mục đích sử dụng.

Nhận dạng

Interferon alpha 2 được nhận dạng thông qua sự giảm hoạt tính kháng virus của nó trên tế bào nhiễm sau khi trung hòa với kháng thể đơn dòng kháng interferon alpha 2.

Vật liệu

Interferon alpha 2 thử nghiệm.
Kháng thể đơn dòng kháng interferon alpha 2.
Tế bào MDBK (Madin-Darby Bovin Kidney - Tế bào thận bò).
Virus gây nhiễm VSV (Vesicular Stomatitis Virus - Virus gây viêm vòm họng) đã chuẩn độ.
Môi trường MEM (Minimum Essential Medium) có chứa huyết thanh bào thai bê (Fetal Bovin Serum, FBS).
Dung dịch trypsin 0,25 %.
Phiến nhựa vô trùng, 96 giếng, đáy bằng.

Phương pháp tiến hành

Ngày thứ 1:

Pha kháng thể đơn dòng kháng interferon alpha 2 với môi trường MEM 2 % FBS để có dung dịch chứa 200 IU/ml.
Trộn đều 3 lọ đến 5 lọ mẫu thử nghiệm và pha loãng bằng MEM 2 % FBS để có dung dịch chứa khoảng 200 IU/ml (tùy vào hàm lượng interferon alpha 2 ghi trên nhãn).
Trung hòa: Trộn đều 1 ml interferon alpha 2 đã pha loãng ở trên với 1 ml kháng thể đơn dòng kháng interferon alpha 2. Ủ ở 37 °C trong 60 min.
Nhỏ 100 µl môi trường MEM 5 % FBS vào tất cả các giếng.
Nhỏ 100 µl dung dịch mẫu thử nghiệm đã pha loãng ở trên vào giếng thứ nhất của phiến (A1). Pha loãng tiếp bậc 2 cho đến hàng giếng thứ 12 (A12), loại bỏ 100 µl ở giếng A12.
Nhỏ 100 µl dung dịch mẫu thử nghiệm đã trung hòa với kháng thể đơn dòng kháng interferon alpha 2 vào hàng giếng thứ hai của phiến (B1). Pha loãng tiếp bậc 2 cho đến hàng giếng thứ 12 (B12), loại bỏ 100 µl ở giếng B12.
Nhỏ 100 µl dung dịch tế bào MDBK có nồng độ 6×10^5 đến 8×10^5 tế bào/ml vào toàn bộ các giếng.
Phủ giấy dán, đậy nắp phiến và để ở tủ ấm 37 °C, 5 % CO_2 trong vòng 18 h đến 24 h.

Ngày thứ 2:

Kiểm tra sự phát triển của tế bào MDBK ở các giếng tế bào chứng, tế bào phải mọc được một lớp kín.
Loại bỏ nước nổi trong tất cả các giếng của phiến.
Pha dung dịch virus gây nhiễm VSV với môi trường MEM 2 % FBS để có chứa 100 đến 200 $CCID_{50}$/ml. Nhỏ 100 µl dung dịch virus gây nhiễm VSV này vào tất cả các giếng.
Phủ giấy dán, đậy nắp phiến và để ủ ở tủ ấm 37 °C, 5 % CO_2 trong vòng 18 h đến 24 h.

Ngày thứ 3:

Kiểm tra sự hủy hoại của tế bào nhiễm virus dưới kính hiển vi ở các giếng nhỏ dung dịch interferon alpha 2 sau trung hòa, tỷ lệ hủy hoại tế bào phải đạt trên 90 %.
Nhuộm tế bào với tím gentian: Thêm 50 µl *dung dịch tím tinh thể (TT)* vào mỗi giếng, trộn đều, để yên 10 min. Loại bỏ dung dịch tím tinh thể còn dư, rửa phiến bằng *nước*. Để phiến khô ở nhiệt độ phòng. Nhỏ 50 µl *2-methoxyethanol* vào tất cả các giếng. Lắc nhẹ phiến trên máy lắc trong vòng 10 min. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 540 nm bằng máy đọc ELISA.
Tiêu chuẩn đánh giá: So sánh độ hấp phụ giữa các giếng tương ứng của 2 loại dung dịch thử nghiệm trước và sau khi trung hòa với kháng thể đơn dòng kháng interferon alpha 2: Độ hấp thụ của các giếng sau trung hòa phải nhỏ hơn.

Hiệu giá

Hiệu giá interferon alpha 2 được xác định bằng chuẩn độ hoạt tính kháng virus của mẫu thử nghiệm trên tế bào MDBK.
Hiệu giá của Interferon alpha 2 thử nghiệm được tính theo mẫu chuẩn quốc tế interferon alpha 2 tái tổ hợp.

Vật liệu

Interferon alpha 2 chuẩn quốc tế.
Interferon alpha 2 thử nghiệm.
Tế bào MDBK.
Virus gây nhiễm VSV đã chuẩn độ.
Môi trường MEM có chứa huyết thanh bào thai bê.
Phiến nhựa vô trùng, 96 giếng, đáy bằng.

Phương pháp tiến hành

Ngày thứ 1:

Pha loãng mẫu chuẩn quốc tế với MEM 2 % FBS để có dung dịch chứa 100 IU/ml.
Trộn đều 3 lọ đến 5 lọ mẫu thử nghiệm và pha loãng bằng MEM 2 % FBS để có dung dịch chứa khoảng 100 IU/ml (tùy vào hàm lượng interferon alpha 2 ghi trên nhãn).
Nhỏ 100 µl môi trường MEM 5 % FBS vào tất cả các giếng.
Nhỏ 100 µl dung dịch đã pha loãng của mẫu chuẩn quốc tế (MCQT) và mẫu thử nghiệm vào mỗi giếng trong cột thứ nhất của phiến. Đối với MCQT nhỏ 2 giếng (B1, C1) và mẫu thử nghiệm nhỏ 5 giếng (D1, E1, F1, G1, H1).
Pha loãng bậc 2 liên tiếp cho đến cột thứ 12 thì loại bỏ 100 µl.
Nhỏ 100 µl dung dịch tế bào MDBK có nồng độ (6-8) × 10^5 tế bào/ml vào toàn bộ các giếng.
Phủ giấy dán, đậy nắp phiến và để ở tủ ấm 37 °C, 5 % CO_2 trong vòng 18 h đến 24 h.

Ngày thứ 2:

Kiểm tra sự phát triển của tế bào MDBK ở các giếng chứng "tế bào" (giếng A1 đến A6), tế bào phải mọc được một lớp kín.
Loại bỏ nước nổi trong tất cả các giếng của phiến.
Pha dung dịch virus gây nhiễm VSV với môi trường MEM 2% FBS để có chứa 100 đến 200 $CCID_{50}$/ml. Nhỏ 100 µl dung dịch virus gây nhiễm VSV vào tất cả các giếng trừ giếng chứng "tế bào".
Phủ giấy dán, đậy nắp phiến và để ở tủ ấm 37 °C, 5 % CO_2 trong vòng 18 h đến 24 h.

Ngày thứ 3:
Kiểm tra sự hủy hoại của virus đối với tế bào dưới kính hiển vi, ở các giếng chứng "virus" (giếng A7 đến A12) tỷ lệ hủy hoại phải đạt trên 90 %.
Nhuộm tế bào với tím gentian: Thêm 50 µl *dung dịch tím tinh thể (TT)* vào mỗi giếng, trộn đều, để yên 10 min. Loại bỏ dung dịch tím tinh thể còn dư, rửa phiến bằng *nước*. Để phiến khô ở nhiệt độ phòng. Nhỏ 50 µl *2-methoxyethanol* vào tất cả các giếng. Lắc nhẹ phiến trên máy lắc trong vòng 10 min. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 540 nm bằng máy đọc ELISA.
Tính kết quả:
Tính độ hấp thụ 50 % theo công thức:

$$A_{50} = (A_c + A_v)/2$$

Trong đó:
A_c là độ hấp thụ trung bình của các giếng chứng "tế bào";
A_v là độ hấp thụ trung bình của các giếng chứng "virus".
Xác định hiệu quả bảo vệ 50 % tế bào của interferon alpha 2 mẫu thử nghiệm và mẫu chuẩn quốc tế theo công thức:

$$N = n + (A_n - A_{50})/(A_n - A_{n+1})$$

Trong đó:
N là số thứ tự của giếng có độ bảo vệ tế bào 50 %;
n là số thứ tự của giếng có độ hấp thụ >50 %;
A_n là độ hấp thụ của giếng thứ "n";
A_{n+1} là độ hấp thụ của giếng thứ "n+1".
Tính hiệu giá theo công thức:

$$\text{Hiệu giá (\%)} = 100 \times 2^{(Ntn - Ns)}$$

Trong đó:
Ntn là vị trí giếng mà ở đó interferon alpha 2 thử nghiệm bảo vệ được 50 % tế bào;
Ns là vị trí giếng mà ở đó interferon alpha 2 chuẩn quốc tế bảo vệ được 50 % tế bào.

Tiêu chuẩn đánh giá
Mẫu interferon alpha 2 thử nghiệm chỉ đạt yêu cầu khi hiệu giá tính được phải đạt từ 70 % đến 150 % hàm lượng ghi trên nhãn.

An toàn chung
Với liều tiêm là 15 triệu IU/5 ml đối với 1 chuột lang và 1 triệu IU/0,5 ml đối với 1 chuột nhắt (Phụ lục 15.11).

Chất gây sốt
Mẫu interferon alpha 2 thử nghiệm được pha loãng với nước muối hồi chỉnh, để có nồng độ 600 000 IU/ml (Phụ lục 15.12).

Vô khuẩn
Đạt vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Độ ẩm tồn dư (đối với dạng đông khô)
Không lớn hơn 3 % (Phụ lục 15.35).

pH
7,0 ± 0,5 (Phụ lục 15.33).

Đóng gói, bảo quản
Đóng gói: Hàm lượng interferon alpha 2 được đóng gói tùy theo nhà sản xuất: 3 triệu IU/lọ, 4,5 triệu IU/lọ, 6 triệu IU/lọ; 90 g/lọ, 180 µg/lọ, kèm theo nước hồi chỉnh. Interferon alpha 2 đông khô phải bảo quản ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C, tránh ánh sáng.

Nhãn, hộp
Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu quy định hiện hành.

TUBERCULIN PPD
Tuberculini derivatum proteinosum purificatum

Tuberculin PPD là sinh phẩm chứa chất có hoạt tính gây phản ứng đa đặc hiệu đối với bệnh lao, được điều chế từ canh thang nuôi cấy và ly giải của một hay nhiều chủng *Mycobacterium tuberculosis*.
Tuberculin PPD đông khô có dạng khối xốp, mịn, không teo, màu trắng ngà, không mùi, tan nhanh trong nước hồi chỉnh tạo thành dung dịch trong suốt, không màu.
Dùng tuberculin PPD đông khô là một trong những phương pháp phát hiện các trường hợp bị nhiễm lao hoặc dùng để đánh giá phản ứng quá mẫn muộn đối với lao sau khi tiêm vắc xin BCG.

Sản xuất
Chủng sản xuất được nuôi cấy trong môi trường thích hợp. Sau 6 tuần, chủng đã phát triển, được thu hoạch và giết chết bằng hơi nóng ở nhiệt độ 100 °C trong 60 min. Hỗn dịch chủng đó được lọc qua màng lọc để loại xác vi khuẩn. Phân đoạn có hoạt tính có trong dung dịch lọc (chủ yếu là protein) được tách chiết bằng kết tủa với amoni sulfat, được rửa và tái hòa tan trong dung dịch đệm phù hợp. Phenol được sử dụng như là chất bảo quản. Sản phẩm được đóng ống vô khuẩn và được đông khô.

Nhận dạng
Thử nghiệm nhận dạng được tiến hành bằng cách tiêm tuberculin thử nghiệm trong da chuột lang đã được gây mẫn cảm trước đó với vắc xin BCG.

Phương pháp tiến hành
Vật liệu:
Vắc xin BCG đông khô 1 mg/ml.
Chuột lang 4 con, khỏe mạnh, âm tính với tuberculin, cân nặng từ 350 g/con đến 400 g/con. Chia chuột ra làm 2 nhóm: Nhóm thử nghiệm được tiêm mẫn cảm với vắc xin BCG đông khô và nhóm chứng không tiêm.
Gây mẫn cảm:
Vắc xin BCG đông khô được hoàn nguyên và pha loãng để có nồng độ 0,5 mg/ml. Tiêm dưới da 0,4 ml cho mỗi chuột lang, tại 4 vị trí khác nhau (0,1 ml/vị trí). Chuột lang được theo dõi sau tiêm từ 5 tuần đến 6 tuần.
Tiêm tuberculin:
Hoàn nguyên mẫu thử nghiệm để có dung dịch chứa 50 IU/ml. Tiêm trong da 0,1 ml (tương đương 5 IU) cho cả 2 nhóm chuột.

Đọc kết quả:
Sau khi tiêm tuberculin 24 h, đo đường kính phản ứng tại các vị trí tiêm.
Phản ứng được coi là dương tính nếu đường kính vết tổn thương da lớn hơn hoặc bằng 6 mm.

Tiêu chuẩn đánh giá
Tất cả chuột lang đã được gây mẫn cảm với vắc xin BCG đều phải có phản ứng dương tính với tuberculin thử nghiệm.
Tất cả chuột lang không được gây mẫn cảm với vắc xin BCG đều phải có phản ứng âm tính với tuberculin thử nghiệm.

Hiệu giá
Hiệu giá của tuberculin PPD được xác định bằng cách so sánh phản ứng quá mẫn muộn trong da chuột lang đã gây mẫn cảm với vắc xin BCG sau khi tiêm các độ pha khác nhau của mẫu thử với mẫu chuẩn quốc tế.

Phương pháp tiến hành
Vật liệu:
Tuberculin thử nghiệm.
Tuberculin chuẩn quốc tế.
Chuột lang: 6 con, cùng giới, trọng lượng 350 g/con đến 400 g/con.
Gây mẫn cảm chuột lang:
Chuẩn bị 6 chuột lang có lông sáng màu, cùng giới, khỏe mạnh, có trọng lượng từ 350 g/con đến 400 g/con.
Vắc xin BCG đông khô được hoàn nguyên và pha loãng để có nồng độ 0,5 mg/ml. Tiêm dưới da 0,4 ml cho mỗi chuột lang, tại 4 vị trí khác nhau (0,1 ml/ một vị trí). Chuột lang được theo dõi sau tiêm từ 5 tuần đến 6 tuần để xác định hiệu giá.
Xác định hiệu giá:
Tuberculin mẫu chuẩn quốc tế và mẫu thử nghiệm được pha loãng với dung dịch đệm PBS ở 3 đến 4 độ pha khác nhau sao cho đường kính phản ứng da sau khi tiêm cho chuột lang đã gây mẫn cảm với liều cao nhất không lớn hơn 25 mm và với liều thấp nhất không nhỏ hơn 6 mm. Tiêm trong da 0,1 ml mỗi độ pha của tuberculin mẫu chuẩn quốc tế và mẫu thử nghiệm ở hai bên sườn chuột lang, mỗi bên 3 điểm. Vị trí nơi tiêm được lựa chọn theo phương pháp hình vuông Latin.
Sau khi tiêm 24 h, đo đường kính của phản ứng da tại các vị trí tiêm. Phản ứng được coi là dương tính nếu tại nơi tiêm tuberculin có nốt sần đỏ với đường kính lớn hơn hoặc bằng 6 mm. Phản ứng được coi là âm tính nếu tại nơi tiêm tuberculin có nốt sần đỏ với đường kính nhỏ hơn 6 mm.
Hiệu giá của tuberculin thử nghiệm được tính theo chương trình Parallel line của WHO.

Tiêu chuẩn chấp thuận
Hiệu giá của mẫu thử nghiệm phải nằm trong khoảng 80 % đến 125 % giá trị hiệu giá ghi trên nhãn sản phẩm.

An toàn chung
Đạt yêu cầu về an toàn chung (Phụ lục 15.11).

Vô khuẩn
Đạt yêu cầu về vô trùng (Phụ lục 15.7).

Hàm lượng phenol
Không lớn hơn 5,5 g/l (Phụ lục 15.28).

pH
6,5 đến 7,5 (Phụ lục 15.33).

Cách dùng, liều lượng
Tiêm trong da, liều 5 IU/0,1 ml.

Đóng gói, bảo quản
Tùy theo nhà sản xuất, thường có ba dạng:
Một ống chứa 15 IU, tương đương 3 liều;
Một ống chứa 50 IU, tương đương 10 liều;
Một ống chứa 100 IU, tương đương 20 liều.
Tuberculin được bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C, tránh ánh sáng.

Nhãn, hộp
Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

(CÁC) VẮC XIN DÙNG CHO NGƯỜI
Vaccina ad usum humanum

Vắc xin dùng cho người là những chế phẩm chứa các kháng nguyên có khả năng tạo miễn dịch chủ động và đặc hiệu để phòng bệnh do vi sinh vật gây nên. Vắc xin được sản xuất từ vi khuẩn, *Rickettsia* hoặc virus. Vắc xin dùng cho người có thể là (1) vi sinh vật đã được bất hoạt nhưng vẫn giữ được tính sinh miễn dịch; hoặc (2) vi sinh vật sống không độc; hoặc (3) các thành phần kháng nguyên của vi sinh vật.

Sản xuất
Các phương pháp sản xuất từng loại vắc xin sẽ được mô tả ở phần tiếp theo dưới đây hoặc trong các chuyên luận riêng. Các phương pháp này cần bảo đảm cho vắc xin có đủ tính kháng nguyên cũng như tính vô hại và không bị tạp nhiễm.
Trong quá trình sản xuất có thể dùng thêm chất phụ thích hợp nhưng không được cho thêm penicilin ở bất kỳ giai đoạn nào của quá trình sản xuất.
Có thể tăng khả năng sinh miễn dịch của một số loại vắc xin bằng cách cho thêm chất phụ thích hợp ghi trong các chuyên luận riêng.
Có thể dùng chất bảo quản thích hợp theo quy định cho một số vắc xin bất hoạt.
Vắc xin thành phẩm được phân bố vào các ống (hoặc lọ) và gắn kín để tránh nhiễm khuẩn. Một số vắc xin thành phẩm được sản xuất dưới dạng đông khô. Chỉ hoàn nguyên vắc xin đông khô ngay trước khi sử dụng.

Vắc xin vi khuẩn
Vắc xin vi khuẩn được sản xuất từ các chủng vi khuẩn thích hợp, nuôi cấy trên môi trường và điều kiện nuôi cấy thích hợp.

Vắc xin vi khuẩn bất hoạt có chứa vi khuẩn hoặc các thành phần kháng nguyên của vi khuẩn đã được bất hoạt nhưng vẫn giữ được khả năng sinh miễn dịch.
Vắc xin vi khuẩn sống được sản xuất từ chủng giảm độc nhưng vẫn có khả năng kích thích sinh miễn dịch đặc hiệu.
Nồng độ của vi khuẩn bất hoạt trong vắc xin được đo bằng đơn vị độ đục quốc tế hoặc đếm tế bào trực tiếp.
Đối với vắc xin vi khuẩn sống, có thể xác định số lượng đơn vị sống.

Giải độc tố vi khuẩn
Các giải độc tố vi khuẩn được chế tạo từ độc tố đã giải độc nhưng vẫn giữ được tính sinh miễn dịch và không còn khả năng hồi độc.
Ở đáy lọ giải độc tố tinh chế, sau khi hấp phụ, có một lớp cặn màu trắng hoặc vàng nhạt; khi lắc, cặn này sẽ phân bố đều trong lọ vắc xin.

Vắc xin virus
Vắc xin virus là huyền dịch virus thu được sau khi cấy trên động vật, trứng có phôi, hoặc tế bào nuôi thích hợp. Những vắc xin này có thể ở dạng lỏng hoặc đông khô.
Vắc xin virus thường được sản xuất từ chủng virus đặc hiệu giảm độc lực. Vắc xin virus có thể có màu nếu chứa chỉ thị pH như đỏ phenol.
Vắc xin virus bất hoạt thường được xử lý bằng phương pháp hóa học hoặc lý học.

Vắc xin phối hợp
Các vắc xin phối hợp là hỗn hợp của 2 hoặc nhiều loại vắc xin khác nhau.

Hàm lượng hoá chất có trong vắc xin

Phenol
Đối với các vắc xin có chứa phenol, cần xác định hàm lượng theo Phụ lục 15.28. Nếu phenol đã được dùng trong quá trình sản xuất thì hàm lượng cuối cùng trong vắc xin thành phẩm không được quá 2,5 g/l, trừ trường hợp đặc biệt.

Formaldehyd
Đối với các vắc xin có chứa formaldehyd, cần xác định hàm lượng theo Phụ lục 15.25. Nếu formaldehyd đã được dùng trong quá trình sản xuất thì hàm lượng cuối cùng trong vắc xin thành phẩm không được quá 0,2 g/l formaldehyd tự do, trừ trường hợp đặc biệt.

Nhôm
Đối với các vắc xin có chứa thành phần nhôm (Al^{+++}), cần xác định hàm lượng theo Phụ lục 15.27. Nếu nhôm được dùng để hấp phụ vắc xin thì hàm lượng cuối cùng không được quá 1,25 mg nhôm (Al^{+3}) cho mỗi liều đơn tiêm cho người, trừ trường hợp đặc biệt.

Bảo quản
Vắc xin phải được bảo quản tránh ánh sáng. Trừ khi có quy định riêng trong từng chuyên luận, các vắc xin phải bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C và các vắc xin lỏng không được đông băng.

Hạn dùng
Hạn dùng được tính từ khi bắt đầu thử nghiệm công hiệu hoặc hiệu giá trong những điều kiện bảo quản quy định đối với từng loại vắc xin.
Hạn dùng của vắc xin được quy định trong từng chuyên luận riêng.

Nhãn, hộp
Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

VẮC XIN BẠCH HẦU HẤP PHỤ
Vaccinum diphtheriae adsorbatum

Vắc xin bạch hầu hấp phụ được điều chế từ độc tố bạch hầu đã xử lý bằng formaldehyd và nhiệt độ để mất tính độc mà vẫn còn tính sinh miễn dịch, chứa ít nhất 1500 Lf/ mg protein nitrogen và hấp phụ với một tá chất thích hợp như muối nhôm phosphat hoặc nhôm hydroxyd trong dung dịch natri clorid 0,85 %. Có thể cho thêm chất bảo quản thích hợp.

Sản xuất
Chủng *Corynebacterium diphtheriae* dùng cho sản xuất phải tuân thủ quy định về hệ thống chủng được nuôi cấy trong môi trường lỏng thích hợp. Ở cuối giai đoạn nuôi cấy, cần kiểm tra tính thuần khiết để loại bỏ những mẻ nuôi cấy đơn bị nhiễm tạp. Xác định hàm lượng độc tố (Lf/ ml) bằng phản ứng lên bông. Các mẻ gặt đơn có thể hỗn hợp lại để giải độc bằng formaldehyd và tinh chế theo phương pháp thích hợp.
Kiểm tra giải độc tố tinh chế về độc tính đặc hiệu, tính hồi độc, độ sạch kháng nguyên trước khi dùng điều chế vắc xin thành phẩm.

Giải độc tố tinh chế bán thành phẩm
Chủng sản xuất phải có độc tính cao, biết rõ về nguồn gốc và lịch sử chủng. Môi trường nuôi cấy chứa độc tố bạch hầu cần được tách xác tế bào vi khuẩn càng sớm càng tốt. Xác định hàm lượng độc tố (Lf/ml) bằng phản ứng lên bông để giám sát tính ổn định trong sản xuất. Giải độc tố bạch hầu được tinh chế để loại bỏ các thành phần có thể gây các phản ứng phụ cho người. Độc tố sau khi tinh chế sẽ được bất hoạt bằng formaldehyd theo phương pháp thích hợp sao cho không ảnh hưởng đến khả năng sinh miễn dịch của giải độc tố và không bị hồi độc. Tuy nhiên, có thể lựa chọn quy trình tinh chế sau khi giải độc.
Chỉ có những giải độc tố tinh chế bán thành phẩm đạt các tiêu chuẩn dưới đây mới được sử dụng để pha vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Vô khuẩn
Tiến hành kiểm tra tính vô khuẩn của giải độc tố bạch hầu tinh chế bán thành phẩm với 10 ml mẫu cho mỗi môi trường kiểm tra (Phụ lục 15.7).

Tính độc đặc hiệu và tính hồi độc của giải độc tố bạch hầu
Kiểm tra tính độc đặc hiệu: Tiêm dưới da 1 ml giải độc tố tinh chế có chứa 500 Lf/ml/con cho 5 chuột lang khoẻ mạnh cân nặng 250 g/con đến 350 g/con, chưa sử dụng cho bất kỳ mục đích gì trước đó. Theo dõi và kiểm tra cân nặng chuột trong 6 tuần. Những chuột chết sẽ phải mổ kiểm tra các dấu hiệu nhiễm độc tố bạch hầu (tuyến thượng thận sưng đỏ). Giải độc tố tinh chế đạt yêu cầu an toàn đặc hiệu khi không có chuột lang nào có dấu hiệu nhiễm độc tố bạch hầu trong 6 tuần theo dõi và có ít nhất 80 % chuột sống sót trong giai đoạn thử nghiệm.
Kiểm tra tính hồi độc của giải độc tố bạch hầu: Giải độc tố bạch hầu tinh chế phải được kiểm tra để đảm bảo không bị hồi độc. Sử dụng dung dịch đệm giống như dung dịch pha vắc xin bán thành phẩm cuối cùng nhưng không có chất hấp phụ để pha mẫu giải độc tố bạch hầu tinh chế bán thành phẩm thành huyền dịch chứa 35 Lf/ml. Chia thành 2 mẫu thử, trong đó một mẫu ủ ở (5 ± 3) °C trong 6 tuần và mẫu kia ủ ở 37 °C trong 6 tuần. Tiêm dưới da 5 ml/con, mỗi mẫu tiêm cho 5 chuột lang khoẻ mạnh cân nặng 250 g/con đến 350 g/con, chưa sử dụng cho bất kỳ mục đích gì trước đó. Thử nghiệm đạt yêu cầu khi cả 2 nhóm chuột đều khoẻ mạnh, không có chuột lang nào có dấu hiệu nhiễm độc tố bạch hầu trong 6 tuần theo dõi.

Độ tinh sạch của kháng nguyên bạch hầu
Giải độc tố bạch hầu tinh chế phải được kiểm tra độ tinh sạch của kháng nguyên bằng cách kiểm tra hàm lượng kháng nguyên bằng đơn vị Lf/mg nitrogen protein. Hàm lượng kháng nguyên được kiểm tra bằng cách so sánh với mẫu chuẩn đã được hiệu chuẩn bởi giải độc tố bạch hầu mẫu chuẩn quốc tế dành cho thử nghiệm lên bông hoặc mẫu chuẩn quốc gia tương đương.
Giải độc tố bạch hầu tinh chế đạt yêu cầu khi chứa không được ít hơn 1500 Lf/mg nitrogen protein.

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm cuối cùng

Vắc xin bán thành phẩm cuối cùng được pha chế từ giải độc tố bạch hầu tinh chế, cho thêm nhôm phosphat hoặc nhôm hydroxyd với hàm lượng thích hợp. Có thể cho thêm chất bảo quản. Chỉ những vắc xin bán thành phẩm cuối cùng đạt các tiêu chuẩn dưới đây mới được phép tiếp tục sản xuất thành vắc xin thành phẩm.

Chất bảo quản
Xác định hàm lượng chất bảo quản bằng phương pháp hóa học thích hợp. Hàm lượng chất bảo quản trong vắc xin bán thành phẩm phải đạt ít nhất là 85 % và không được quá 115 % so với lượng dự kiến cho vào (Phụ lục 15.29).

Vô khuẩn
Tiến hành kiểm tra tính vô khuẩn của vắc xin bán thành phẩm cuối cùng với 10 ml mẫu cho mỗi môi trường kiểm tra (Phụ lục 15.7).

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Nhận dạng
Thực hiện ít nhất trên một lọ vắc xin đã được dán nhãn.
Nhận dạng giải độc tố bạch hầu bằng thử nghiệm lên bông như mô tả trong Phụ lục 15.19.

Vô khuẩn
Vắc xin không nhiễm vi khuẩn và nấm (Phụ lục 15.7).

Công hiệu
Thực hiện theo Phụ lục 15.23.
Tiêu chuẩn chấp thuận: Công hiệu của vắc xin bạch hầu dùng để tiêm trẻ em được coi là đạt yêu cầu khi không thấp hơn 30 IU đối với một liều đơn. Đối với các thử nghiệm sử dụng 3 độ pha loãng, giới hạn khoảng tin cậy 95 % của công hiệu phải nằm trong khoảng 50 % đến 200 % hoặc giới hạn dưới khoảng tin cậy 95 % của giá trị công hiệu phải lớn hơn 30 IU đối với một liều đơn cho người.

An toàn chung
Tiêm vắc xin bạch hầu với 1 liều tiêm cho người vào ổ bụng cho mỗi con trong số 5 chuột nhắt trắng khỏe mạnh, cân nặng 17 g/con đến 22 g/con và chưa sử dụng với bất cứ mục đích gì trước đó; tiêm ít nhất 1 liều tiêm cho người nhưng không nhiều hơn 1 ml vào ổ bụng cho mỗi chuột trong số 2 chuột lang khoẻ mạnh, cân nặng 250 g/con đến 350 g/con và chưa sử dụng với bất cứ mục đích gì trước đó. Vắc xin đạt tính an toàn chung, không có độc tính bất thường nếu toàn bộ chuột thử nghiệm đều khoẻ mạnh, lên cân và không có biểu hiệu nhiễm độc trong 7 ngày theo dõi.

Chất bảo quản
Hàm lượng thimerosal không ít hơn 85 % hoặc không nhiều hơn 115 % so với lượng ghi trên nhãn (Phụ lục 15.29).

Nhôm
Không quá 1,25 mg nhôm trong một liều đơn vắc xin cho người (Phụ lục 15.27).

pH
6,0 đến 7,0 (Phụ lục 15.33).

Cảm quan
Mỗi loạt vắc xin thành phẩm sau khi sản xuất phải được kiểm tra bằng cảm quan để đảm bảo các lọ hay ống vắc xin trước khi xuất xưởng đều phải đạt yêu cầu, không có dấu hiệu bất thường về cảm quan như: vật lạ trong lọ vắc xin, nắp hay nút chặt và đảm bảo tính nguyên vẹn. Trong quá trình kiểm tra, nếu ống hay lọ nào thấy không đạt yêu cầu cần được loại bỏ.

Bảo quản, hạn dùng

Khi bảo quản ở điều kiện quy định, vắc xin có thể giữ được công hiệu 3 năm kể từ ngày chuẩn độ công hiệu.

Nhãn

Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

VẮC XIN BẠCH HẦU, UỐN VÁN VÀ HO GÀ HẤP PHỤ (DTwP)

Vaccinum diphtheriae, tetani et pertussis adsorbatum

Vắc xin bạch hầu, uốn ván và ho gà là một hỗn hợp gồm các giải độc tố bạch hầu, uốn ván tinh chế hấp phụ và vắc xin ho gà toàn tế bào hấp phụ (DTwP).

Sản xuất giải độc tố bạch hầu

Vắc xin bạch hầu được sản xuất dựa vào hệ thống chủng gốc. Chủng *Corynebacterium diphtheriae* dùng cho sản xuất phải tuân thủ theo quy định về hệ thống chủng gốc và được nuôi cấy trên môi trường lỏng thích hợp. Cuối giai đoạn nuôi cấy, cần kiểm tra tính thuần khiết để loại bỏ những loạt nuôi cấy đơn bị nhiễm tạp. Xác định hàm lượng độc tố bạch hầu (Lf/ml) bằng phản ứng lên bông. Các mẻ gặt đơn có thể hỗn hợp lại để giải độc bằng formaldehyd và tinh chế theo phương pháp thích hợp.

Giải độc tố bạch hầu tinh chế được kiểm tra vô khuẩn, tính độc đặc hiệu, tính hồi độc, độ tinh sạch của kháng nguyên trước khi pha chế vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Vô khuẩn

Tiến hành thử nghiệm vô khuẩn trên môi trường canh thang Thioglycolat và Soybean Casein với mẫu giải độc tố bạch hầu tinh chế: 10 ml giải độc tố bạch hầu cho mỗi môi trường.

Cách tiến hành và tiêu chuẩn chấp thuận theo Phụ lục 15.7.

Kiểm tra tính độc đặc hiệu

Tiêm dưới da ít nhất 500 Lf của giải độc tố bạch hầu tinh chế chứa trong thể tích 1 ml vào mỗi trong số 5 chuột lang khoẻ mạnh, cân nặng 250 g/con đến 350 g/con chưa sử dụng vào bất cứ mục đích gì trước đó. Theo dõi chuột trong vòng 42 ngày sau tiêm, nếu thấy bất kỳ triệu chứng nào hay bị chết do độc tố bạch hầu thì lô giải độc tố bạch hầu tinh chế này không đạt về tính an toàn đặc hiệu. Nếu có hơn một chuột lang thử nghiệm bị chết trong thời gian theo dõi vì bất kỳ nguyên nhân nào thì phải nhắc lại thử nghiệm. Nếu có hơn một chuột lang thử nghiệm bị chết trong lần thử nghiệm thứ hai thì lô giải độc tố bạch hầu tinh chế này cũng không đạt về tính an toàn đặc hiệu.

Kiểm tra tính hồi độc

Sử dụng dung dịch đệm giống như dùng để pha vắc xin thành phẩm nhưng không có chất hấp phụ để pha loãng giải độc tố bạch hầu tinh chế sao cho có chứa hàm lượng giải độc tố tương đương như trong vắc xin thành phẩm (35 Lf/ml); chia thành 2 phần tương đương nhau và ủ mỗi phần của dung dịch này ở nhiệt độ khác nhau (5 ± 3) °C và 37 °C trong 6 tuần. Mỗi trong 2 mẫu thử sau khi ủ được đưa ra kiểm tra tính hồi độc của độc tố bạch hầu bằng cách tiêm dưới da cho 5 chuột lang khỏe mạnh, cân nặng 250 g/con đến 350 g/con.

Giải độc tố bạch hầu tinh chế đạt yêu cầu về thử nghiệm tính hồi độc khi các chuột thử nghiệm đều khỏe mạnh, lên cân và không có chuột nào có dấu hiệu về phản ứng do độc tố bạch hầu trong 6 tuần theo dõi.

Kiểm tra độ tinh sạch của kháng nguyên bạch hầu

Giải độc tố bạch hầu tinh chế phải đạt không ít hơn 1500 Lf/mg nitrogen protein.

Sản xuất giải độc tố uốn ván

Vắc xin uốn ván được sản xuất dựa vào hệ thống chủng gốc. Chủng *Clostridium tetani* dùng cho sản xuất phải tuân thủ theo quy định về hệ thống chủng gốc và được nuôi cấy trên môi trường thích hợp. Cuối giai đoạn nuôi cấy, cần kiểm tra tính thuần khiết để loại bỏ những loạt nuôi cấy đơn bị nhiễm tạp. Xác định hàm lượng độc tố uốn ván (Lf/ml) bằng phản ứng lên bông. Các mẻ gặt đơn có thể hỗn hợp lại để giải độc bằng formaldehyd và nhiệt độ; tinh chế theo phương pháp thích hợp.

Số lượng Lf trong vắc xin uốn ván bán thành phẩm tùy thuộc vào công thức gốc của từng nhà sản xuất nhưng không được quá 25 Lf trong một liều đơn cho người nếu sử dụng nhiều hơn một liều cho phác đồ tiêm miễn dịch cơ bản.

Giải độc tố uốn ván tinh chế được kiểm tra vô khuẩn, tính độc đặc hiệu, tính hồi độc, độ tinh sạch của kháng nguyên trước khi pha chế vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Vô khuẩn

Tiến hành thử nghiệm vô khuẩn trên môi trường canh thang Thioglycolat và Soybean Casein với mẫu giải độc tố uốn ván tinh chế: 10 ml giải độc tố uốn ván tinh chế cho mỗi môi trường.

Cách tiến hành và tiêu chuẩn chấp thuận theo Phụ lục 15.7.

Kiểm tra tính độc đặc hiệu

Tiêm dưới da ít nhất 500 Lf của giải độc tố uốn ván tinh chế chứa trong thể tích 1 ml vào mỗi chuột trong số 5 chuột lang khoẻ mạnh, cân nặng 250 g/con đến 350 g/con chưa sử dụng vào bất cứ mục đích gì trước đó. Theo dõi chuột trong vòng 21 ngày sau tiêm, nếu thấy bất kỳ triệu chứng nào hay bị chết do độc tố uốn ván thì lô giải độc tố uốn ván tinh chế này không đạt về tính an toàn đặc hiệu. Nếu có hơn một chuột lang thử nghiệm bị chết trong thời gian theo dõi vì bất kỳ nguyên nhân nào thì phải nhắc lại thử nghiệm. Nếu có hơn một chuột lang thử nghiệm bị chết trong lần thử nghiệm thứ hai thì lô giải độc tố uốn ván tinh chế này cũng không đạt về tính an toàn đặc hiệu.

Kiểm tra tính hồi độc

Sử dụng dung dịch đệm dùng để pha vắc xin thành phẩm nhưng không có chất hấp phụ để pha loãng giải độc tố uốn ván tinh chế sao cho có chứa hàm lượng giải độc tố tương đương như trong vắc xin thành phẩm (12,5 Lf/ml); chia thành 2 phần tương đương nhau và ủ mỗi phần của dung dịch này ở nhiệt độ khác nhau (5 ± 3) °C và 37 °C trong 6 tuần. Mỗi trong 2 mẫu thử sau khi ủ được đưa ra kiểm tra tính hồi độc của độc tố uốn ván bằng cách tiêm dưới da cho 5 chuột lang khỏe mạnh, cân nặng 250 g/con đến 350 g/con.

Giải độc tố uốn ván tinh chế đạt yêu cầu về thử nghiệm tính hồi độc khi các chuột thử nghiệm đều khỏe mạnh, lên

cân và không có chuột nào có dấu hiệu về phản ứng do độc tố uốn ván trong 3 tuần theo dõi.

Kiểm tra độ tinh sạch của kháng nguyên uốn ván

Giải độc tố uốn ván tinh chế phải đạt không ít hơn 1000 Lf/mg nitrogen protein.

Sản xuất nước cốt ho gà bất hoạt

Nước cốt ho gà được sản xuất dựa vào hệ thống chủng gốc. Chủng *Bordertella pertussis* dùng cho sản xuất vắc xin ho gà phải tuân thủ theo quy định về hệ thống chủng gốc và được nuôi cấy trên môi trường thích hợp. Việc lựa chọn chủng nuôi cấy, môi trường và phương pháp nuôi cấy thích hợp nhằm tạo ra vắc xin ho gà thành phẩm có được 3 ngưng kết nguyên 1; 2; 3. Từng chủng được nuôi cấy 24 h đến 72 h trong môi trường lỏng hoặc đặc. Không được dùng máu người hoặc các sản phẩm từ máu người trong bất kỳ môi trường nuôi cấy chủng ho gà nào để sản xuất vắc xin ho gà. Môi trường dùng trong giai đoạn nuôi cấy ho gà cuối cùng cũng không được phép có máu hoặc sản phẩm của máu.

Sau khi nuôi cấy, gặt và rửa sinh khối vi khuẩn ho gà để loại bỏ các chất còn tồn dư của môi trường nuôi cấy; pha thành hỗn dịch ho gà với nước muối sinh lý vô khuẩn thành hỗn dịch nước cốt ho gà cô đặc.

Kiểm tra tính thuần khiết của các mẻ gặt đơn

Lấy mẫu từ các mẻ gặt đơn để kiểm tra tính thuần khiết bằng phương pháp nhuộm soi kính hiển vi hoặc cấy vào môi trường nuôi cấy thích hợp. Các mẻ gặt đơn sẽ không được phép sử dụng vào việc pha chế bán thành phẩm khi phát hiện có nhiễm bất kỳ một loại gì khác vào sản phẩm.

Kiểm tra độ đục

Dùng bộ so độ đục chuẩn quốc tế hoặc đo mật độ quang (OD) ở bước sóng 560 nm của hỗn dịch nước cốt ho gà cô đặc (không được muộn hơn hai tuần sau khi gặt và trước khi huyền dịch vi khuẩn được đưa vào bất kỳ quy trình pha chế nào tiếp theo) để xác định đậm độ của nước cốt ho gà cô đặc. Đậm độ nước cốt ho gà được sử dụng làm cơ sở để tính toán khi pha chế vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Thành phần ho gà trong vắc xin DTP hỗn hợp không vượt quá 20 đơn vị độ đục quốc tế (IOU) trong một liều đơn vắc xin cho người. Tỷ lệ thành phần các chủng *B. pertussis* không được thay đổi khi hỗn hợp vắc xin, phải đăng ký rõ trong hồ sơ và được sự chấp thuận của cơ quan kiểm định quốc gia.

Kiểm tra độ sống sót

Hỗn dịch vi khuẩn ho gà được giết chết và giải độc bằng phương pháp được sự chấp thuận của cơ quan kiểm định quốc gia. Các hóa chất được sử dụng để giết chết và giải độc vi khuẩn ho gà cũng phải được sự chấp thuận bởi cơ quan kiểm định quốc gia. Hỗn dịch vi khuẩn ho gà được giết chết bằng nhiệt độ trong khoảng thời gian thích hợp và được kiểm tra sự sống sót của các vi khuẩn này trên môi trường Border - Gengou. Sau khi bất hoạt, nước cốt ho gà được bảo quản ở nhiệt độ (5 ± 3) °C trong một khoảng thời gian cần thiết để giảm bớt tính độc.

Mỗi loạt nước cốt ho gà đơn sẽ không được dùng để pha chế vắc xin bán thành phẩm khi không đạt các tiêu chuẩn về vô khuẩn, khả năng bất hoạt hoàn toàn (kiểm tra độ sống sót), nhận dạng, khả năng phát triển, ngưng kết như chủng gốc *B. pertussis*.

Phương pháp sản xuất phải được thẩm định để chứng minh rằng sản phẩm khi kiểm định sẽ tuân thủ và đạt được các tiêu chuẩn như mô tả dưới đây.

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm

Vắc xin bán thành phẩm được pha chế và hỗn hợp bởi một lượng thích hợp của giải độc tố bạch hầu và giải độc tố uốn ván đã được hấp phụ bởi nhôm phosphat hydrat hoặc nhôm hydroxyd và hỗn hợp thêm một lượng thích hợp của huyền dịch *B. pertussis* đã được bất hoạt; kết quả của sự hỗn hợp này khi tiêm vào cơ thể phải phù hợp về mặt sinh lý với máu. Hàm lượng *B. pertussis* của vắc xin bán thành phẩm phải không được vượt quá 20 IOU cho một liều đơn cho người. Nếu sử dụng 2 hoặc nhiều hơn số chủng *B. pertussis* thì khi pha vắc xin bán thành phẩm phải tính toán sao cho tổng số đơn vị độ đục của các chủng ho gà đưa vào phải không thay đổi giữa các loạt vắc xin và không vượt quá 20 IOU cho một liều đơn cho người. Hàm lượng chất bảo quản trong vắc xin DTP hấp phụ phải không ảnh hưởng đến tính sinh miễn dịch của giải độc tố uốn ván, bạch hầu, vắc xin ho gà và không gây ra những phản ứng có hại cho người sử dụng.

Chỉ vắc xin bán thành phẩm cuối cùng nào tuân thủ và đạt các yêu cầu dưới đây mới được sử dụng để sản xuất thành phẩm.

Chất bảo quản kháng khuẩn

Xác định hàm lượng chất bảo quản kháng khuẩn trong vắc xin bán thành phẩm cuối cùng bằng phương pháp thích hợp. Hàm lượng chất bảo quản không được ít hơn 85 % và không được nhiều hơn 115 % của lượng chất bảo quản tiêu chuẩn cho vào vắc xin (Phụ lục 15.29).

Vô khuẩn

Tiến hành thử nghiệm vô khuẩn trên môi trường canh thang Thioglycolat và Soybean casein. Dùng 10 ml vắc xin để kiểm tra trên mỗi môi trường (Phụ lục 15.7).

Công hiệu

Tiến hành các thử nghiệm kiểm tra công hiệu theo Phụ lục 15.22; Phụ lục 15.23 và Phụ lục 15.24.

Tính độc đặc hiệu

Tính độc đặc hiệu của vắc xin bạch hầu - uốn ván - ho gà toàn tế bào được kiểm tra trên mẫu bán thành phẩm cuối cùng hay vắc xin thành phẩm khi cần thiết (Phụ lục 15.4).

Đối với thành phần bạch hầu và uốn ván:

Chọn 5 chuột lang, có cân nặng mỗi chuột từ 250 g đến 350 g, tiêm dưới da một lượng vắc xin tương đương với ít nhất 5 liều đơn cho người. Theo dõi chuột hàng ngày. Vắc xin đạt yêu cầu nếu không có chuột lang nào có dấu hiệu liệt uốn ván hoặc triệu chứng nhiễm độc bạch hầu và ít nhất 80 % chuột sống trong thời gian 6 tuần. Nếu có chuột chết phải mổ để kiểm tra phủ tạng về dấu hiệu nhiễm độc bạch hầu (tuyến thượng thận đỏ).

Đối với thành phần ho gà:
Dùng ít nhất 20 chuột nhắt trắng, cân nặng mỗi chuột từ 14 g đến 16 g, cùng giới (nếu có cả 2 giới cần phân chia đều trong các nhóm) cho mỗi mẫu vắc xin thử và nhóm chứng. Mỗi chuột được tiêm vào ổ bụng 0,5 ml dung dịch chứa tối thiểu nửa liều đơn vắc xin cho người. Nhóm chứng được tiêm 0,5 ml nước muối sinh lý (tốt nhất chứa cùng hàm lượng chất bảo quản như có trong dung dịch tiêm cho nhóm thí nghiệm). Tổng khối lượng các nhóm chuột được xác định vào 72 h và 7 ngày sau tiêm. Vắc xin đạt yêu cầu nếu đạt cả 3 tiêu chuẩn sau:
Sau 72 h tổng khối lượng chuột không ít hơn trước tiêm.
Sau 7 ngày khối lượng trung bình mỗi chuột không ít hơn 60 % so với nhóm chứng.
Số chuột chết không quá 5 % tổng số chuột đã được tiêm.

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Nhận dạng
Thành phần bạch hầu - uốn ván - ho gà toàn tế bào trong vắc xin DTwP hấp phụ được tách gel bằng cách cho thêm natri citrat ($C_6H_5O_7Na_3.2H_2O$) với nồng độ 5 % ủ ở 37 °C trong 48 h. Sau đó ly tâm 2000 r/min trong 15 min. Nước nổi được dùng để nhận dạng thành phần bạch hầu và uốn ván bằng phản ứng lên bông, cặn ly tâm dùng để nhận dạng thành phần ho gà có trong vắc xin bằng phản ứng ngưng kết trên phiến kính với các huyết thanh kháng ho gà đặc hiệu (Phụ lục 15.19).

Vô khuẩn
Đạt vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

An toàn chung
Thử nghiệm được tiến hành trên chuột nhắt trắng và chuột lang khoẻ mạnh. Tiêm vào ổ bụng cho 5 chuột nhắt trắng có cân nặng mỗi chuột 17 g/con đến 22 g/con, mỗi con một nửa liều tiêm cho người; tiêm vào ổ bụng 2 chuột lang có cân nặng mỗi chuột 250 g đến 350 g; mỗi con một liều tiêm cho người nhưng không quá 1 ml/con.
Vắc xin được coi là không có độc tính bất thường nếu tất cả các động vật thí nghiệm sống khoẻ mạnh và lên cân trong thời gian ít nhất 7 ngày thử nghiệm và không có dấu hiệu nhiễm độc.

Công hiệu
Tiến hành kiểm tra ở mẫu vắc xin DTwP thành phẩm khi chưa kiểm tra công hiệu trên vắc xin bán thành phẩm hoặc khi có chỉ định cần thiết (Phụ lục 15.22; 15.23; 15.24).

Tính chất vật lý, hoá học
Cảm quan:
Kiểm tra hình dạng bên ngoài của vắc xin bằng mắt thường: Huyền dịch vắc xin chia thành 2 lớp, phần dung dịch phía trên trong suốt không màu hoặc vàng nhạt; lớp lắng cặn dưới đáy lọ có màu trắng xám.
Nhanh chóng tạo huyền dịch đồng nhất sau khi lắc nhẹ, không lẫn chất lạ.
Tính chất vật lý:
Thể tích vắc xin mỗi lọ: Thể tích ghi trên nhãn +10 %.
Tỷ lệ loại bỏ:
Đối với vắc xin đa liều: Không quá 3 %.
Đối với vắc xin liều đơn: Không quá 5 %.
Không bị đông băng (tiêu chuẩn này chỉ kiểm tra sau khi bảo quản hay vận chuyển theo dây chuyền lạnh, không phải tiêu chuẩn xuất xưởng của nhà sản xuất): Lọ vắc xin mẫu thử phải có tốc độ lắng cặn chậm hơn nhiều so với lọ chứng dương và không có sự tạo hạt hay hình ảnh bông tuyết lơ lửng trong huyền dịch vắc xin hay kết thành cục sau khi lắc.

Chất bảo quản
Hàm lượng thimerosal cho phép là 0,005 % đến 0,02 % (Phụ lục 15.29).

Chất hấp phụ
Hàm lượng Al^{+++} trong vắc xin DTP hấp phụ không được quá 1,25 mg Al^{+++}/1 liều tiêm cho người (Phụ lục 15.27).

pH
6,0 đến 7,0 (Phụ lục 15.33).

Formaldehyd tồn dư
Không quá 0,02 % (Phụ lục 15.25).

Bảo quản, hạn dùng
Ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C vắc xin có thể giữ công hiệu 2,5 năm.
Nhà sản xuất phải đưa ra khuyến cáo về điều kiện bảo quản và vận chuyển vắc xin DTwP hấp phụ để đảm bảo rằng vắc xin đạt công hiệu theo yêu cầu cho đến khi hết hạn sử dụng như đã đăng ký và ghi trên nhãn. Vắc xin DTwP hấp phụ phải được bảo quản sao cho không bị đông băng.
Hạn dùng của vắc xin phải được cơ quan kiểm định quốc gia chấp thuận và cố định, dựa vào các số liệu nghiên cứu tính ổn định của vắc xin và không được quá 2,5 năm tính từ cuối thử nghiệm kiểm tra công hiệu (tính từ ngày tiêm miễn dịch trên động vật thí nghiệm).

Nhãn
Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

VẮC XIN BẠCH HẦU, UỐN VÁN HẤP PHỤ DÙNG CHO NGƯỜI LỚN VÀ VỊ THÀNH NIÊN

Vaccinum diphtheriae et tetani ad usum adulti et adulescentis adsorbatum

Vắc xin bạch hầu, uốn ván hấp phụ là vắc xin phối hợp, được điều chế từ độc tố bạch hầu và độc tố uốn ván. Các độc tố này được sinh ra trong quá trình nuôi cấy *Corynebacterium diphtheriae* hoặc *Clostridium tetani*, sau đó xử lý bằng formaldehyd và nhiệt độ để làm mất tính độc, trở thành giải độc tố mà vẫn còn khả năng sinh miễn dịch. Các giải độc tố được hấp phụ với tá chất thích hợp như nhôm phosphat hoặc nhôm hydroxyd.

Sản xuất

Giải độc tố bạch hầu tinh chế bán thành phẩm

Chủng dùng sản xuất ra độc tố bạch hầu cần phải tuân thủ quy định về hệ thống giống chủng. Chủng *Corynebacterium diphtheriae* có tính độc cao đã biết rõ nguồn gốc và lịch sử, được nuôi cấy trong môi trường lỏng phù hợp. Kết thúc giai đoạn nuôi cấy, từng mẻ nuôi cấy được kiểm tra độ sạch để loại bỏ những mẻ bị nhiễm tạp. Độc tố được chiết tách vô khuẩn để loại bỏ xác vi khuẩn. Thông qua việc xác định hàm lượng độc tố (Lf/ml) có thể giám sát được tính ổn định trong sản xuất.

Các mẻ gặt đơn có thể hỗn hợp lại rồi giải độc và tinh chế. Quá trình tinh chế có thể thực hiện trước hoặc sau quá trình giải độc. Việc tinh chế độc tố nhằm loại bỏ các thành phần gây ra những phản ứng phụ ở người. Độc tố tinh chế được giải độc bằng formaldehyd theo phương pháp thích hợp (thông thường bằng nhiệt) nhằm tránh sự phá hủy khả năng sinh miễn dịch của giải độc tố và tránh hồi độc.

Chỉ những giải độc tố tinh chế bán thành phẩm đạt những tiêu chuẩn quy định mới được dùng để pha chế thành vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Kiểm tra vô khuẩn:

Cần tiến hành thử nghiệm vô khuẩn với ít nhất một lượng mẫu thử 10 ml trên mỗi loại môi trường.

Kiểm tra an toàn đặc hiệu (xác định sự không có mặt của độc tố):

Tiêm dưới da 1 ml giải độc tố tinh chế chứa ít nhất 500 Lf (mỗi chuột) cho 5 chuột lang khỏe mạnh có cân nặng 250 g/con đến 350 g/con, chưa dùng cho thử nghiệm nào trước đó. Theo dõi chuột trong 42 ngày, thử nghiệm đạt yêu cầu nếu như không có chuột nào chỉ ra dấu hiệu hoặc bị chết do nhiễm độc tố bạch hầu. Nếu nhiều hơn 1 con chuột lang chết không rõ nguyên nhân, thử nghiệm cần nhắc lại. Nếu trong lần thử thứ hai có nhiều hơn 1 chuột chết, giải độc tố đó không đạt yêu cầu về an toàn.

Kiểm tra tính hồi độc của độc tố bạch hầu:

Pha loãng giải độc tố tinh chế trong dung dịch đệm để có hàm lượng tương đương với hàm lượng giải độc tố bạch hầu trong vắc xin thành phẩm. Chia mẫu thử thành 2 phần tương đương nhau rồi giữ ở 2 nhiệt độ (5 ± 3) °C và 37 °C trong 6 tuần.

Cả 2 mẫu thử được kiểm tra bằng cách tiêm dưới da 5 ml (mỗi chuột) cho 5 chuột lang có cân nặng mỗi chuột từ 250 g đến 350 g. Theo dõi chuột trong 6 tuần. Giải độc tố bạch hầu đạt yêu cầu, nếu kết quả kiểm tra của các mẫu thử không chỉ ra sự có mặt của độc tố bạch hầu.

Độ sạch kháng nguyên: Không ít hơn 1500 Lf/mg nitơ protein

Giải độc tố uốn ván tinh chế bán thành phẩm

Chủng dùng sản xuất ra độc tố uốn ván cần phải tuân thủ quy định về hệ thống giống chủng. Chủng *Clostridium tetani* có tính độc cao đã biết rõ về nguồn gốc và lịch sử, được nuôi cấy trong môi trường lỏng phù hợp. Kết thúc giai đoạn nuôi cấy, mỗi mẻ nuôi cấy được kiểm tra độ thuần khiết để loại bỏ những mẻ bị tạp nhiễm. Môi trường có độc tố được chiết tách vô khuẩn để loại bỏ xác vi khuẩn. Thông qua việc xác định hàm lượng độc tố (Lf/ml) có thể giám sát được tính ổn định trong sản xuất.

Các mẻ gặt đơn có thể hỗn hợp lại để giải độc và tinh chế. Quá trình tinh chế có thể thực hiện trước hoặc sau quá trình giải độc. Tinh chế độc tố nhằm loại bỏ các thành phần gây ra những phản ứng phụ ở người. Độc tố tinh chế được giải độc bằng formaldehyd theo phương pháp thích hợp, nhằm tránh sự phá hủy khả năng sinh miễn dịch của giải độc tố và tránh việc hồi phục độc lực, thông thường dùng phương pháp nhiệt.

Chỉ những giải độc tố uốn ván tinh chế bán thành phẩm đạt những tiêu chuẩn quy định mới được dùng để pha chế thành vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Kiểm tra vô khuẩn:

Cần tiến hành thử nghiệm vô khuẩn với ít nhất một lượng mẫu thử 10 ml trên mỗi loại môi trường (Phụ lục 15.7).

Kiểm tra an toàn đặc hiệu (xác định sự không có mặt của độc tố):

Tiêm dưới da giải độc tố tinh chế chứa ít nhất 500 Lf cho mỗi chuột trong 5 chuột lang khỏe mạnh có cân nặng 250 g/con đến 350 g/con mà chưa dùng cho thử nghiệm nào trước đó. Theo dõi chuột trong 21 ngày, thử nghiệm đạt yêu cầu nếu như không có chuột nào chỉ ra dấu hiệu liệt hoặc bị chết bởi độc tố uốn ván. Nếu nhiều hơn 1 con chuột chết không rõ nguyên nhân, thử nghiệm cần nhắc lại. Nếu trong lần thử thứ 2 có nhiều hơn 1 chuột chết hoặc liệt, giải độc tố uốn ván đó không đạt yêu cầu về an toàn.

Kiểm tra tính hồi độc của độc tố uốn ván:

Pha loãng giải độc tố uốn ván tinh chế trong dung dịch đệm để có hàm lượng tương đương với hàm lượng có trong vắc xin thành phẩm. Chia thể tích mẫu thành 2 phần tương đương nhau và giữ ở 2 nhiệt độ (5 ± 3) °C và 37 °C trong 6 tuần.

Cả 2 mẫu thử được kiểm tra bằng việc tiêm dưới da cho 5 chuột lang, mỗi con có cân nặng 250 g đến 350 g, liều tiêm 5 ml/con. Theo dõi trong 21 ngày. Giải độc tố đạt yêu cầu nếu kết quả kiểm tra của các mẫu thử không chỉ ra sự có mặt của độc tố uốn ván.

Độ sạch kháng nguyên: Không ít hơn 1000 Lf/mg nitơ protein.

Vắc xin bán thành phẩm cuối cùng

Vắc xin bán thành phẩm cuối cùng được điều chế bằng cách cho giải độc tố tinh chế bạch hầu và giải độc tố tinh chế uốn ván hấp phụ với nhôm phosphat hoặc nhôm hydroxyd. Cho thêm chất bảo quản, thông thường dùng thimerosal. Không sử dụng phenol là loại gây ảnh hưởng có hại cho hoạt tính kháng nguyên.

Chỉ những vắc xin bán thành phẩm cuối cùng đạt những tiêu chuẩn quy định mới được dùng để pha chế thành vắc xin thành phẩm.

Chất bảo quản:

Xác định hàm lượng chất bảo quản bằng phương pháp hóa học thích hợp. Hàm lượng chất bảo quản không ít hơn 85 % và không nhiều hơn 115 % so với lượng ghi trên nhãn (Phụ lục 15.29).

Vô khuẩn:
Cần tiến hành thử nghiệm vô khuẩn với lượng mẫu thử 10 ml trên mỗi loại môi trường (Phụ lục 15.7).
Công hiệu:
Thử nghiệm công hiệu được thực hiện giai đoạn bán thành phẩm cuối cùng hoặc thành phẩm (Phụ lục 15.22 và Phụ lục 15.23).
An toàn đặc hiệu:
Mỗi bán thành phẩm cuối cùng được kiểm tra an toàn đặc hiệu trong ít nhất 5 chuột lang chưa dùng thí nghiệm nào trước đó có cân nặng 250 g/con đến 350 g/con bằng cách tiêm dưới da một lượng tương đương với ít nhất 5 liều đơn tiêm cho người. Theo dõi chuột trong vòng 42 ngày. Chuột chết được mổ và kiểm tra các phủ tạng. Thử nghiệm đạt yêu cầu nếu không có chuột lang nào chỉ ra dấu hiệu của tính độc đặc hiệu của độc tố uốn ván (biểu hiện liệt hoặc dấu hiệu khác của độc tố uốn ván) và ít nhất có 80 % động vật sống sót trong thời gian theo dõi.

Vắc xin thành phẩm
Vắc xin bán thành phẩm cuối cùng được đóng vô khuẩn vào các lọ nhỏ. Các lọ vắc xin phải được đóng kín để phòng ngừa nhiễm khuẩn.
Chỉ những loạt thành phẩm thỏa mãn các yêu cầu về các thử nghiệm như Tổ chức Y tế Thế giới và Tiêu chuẩn Việt Nam khuyến cáo mới được phép xuất xưởng để sử dụng.
Cảm quan:
Mẫu kiểm định của mỗi loạt thành phẩm sẽ phải được kiểm tra bằng mắt thường. Nếu kết quả kiểm tra cho thấy có sự bất thường, không theo đúng yêu cầu cần phải hủy bỏ.
Nhận dạng:
Nhận dạng giải độc tố bạch hầu và uốn ván bằng thử nghiệm lên bông hoặc khuyếch tán miễn dịch.
Công hiệu:
Thành phần bạch hầu: Phương pháp tiến hành như đã mô tả trong phụ lục xác định công hiệu vắc xin bạch hầu hấp phụ. Giới hạn 95 % độ tin cậy của công hiệu được đánh giá là không ít hơn 2 IU/liều đơn cho người (Phụ lục 15.23).
Thành phần uốn ván: Phương pháp tiến hành như đã mô tả trong phụ lục xác định công hiệu vắc xin uốn ván hấp phụ. Giới hạn 95 % độ tin cậy của công hiệu được đánh giá là không ít hơn 20 IU/liều đơn cho người (Phụ lục 15.22).
Vô khuẩn:
Đạt yêu cầu về tính vô khuẩn, không nhiễm vi khuẩn và nấm (Phụ lục 15.7).
An toàn chung: Theo Phụ lục 15.11.
pH: 6,0 đến 7,0 (Phụ lục 15.33).
Thimerosal:
Hàm lượng chất bảo quản thimerosal không ít hơn 85% và không nhiều hơn 115 % so với lượng ghi trên nhãn (Phụ lục 15.29).
Nhôm:
Không quá 1,25 mg nhôm trong liều đơn vắc xin tiêm cho người (Phụ lục 15.27).
Hàm lượng muối natri clorid:
Phụ lục 15.26.
Hàm lượng formaldehyd tồn dư:
Phụ lục 15.25.

Bảo quản, hạn dùng
Hạn dùng của vắc xin phải được cơ quan Kiểm định quốc gia chấp thuận và cố định, dựa vào các số liệu nghiên cứu tính ổn định của vắc xin trên ít nhất 3 loạt liên tiếp (được sản xuất từ các bán thành phẩm riêng biệt).
Khi bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C, vắc xin có hạn dùng là 3 năm kể từ ngày chuẩn độ công hiệu cuối cùng. Không được để vắc xin bị đông băng.

Nhãn
Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

VẮC XIN PHỐI HỢP BẠCH HẦU, UỐN VÁN, HO GÀ VÔ BÀO (DTaP) HẤP PHỤ

Vaccinum diphtheriae, tetani et pertussis sine cellulis ex elementis praeparatum adsorbatum

Vắc xin bạch hầu, ho gà vô bào, uốn ván hấp phụ là một hỗn hợp bao gồm các kháng nguyên có khả năng bảo vệ được chế tạo từ giải độc tố bạch hầu, uốn ván và từng thành phần tinh khiết có tính kháng nguyên của vi khuẩn ho gà (*Bordetella pertussis)* được hấp phụ trên muối nhôm như nhôm hydroxyd hoặc nhôm phosphat hydrat. Khi lắc kỹ, hỗn hợp sẽ trở nên đồng nhất.

SẢN XUẤT

Sản xuất giải độc tố bạch hầu và giải độc tố uốn ván
Theo phần "Sản xuất giải độc tố bạch hầu" và phần "Sản xuất giải độc tố uốn ván" của chuyên luận Vắc xin bạch hầu, uốn ván ho gà hấp phụ DTwP.

Sản xuất giải độc tố ho gà

Chủng sản xuất
Sử dụng chủng *Bordetella pertussis* pha I để sản xuất. Chủng *Bordetella pertussis* dùng để sản xuất vắc xin phải được tuân thủ theo quy định về hệ thống chủng gốc. Nếu sử dụng chủng *Bordetella pertussis* biến đổi ADN thì trình tự ADN đã biến đổi phải được mô tả rõ ràng, đầy đủ các đặc tính. Chủng sản xuất phải có các đặc tính như chủng gốc. Chủng có thể được bảo quản trong nitrogen lỏng hoặc đông khô.
Môi trường nuôi cấy: Không được dùng máu và các sản phẩm từ máu người trong bất kỳ môi trường nuôi cấy chủng ho gà nào để sản xuất vắc xin ho gà, kể cả giai đoạn cuối cùng. Môi trường nuôi cấy không được có bất kỳ tạp nhiễm nào. Thành phần kháng nguyên có tính bảo vệ được tinh chế bằng các phương pháp hóa học như: Cắt phân đoạn amoni sulfat, ly tâm theo gradient tỷ trọng của đường sucrose. Sau khi tinh chế, các kháng nguyên có tính bảo vệ này được giải độc bằng formaldehyd hoặc bằng phương pháp thích hợp khác để ức chế khả năng gây độc của chúng.

Kiểm tra sự thuần khiết của chủng vi khuẩn: Nuôi cấy các mẻ đơn trên môi trường thích hợp. Nhuộm Gram soi mẫu vi khuẩn từ tất cả các mẻ nuôi cấy đơn này. Nếu có bất kỳ tạp nhiễm nào, mẻ gặt đơn đó sẽ không được sử dụng vào việc pha chế bán thành phẩm và phải loại bỏ.
Vô khuẩn: Không phát hiện thấy nấm và tạp khuẩn (Phụ lục 15.7).

Kiểm tra đặc tính của các kháng nguyên
Tính ổn định của các thành phần riêng lẻ phải được thẩm định trong quá trình sản xuất theo các tiêu chuẩn dưới đây. Sau khi đã được thẩm định về tính ổn định, các thử nghiệm này không đòi hỏi phải được thực hiện ở mỗi loạt sản xuất.
Adenylat cyclase: Không được quá 500 ng/1 liều đơn cho người.
Độc tố tế bào khí quản: Không được quá 2 pmol/1 liều đơn cho người.
Độc tố gây hoại tử da tồn dư: Tiêm trong da cho 3 chuột chưa cai sữa, mỗi chuột 0,1 ml với lượng kháng nguyên tương đương với 1 liều tiêm cho người của vắc xin. Theo dõi trong 48 h. Vắc xin được coi là đạt nếu không có phản ứng hoại tử da trên chuột.
Kiểm tra sự có mặt của độc tố ho gà (PT- pertussis toxin): Sử dụng phương pháp *in vitro* như: Quan sát khả năng gây vón cục tế bào trứng của chuột đất vàng Trung Quốc hoặc phương pháp ngưng kết trên tế bào hồng cầu. Sử dụng các phương pháp *in vivo* như: Xác định sự hoạt động của yếu tố làm tăng lympho bào, yếu tố nhạy cảm với histamin, hoặc yếu tố làm tăng tiết insulin.
Tiêu chuẩn: Độc tố chỉ ra có hoạt tính sinh học của ADP-ribosyl khi sử dụng transducin như chất hấp phụ.
Kiểm tra sự có mặt của yếu tố gây ngưng kết hồng cầu dạng sợi: Sử dụng phương pháp ngưng kết trên tế bào hồng cầu hoặc phương pháp ức chế ngưng kết. Tiêu chuẩn: Ngưng kết hoặc ức chế ngưng kết với kháng thể đặc hiệu.
Pertactin, fimbrial-2, fimbrial-3: Sử dụng phương pháp miễn dịch thích hợp. Tiêu chuẩn: Có phản ứng với kháng thể đặc hiệu.
Giải độc tố ho gà: Xem xét khả năng tạo kháng thể của chuột có ức chế được khả năng gây độc của độc tố ho gà hay không. Tiêu chuẩn: Giải độc tố khi tiêm cho chuột thì chuột tạo được kháng thể có khả năng ức chế tính độc của độc tố ho gà.

Độ tinh khiết của các kháng nguyên
Trước giải độc: Độ tinh khiết của các kháng nguyên đơn hoặc phối hợp được xác định bằng các phương pháp thích hợp như SDS-PAGE, sắc ký lỏng hoặc bằng các phương pháp phân tích phù hợp khác. Trong trường hợp có 2 kháng nguyên trở lên cùng được tinh chế thì tỷ lệ mỗi kháng nguyên phải được xác định bằng các phương pháp thích hợp như SDS-PAGE, phương pháp sắc ký lỏng, điện di trên gel không biến tính, đo tỷ trọng....và phải chứng minh được tỷ lệ đó tạo được hiệu quả cho vắc xin trên thử nghiệm lâm sàng.
Hàm lượng nội độc tố nhỏ hơn 100 IU/1 liều đơn cho người. Sử dụng phương pháp tạo gel hoặc phương pháp thích hợp khác (Phụ lục 13.2).
Kiểm tra vô khuẩn: Đạt yêu cầu vô khuẩn (Phụ lục 15.7).
Giải độc: PT, FHA (Filamentous haemagglutinin), Pertactin được giải độc bằng formaldehyd theo phương pháp thích hợp đã được thẩm định (thường là bằng nhiệt), đảm bảo không có sự hồi độc của giải độc tố thành độc tố trong quá trình bảo quản vắc xin.
Các thành phần khác như fimbrial-2 và fimbrial-3 phải được chứng minh là không liên kết với các chất độc khác.
Sau giải độc: Kiểm tra sự tồn dư của độc tố ho gà: Xác định lượng độc tố ho gà (PT) tồn dư bằng một số phương pháp có độ tin cậy cao như: Phương pháp quan sát khả năng gây vón cục tế bào trứng của chuột đất vàng Trung Quốc. Khi pha loãng vắc xin đến nồng độ thích hợp, tổng hàm lượng độc tố ho gà tồn dư từ tất cả các kháng nguyên của vi khuẩn ho gà không được vượt quá lượng giới hạn an toàn trong vắc xin. Giới hạn này được tìm qua các thử nghiệm lâm sàng.
Hàm lượng kháng nguyên: Được xác định bằng các phương pháp hóa miễn dịch, phương pháp nitơ protein (nitrogen protein) hoặc bằng các phương pháp thích hợp khác. Tiêu chuẩn: Tỷ lệ kháng nguyên/nitrogen protein nằm trong giới hạn đã được xác định cho sản phẩm.
Vô khuẩn: Mỗi mẻ kháng nguyên tinh chế đều phải được kiểm tra tính vô khuẩn (Phụ lục 15.7). Tiêu chuẩn: Không có nấm và vi khuẩn mọc sau 14 ngày nuôi cấy.

KIỂM ĐỊNH VẮC XIN BÁN THÀNH PHẨM

Vắc xin bán thành phẩm được pha chế và hỗn hợp bởi một lượng thích hợp của giải độc tố bạch hầu, giải độc tố uốn ván và giải độc tố ho gà đã được hấp phụ với nhôm phosphat hydrat hoặc nhôm hydroxyd, thêm tá dược và chất bảo quản với hàm lượng thích hợp sao cho vắc xin đạt tính an toàn và hiệu quả.

Hàm lượng chất giải độc tồn dư
Nếu formaldehyd được sử dụng thì hàm lượng chất này không vượt quá 0,2 g/l (Phụ lục 15.25) nếu hàm lượng glutaraldehyd tồn dư không quá 0,1 g/l.

Chất bảo quản
Xác định chất bảo quản kháng khuẩn trong vắc xin bán thành phẩm cuối cùng bằng phương pháp hóa lý hoặc phương pháp vi sinh vật. Hàm lượng chất bảo quản không được ít hơn 85 % và không được nhiều hơn 115 % của lượng chất bảo quản tiêu chuẩn cho vào vắc xin (Phụ lục 15.29).
Nếu chất kháng sinh được sử dụng thì hàm lượng chất kháng sinh không được thấp hơn lượng nhỏ nhất có hiệu quả bảo quản và không vượt quá 115 % hàm lượng ghi trên nhãn. Xác định hàm lượng chất kháng sinh theo Phụ lục 13.9.

Nhôm
Không được quá 1,25 mg/1 liều đơn cho người (Phụ lục 15.27).

Calci
Không được quá 1,3 mg/1 liều đơn cho người.

Vô khuẩn
Đạt yêu cầu vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Công hiệu
Tiến hành các thử nghiệm kiểm tra công hiệu bạch hầu và uốn ván theo Phụ lục 15.22 và Phụ lục 15.23.

Xác định tính sinh miễn dịch của thành phần ho gà
Phương pháp gây miễn dịch trên chuột nhắt sau đó chuẩn độ kháng thể bằng phương pháp ELISA. Tiêu chuẩn: Nhiều phương pháp tính toán có thể được áp dụng. Trong trường hợp sử dụng phần mềm SoftMaxPro tính toán thì hàm lượng huyết thanh kháng PT không được ít hơn 38 EU/ml, hàm lượng huyết thanh kháng FHA không được ít hơn 125 EU/ml, hàm lượng huyết thanh kháng PRN không được ít hơn 9400 EU/ml.
Giới hạn tin cậy (P=0,95) không dưới 50 % và không vượt quá 200 % của công hiệu tương đối với mỗi kháng nguyên của vi khuẩn ho gà.
Phân tích thống kê cho thấy độ dốc có ý nghĩa và không có độ lệch từ đường cong đáp ứng liều.

Tính độc đặc hiệu
Với thành phần bạch hầu và uốn ván theo Phụ lục 15.4.

Kiểm tra hồi độc và sự tồn dư độc tố ho gà
Kiểm tra sự nhạy cảm của độc tố ho gà với histamin. Có hai phương pháp là phương pháp tính tỷ lệ chết 24 h sau tiêm histamin và phương pháp đo nhiệt độ chuột nhắt sau tiêm histamin. Nếu sử dụng phương pháp tính tỷ lệ chết 24 h sau tiêm histamin thì khi tiêm miễn dịch với 1 liều tiêm vắc xin cho người cho 1 chuột, không có chuột chết ở liều tiêm thử thách 8 mg/ml histamin dihydroclorid hoặc 4 mg/ml histamin base. Tổng số chuột sử dụng là 10 chuột trên một mẫu. Khi sử dụng phương pháp đo nhiệt độ chuột nhắt sau tiêm histamin thì hàm lượng độc tố PT tồn dư hoặc hồi độc không được quá 0,4 HSU/ml (HSU: histamine sensitization unit = đơn vị nhạy cảm histamin của chuột nhắt).

KIỂM ĐỊNH VẮC XIN THÀNH PHẨM

Cảm quan
Kiểm tra hình dạng bên ngoài của vắc xin bằng mắt thường, huyền dịch vắc xin chia thành hai lớp, phần huyền dịch phía trên trong suốt, không màu hoặc vàng nhạt, lớp lắng cặn dưới đáy lọ có màu trắng xám. Nhanh chóng tạo huyền dịch đồng nhất sau khi lắc nhẹ. Không lẫn chất lạ.

Nhận dạng
Nhận dạng thành phần uốn ván, bạch hầu theo Phụ lục 15.19.
Nhận dạng thành phần ho gà vô bào: Phương pháp khuếch tán miễn dịch kép. Có sự ngưng kết đặc hiệu giữa kháng nguyên ho gà trong vắc xin với kháng thể ho gà chuẩn.

Vô khuẩn
Đạt yêu cầu vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Nhôm
Không được quá 1,25 mg/1 liều đơn cho người (Phụ lục 15.27).

Calci
Không được quá 1,3 mg/1 liều đơn cho người.

Thimerosal
Từ 0,005 % đến 0,02 % (Phụ lục 15.29).

Formaldehyd tồn dư
Không được quá 0,02 % (Phụ lục 15.25).

pH
Từ 6,0 đến 7,0 (Phụ lục 15.33).

An toàn chung
Thử nghiệm tiến hành trên chuột nhắt trắng và chuột lang khỏe mạnh. Tiêm vào ổ bụng cho 5 chuột nhắt trắng có cân nặng 18 - 22 g/con. Tiêm vào ổ bụng 2 chuột lang có cân nặng 250 - 350 g/con. Tiêm mỗi chuột nhắt 1 liều tiêm cho người nhưng không quá 1 ml, tiêm mỗi chuột lang tương ứng 10 liều tiêm cho người nhưng không vượt quá 5 ml. Vắc xin được coi là không có độc tính bất thường nếu tất cả động vật thí nghiệm sống khỏe mạnh và lên cân trong thời gian ít nhất 7 ngày thử nghiệm và không có dấu hiệu nhiễm độc.

Nội độc tố vi khuẩn
Hàm lượng nội độc tố nhỏ hơn 100 EU/1 liều đơn cho người. Sử dụng phương pháp tạo gel hoặc phương pháp thích hợp khác (Phụ lục 13.2).

Kiểm tra hồi độc và sự tồn dư độc tố ho gà
Xem mục Kiểm định vắc xin bán thành phẩm.

Công hiệu bạch hầu, uốn ván
Tiến hành kiểm tra ở mẫu vắc xin DTaP thành phẩm khi chưa kiểm tra công hiệu trên vắc xin bán thành phẩm hoặc khi có chỉ định cần thiết (Phụ lục 15.22 và Phụ lục 15.23).

Xác định tính sinh miễn dịch của thành phần ho gà
Phương pháp gây miễn dịch trên chuột nhắt sau đó chuẩn độ kháng thể bằng phương pháp ELISA.
Tiêu chuẩn: Nhiều phương pháp tính toán có thể được áp dụng. Trong trường hợp sử dụng phần mềm SoftMaxPro tính toán thì hàm lượng huyết thanh kháng PT không được ít hơn 38 EU/ml, hàm lượng huyết thanh kháng FHA không được ít hơn 125 EU/ml, hàm lượng huyết thanh kháng PRN không được ít hơn 9400 EU/ml.
Giới hạn tin cậy (P=0,95) không dưới 50 % và không vượt quá 200 % của công hiệu tương đối với mỗi kháng nguyên của vi khuẩn ho gà.
Phân tích thống kê cho thấy độ dốc có ý nghĩa và không có độ lệch từ đường cong đáp ứng liều.

Bảo quản, hạn dùng
Bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C vắc xin có thể giữ công hiệu trong ít nhất 2 năm.

Nhà sản xuất phải đưa ra khuyến cáo về điều kiện bảo quản và vận chuyển vắc xin để đảm bảo rằng vắc xin đạt công hiệu theo yêu cầu cho đến khi hết hạn sử dụng như đăng ký ghi trên nhãn. Vắc xin phải được bảo quản sao cho không bị đông băng.

Hạn dùng của vắc xin phải được cơ quan kiểm định quốc gia chấp nhận và cố định dựa vào các số liệu nghiên cứu tính ổn định của vắc xin.

Nhãn

Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của quy định hiện hành.

VẮC XIN BẠCH HẦU, UỐN VÁN, HO GÀ, VIÊM GAN B VÀ Hib (DT_wP - HeB - Hib)

Vaccinum diphtheriae, tetani, pertussis, hepatitidis B et haemophili stirpis b coniugatum adsorbatum

Vắc xin bạch hầu, uốn ván, ho gà, viêm gan B và Hib là một hỗn hợp các kháng nguyên hấp phụ vào tá chất nhôm, gồm các giải độc tố bạch hầu, uốn ván tinh chế, vắc xin ho gà toàn tế bào, kháng nguyên bề mặt (HBsAg) virus viêm gan B tái tổ hợp và kháng nguyên Hib cộng hợp. Tá chất là nhôm.

Sản xuất giải độc tố bạch cầu

Vắc xin bạch hầu được sản xuất dựa vào hệ thống chủng gốc. Chủng *Corynebacterium diphtheriae* dùng cho sản xuất phải tuân thủ theo quy định về hệ thống chủng gốc và được nuôi cấy trên môi trường lỏng Lingood. Cuối giai đoạn nuôi cấy, cần kiểm tra tính thuần khiết để loại bỏ những loạt nuôi cấy đơn bị nhiễm tạp. Xác định hàm lượng độc tố bạch hầu (Lf/ml) bằng phản ứng lên bông. Các mẻ gặt đơn có thể hỗn hợp lại để giải độc bằng formaldehyd và tinh chế theo phương pháp thích hợp.

Giải độc tố bạch hầu tinh chế được kiểm tra vô khuẩn, tính độc đặc hiệu, tính hồi độc, độ tinh sạch của kháng nguyên trước khi pha chế vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Vô khuẩn

Tiến hành thử nghiệm vô khuẩn trên môi trường canh thang Thioglycolat và Soybean Casein với 10 ml mẫu giải độc tố bạch hầu tinh chế cho mỗi môi trường.

Cách tiến hành và tiêu chuẩn chấp thuận theo Phụ lục 15.7.

Kiểm tra tính độc đặc hiệu

Tiêm dưới da ít nhất 500 Lf của giải độc tố bạch hầu tinh chế chứa trong thể tích 1 ml vào mỗi trong số 5 chuột lang khối lượng 250 g/con đến 350 g/con, khỏe mạnh, chưa sử dụng vào bất cứ mục đích gì trước đó. Theo dõi chuột trong vòng 42 ngày sau tiêm, nếu thấy chuột có những triệu chứng bất thường hay bị chết do độc tố bạch hầu thì lô giải độc tố bạch hầu tinh chế này không đạt về tính an toàn đặc hiệu. Nếu có hơn một chuột lang thử nghiệm bị chết trong thời gian theo dõi vì bất kỳ nguyên nhân nào không phải do độc tố bạch hầu thì phải nhắc lại thử nghiệm. Nếu có hơn một chuột lang thử nghiệm bị chết trong lần thử nghiệm thứ hai thì lô giải độc tố bạch hầu tinh chế này không đạt về tính an toàn đặc hiệu.

Kiểm tra tính hồi độc

Sử dụng dung dịch đệm giống như dùng để pha vắc xin thành phẩm nhưng không có chất hấp phụ để pha loãng giải độc tố bạch hầu tinh chế sao cho có chứa hàm lượng giải độc tố tương đương như trong vắc xin thành phẩm (35 Lf/ml); chia thành 2 phần tương đương nhau và ủ mỗi phần của dung dịch này ở nhiệt độ khác nhau (5 ± 3) °C và 37 °C trong 6 tuần. Từng mẫu trong 2 mẫu thử sau khi ủ được đưa ra kiểm tra tính hồi độc của độc tố bạch hầu bằng cách tiêm dưới da cho 5 chuột lang khỏe mạnh, khối lượng từ 250 g/con đến 350 g/con.

Giải độc tố bạch hầu tinh chế đạt yêu cầu về thử nghiệm tính hồi độc khi các chuột lang thử nghiệm đều khỏe mạnh, lên cân và không có chuột nào có dấu hiệu về phản ứng do độc tố bạch hầu trong 6 tuần theo dõi.

Kiểm tra độ tinh sạch của kháng nguyên bạch hầu

Giải độc tố bạch hầu tinh chế phải đạt không ít hơn 1500 Lf/mg nitrogen protein.

Sản xuất giải độc tố uốn ván

Vắc xin uốn ván được sản xuất dựa vào hệ thống chủng gốc. Chủng *Clostridium tetani* dùng cho sản xuất phải tuân thủ theo quy định về hệ thống chủng gốc và được nuôi cấy trên môi trường thích hợp. Cuối giai đoạn nuôi cấy, cần kiểm tra tính thuần khiết để loại bỏ những loạt nuôi cấy đơn bị nhiễm tạp. Xác định hàm lượng độc tố uốn ván (Lf/ml) bằng phản ứng lên bông, xác định độc tính bằng thử nghiệm liều chết 100 % chuột (MLD). Các mẻ gặt đơn có thể hỗn hợp lại để giải độc bằng formaldehyd và nhiệt độ, tinh chế theo phương pháp thích hợp.

Số lượng Lf trong vắc xin uốn ván bán thành phẩm tùy thuộc vào công thức gốc của từng nhà sản xuất nhưng không được quá 25 Lf trong một liều đơn cho người, nếu sử dụng nhiều hơn một liều cho phác đồ tiêm miễn dịch cơ bản.

Giải độc tố uốn ván tinh chế được kiểm tra vô khuẩn, tính độc đặc hiệu, tính hồi độc, độ tinh sạch, hàm lượng kháng nguyên (Lf/ml) trước khi pha chế vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Vô khuẩn

Tiến hành thử nghiệm vô khuẩn trên môi trường canh thang Thioglycolat và Soybean Casein với 10 ml mẫu giải độc tố uốn ván tinh chế cho mỗi môi trường.

Cách tiến hành và tiêu chuẩn chấp thuận theo Phụ lục 15.7.

Tính độc đặc hiệu

Tiêm dưới da ít nhất 500 Lf của giải độc tố uốn ván tinh chế chứa trong thể tích 1 ml vào mỗi chuột trong số 5 chuột lang khỏe mạnh, khối lượng 250 g/con đến 350 g/con chưa sử dụng vào bất cứ mục đích gì trước đó. Theo dõi chuột trong vòng 21 ngày sau tiêm, nếu thấy chuột có những triệu chứng bất thường hay bị chết do độc tố uốn ván thì lô

giải độc tố uốn ván tinh chế này không đạt về tính an toàn đặc hiệu. Nếu có hơn một chuột lang thử nghiệm bị chết trong thời gian theo dõi vì bất kỳ nguyên nhân nào không phải do độc tố uốn ván thì phải nhắc lại thử nghiệm. Nếu có hơn một chuột lang thử nghiệm bị chết trong lần thử nghiệm thứ hai thì lô giải độc tố uốn ván tinh chế này cũng không đạt về tính an toàn đặc hiệu.

Tính hồi độc

Sử dụng dung dịch đệm dùng để pha vắc xin thành phẩm nhưng không có chất hấp phụ để pha loãng giải độc tố uốn ván tinh chế sao cho có chứa hàm lượng giải độc tố tương đương như trong vắc xin thành phẩm (≤ 20 Lf/ml); chia thành 2 phần tương đương nhau và ủ mỗi phần của dung dịch này ở nhiệt độ khác nhau (5 ± 3) °C và 37 °C trong 6 tuần. Từng mẫu trong 2 mẫu thử sau khi ủ được đưa ra kiểm tra tính hồi độc của độc tố uốn ván bằng cách tiêm dưới da cho 5 chuột lang khỏe mạnh, khối lượng từ 250 g/con đến 350 g/con.

Giải độc tố uốn ván tinh chế đạt yêu cầu về thử nghiệm tính hồi độc khi các chuột lang thử nghiệm đều khỏe mạnh, lên cân và không có chuột nào có dấu hiệu về phản ứng do độc tố uốn ván trong 3 tuần theo dõi.

Độ tinh sạch của kháng nguyên uốn ván

Giải độc tố uốn ván tinh chế phải đạt không ít hơn 1000 Lf/mg nitrogen protein.

Sản xuất nước cốt ho gà bất hoạt

Nước cốt ho gà được sản xuất dựa vào hệ thống chủng gốc. Chủng *Bordertella pertussis* dùng cho sản xuất phải tuân thủ theo quy định về hệ thống chủng gốc và được nuôi cấy trên môi trường thích hợp. Việc lựa chọn chủng nuôi cấy, môi trường và phương pháp nuôi cấy thích hợp nhằm tạo ra vắc xin ho gà thành phẩm có được 3 ngưng kết nguyên: 1; 2; 3. Từng chủng được nuôi cấy 24 h đến 72 h trong môi trường lỏng hoặc đặc. Không được dùng máu người hoặc các sản phẩm từ máu người trong bất kỳ môi trường nuôi cấy chủng ho gà nào để sản xuất vắc xin ho gà. Môi trường dùng trong giai đoạn nuôi cấy chủng ho gà cuối cùng cũng không được phép có máu hoặc sản phẩm của máu.

Sau khi nuôi cấy, gặt và rửa sinh khối vi khuẩn ho gà để loại bỏ các chất còn tồn dư của môi trường nuôi cấy; pha thành hỗn dịch ho gà với nước muối sinh lý vô khuẩn thành hỗn dịch nước cốt ho gà cô đặc.

Tính thuần khiết của các mẻ gặt đơn

Lấy mẫu từ các mẻ gặt đơn để kiểm tra tính thuần khiết bằng phương pháp nhuộm soi kính hiển vi hoặc cấy vào môi trường nuôi cấy thích hợp. Các mẻ gặt đơn sẽ không được phép sử dụng vào việc pha chế bán thành phẩm khi phát hiện có tạp nhiễm.

Độ đục

Dùng bộ so độ đục chuẩn quốc tế hoặc đo mật độ quang (OD) ở bước sóng 560 nm của hỗn dịch nước cốt ho gà cô đặc (không được muộn hơn hai tuần sau khi gặt và trước khi huyền dịch vi khuẩn được đưa vào bất kỳ quy trình pha chế nào tiếp theo) để xác định đậm độ của nước cốt ho gà cô đặc. Đậm độ nước cốt ho gà được sử dụng làm cơ sở để tính toán khi pha chế vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Thành phần ho gà trong vắc xin DTP$_w$ - HeB - Hib hỗn hợp không vượt quá 15 đơn vị độ đục quốc tế (IOU) trong một liều đơn vắc xin cho người. Tỷ lệ thành phần các chủng *B. pertussis* không được thay đổi khi hỗn hợp vắc xin, phải đăng ký rõ trong hồ sơ và được sự chấp thuận của cơ quan kiểm định quốc gia.

Độ sống sót

Hỗn dịch vi khuẩn ho gà được giết chết và giải độc bằng phương pháp được sự chấp thuận của cơ quan kiểm định quốc gia. Các hóa chất được sử dụng để giết chết và giải độc vi khuẩn ho gà cũng phải được sự chấp thuận bởi cơ quan kiểm định quốc gia. Hỗn dịch vi khuẩn ho gà được giết chết bằng nhiệt độ trong khoảng thời gian thích hợp và được kiểm tra sự sống sót của các vi khuẩn này trên môi trường Border-Gengou. Sau khi bất hoạt, nước cốt ho gà được bảo quản ở nhiệt độ (5 ± 3) °C trong một khoảng thời gian cần thiết để giảm bớt tính độc.

Mỗi loạt nước cốt ho gà đơn sẽ không được dùng để pha chế vắc xin bán thành phẩm khi không đạt các tiêu chuẩn về vô khuẩn, khả năng bất hoạt hoàn toàn (kiểm tra độ sống sót), nhận dạng, khả năng phát triển, ngưng kết như chủng gốc *B. pertussis*.

Sản xuất kháng nguyên bề mặt (HBsAg) tái tổ hợp

Vắc xin viêm gan B tái tổ hợp được điều chế bằng cách sử dụng HBsAg tổng hợp ở tế bào nấm men *(Saccharomyces cerevisiae, Pichia pastoris, Hansenula polymorpha)*, tế bào trứng chuột đất vàng (CHO-Chinese hamster ovary) hoặc các dòng tế bào thích hợp khác đã được biến nạp một plasmid có chứa gen mã hóa HBsAg. HBsAg được thu từ tế bào bằng cách làm ly giải tế bào nấm men và được tinh chế nhờ các kỹ thuật sinh hóa lý.

Vắc xin tái tổ hợp có thể chứa sản phẩm của gen S (protein chủ yếu) hoặc phối hợp sản phẩm của gen S và tiền S_2 (protein loại trung bình) hoặc phối hợp cả sản phẩm của gen S, tiền S_2 và tiền S_1 (protein loại lớn).

Hàm lượng protein

Protein trong mẫu thử được định lượng theo phương pháp Lowry (Phụ lục 15.34).

Nhận dạng và hàm lượng HBsAg

Xác định hàm lượng HBsAg bằng các thử nghiệm hóa miễn dịch phù hợp, như thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA), thử nghiệm hấp phụ miễn dịch gắn men (ELISA), thấm miễn dịch hoặc khuếch tán miễn dịch đơn. Vắc xin mẫu thử được so sánh với vắc xin mẫu chuẩn quốc tế hoặc vắc xin mẫu chuẩn.

Độ tinh khiết của kháng nguyên

Được xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng.

Lipid

Không lớn hơn 100 µg/100 µg protein (Phụ lục 15.40).

Cesi clorid
Không lớn hơn 5 µg/20 µg protein (Phụ lục 15.41).

Tween 20
Không lớn hơn 50 µg/100 µg protein (Phụ lục 15.6).

Polysaccharid
Không lớn hơn 10 µg/100 µg protein (Phụ lục 15.38). Kiểm định vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Thimerosal
Không được lớn hơn 0,012 % (Phụ lục 15.29).

Vô khuẩn
Đạt yêu cầu về vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Sản xuất kháng nguyên Hib cộng hợp
Vắc xin phòng *Hemophilus influenzae type b* là loại vắc xin hóa học được điều chế từ oligosaccharid tổng hợp giống với thành phần vỏ polysaccharid của vi khuẩn trong tự nhiên. Oligosaccharid cộng hợp với protein của giải độc tố uốn ván làm giá mang.
Trong mỗi liều đơn tiêm cho người chứa thành phần hoạt chất: Kháng nguyên PRP-T: 12 µg.

Nhận dạng thành phần Hib
Bằng phản ứng ngưng kết giữa kháng nguyên và kháng thể đặc hiệu trong hệ thống hạt Latex. Sử dụng bộ sinh phẩm đáp ứng được yêu cầu nhận dạng và tiến hành theo hướng dẫn của nhà sản xuất bộ sinh phẩm Latex, hoặc nhận dạng thành phần Hib bằng một phản ứng hóa miễn dịch phù hợp.
Tiêu chuẩn: Có hiện tượng ngưng kết xảy ra, nhận thấy rõ ràng bằng mắt thường.

Hàm lượng saccharid (Polyribosyl Ribitol Phosphat = PRP) tổng số
Xác định hàm lượng PRP tổng số bằng phương pháp orcinol (Phụ lục 15.42) hoặc phương pháp sắc ký lỏng.
Tiêu chuẩn: Ít nhất phải đạt 80 % của hàm lượng saccharid tổng số ghi trên nhãn.

Hàm lượng saccharid tự do
Không được quá 25,0 % (≤ 25,0 %).
Xác định hàm lượng saccharid tự do bằng phương pháp orcinol (Phụ lục 15.42) hoặc phương pháp sắc ký lỏng.

Xác định hoạt tính miễn dịch Hib
Sinh vật phẩm:
Thỏ cái F1 (1,8 kg đến 2,2 kg) được lựa chọn, vận chuyển và chăm sóc trong điều kiện thường.
Chứng dương vắc xin Hib.
Chuẩn bị dung dịch:
Dung dịch 20×PBS (20 × Phosphate Buffer Saline): Dung dịch có chứa 2,74 M *natri clorid (TT)*, 0,054 M *kali clorid (TT)*, 0,16 M *dinatri hydrophosphat (TT)* và 0,028 M *kali dihydrophosphat (TT)*. Cân 320 g *natri clorid (TT)*, 8 g *kali clorid (TT)*, 46 g *dinatri hydrophosphat (TT)*, 8 g *kali dihydrophosphat (TT)*. Hòa tan trong 1500 ml *nước cất*. Điều chỉnh pH trong khoảng từ 7,2 đến 7,3 bằng *dung dịch acid hydrocloric 37 % (TT)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*. Chuyển vào bình định mức 2 L, thêm *nước cất* vừa đủ đến vạch. Dung dịch này có nồng độ gấp 20 lần dung dịch làm việc. Bảo quản ở nhiệt độ phòng, dùng trong vòng 1 tháng.
Dung dịch PBS: Pha loãng 20 lần dung dịch 20×PBS bằng *nước cất*, cụ thể như sau: Lấy 100 ml dung dịch 20×PBS vào bình định mức 2 L, thêm *nước cất* đến vạch, lắc đều. Nếu cần, điều chỉnh pH trong khoảng từ 7,2 đến 7,3 bằng *dung dịch acid hydrocloric 37 % (TT)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 2 N (TT)*. Bảo quản ở 4 °C, dùng trong vòng 15 ngày.
Tiến hành:
Làm song song mẫu thử và mẫu chứng.
Liều vắc xin 10 µg/0,5 ml.
Gây nhiễm trên 5 thỏ mỗi mẫu với liều vắc xin 10 µg/0,5 ml. Nếu vắc xin có hàm lượng cao hơn thì phải pha loãng bằng dung dịch PBS, sử dụng các vật liệu tiệt trùng.
Nếu vắc xin có hàm lượng thấp hơn, gây nhiễm với thể tích tiêm lớn hơn để đủ 10 µg nhưng không quá 2,5 ml mỗi thỏ.
Gây nhiễm ở ngày 0 và ngày 14, bằng đường tiêm dưới da vùng bụng. Sau khi tiêm theo dõi trong vòng 28 ngày ở vùng cách ly bảo vệ.
Tiến hành lấy máu sau liều tiêm đầu tiên 21 ngày. Lấy máu riêng từng con vào ống nghiệm nhựa 15 ml, không ít hơn 5 ml. Ly tâm 3000 r/min trong 20 min ở nhiệt độ phòng.
Tách huyết thanh cẩn thận bằng pipet (không được làm lẫn huyết thanh giữa các ống khác nhau) sang một ống nghiệm khác. Nếu chưa tiến hành định lượng kháng thể anti-Hib ngay, bảo quản các mẫu huyết thanh ở -20 °C để kiểm tra sau.
Định lượng kháng thể trong huyết thanh sau khi ly tâm theo quy trình định lượng kháng thể kháng Hib bằng phương pháp ELISA
Thiết bị:
Máy đọc ELISA, bước sóng 492 nm.
Tủ an toàn sinh học.
Rửa phiến nhựa ELISA.
Máy đo ELISA đa kênh.
Vật liệu:
Phiến nhựa 96 giếng chuẩn độ vi lượng.
Buồng ẩm (hộp kín bằng nhựa hoặc kim loại bên trong có lót giấy lọc thấm nước cất để tạo độ ẩm).
Thuốc thử:
Tween 20
BSA Fraction V
OPD
Kháng IgG thỏ cộng hợp gắn peroxidase.
Chứng âm huyết thanh anti-Hib.
Chứng dương huyết thanh thỏ anti-Hib.
Oligosaccharid của Hib cộng hợp với HSA (phú phiến) (HbO-HSA).
Chuẩn bị dung dịch:
Dung dịch 20×PBS: Pha như trên.

Dung dịch đệm phosphat-citrat có chứa 0,048 M *acid citric (TT)*, 0,1 M *dinatri hydrophosphat (TT)*.
Dung dịch rửa phiến có chứa 0,027 M *kali clorid (TT)*, 0,137 M *natri clorid (TT)*, 0,008 M *dinatri hydrophosphat (TT)*, 0,0014 M *dikali hydrophosphat (TT)*, 0,05 % Tween 20, được pha bằng cách: thêm 2,5 ml Tween 20 vào 5 L dung dịch PBS. Bảo quản ở nhiệt độ phòng, dùng trong vòng 7 ngày.
Tween 20 pha loãng 1/4: Để có 40 ml dung dịch, lấy 10 ml Tween 20 thêm 30 ml *nước cất*. Trộn đều. Bảo quản ở nhiệt độ phòng, dùng trong vòng 1 tháng.
Dung dịch dừng phản ứng: Cân 10 g *natri metabisulfit (TT)*, hòa tan trong 840 ml *nước cất*, thêm từ từ 160 ml *acid sulfuric (TT)*. Khuấy đều, đặt trong chậu đá. Pha trong hốt và mang găng. Bảo quản ở nhiệt độ phòng trong vòng 1 tháng.
Dung dịch khóa (chứa 1 % BSA): Pha trước khi dùng. Cân 0,2 g BSA, hòa tan trong 20 ml *nước cất*.
Dung dịch pha loãng cho ELISA anti-Hib: Cân 1 g BSA, 0,372 g *natri edetat (TT)*, đong 1,2 ml Tween 20 pha loãng 1/4, tất cả được hoà tan trong 80 ml dung dịch PBS. Điều chỉnh pH từ 7,2 đến 7,3 bằng *dung dịch acid hydrocloric 37 % (TT)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 2 N (TT)* nếu cần. Thêm dung dịch PBS vừa đủ 100 ml. Bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C, dùng trong vòng 1 tháng.
Tiến hành:
Chuẩn bị chứng dương huyết thanh thỏ (anti-Hib) và chứng âm huyết thanh cho thử nghiệm ELISA theo cách sau: Pha loãng 1/50 với dung dịch pha loãng. Loại bỏ hết các vật liệu đã sử dụng. Chú ý: Tất cả phải ủ trong tủ ấm.
Sau khi rửa phiến, nếu chưa dùng ngay, để ngửa phiến trong tủ ấm, không quá 15 min.
Pha loãng dung dịch phủ phiến HBO-HSA để được nồng độ cuối cùng là 1 µg/ml HBO-HSA trong PBS với thể tích 11 ml. Thể tích này đủ dùng cho 1 phiến 96 giếng.
Ủ phiến ở 37 °C trong 90 min hoặc qua đêm ở 4 °C.
Rửa phiến 3 lần với dung dịch đệm rửa.
Thêm 100 µl dung dịch khóa vào mỗi giếng.
Ủ phiến trong 30 min ở 37 °C.
Rửa phiến 3 lần với dung dịch rửa phiến.
Thiết kế phiến:
Thể tích của mẫu và chứng trong mỗi giếng là 100 µl.
Cho chứng dương và chứng âm ở cột 1, 2 từ hàng A đến H (lặp lại 4 lần).
Cho mẫu từ cột 3 trở đi từ hàng A đến hàng H lặp lại 2 lần.
Ủ phiến 90 min ở nhiệt độ phòng.
Rửa phiến 3 lần với dung dịch rửa phiến.
Pha loãng cộng hợp kháng huyết thanh thỏ với peroxidase bằng dung dịch pha loãng theo hướng dẫn của nhà cung cấp. Sau đó thêm 100 µl dung dịch vừa pha vào tất cả các giếng.
Ủ phiến 1 h ở 37 °C.
Rửa phiến 3 lần với dung dịch rửa phiến.
Chuẩn bị dung dịch cơ chất như sau: Cân 0,1 g OPD và hòa tan trong 25 ml dung dịch đệm phosphat - citrat trong điều kiện tránh ánh sáng. Thêm 10 ml H_2O_2 lắc đều và thêm 100 µl vào tất cả các giếng.
Ủ 5 min trong tối ở nhiệt độ phòng.
Dừng phản ứng bằng cách thêm 50 µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng.
Đọc phiến ở bước sóng 492 nm (Multiscan).
Phân tích và biện luận kết quả:
Thử nghiệm được chấp thuận khi OD của chứng dương và chứng âm đều nằm trong dải đo đã thiết lập. Nếu quá nửa bị loại, lặp lại test ELISA.
Tính toán giá trị ngưỡng (cutoff) của thử nghiệm để thiết lập tiêu chuẩn quyết định mẫu âm tính hay dương tính theo công thức:

Cutoff = trung bình OD của nền + 2SD

Trong đó: SD là độ lệch chuẩn.
Tất cả các giá trị OD lớn hơn hoặc bằng Cutoff là dương tính.
Tất cả các giá trị OD nhỏ hơn cutoff là âm tính.
Tính % có đáp ứng như sau:

$$\% \text{ đáp ứng} = \frac{\text{Tổng số thỏ có đáp ứng}}{\text{Tổng số thỏ có gây nhiễm}} \times 100$$

Tiêu chuẩn chấp thuận của thử nghiệm:
Thử nghiệm có giá trị khi đối với mẫu vắc xin chứng, số thỏ có đáp ứng miễn dịch không ít hơn 50 % (≥ 50 %).
Tiêu chuẩn chấp thuận của mẫu thử:
Mẫu thử được coi là đạt yêu cầu của thử nghiệm khi số thỏ được dùng trong thử nghiệm có đáp ứng miễn dịch không ít hơn 50 % (≥ 50 %).
Phương pháp sản xuất vắc xin DTPw - HeB - Hib phải được thẩm định để chứng minh rằng sản phẩm khi kiểm định sẽ tuân thủ và đạt được các tiêu chuẩn như mô tả dưới đây.

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm
Vắc xin bán thành phẩm được pha chế và hỗn hợp bởi một lượng thích hợp của giải độc tố bạch hầu, giải độc tố uốn ván, kháng nguyên viêm gan B đã được hấp phụ nhôm phosphat và hỗn hợp thêm một lượng thích hợp của huyền dịch *B. pertussis* đã được bất hoạt, sau cùng được hỗn hợp với kháng nguyên Hib đã được hấp phụ nhôm phosphat; kết quả của sự hỗn hợp này được tiêm vào cơ thể phải phù hợp về mặt sinh lý với máu. Hàm lượng của *B. pertussis* của vắc xin bán thành phẩm phải không được vượt quá 15 IOU trong một liều đơn cho người. Nếu sử dụng hai hoặc nhiều hơn số chủng *B. pertussis* thì khi pha vắc xin bán thành phẩm phải tính toán sao cho tổng số đơn vị độ đục của các chủng ho gà đưa vào phải không thay đổi giữa các loạt vắc xin và không vượt quá 15 IOU trong một liều đơn cho người. Hàm lượng chất bảo quản trong vắc xin DTP_w - HeB - Hib hấp phụ phải không ảnh hưởng đến tính sinh miễn dịch của giải độc tố uốn ván, bạch hầu, vắc xin ho gà, kháng nguyên Hib, kháng nguyên HeB và không gây ra những phản ứng có hại cho người sử dụng.
Chỉ vắc xin bán thành phẩm cuối cùng nào tuân thủ và đạt các yêu cầu dưới đây mới được sử dụng để sử dụng sản xuất thành phẩm.

Chất bảo quản kháng khuẩn
Xác định hàm lượng chất bảo quản kháng khuẩn trong vắc xin bán thành phẩm cuối cùng bằng phương pháp thích

hợp (Phụ lục 15.29). Hàm lượng chất bảo quản từ 85 % đến 115 % của lượng chất bảo quản ghi trên nhãn.

Vô khuẩn

Tiến hành thử nghiệm vô khuẩn trên môi trường canh thang Thioglycolat và Soybean Casein. Dùng 10 ml vắc xin để kiểm tra trên mỗi môi trường (Phụ lục 15.7).

Công hiệu

Tiến hành các thử nghiệm kiểm tra công hiệu theo Phụ lục 15.22; Phụ lục 15.23; Phụ lục 15.24.

Công hiệu vắc xin viêm gan B tái tổ hợp được tiến hành song song giữa vắc xin mẫu thử với vắc xin mẫu chuẩn quốc gia; có thể được xác định bằng phương pháp thực nghiệm trên động vật thí nghiệm (công hiệu *in vivo*) để xác định hiệu giá kháng thể, hoặc phương pháp miễn dịch trong phòng thí nghiệm (công hiệu *in vitro*) để xác định hàm lượng kháng nguyên HBsAg có trong vắc xin.

Thử nghiệm công hiệu in vivo

Động vật thí nghiệm:

Chuột nhắt trắng giống BALB/C hoặc ICR, khỏe mạnh và từ cùng một đàn, khoảng 5 tuần đến 6 tuần tuổi, tốt nhất là chuột cùng một giới.

Xác định công hiệu tương quan:

Vắc xin mẫu chuẩn quốc gia và vắc xin mẫu thử được pha loãng bậc 2 thành 5 độ pha. Dung dịch để pha vắc xin là dung dịch natri clorid 0,9 % có chứa nhôm hydroxyd (hàm lượng nhôm hydroxyd không quá 500 µg/ml). Tiêm màng bụng 1 ml mỗi độ pha loãng vắc xin cho mỗi chuột. Mỗi độ pha loãng vắc xin tiêm ít nhất 15 chuột. Tất cả các chuột sau khi gây miễn dịch được nuôi từ 28 đến 32 ngày trong điều kiện như nhau. Tiến hành gây mê và lấy máu tim chuột. Các mẫu máu được ly tâm 3000 r/min ở nhiệt độ 4 °C đến 8 °C, tách huyết thanh. Các mẫu huyết thanh được bảo quản ở nhiệt độ âm 20 °C. Xác định hiệu giá kháng thể kháng HBsAg bằng thử nghiệm hấp thụ miễn dịch gắn men (ELISA) trên bộ sinh phẩm chẩn đoán thương mại có sẵn. Kết quả được tính theo chương trình Probit Analysis (WHO).

Thử nghiệm có giá trị khi:

ED_{50} của vắc xin mẫu chuẩn quốc gia và vắc xin mẫu thử đều nằm trong khoảng giữa liều tiêm lớn nhất và nhỏ nhất. Phân tích thống kê cho thấy đạt yêu cầu về tuyến tính và song song.

Giới hạn độ tinh cậy của công hiệu tương quan nằm trong khoảng 33 % đến 300 %.

Tiêu chuẩn công hiệu trên thực nghiệm:

Công hiệu tương quan (P = 95 %) không nhỏ hơn 1.

Thử nghiệm công hiệu in vitro

Định lượng kháng nguyên HBsAg bằng kỹ thuật ELISA.

Vật liệu:

Phiến 96 giếng.

Kít Hepanostika HBsAg Uni-Form II (Biomerieux).

Thuốc thử:

BSA (bovin serum albumin).

Kháng nguyên bề mặt virus HBV, cộng hợp.

Chuẩn bị dung dịch:

Dung dịch PBS: Pha như trong phần xác định hoạt tính miễn dịch Hib.

Dung dịch đệm (BSA 0,2%, PBS, Tween 20 0,05 %): Hòa tan 0,2 g BSA trong 100 ml dung dịch PBS, thêm 0,2 ml Tween 20. Bảo quản ở 4 °C. Dung dịch này chỉ pha khi dùng và bỏ phần còn thừa sau khi dùng xong.

Tiến hành:

Pha loãng chuẩn và mẫu để có OD trong khoảng từ 0,8 đến 1,2. Chuẩn bị lặp lại 3 lần riêng rẽ độ pha này của chuẩn và mẫu.

Làm 4 loạt độ pha 1: 2.

Chuẩn bị lặp lại 3 lần chứng Maximum và chứng Minimum (Chú ý: Chứng Minimum còn được gọi là chứng âm và chính là đệm pha mẫu. Chứng Maximum là độ pha ban đầu cao hơn nồng độ của mẫu đối chiếu).

Để xác định hàm lượng HBsAg, làm theo quy trình đã hướng dẫn của bộ kít. Tất cả các dung dịch, chứng và thuốc thử, sinh vật phẩm dùng trong thử nghiệm đều phải tương thích với mẫu và phù hợp với kỹ thuật ELISA.

Tất cả các bước ủ phiến phải làm đúng theo mô tả trong quy trình.

Bố trí phiến tùy thuộc kỹ thuật viên và cỡ mẫu nhưng nên dự kiến trước.

Phân tích kết quả: Bằng chương trình Parlin, dùng "Logarit" để chuyển đổi với P = 95 %.

Tiêu chuẩn chấp thuận của thử nghiệm: Thử nghiệm được coi là có giá trị khi phân tích thống kê thỏa mãn các tiêu chuẩn về tuyến tính song song, hồi qui và có khác biệt giữa các liều.

Nếu thử nghiệm không có giá trị, phải làm lại.

Tiêu chuẩn chấp thuận: Công hiệu tương quan (P = 95 %) không nhỏ hơn 0,65.

Polysaccharid

Không lớn hơn 10 µg/100 µg protein (Phụ lục 15.38).

Saccharid tổng số

Xác định hàm lượng PRP tổng số bằng phương pháp orcinol (Phụ lục 15.42) hoặc phương pháp sắc ký lỏng.

Tiêu chuẩn chấp thuận: Hàm lượng PRP tổng số ít nhất phải đạt 80 % của hàm lượng ghi trên nhãn.

Saccharid tự do

Xác định hàm lượng saccharid (PRP) tự do bằng phương pháp orcinol (Phụ lục 15.42) hoặc phương pháp sắc ký lỏng.

Tiêu chuẩn chấp thuận: Hàm lượng saccharid (PRP) tự do không được lớn hơn 25 % (≤ 25 %).

Xác định hoạt tính miễn dịch Hib (Như ở mục Sản xuất kháng nguyên Hib)

Làm song song mẫu thử và mẫu chứng.

Gây nhiễm trên 5 thỏ mỗi mẫu với liều vắc xin 10 µg/ 0,5 ml. Gây nhiễm ở ngày 0 và ngày 14, bằng đường tiêm dưới da màng bụng. Sau khi tiêm theo dõi trong vòng 28 ngày ở vùng cách ly bảo vệ.

Tiến hành lấy máu sau liều tiêm đầu tiên 21 ngày. Lấy máu riêng từng con vào ống nhựa 15 ml, không ít hơn 5 ml.

Định lượng kháng thể kháng Hib bằng phương pháp ELISA. Tiêu chuẩn: ≥ 50 % chuyển đổi huyết thanh miễn dịch.

Tính độc đặc hiệu

Tính độc đặc hiệu của vắc xin DTP_w - HeB - Hib được kiểm tra trên mẫu bán thành phẩm cuối cùng hay vắc xin thành phẩm khi cần thiết (Phụ lục 15.4).

Đối với thành phần bạch hầu và uốn ván:

Chọn 5 chuột lang, có khối lượng 250 g/con đến 350 g/con. tiêm dưới da một lượng vắc xin tương đương với ít nhất 5 liều đơn cho người. Theo dõi chuột hàng ngày. Vắc xin đạt yêu cầu nếu không có chuột lang nào có dấu hiệu liệt uốn ván hoặc triệu chứng nhiễm độc bạch hầu và ít nhất 80 % chuột sống trong thời gian 6 tuần. Nếu có chuột chết phải mổ để kiểm tra phủ tạng về dấu hiệu nhiễm độc bạch hầu (tuyến thượng thận đỏ).

Đối với thành phần ho gà:

Dùng ít nhất 20 chuột nhắt trắng, trọng lượng 14 g đến 16 g, cùng giới (nếu có cả 2 giới cần phân chia đều trong các nhóm) cho mỗi mẫu vắc xin thử và nhóm chứng. Mỗi chuột được tiêm vào ổ bụng 0,5 ml dung dịch chứa tối thiểu nửa liều đơn vắc xin cho người. Nhóm chứng được tiêm 0,5 ml dung dịch tiêm natri clorid 0,9% (tốt nhất chứa cùng hàm lượng chất bảo quản như có trong dung dịch tiêm cho nhóm thí nghiệm). Tổng khối lượng các nhóm chuột được xác định vào 72 h và 7 ngày sau tiêm. Vắc xin đạt yêu cầu nếu đạt cả 3 tiêu chuẩn sau:

Sau 72 h tổng khối lượng chuột không ít hơn trước tiêm.

Sau 7 ngày khối lượng trung bình mỗi chuột không ít hơn 60 % so với nhóm chứng.

Số chuột chết không quá 5 % tổng số chuột đã được tiêm.

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Nhận dạng thành phần bạch hầu - uốn ván - ho gà

Thành phần bạch hầu - uốn ván - ho gà toàn tế bào trong vắc xin DTP_w - HeB - Hib hấp phụ được tách gel bằng cách cho thêm *natri citrat* ($C_6H_5O_7Na_3.2H_2O$) với nồng độ 5 % ủ ở 37 °C trong 48 h. Sau đó ly tâm 2000 r/min trong 15 min. Nước nổi được dùng để nhận dạng thành phần bạch hầu và uốn ván bằng phản ứng lên bông, cặn ly tâm dùng để nhận dạng thành phần ho gà có trong vắc xin bằng phản ứng ngưng kết trên phiến kính với các huyết thanh kháng ho gà đặc hiệu (Phụ lục 15.19).

Nhận dạng thành phần Hib (Như ở mục sản xuất kháng nguyên Hib)

Phương pháp: Phản ứng ngưng kết Latex hoặc một phản ứng hóa miễn dịch phù hợp.

Tiêu chuẩn: Dương tính với kháng huyết thanh đặc hiệu.

Nhận dạng HBsAg

Nhận dạng HBsAg bằng các thử nghiệm hóa miễn dịch phù hợp, như thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA), thử nghiệm hấp phụ miễn dịch gắn men (ELISA), thấm miễn dịch hoặc khuếch tán miễn dịch đơn. Vắc xin mẫu thử được so sánh với vắc xin mẫu chuẩn quốc tế hoặc vắc xin mẫu chuẩn quốc gia.

Vô khuẩn

Đạt yêu cầu vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

An toàn chung

Thử nghiệm được tiến hành trên chuột nhắt trắng và chuột lang khỏe mạnh. Tiêm vào ổ bụng cho 5 chuột nhắt trắng có khối lượng 17 g/con đến 22 g/con, mỗi con một nửa liều tiêm cho người; tiêm vào ổ bụng 2 chuột lang có khối lượng 250 g/con đến 350 g/con, mỗi con một liều tiêm cho người nhưng không quá 1 ml/con.

Vắc xin được coi là không có độc tính bất thường nếu tất cả các động vật thí nghiệm sống khỏe mạnh và lên cân trong thời gian ít nhất 7 ngày thử nghiệm và không có dấu hiệu nhiễm độc.

Công hiệu

Tiến hành kiểm tra ở mẫu vắc xin DTP_w - HeB - Hib thành phẩm khi chưa kiểm tra công hiệu trên vắc xin bán thành phẩm hoặc khi có chỉ định cần thiết (Phụ lục 15.22; 15.23; 15.24; 15.43).

Tính chất

Cảm quan:

Kiểm tra bằng mắt thường: Huyền dịch vắc xin chia thành 2 lớp, phần dung dịch phía trên trong suốt không màu hoặc vàng nhạt, lớp lắng cặn dưới đáy lọ có màu trắng xám.

Nhanh chóng tạo huyền dịch đồng nhất sau khi lắc nhẹ, không lẫn chất lạ.

Tính chất vật lý:

Thể tích vắc xin mỗi lọ: Giới hạn cho phép chênh lệch thể tích + 10 % so với thể tích ghi trên nhãn.

Tỉ lệ loại bỏ:

Đối với vắc xin đa liều: không quá 3 %.

Đối với vắc xin liều đơn: không quá 5 %.

Không bị đông băng (tiêu chuẩn này chỉ kiểm tra sau khi bảo quản hay vận chuyển theo dây chuyền lạnh, không phải tiêu chuẩn xuất xưởng của nhà sản xuất): Lọ vắc xin mẫu thử phải có tốc độ lắng cặn chậm hơn nhiều so với lọ chứng dương và không có sự tạo hạt hay hình ảnh bông tuyết lơ lửng trong huyền dịch vắc xin hay kết thành cục sau khi lắc.

Chất bảo quản

Hàm lượng thimerosal cho phép là 0,005 % đến 0,02 % (Phụ lục 15.29).

Chất hấp phụ

Hàm lượng Al^{3+} trong vắc xin DTP_w - HeB - Hib hấp phụ từ 0,55 mg/ml đến 0,77 mg/ml; Hàm lượng nhôm phosphat từ 2,5 mg/ml đến 3,5 mg/ml (Phụ lục 15.27).

pH

6,0 đến 7,0 (Phụ lục 15.33).

Formaldehyd tồn dư

Không được quá 0,02 % (Phụ lục 15.25).

Bảo quản, hạn dùng

Bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C vắc xin có thể giữ công hiệu 2,5 năm.

Nhà sản xuất phải đưa ra khuyến cáo về điều kiện bảo quản và vận chuyển vắc xin DTPw - HeB - Hib hấp phụ để đảm bảo rằng vắc xin đạt công hiệu theo yêu cầu cho đến khi hết hạn sử dụng như đã đăng ký và ghi trên nhãn. Vắc xin DTPw - HeB - Hib hấp phụ phải được bảo quản sao cho không bị đông băng.

Hạn dùng của vắc xin phải được cơ quan kiểm định quốc gia chấp thuận và cố định, dựa vào các số liệu nghiên cứu tính ổn định của vắc xin và không được quá 2,5 năm tính từ cuối thử nghiệm kiểm tra công hiệu (tính từ ngày tiêm miễn dịch trên động vật thí nghiệm).

Đóng gói

Hộp 10 lọ tương đương 100 liều (mỗi lọ 5 ml chứa 10 liều). Lọ được đóng kín bằng nút cao su, ngoài nút cao su được đậy kín bởi một nắp nhôm.

Nhãn

Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của quy định hiện hành.

VẮC XIN UỐN VÁN HẤP PHỤ

Vaccinum tetani adsorbatum

Vắc xin uốn ván hấp phụ được điều chế từ độc tố uốn ván đã được xử lý bằng formaldehyd và nhiệt độ để mất tính độc mà vẫn còn tính sinh miễn dịch, chứa ít nhất 1000 Lf/mg nitrogen protein và hấp phụ với một tá chất thích hợp như nhôm phosphat hoặc nhôm hydroxyd trong dung dịch muối đẳng trương. Có thể cho thêm chất bảo quản thích hợp.

Sản xuất

Sản xuất vắc xin phải dựa trên hệ thống chủng. Chủng *Clostridium tetani* được nuôi cấy trên môi trường thích hợp. Kết thúc giai đoạn nuôi cấy, cần kiểm tra tính thuần khiết để loại bỏ những mẻ nuôi cấy đơn bị nhiễm tạp. Xác định hàm lượng độc tố (Lf/ml) bằng phản ứng lên bông. Các mẻ gặt đơn có thể hỗn hợp lại để giải độc bằng formaldehyd và nhiệt độ rồi tinh chế theo phương pháp thích hợp.

Số lượng Lf trong vắc xin bán thành phẩm không vượt quá 25 Lf trong một liều đơn cho người nếu sử dụng nhiều hơn một liều cho miễn dịch cơ bản.

Hàm lượng chất bảo quản phải không gây hại đến giải độc tố và không gây ra những phản ứng ở người.

Giải độc tố tinh chế bán thành phẩm

Chủng sản xuất *Clostridium tetani* phải có độc tính cao, biết rõ về nguồn gốc và lịch sử chủng. Thu độc tố uốn ván trong môi trường nuôi cấy ở điều kiện vô trùng. Xác định hàm lượng độc tố (Lf/ml) bằng phản ứng lên bông để giám sát tính ổn định trong sản xuất. Giải độc tố uốn ván được tinh chế để loại bỏ các thành phần có thể gây các phản ứng phụ cho người. Độc tố sau khi tinh chế sẽ được bất hoạt bằng formaldehyd theo phương pháp thích hợp sao cho không ảnh hưởng đến khả năng sinh miễn dịch của giải độc tố và không bị hồi độc. Tuy nhiên, có thể lựa chọn quy trình tinh chế sau khi giải độc.

Chỉ có những giải độc tố tinh chế bán thành phẩm đạt các tiêu chuẩn dưới đây mới được sử dụng để pha vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Vô khuẩn

Tiến hành kiểm tra tính vô khuẩn của giải độc tố uốn ván tinh chế bán thành phẩm với 10 ml mẫu cho mỗi môi trường kiểm tra (Phụ lục 15.7).

Tính độc đặc hiệu và tính hồi độc

Kiểm tra tính độc đặc hiệu: Tiêm dưới da 1 ml giải độc tố tinh chế có chứa 500 Lf/ml/con cho 5 chuột lang khoẻ mạnh (250 - 350) g/con chưa sử dụng cho bất kỳ mục đích gì trước đó. Theo dõi và kiểm tra trọng lượng chuột, các dấu hiệu liệt do uốn ván hàng tuần trong vòng 3 tuần. Những chuột chết phải được mổ kiểm tra. Giải độc tố uốn ván tinh chế đạt yêu cầu an toàn đặc hiệu khi không có chuột lang nào có dấu hiệu liệt do uốn ván hay bất kỳ triệu chứng uốn ván nào trong 3 tuần theo dõi và có ít nhất 80 % chuột sống sót trong giai đoạn thử nghiệm.

Kiểm tra tính hồi độc của giải độc tố uốn ván:

Giải độc tố uốn ván tinh chế phải được kiểm tra để đảm bảo không bị hồi độc. Sử dụng dung dịch đệm giống như dung dịch pha vắc xin bán thành phẩm cuối cùng nhưng không có chất hấp phụ để pha mẫu giải độc tố uốn ván tinh chế bán thành phẩm thành huyền dịch chứa 12,5 Lf/ml. Chia thành 2 mẫu thử, trong đó một mẫu ủ ở (5 ± 3) °C trong 6 tuần và mẫu kia ủ ở 37 °C trong 6 tuần. Tiêm dưới da 5 ml/con, mỗi mẫu tiêm cho 5 chuột lang khoẻ mạnh cân nặng mỗi chuột từ 250 g đến 350 g chưa sử dụng cho bất kỳ mục đích gì trước đó. Thử nghiệm đạt yêu cầu khi cả 2 nhóm chuột đều khoẻ mạnh, không có chuột lang nào có dấu hiệu uốn ván trong 3 tuần theo dõi.

Độ tinh sạch của kháng nguyên uốn ván

Giải độc tố uốn ván tinh chế phải được kiểm tra độ tinh sạch của kháng nguyên bằng cách kiểm tra hàm lượng kháng nguyên (Lf/mg nitrogen protein). Giá trị Lf được kiểm tra bằng cách so sánh với mẫu chuẩn đã được hiệu chuẩn bởi giải độc tố uốn ván mẫu chuẩn quốc tế dành cho thử nghiệm lên bông hoặc mẫu chuẩn quốc gia tương đương.

Giải độc tố uốn ván tinh chế đạt yêu cầu khi chứa không được ít hơn 1000 Lf/mg nitrogen protein.

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm cuối cùng

Vắc xin bán thành phẩm cuối cùng được pha chế từ giải độc tố uốn ván tinh chế, cho thêm nhôm phosphat hoặc nhôm hydroxyd với hàm lượng thích hợp. Có thể cho thêm chất kháng khuẩn thích hợp. Chỉ những vắc xin bán thành phẩm cuối cùng đạt các tiêu chuẩn dưới đây mới được phép tiếp tục sản xuất thành vắc xin thành phẩm.

Chất bảo quản

Xác định hàm lượng chất bảo quản bằng phương pháp hóa học thích hợp. Hàm lượng chất kháng khuẩn trong vắc xin

bán thành phẩm phải đạt ít nhất là 85 % và không được quá 115 % so với lượng dự kiến cho vào (Phụ lục 15.29).

Vô khuẩn
Tiến hành kiểm tra tính vô khuẩn của vắc xin bán thành phẩm cuối cùng với 10 ml mẫu cho mỗi môi trường kiểm tra. Không nhiễm vi khuẩn và nấm (Phụ lục 15.7).

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Nhận dạng
Thực hiện ít nhất trên một lọ vắc xin đã được dán nhãn. Nhận dạng giải độc tố uốn ván bằng thử nghiệm lên bông như mô tả trong Phụ lục 15.19.

Vô khuẩn
Vắc xin không nhiễm vi khuẩn và nấm (Phụ lục 15.7).

Công hiệu
Thực hiện theo Phụ lục 15.23.
Tiêu chuẩn chấp thuận: Công hiệu của vắc xin uốn ván đơn hấp phụ được coi là đạt yêu cầu khi không thấp hơn 40 IU đối với một liều đơn dùng cho người. Đối với các thử nghiệm sử dụng 3 độ pha loãng, giới hạn khoảng tin cậy 95 %, công hiệu phải nằm trong khoảng 50 % đến 200 % của công hiệu tiêu chuẩn.

An toàn chung
Phụ lục 15.11.

Chất bảo quản
Hàm lượng chất bảo quản thimerosal không ít hơn 85 % hoặc không nhiều hơn 115 % lượng ghi trên nhãn (Phụ lục 15.29).

Hàm lượng chất hấp phụ
Không quá 1,25 mg nhôm trong một liều đơn vắc xin cho người (Phụ lục 15.27).

pH
6,0 đến 7,0 (Phụ lục 15.33).

Cảm quan
Mỗi loạt vắc xin thành phẩm sau khi sản xuất phải được kiểm tra bằng cảm quan để đảm bảo các lọ hay ống vắc xin trước khi xuất xưởng đều phải đạt yêu cầu, không có dấu hiệu bất thường về cảm quan như: Vật lạ trong lọ vắc xin, nắp hay nút chặt và đảm bảo tính nguyên vẹn. Trong quá trình kiểm tra, nếu ống hay lọ nào thấy không đạt yêu cầu cần được loại bỏ.

Bảo quản, hạn dùng
Vắc xin được bảo quản ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.
Khi bảo quản ở điều kiện quy định vắc xin có thể giữ được công hiệu 3 năm kể từ ngày chuẩn độ công hiệu.

Nhãn
Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

VẮC XIN BẠI LIỆT BẤT HOẠT (IPV)
Vaccinum poliomyelitidis inactivatum

Vắc xin bại liệt bất hoạt là một hỗn dịch vô khuẩn của virus bại liệt týp 1, týp 2 và týp 3 phát triển trên nuôi cấy tế bào, được cô đặc, tinh khiết, bất hoạt và dùng để gây miễn dịch chủ động, đặc hiệu cho người, phòng bệnh bại liệt do virus Polio gây nên.

Sản xuất
Chủng sản xuất:
Sản xuất được dựa trên hệ thống chủng giống gốc (Master seed) của virus hoang dại hoặc virus giảm độc lực được cấy truyền không quá 2 lần bằng phương pháp đã được phê chuẩn của Viện Kiểm định quốc gia vắc xin và sinh phẩm y tế (NICVB). Chủng được bảo quản ở nhiệt độ dưới âm 60 °C (-60 °C).
Tế bào sản xuất:
Tế bào sử dụng cho sản xuất: Tế bào thận khỉ tiên phát hoặc tế bào Vero.
Tế bào sử dụng cho sản xuất phải đạt các yêu cầu của Tổ chức Y tế Thế giới. Có thể sử dụng huyết thanh động vật trong nuôi cấy tế bào.
Khi dùng cho sản xuất:
Phải đạt các tiêu chuẩn của Tổ chức Y tế Thế giới và NICVB đưa ra.
Qui trình sản xuất và kiểm định sản xuất:
Qui trình sản xuất vắc xin phải theo các quy trình của Tổ chức Y tế Thế giới. Chủng virus được nhân lên trên tế bào thận khỉ tiên phát hoặc tế bào Vero và sử dụng môi trường thích hợp cho virus phát triển. Sau khi gặt, hỗn dịch virus được đông tan 3 lần, ly tâm bỏ cặn, lọc vô trùng, sau đó đưa vào qui trình cô đặc và tinh khiết kháng nguyên; bước tiếp theo là qui trình bất hoạt virus bằng formaldehyd và trung hòa formaldehyd. Sau cùng, hỗn dịch virus được chế thành vắc xin bất hoạt, tam liên. Phải thực hiện kiểm định trong suốt quá trình sản xuất ở các công đoạn: Vật liệu nguồn (tế bào, môi trường nuôi cấy,...), mẻ gặt đơn, bán thành phẩm sau khi siêu ly tâm, trước khi bất hoạt, sau khi bất hoạt,... nhằm kiểm tra tác nhân ngoại lai, xác định hiệu giá vắc xin trước khi bất hoạt, xác định kháng nguyên D, xác định độ tinh khiết của virus, xác định độ sống tồn dư của virus sau khi bất hoạt.
Chế phẩm phải đạt những yêu cầu đã ghi trong chuyên luận vắc xin và chỉ được phép sử dụng sau khi đạt các yêu cầu sản xuất và kiểm định trong quá trình sản xuất, đồng thời đạt các tiêu chuẩn kiểm định ở phần kiểm định vắc xin thành phẩm.

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Cảm quan
Vắc xin bại liệt bất hoạt là một dung dịch lỏng.

Nhận dạng
Được tiến hành ít nhất đối với 1 lọ vắc xin. Thử nghiệm kiểm tra hiệu giá xác định hàm lượng D-antigen được chấp nhận cho thử nghiệm nhận dạng.

Vô khuẩn
Vắc xin bại liệt bất hoạt phải vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

An toàn chung
Vắc xin bại liệt bất hoạt phải an toàn khi thử nghiệm trên chuột lang và chuột nhắt. Chuột khỏe mạnh và tăng trọng bình thường sau 7 ngày theo dõi (Phụ lục 15.11).

Công hiệu
Xác định nồng độ kháng nguyên D của vắc xin bại liệt bất hoạt từ chủng hoang dại: 40 đơn vị kháng nguyên D đối với týp 1; 8 đơn vị kháng nguyên D đối với týp 3. Với vắc xin bại liệt bất hoạt từ chủng Sabin không có tá dược: 30 đơn vị kháng nguyên D đối với týp 1; 100 đơn vị kháng nguyên D đối với týp 2; 100 đơn vị kháng nguyên D đối với týp 3. Với vắc xin bại liệt bất hoạt từ chủng Sabin có tá dược hydroxyd nhôm: 3 đơn vị kháng nguyên D đối với týp 1; 10 đơn vị kháng nguyên D đối với týp 2; 10 đơn vị kháng nguyên D đối với týp 3.
Chấp nhận theo các đơn vị đăng ký của nhà sản xuất nếu chứng minh đảm bảo liều sử dụng có hiệu quả.

Protein toàn phần: Dưới 50 µg protein trên 1 liều sử dụng (Phụ lục 15.34).

Nội độc tố vi khuẩn: Không được quá 0,25 EU/ml.

Formaldehyd tồn dư: Không được quá 0,12 mg/ml (Phụ lục 15.25).

pH
6,8 - 8,5 (Phụ lục 15.33).

Bảo quản, hạn dùng
Vắc xin bại liệt bất hoạt được bảo quản ở nhiệt độ 2 °C - 8 °C, tránh ánh sáng và không được đông băng.
Trong điều kiện bảo quản như trên, vắc xin bại liệt bất hoạt có hạn dùng là 12 tháng kể từ ngày kiểm tra công hiệu lần cuối cùng.

Nhãn
Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

Liều tiêm, đường tiêm
Tiêm dưới da, sử dụng 0,5 ml/liều.

VẮC XIN BẠI LIỆT UỐNG
Vaccinum poliomyelitidis perorale

Vắc xin bại liệt uống là vắc xin được sản xuất từ các chủng virus bại liệt sống, giảm độc lực (Chủng Sabin) týp 1, týp 2 và týp 3 phát triển trên tế bào nuôi thích hợp và dùng để gây miễn dịch chủ động, đặc hiệu cho người, phòng bệnh bại liệt do virus Polio gây nên. Vắc xin có thể chứa 1, hoặc 2, hoặc 3 týp virus. Vắc xin bại liệt uống là một dịch lỏng trong, màu hồng.

Sản xuất

Chủng sản xuất
Sản xuất phải dựa trên hệ thống chủng giống. Chủng sản xuất không được cấy truyền quá 1 lần từ chủng gốc (master seed) nếu không có qui định khác và phải được cơ quan Kiểm định quốc gia chấp thuận. Chủng phải được bảo quản ở nhiệt độ dưới -60 °C.

Khí và tế bào sản xuất
Khí và tế bào dùng để sản xuất vắc xin phải đạt các yêu cầu quy định của Tổ chức Y tế Thế giới. Có thể sử dụng huyết thanh động vật trong môi trường nuôi cấy tế bào, nhưng trong môi trường để duy trì tế bào khi nhân virus không được có protein. Có thể có đỏ phenol và các kháng sinh phù hợp ở nồng độ cho phép trong môi trường nuôi cấy tế bào.

Quy trình sản xuất và kiểm định sản xuất
Quy trình sản xuất phải đạt tiêu chuẩn của Tổ chức Y tế Thế giới. Phải thực hiện các thử nghiệm kiểm định trong quá trình sản xuất ở các công đoạn: Vật liệu nguồn (khí, tế bào, môi trường nuôi cấy...); mẻ gặt đơn, bán thành phẩm trước lọc, bán thành phẩm sau lọc, vắc xin thành phẩm. Chế phẩm phải đạt những yêu cầu đã ghi trong chuyên luận vắc xin dùng cho người và chỉ được cho phép sử dụng sau khi đạt được các yêu cầu sản xuất và kiểm định trong quá trình sản xuất, đồng thời đạt các tiêu chuẩn kiểm định ở mục dưới đây.

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Cảm quan
Mỗi loạt vắc xin thành phẩm sau khi sản xuất phải được kiểm tra bằng cảm quan để đảm bảo các lọ hay ống vắc xin trước khi xuất xưởng đều phải đạt yêu cầu, không có dấu hiệu bất thường về cảm quan như: Vật lạ trong lọ vắc xin, nắp hay nút chặt và đảm bảo tính nguyên vẹn. Trong quá trình kiểm tra, nếu ống hay lọ nào thấy không đạt yêu cầu cần được loại bỏ.

Nhận dạng
Khi được trung hòa với kháng huyết thanh bại liệt đặc hiệu, virus không có khả năng gây nhiễm tế bào cảm thụ.

Vô khuẩn
Đạt vô khuẩn. Không nhiễm vi khuẩn, nấm (Phụ lục 15.7).

Công hiệu
Chuẩn độ hiệu giá bằng cách gây nhiễm virus trên tế bào cảm thụ.
Tiêu chuẩn đánh giá: Hiệu giá của vắc xin trong một liều uống (0,1 ml) phải đạt không ít hơn:
$10^{6,0}$ $CCID_{50}$ đối với týp 1.
$10^{5,0}$ $CCID_{50}$ đối với týp 2.
$10^{5,5}$ $CCID_{50}$ đối với týp 3.
Phương pháp tiến hành theo Phụ lục 15.21.

Tính bền vững nhiệt
Hiệu giá của vắc xin để ở 37 °C sau 48 h chỉ được phép giảm trong vòng 0,5 log_{10} so với hiệu giá của vắc xin để ở nhiệt độ bảo quản.

Tính chất vật lý, hóa học
Phải đạt tiêu chuẩn quy định của Tổ chức Y tế Thế giới.

Bảo quản, hạn dùng
Vắc xin bại liệt uống phải được bảo quản ở nhiệt độ -20 °C. Sau khi tan băng 1 lần, có thể bảo quản ở nhiệt độ 2 °C - 8 °C và dùng trong vòng 6 tháng. Tránh ánh sáng và tránh bị đông tan nhiều lần.
Hạn dùng không được quá 2 năm khi bảo quản liên tục ở -20 °C.

Nhãn
Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

VẮC XIN BCG
Vaccinum BCG cryodessicatum

Vắc xin BCG đông khô là chế phẩm vi khuẩn *"Calmette"* và *"Guerin"* sống dùng để tiêm trong da phòng bệnh lao. Vắc xin được sản xuất ở dạng đông khô và hoàn nguyên ngay trước khi dùng với dung dịch hồi chỉnh thích hợp.

Sản xuất
Vắc xin BCG được sản xuất từ hệ thống chủng giống. Chủng được lựa chọn và bảo quản ổn định. Phương pháp sản xuất phải cho sản lượng vắc xin BCG ổn định và có khả năng gây mẫn cảm đối với tuberculin cho người và bảo vệ được động vật thí nghiệm chống lại bệnh lao. Chủng sản xuất phải an toàn đối với người và động vật thí nghiệm. Vắc xin BCG được sản xuất tại Việt Nam từ chủng BCG 1173P2 - Pasteur Paris.
Chủng được nuôi trong môi trường Sauton - khoai tây, sau đó cấy chuyển sang môi trường Sauton lỏng. Sau khi gặt, vi khuẩn BCG được chế thành hỗn dịch vắc xin thuần nhất và đông khô.
Vắc xin được điều chế từ canh thang phải được tách biệt khỏi chủng gốc ban đầu bằng những lần cấy chuyển và không được cấy chuyển quá 8 lần.
Chủng sản xuất
Chủng gốc phải được thiết lập và duy trì để đảm bảo tính ổn định, có khả năng gây mẫn cảm đối với tuberculin cho người và chuột lang, không gây bệnh cho người và động vật thí nghiệm.
Vắc xin BCG phải được bảo quản tránh ánh sáng mặt trời: Toàn bộ quy trình sản xuất phải được thiết kế sao cho từ nuôi cấy sản xuất vắc xin đến kiểm định, bảo quản đều không tiếp xúc trực tiếp với ánh sáng mặt trời, tia cực tím.

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm cuối cùng

Vô khuẩn
Đạt vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Phát hiện Mycobacteria gây bệnh
Chỉ được dùng những mẫu vắc xin BCG bán thành phẩm cuối cùng cho thử nghiệm này khi bảo quản ở 4 °C không quá 72 h sau khi gặt.
Thử nghiệm này thường được tiến hành trên mẫu bán thành phẩm và mẫu vắc xin BCG thành phẩm nếu cần thiết (Phụ lục 15.9).

Đậm độ vi khuẩn BCG
Có thể đo trực tiếp đậm độ vi khuẩn BCG trong huyền dịch vắc xin BCG bán thành phẩm cuối cùng bằng cách cân trọng lượng khô hoặc gián tiếp bằng cách đo mật độ quang hay độ đục của huyền dịch vi khuẩn đã được hiệu chuẩn tương ứng với trọng lượng khô.

Độ sống: Phụ lục 15.1.

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Hình dạng bên ngoài và tốc độ tạo huyền dịch: Bột trắng, khô, bong, không teo; nhanh chóng tạo thành huyền dịch đồng nhất sau không quá 1 min hoàn nguyên với nước muối sinh lý.

Mật độ quang
Không quá 0,5. Đo bằng quang phổ kế ở bước sóng 490 nm, lọc màu xanh lá cây (Phụ lục 4.1).

Độ phân tán
Phụ lục 15.3.

Độ chân không
Phụ lục 15.2.

Độ ẩm tồn dư
Không quá 3 % (Phụ lục 15.35).

Vô khuẩn
Đạt vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Nhận dạng
Nhận dạng BCG qua kính hiển vi để khẳng định tính kháng acid của vi khuẩn và quan sát hình thái khuẩn lạc trên môi trường đặc.

An toàn chung
Thử nghiệm an toàn chung cho vắc xin BCG chỉ tiến hành trên chuột nhắt trắng: 5 chuột nhắt trắng cân nặng mỗi chuột từ 17 g đến 22 g. Tiêm dưới da 1 mg vắc xin BCG/1 ml cho mỗi chuột. Theo dõi và cân xác định khối lượng từng chuột trong 7 ngày. Nếu trong thời gian 7 ngày theo dõi có bất kỳ chuột nào bị giảm cân hoặc chết phải nhắc lại thí nghiệm lần 2 với số lượng chuột và mẫu gấp đôi.
Tiêu chuẩn chấp thuận: Sau 7 ngày theo dõi, cả 5 chuột phải đều khoẻ mạnh, lên cân, không có biểu hiện bệnh lý.

An toàn đặc hiệu (Phát hiện Mycobacteria gây bệnh)
Thử nghiệm này thường được tiến hành trên mẫu bán thành phẩm và mẫu vắc xin BCG thành phẩm nếu cần thiết (Phụ lục 15.9).

Kiểm tra phản ứng da
Tiêm trong da cho ít nhất 4 chuột lang cùng giới (nếu là chuột cái thì không có thai), có phản ứng âm tính với tuberculin, cân nặng mỗi chuột từ 250 g đến 400 g. Tiêm cho mỗi chuột 0,1 ml vắc xin của từng đậm độ pha loãng 1/1; 1/10; 1/100 (của vắc xin thử và vắc xin mẫu chuẩn).

Theo dõi thương tổn tại chỗ tiêm hàng tuần, trong 4 tuần. Sau 4 tuần, kiểm tra phản ứng tuberculin bằng cách tiêm trong da 5 TU/0,1 ml/chuột. Đọc kết quả phản ứng sau 24 h.

Tiêu chuẩn chấp thuận: Phản ứng da đối với vắc xin thử và vắc xin mẫu chuẩn phải không có sự khác biệt đáng kể.

Kiểm tra độ sống

Xác định độ sống trong vắc xin đã hoàn nguyên bằng cách đếm số lượng khuẩn lạc trên môi trường Lowenstein-Jensen. Số lượng đơn vị sống (đvs) phải nằm trong khoảng 1.10^6 đến 6.10^6 đvs/mg BCG (Phụ lục 15.1).

Tính ổn định nhiệt

Số đơn vị sống của vắc xin BCG sau khi ủ ở 37 °C trong 28 ngày phải đạt ít nhất là 20 % so với ủ ở 4 °C trong 28 ngày (Phụ lục 15.1).

Bảo quản, hạn dùng

Vắc xin BCG đông khô phải bảo quản trong điều kiện nhiệt độ 2 °C đến 8 °C và tránh ánh sáng mặt trời, hạn dùng ít nhất 24 tháng. Sau khi hoàn nguyên vắc xin phải được bảo quản tránh ánh sáng mặt trời ở điều kiện nhiệt độ 2 °C đến 8 °C và chỉ được sử dụng trong khoảng thời gian tối đa là 4 h.

Nhãn

Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

VẮC XIN CÚM BẤT HOẠT

Vaccinum influenzae inactivatum

Vắc xin cúm bất hoạt là một hỗn dịch trong suốt, vô khuẩn chứa một hoặc nhiều chủng virus cúm, typ A hoặc B hoặc hỗn hợp cả hai, đã được bất hoạt bằng các phương pháp phù hợp.

Vắc xin cúm có thể ở 4 dạng:

- là hỗn dịch các hạt virus hoàn chỉnh được bất hoạt theo phương pháp thích hợp.
- là hỗn dịch đã được xử lý bằng phương pháp hoá lý sao cho các hạt virus được phân rã hoàn toàn hoặc một phần.
- là hỗn dịch đã được xử lý sao cho chỉ còn chứa phần lớn các kháng nguyên haemagglutinin (HA) và neuraminidase (vắc xin tiểu đơn vị).
- là hỗn dịch của các hạt virus cúm bất hoạt, các hạt virus đã phân rã hoặc các thành phần tiểu đơn vị với tá chất.

Sản phẩm phải đáp ứng các yêu cầu dưới đây:

Sản xuất

Chủng sản xuất

Theo khuyến cáo hàng năm của Tổ chức Y tế Thế giới và phê chuẩn của cơ quan kiểm định quốc gia. Hiện nay, người ta thường sử dụng những chủng cho sản lượng cao đối với kháng nguyên bề mặt. Nguồn gốc chủng virus và lịch sử cấy chuyền chủng virus phải do cơ quan kiểm định quốc gia phê chuẩn.

Trứng cho sản xuất

Nếu vắc xin được sản xuất trên trứng có phôi thì trứng phải được chọn từ những đàn gà khoẻ mạnh, không có bệnh lý và được giám sát bằng các phương pháp do các cơ quan có thẩm quyền về sức khoẻ động vật phê chuẩn.

Tế bào sản xuất

Dòng tế bào dùng cho sản xuất vắc xin cúm phải dựa trên hệ thống ngân hàng tế bào phù hợp và được phép dùng cho việc sản xuất các chế phẩm sinh học dùng cho người. Cơ quan kiểm định quốc gia phải phê chuẩn ngân hàng tế bào gốc và thiết lập số lượng tối đa số đời cấy chuyền.

Môi trường nuôi cấy tế bào

Huyết thanh sử dụng cho nuôi cấy tế bào phải không nhiễm vi khuẩn, nấm, *Mycoplasma* và các virus khác.

Penicilin và các beta-lactam khác không được sử dụng trong bất cứ giai đoạn sản xuất nào.

Các kháng sinh khác có thể được sử dụng nhưng phải được cơ quan kiểm định quốc gia chấp thuận.

Các mẻ gặt đơn

Đối với vắc xin sản xuất trên trứng, virus của mỗi chủng phải được phát triển trên khoang niệu của trứng gà có phôi khoẻ mạnh. Sau khi ủ ở nhiệt độ thích hợp, tiến hành gặt dịch niệu. Đối với vắc xin sản xuất từ tế bào động vật có vú, virus của mỗi chủng phải được phát triển trên những dòng tế bào đã được phê chuẩn cho sản xuất vắc xin.

Các mẻ gặt đơn của cùng một chủng virus được hộn lại để tạo thành mẻ hỗn dịch virus đơn giá. Hỗn dịch virus đơn giá từ tế bào không được hộn lẫn với hỗn dịch virus đơn giá từ trứng.

Độ tinh khiết của vắc xin sản xuất từ tế bào

Để theo dõi sự ổn định về độ tinh khiết, các mẻ hỗn dịch đơn giá thu hoạch từ tế bào động vật có vú phải được kiểm tra tỷ lệ giữa hàm lượng HA và protein toàn phần. Tỷ lệ này phải nằm trong giới hạn do cơ quan kiểm định quốc gia phê chuẩn.

Đối với virus phát triển trên tế bào thường trực, mẻ hộn đơn giá phải được kiểm tra ADN tồn dư. Hàm lượng ADN phải nhỏ hơn 10 ng/liều ở người.

Thử nghiệm này có thể bỏ qua với sự phê chuẩn của cơ quan kiểm định quốc gia nếu quá trình sản xuất đã được thẩm định là đạt và duy trì được tiêu chuẩn này.

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm cuối cùng

Bán thành phẩm được sản xuất bằng cách trộn và pha loãng mẻ hỗn dịch đơn giá của mỗi chủng virus. Chỉ những chất bảo quản, tá chất hoặc dung dịch được cơ quan kiểm định quốc gia phê chuẩn mới được cho vào bán thành phẩm. Những chất này phải đảm bảo không ảnh hưởng đến tính an toàn và hiệu lực của sản phẩm.

Vắc xin sản xuất cho đại dịch chỉ nên chứa 1 chủng virus.

Công hiệu

Thử nghiệm này có thể bỏ qua nếu đã được tiến hành trên mỗi lô thành phẩm cuối cùng.

Nhận dạng và xác định hàm lượng kháng nguyên HA trong vắc xin cúm bằng kỹ thuật khuyếch tán miễn dịch đơn (SRD, SRID).

Nguyên lý:

Kháng nguyên cúm khuyếch tán trong thạch chứa kháng thể tương ứng, ở vùng có nồng độ kháng nguyên - kháng thể phù hợp, hình thành vòng kết tủa. Độ lớn của vòng này tỷ lệ thuận với hàm lượng kháng nguyên. Căn cứ vào độ lớn của vòng kháng nguyên chuẩn được làm đồng thời, tính ra nồng độ kháng nguyên mẫu thử.

Mẫu thử nghiệm và kháng nguyên chuẩn được xử lý bằng dung dịch tẩy thích hợp, sau đó được pha loãng với PBS ở những độ pha thích hợp. Lượng mẫu và kháng nguyên chuẩn được thêm vào các giếng của tấm thạch đã chứa một lượng kháng thể thích hợp. Giữ tấm thạch này trong tủ mát ở nhiệt độ 20 °C ít nhất 18 h. Kháng nguyên khuếch tán ra xung quanh và kết hợp với kháng thể, tạo nên vùng kết tủa hình tròn. Nhuộm và đo đường kính của các vòng tròn này, so sánh với vòng do kháng nguyên chuẩn tạo ra để tính kết quả.

Tiến hành:

Chuẩn bị khuôn thạch SRD: Một khuôn thạch sẽ sử dụng 13 ml thạch. Làm tan chảy đủ lượng thạch bằng lò vi sóng. Sau đó để ở 60 °C trong 15 min.

Chuẩn bị tấm kính thuỷ tinh, viết mã hoá lên góc trái của tấm kính. Lau bề mặt kính bằng thạch nóng chảy. Đặt khuôn lên trên tấm kính. Hàn kín cạnh bên trong khuôn thạch bằng thạch nóng chảy và để trong 5 min.

Cho một lượng kháng thể chuẩn nhất định vào thạch ở trên rồi đổ vào khuôn.

Để ở nhiệt độ phòng 30 min, sau đó tiến hành đục lỗ (đường kính 4 mm).

Chuẩn bị kháng nguyên:

Kháng nguyên chuẩn đông khô được hồi chỉnh với 1 ml nước cất và để trong 5 min trước khi sử dụng.

Pha loãng kháng nguyên chuẩn với PBS (-) để đạt nồng độ cuối cùng 30 µg HA/ml theo hướng dẫn sử dụng.

Trộn lẫn 450 µl kháng nguyên chuẩn và vắc xin thử với 50 µl Zwittergent 10 % và để trong hộp ẩm trong 30 min ở nhiệt độ phòng.

Ví dụ, có thể pha loãng các độ pha bằng PBS (-) theo Bảng 1 dưới đây:

Bảng 1: Các độ pha loãng bằng PBS (-)

Nồng độ pha loãng	Thể tích (µl)	
	Kháng nguyên đã xử lý bằng Zwittergent	PBS (-)
1,0	200	0
0,75	150	50
0,5	100	100
0,25	50	150

Kháng nguyên thử nghiệm và điều kiện ủ:

Nhỏ 20 µl mỗi nồng độ kháng nguyên vào các giếng tương ứng.

Đặt các tấm kính trong hộp làm ẩm và ủ trong tủ ở nhiệt độ 20 °C ít nhất là 18 h.

Xử lý tấm kính:

Rửa tấm thạch (gel) dưới vòi nước, đặt các tấm giấy lọc cẩn thận trên bề mặt gel để loại bỏ tất cả các bọt.

Ép các gel này trong 30 min bằng tấm kính có khối lượng 600 g.

Làm khô gel trong tủ ấm 37 °C.

Nhuộm gel bằng dung dịch coomasie blue.

Tẩy màu gel bằng dung dịch tẩy màu và làm khô.

Đo đường kính vòng tròn khuếch tán theo hai hướng vuông góc nhau và tính kết quả bằng phần mềm Parancll chuyên dụng ("Bioassay Assit" hoặc phần mềm EDQM Combistats...). Trước hết, phải đánh giá thử nghiệm SRD phải có giá trị hay không dựa vào phân tích thống kê. Nếu thử nghiệm có giá trị thì hàm lượng HA của vắc xin được tính toán bằng cách so sánh số liệu với kháng nguyên mẫu chuẩn.

Đánh giá kết quả: Công hiệu của mỗi loại virus trong mẫu thử nghiệm không được thấp hơn 15 µg HA/liều.

Điều kiện để thí nghiệm có giá trị tin cậy:

Vòng kết tủa đều và rõ.

Đường kính vòng tròn kết tủa trong khoảng từ 5,0 mm đến 14 mm nếu đo bằng thước đo với mắt thường.

Khoảng dao động từ 80 % đến 120 %.

Vô khuẩn

Đạt yêu cầu vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Nếu chất bảo quản được thêm vào vắc xin, phải tiến hành bằng phương pháp thích hợp để ngăn chặn sự gây nhiễu đối với thử nghiệm vô khuẩn.

Hàm lượng protein toàn phần

Hàm lượng protein toàn phần phải không vượt quá 6 lần tổng hàm lượng HA của các chủng virus trong vắc xin. Tuy nhiên, trong bất cứ trường hợp nào cũng không được vượt quá 100 µg protein/1 chủng virus/1 liều đơn ở người và không nhiều hơn 300 µg protein/tổng số chủng virus/1 liều đơn ở người (Phụ lục 15.34).

Ovalbumin

Hàm lượng ovalbumin phải không vượt quá 1 µg/liều ở người.

Hàm lượng ovalbumin phải được xác định bằng phương pháp thích hợp. Có thể định lượng ovalbumin dựa trên nguyên tắc của ELISA "cặp chả". Kháng thể đơn dòng kháng ovalbumin được cố định trên phiến, mẫu thử và cộng hợp được ủ trên phiến trong cùng một thời gian. Phản ứng hiện màu khi thêm cơ chất có chứa TMB và H_2O_2. Dừng phản ứng khi thêm acid sulfuric.

Đọc phản ứng trên máy đo màu.

Chế phẩm chuẩn: Bộ kit Ovalbumin (Serazym).

Mẫu thử: Vắc xin cúm 2 ml/mẫu.

Tiến hành:

Bộ kit Serazym Ovalbumin ELISA sử dụng được trong vòng 2 tháng sau khi mở, bảo quản ở 4 °C đến 8 °C. Để bộ kit ở nhiệt độ phòng trước khi sử dụng.

Pha loãng mẫu sao cho lượng ovalbumin nằm từ 1 ng/ml đến 20 ng/ml.

Cho 200 µl chất chuẩn, mẫu thử pha loãng vào mỗi giếng.

Cho 100 µl cộng hợp HRT vào mỗi giếng, trộn đều.
Ủ ở nhiệt độ phòng 60 min.
Loại bỏ hết dung dịch trong các giếng.
Cho 300 µl dung dịch rửa vào tất cả các giếng, để 5 s rồi đổ hết dung dịch trong giếng, thực hiện lặp lại bước này 4 lần.
Cho 100 µl cơ chất vào tất cả các giếng, để ở nhiệt độ phòng 15 min.
Cho 100 µl dung dịch dừng phản ứng vào tất cả các giếng và đọc kết quả bằng máy ELISA ở bước sóng 450 nm.
Tính kết quả bằng phần mềm "Calculation ovalbumin".
Điều kiện để phản ứng có ý nghĩa:
Mẫu chuẩn 1 (20 ng/ml) có OD ≥ 1,50.
Mẫu chuẩn 6 (0,625 ng/ml) có OD ≤ 0,50.
Mẫu chuẩn có hệ số tương quan không được nhỏ hơn 0,99 (≥ 0,99).
Giới hạn phương pháp: Nồng độ ovalbumin trong khoảng từ 5,0 - 10,0 ng/ml.
Giá trị OD của mẫu pha loãng nên nằm trong giới hạn của mẫu chuẩn (từ 0,625 ng/ml đến 20 ng/ml).
CV của tất cả các mẫu pha loãng không được quá 15 % (≤ 15 %).

Hàm lượng tá chất
Nếu một tá chất được thêm vào vắc xin thì hàm lượng của nó phải được xác định bằng phương pháp do cơ quan kiểm định quốc gia phê chuẩn. Hàm lượng tá chất phải vừa đủ để đảm bảo hiệu lực lâm sàng cao nhất của sản phẩm. Công thức tá chất và kháng nguyên phải hằng định và ổn định trong suốt quá trình sản xuất.

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Nhận dạng
Kiểm tra nhận dạng được thực hiện trên ít nhất 1 lọ thành phẩm từ mỗi lô thành phẩm cuối cùng bằng phương pháp thích hợp do cơ quan kiểm định quốc gia phê chuẩn. Dùng kỹ thuật khuyếch tán miễn dịch đơn (SRD, SRID) như sau:
Nguyên lý: Một lượng mẫu thử nhất định (kháng nguyên) được thêm vào các giếng của tấm thạch SRD (đã có một lượng kháng thể cúm phù hợp). Sự hình thành vòng tròn khuếch tán đặc hiệu trong thạch cho phép nhận dạng kháng nguyên cúm tương ứng.
Tiến hành: Giống như thử nghiệm SRD được trình bày tại phần Công hiệu của mục Kiểm định vắc xin bán thành phẩm.
Đánh giá kết quả:
Vắc xin đạt yêu cầu nhận dạng nếu kết quả thử nghiệm có vòng tròn kết tủa.
Nếu lần thử nghiệm thứ nhất không đạt, phải làm lại lần thử hai.
Nếu lần thử nghiệm thứ 2 vẫn không thấy vòng tròn khuếch tán thì loạt vắc xin không đạt yêu cầu.
Nhận dạng kháng nguyên ngưng kết hồng cầu trong vắc xin được xác định bằng phương pháp miễn dịch như khuếch tán miễn dịch, ức chế kháng nguyên, hoặc sử dụng huyết thanh miễn dịch đặc hiệu tương ứng.

Công hiệu
Hàm lượng kháng nguyên HA được xác định theo kỹ thuật khuyếch tán miễn dịch đơn như đã trình bày ở mục Kiểm định bán thành phẩm cuối cùng.
Tiêu chuẩn chấp thuận: Vắc xin nên chứa ít nhất 15 µg HA/liều/mỗi chủng sản xuất.
Đối với vắc xin đại dịch, có thể chứa những hàm lượng HA khác do Tổ chức y tế thế giới khuyến cáo.

An toàn chung
Theo Phụ lục 15.11.
Tiêm vắc xin cúm với 1 liều tiêm cho người vào ổ bụng cho mỗi con trong số 5 chuột nhắt trắng khoẻ mạnh, khối lượng 17 g/con đến 22 g/con và chưa sử dụng cho bất cứ mục đích gì trước đó; tiêm 10 liều tiêm cho người vào ổ bụng cho mỗi trong số 2 chuột lang khoẻ mạnh, khối lượng 250 g/con đến 350 g/con và chưa sử dụng cho bất cứ mục đích gì trước đó.
Vắc xin đạt tính an toàn chung, không có độc tính bất thường nếu toàn bộ chuột thử nghiệm đều khoẻ mạnh, lên cân và không có biểu hiện nhiễm độc trong 7 ngày theo dõi liên tục.

Vô khuẩn
Đạt yêu cầu về vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Protein toàn phần
Hàm lượng protein toàn phần phải không vượt quá 6 lần tổng hàm lượng HA của các chủng virus trong vắc xin. Tuy nhiên trong bất cứ trường hợp nào cũng không được vượt quá 100 µg protein/1 chủng virus/1 liều ở người và không nhiều hơn tổng số 300 µg protein/tất cả các chủng virus/1 liều ở người (Phụ lục 15.34).

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 100 EU/liều ở người.
Hàm lượng nội độc tố phải được xác định bằng phương pháp thích hợp (Phụ lục 13.2).
Hàm lượng nội độc tố ở vắc xin sản xuất từ tế bào cho phép thấp hơn sản xuất từ trứng.
Yêu cầu:
Độ nhạy của chứng dương nằm trong khoảng từ 1/2 đến gấp đôi, thử nghiệm có giá trị.
Nếu độ nhạy của lysate ghi trên nhãn là 0,125 EU/ml thì độ nhạy thực tế của thí nghiệm có thể từ 0,06 - 0,25 EU/ml.
Nếu hiện tượng đông gel của lysate không rõ ràng, phải làm lại thử nghiệm.

Formaldehyd
Không được quá 0,2 g/L (Phụ lục 15.25).

Chất bảo quản
Xác định hàm lượng chất bảo quản bằng phương pháp hoá học thích hợp. Hàm lượng chất bảo quản trong vắc xin không thấp hơn hàm lượng tối thiểu có hiệu lực và không lớn hơn 115 % hàm lượng ghi trên nhãn (Phụ lục 15.29).

Cảm quan
Mỗi loạt vắc xin thành phẩm sau khi sản xuất phải được kiểm tra bằng cảm quan để đảm bảo các lọ hay ống vắc xin trước

khi xuất xưởng đều phải đạt yêu cầu, không có dấu hiệu bất thường như: Có vật lạ trong lọ vắc xin, nắp hay nút không chặt và/hoặc không đảm bảo tính nguyên vẹn. Trong quá trình kiểm tra, nếu ống hay lọ vắc xin nào không đạt yêu cầu phải được loại bỏ.

Đóng gói và bảo quản

Vắc xin cúm bất hoạt được đóng trong lọ thuỷ tinh trung tính 0,5 ml/lọ hoặc 0,25 ml/lọ và phải được bảo quản ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.

Nếu sử dụng trong điều kiện bảo quản khác thì điều kiện bảo quản này phải được thẩm định đầy đủ và được phê chuẩn bởi cơ quan kiểm định quốc gia.

Hạn dùng

Hạn sử dụng phải được phê chuẩn bởi Cơ quan kiểm định quốc gia. Nói chung hạn sử dụng không vượt quá 1 năm tính từ ngày sản xuất, bởi vì các chủng virus có thể không phù hợp cho năm sau.

Chỉ định, liều dùng

Tiêm dưới da. Thường là vùng cơ delta.

Liều tiêm: Từ 6 tháng đến 35 tháng tuổi tiêm 0,25 ml/liều; trên 36 tháng tuổi tiêm 0,5 ml/liều.

Nhãn

Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng theo các yêu cầu của quy định hiện hành. Cụ thể như sau:

Vắc xin được sản xuất từ virus phát triển trên phôi trứng gà hay tế bào động vật có vú;

Chủng virus cúm dùng để sản xuất.

Hàm lượng HA tính theo µg/chủng virus/liều ở người;

Tên và hàm lượng tối đa của bất cứ kháng sinh nào có mặt trong vắc xin;

Nhiệt độ khuyến cáo cho quá trình bảo quản và vận chuyển vắc xin;

Hạn sử dụng;

Chỉ rõ các liều đặc biệt (ví dụ: 2 liều) đối với vắc xin đại dịch.

VẮC XIN DẠI TẾ BÀO DÙNG CHO NGƯỜI

Vaccinum rabiei ex cellulis ad usum humanum

Vắc xin dại tế bào dùng cho người là một chế phẩm đông khô hoặc dạng lỏng được sản xuất từ chủng virus dại cố định phù hợp, phát triển trên nuôi cấy tế bào và được bất hoạt bằng phương pháp đã được thẩm định. Vắc xin được hồi chỉnh ngay trước khi sử dụng như quy định ghi trên nhãn lọ để tạo ra một dung dịch trong suốt, có thể có màu sắc tùy theo chỉ thị pH có mặt trong vắc xin.

Vắc xin dại tế bào phải đáp ứng các yêu cầu chung của vắc xin dùng cho người.

Sản xuất

Sản xuất vắc xin dại tế bào dựa trên hệ thống chủng virus giống và hệ thống ngân hàng tế bào được sử dụng để virus dại nhân lên. Quy trình sản xuất phải có được hiệu suất vắc xin ổn định, đạt các yêu cầu về tính sinh miễn dịch, tính an toàn và ổn định.

Hệ thống tế bào cho virus nhân lên

Virus dại có thể nhân lên trên tế bào lưỡng bội người, tế bào phôi gà, tế bào Vero hoặc tế bào trứng chuột đất vàng Trung Quốc (CHO - Chinese Hamster Ovary).

Chủng virus giống gốc

Chủng virus dại được sử dụng để sản xuất phải có hồ sơ chi tiết, trong đó ghi rõ nguồn gốc chủng và các đời cấy chuyền.

Chủng virus sản xuất được cấy chuyền không quá 5 lần từ chủng giống gốc và chỉ các loạt chủng virus sản xuất đạt các yêu cầu sau đây mới tiếp tục được sử dụng để sản xuất vắc xin.

Nhận dạng: Mỗi loạt chủng virus sản xuất phải được xác định là virus dại bằng kháng thể đặc hiệu với virus dại.

Hiệu giá virus: Nồng độ của mỗi loạt chủng virus sản xuất được xác định bằng phương pháp tiêm truyền trên não chuột hoặc bằng kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang trên nuôi cấy tế bào để đảm bảo tính ổn định của quy trình sản xuất.

Vô khuẩn: Loạt chủng virus sản xuất phải đạt được yêu cầu về vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Nuôi cấy virus và thu hoạch

Toàn bộ quy trình lưu giữ ngân hàng tế bào và cấy chuyền tế bào đều phải được thực hiện trong điều kiện vô khuẩn, không có mặt của các tế bào khác loại. Huyết thanh động vật (không được dùng huyết thanh người) được phép sử dụng trong môi trường nuôi cấy, nhưng trong môi trường cuối cùng để duy trì tế bào phát triển giúp virus nhân lên không được chứa huyết thanh động vật, môi trường này có thể chứa albumin huyết thanh người. Huyết thanh và trypsin dùng để tách tế bào và dùng trong môi trường nuôi cấy không được có mặt các tác nhân gây nhiễm ngoại lai. Môi trường nuôi cấy tế bào phải có chỉ thị pH như đỏ phenol và kháng sinh được phép sử dụng với nồng độ thấp nhất vẫn có được hiệu quả. Khoảng 10 % số lượng tế bào nuôi cấy dùng cho sản xuất được để lại không gây nhiễm, đây là các tế bào chứng. Hỗn dịch virus được thu hoạch một hoặc nhiều lần trong quá trình nuôi cấy. Nhiều lần thu hoạch từ cùng một loạt nuôi cấy sản xuất có thể trộn lại với nhau và được xem như một mẻ gặt đơn.

Một mẻ gặt đơn phải đạt các yêu cầu sau đây mới được sử dụng để tiến hành bước bất hoạt virus.

Nhận dạng: Mẻ gặt đơn có chứa virus phải được xác định là virus dại bằng kháng thể đặc hiệu.

Hiệu giá virus: Hiệu giá virus được xác định bằng nhiều phương pháp: Tiêm truyền trên não chuột nhắt trắng, kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang trên nuôi cấy tế bào hoặc bằng kỹ thuật ELISA. Hiệu giá được sử dụng như một chỉ số theo dõi tính ổn định của quy trình sản xuất.

Tế bào chứng: Tế bào chứng của mỗi loạt nuôi cấy tế bào sản xuất phải đạt yêu cầu về thử nghiệm nhận dạng và không có mặt các tác nhân ngoại lai.

Tinh chế và bất hoạt

Mẻ gặt virus có thể được cô đặc và tinh chế bằng các phương pháp phù hợp; mỗi mẻ gặt virus được bất hoạt bằng phương pháp đã được thẩm định tại một giai đoạn ấn định của quy trình sản xuất. Phương pháp bất hoạt phải đảm bảo virus dại bị bất hoạt hoàn toàn mà không làm mất đi hoạt tính sinh miễn dịch của nó. Nếu sử dụng beta-propiolacton để bất hoạt, nồng độ không được vượt quá 1:3500.

Một hỗn dịch virus sau bất hoạt phải đạt được yêu cầu sau đây mới được sử dụng để sản xuất vắc xin bán thành phẩm:

An toàn đặc hiệu:

Xác định sự có mặt của các virus dại còn khả năng gây nhiễm trong các mẫu sau khi bất hoạt bằng thử nghiệm an toàn đặc hiệu trên chuột nhắt trắng. Chuột phải khoẻ mạnh và tăng cân bình thường sau thời gian theo dõi 14 ngày.

Động vật thí nghiệm: Sử dụng ít nhất 10 chuột nhắt trắng 4 tuần tuổi có khối lượng từ 11 g đến 13 g. Lựa chọn những chuột khoẻ mạnh, không có biểu hiện bệnh lý và tăng cân bình thường trong thời gian cách ly ít nhất là 5 ngày trước khi tiến hành thử nghiệm.

Cách tiến hành: Mẫu thử nghiệm không pha loãng được tiêm vào não với liều 0,03 ml cho mỗi chuột.

Theo dõi và đọc kết quả: Toàn bộ chuột thử nghiệm phải được theo dõi và cân hàng ngày trước và sau khi tiêm. Thời gian theo dõi sau tiêm là 14 ngày. Trong suốt thời gian theo dõi, chuột phải khoẻ mạnh, tăng cân và không được có các triệu chứng bất thường.

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm cuối cùng

Vắc xin bán thành phẩm cuối cùng được sản xuất từ một hay nhiều hỗn dịch virus dại bất hoạt. Chất ổn định được phép sử dụng có thể được thêm vào để duy trì hoạt tính của sản phẩm trong và sau khi đông khô.

Một loạt vắc xin bán thành phẩm cuối cùng phải đạt được các yêu cầu sau đây mới được sử dụng để sản xuất vắc xin thành phẩm.

Hàm lượng glycoprotein

Hàm lượng glycoprotein được xác định bằng phương pháp hóa miễn dịch phù hợp như thử nghiệm khuếch tán miễn dịch đơn, kỹ thuật ELISA hoặc thử nghiệm gắn kháng thể. Hàm lượng glycoprotein nằm trong giới hạn cho phép tùy thuộc vào từng nhà sản xuất.

Vô khuẩn

Đạt vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Vắc xin thành phẩm được đóng vào các lọ vô trùng và được đông khô để duy trì tính ổn định của vắc xin. Lọ vắc xin được đóng chặt để tránh nhiễm khuẩn và hơi ẩm.

Một loạt vắc xin thành phẩm phải đạt được các yêu cầu dưới đây mới được xuất xưởng:

Nhận dạng

Trong vắc xin phải chứa kháng nguyên của virus dại và được xác định bằng phương pháp hóa miễn dịch phù hợp với kháng thể đặc hiệu, tốt nhất là kháng thể đơn dòng.

An toàn đặc hiệu

Xác định sự có mặt của các virus dại còn khả năng gây nhiễm trong các mẫu sau khi bất hoạt bằng thử nghiệm an toàn đặc hiệu trên chuột nhắt trắng. Trong trường hợp thử nghiệm an toàn đặc hiệu trên chuột đã được thực hiện với hỗn dịch virus bất hoạt đạt yêu cầu thì có thể không cần tiến hành lại thử nghiệm này đối với vắc xin thành phẩm.

Vô khuẩn

Vắc xin dại phải đạt được yêu cầu về vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Chất gây sốt

Vắc xin phải đạt yêu cầu về chất gây sốt. Thử nghiệm được thực hiện bằng cách tiêm cho mỗi thỏ 1 liều đơn vắc xin dùng cho người và được pha loãng 10 lần (Phụ lục 15.12).

An toàn chung

Vắc xin phải đạt yêu cầu về an toàn khi thử nghiệm trên chuột lang và chuột nhắt. Chuột khỏe mạnh và tăng trọng bình thường sau 7 ngày theo dõi (Phụ lục 15.11)

Độ ẩm tồn dư

Phụ lục 15.35.

Công hiệu

Phải kiểm tra công hiệu đối với tất cả các lô vắc xin thành phẩm.

Thực hiện theo phương pháp N.I.H. (Phụ lục 15.31).

Thử nghiệm có giá trị khi:

ED_{50} của vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin mẫu thử đều nằm trong khoảng giữa liều tiêm lớn nhất và nhỏ nhất.

Phân tích thống kê cho thấy đạt yêu cầu về tuyến tính và song song.

Giới hạn độ tin cậy của công hiệu tương quan nằm trong khoảng 25 % đến 400 %.

Tiêu chuẩn: LD_{50} của chủng thử thách (CVS - Challenge virus strain) phải nằm trong khoảng 10 - 100 LD50/0,03 ml. Công hiệu của vắc xin phải không nhỏ hơn 2,5 IU/liều tiêm cho người.

Sản xuất chủng virus thử thách (CVS): Tiêm chủng CVS vào não chuột nhắt trắng, khối lượng từ 11 g đến 13 g, khi chuột có biểu hiện của nhiễm virus dại, nhưng trước khi chúng bị chết, tiến hành giết chuột và gặt não. Não chuột được nghiền nát và pha trong dung dịch phù hợp để có nồng độ cuối là 20 %. Chia hỗn dịch này thành các phần nhỏ trong các lọ, đậy kín và bảo quản ở nhiệt độ dưới âm 60 °C (-60 °C).

Chuẩn độ chủng CVS: Làm tan băng 1 lọ chủng thử thách, pha loãng chủng ở các độ pha phù hợp. Mỗi độ pha của chủng CVS được tiêm vào não cho 10 chuột với liều 0,03 ml/chuột. Theo dõi chuột trong vòng 14 ngày sau tiêm. Tính LD_{50} của chủng CVS theo công thức Reed - Muench dựa vào số chuột liệt hoặc chết, chỉ những chuột liệt hoặc chết sau ngày thứ 5 mới được tính.

Chất hấp phụ

Nếu chất hấp phụ được thêm vào vắc xin thì hàm lượng chất hấp phụ được xác định bằng phương pháp đã được phê duyệt.

Tiêu chuẩn: Theo qui định hiện hành.

Chất bảo quản

Nếu chất bảo quản được thêm vào vắc xin thì hàm lượng chất bảo quản được xác định bằng phương pháp đã được phê duyệt.

Tiêu chuẩn: Theo qui định hiện hành.

Đóng gói, bảo quản

Đóng gói: Bao gồm 1 lọ vắc xin đông khô và 1 lọ nước hồi chỉnh.

Vắc xin dại tế bào được đóng dạng đông khô trong lọ thủy tinh trung tính.

Bảo quản: Vắc xin dại phải được bảo quản ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.

Nhãn

Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

Chỉ định, liều dùng

Dùng bơm tiêm hút toàn bộ nước hồi chỉnh cho vào lọ vắc xin đông khô, lắc thật kỹ cho đến khi tan hoàn toàn. Vắc xin phải được tiêm ngay sau khi đã hồi chỉnh, bơm kim tiêm phải được hủy bỏ ngay sau khi tiêm vắc xin.

Tiêm bắp vùng cơ delta, đối với trẻ em nên tiêm bắp đùi tốt hơn. Không tiêm vào những vùng có nhiều tổ chức lỏng lẻo dưới da.

Lịch tiêm vắc xin dại phụ thuộc vào từng đối tượng khác nhau. Có 3 nhóm đối tượng chính:

Tiêm dự phòng các đối tượng có nguy cơ cao (tiếp xúc với virus dại):

Tiêm 3 mũi cơ bản vào các ngày: 0, 7, 28.

Mũi tăng cường: sau 1 năm.

Cứ sau 5 năm, nhắc lại 1 lần.

Lịch tiêm vào ngày 28 có thể thay thế bằng lịch tiêm vào ngày 21.

Tiêm điều trị các đối tượng nghi ngờ hoặc chắc chắn bị nhiễm virus dại (chó cắn):

Nếu đối tượng bị cắn chưa có miễn dịch với virus dại

Liều tiêm 0,5 ml, giống nhau giữa người lớn và trẻ em.

Tiêm 5 mũi: lịch tiêm vào các ngày 0, 3, 7, 14, 28.

Trong trường hợp có nhiều vết cắn hoặc cào xước, nhiều nước bọt... thì phải tiêm thêm globulin miễn dịch dại ngay vào ngày 0 với liều lượng:

Globulin miễn dịch dại người: 20 IU/kg cân nặng.

Globulin miễn dịch dại ngựa: 40 IU/kg cân nặng.

Vắc xin nên tiêm vào các vị trí đối diện với vị trí tiêm globulin miễn dịch.

Trong các trường hợp nặng, ví dụ do vết cắn rộng hoặc vết cắn gần thần kinh trung ương, thì tùy từng trường hợp cụ thể có thể tiêm liền 2 mũi vắc xin trong cùng một ngày 0.

Nếu đối tượng bị cắn đã có miễn dịch với virus dại:

Trường hợp đã tiêm vắc xin trong vòng 5 năm: Tiêm tiếp 2 mũi vắc xin vào các ngày 0, 3.

Trường hợp đã tiêm vắc xin trên 5 năm hoặc tiêm nhưng không đầy đủ liệu trình: Nên áp dụng liệu trình tiêm giống như các đối tượng chưa có miễn dịch với virus dại.

VẮC XIN *HAEMOPHILUS INFLUENZAE* TYP b CỘNG HỢP

Vaccinum haemophili stirpis b coniugatum

Vắc xin *Haemophilus influenzae* typ b (Hib) cộng hợp là một chế phẩm được tinh chế từ vỏ polysaccharid của vi khuẩn *H. influenzae* typ b, liên kết cộng hóa trị với protein mang (carrier protein).

Vỏ polysaccharid của Hib là một chuỗi polymer mạch thẳng gồm các đơn vị lặp lại của 3-β-D-ribofuranosyl (1→1)-D-ribitol-5-phosphat (PRP).

Protein mang là giải độc tố bạch hầu hoặc giải độc tố uốn ván hoặc độc tố bạch hầu của chủng đột biến đã mất tính độc (CRM197), hoặc phức hợp protein màng ngoài của vi khuẩn *Neisseria meningitidis* nhóm B.

Sản xuất

Chủng sản xuất

Chủng *H. influenzae* typ b dùng để sản xuất vắc xin *H. influenzae* typ b cộng hợp phải được cơ quan Kiểm định quốc gia chấp thuận. Chủng sản xuất phải có vỏ polysaccharid đặc hiệu và sản sinh với sản lượng ổn định trong quá trình sản xuất, có đáp ứng miễn dịch và an toàn khi sử dụng cho người.

Chỉ có những chủng đạt các đặc tính như sau mới có thể xem xét để sản xuất vắc xin: Trong môi trường nuôi cấy thích hợp phải có hình dạng đặc trưng của *H. influenzae:* trực khuẩn nhỏ, hiếu khí, Gram âm, không di động, không sinh nha bào, không làm tan máu, lên men đường glucose, không lên men đường lactose, sucrose, manose và phản ứng dương tính với catalase và indole.

Hệ thống chủng

Chủng gốc phải có hồ sơ chi tiết bao gồm nguồn gốc, các đặc tính sinh lý, sinh hóa, huyết thanh học và di truyền của chủng. Các nuôi cấy từ chủng sản xuất phải có cùng đặc tính như nuôi cấy từ chủng gốc và phải đạt các tiêu chuẩn như chủng gốc.

Nuôi cấy và mẻ gặt đơn

Sự phát triển của chủng *H. influenzae* typ b phải có tính ổn định bằng cách giám sát mật độ phát triển của vi khuẩn, pH của môi trường nuôi cấy và sản lượng polysaccharid. *H. influenzae* typ b được nuôi cấy trên môi trường lỏng không chứa các polysaccharid có phân tử lượng cao; nếu trong môi trường nuôi cấy chứa bất kỳ sản phẩm nào của máu thì phải chứng minh rằng chúng đã được loại bỏ sau khi tinh chế.

Sự thuần khiết của vi khuẩn trước khi bất hoạt phải được kiểm tra theo phương pháp thích hợp, bao gồm nuôi cấy trên môi trường thạch đĩa phù hợp để kiểm tra đặc điểm hình thái, nhuộm Gram và ngưng kết với kháng huyết thanh đặc hiệu.

Polysaccharid tinh chế

Canh trùng nuôi cấy được bất hoạt. PRP được tách ra từ canh trùng nuôi cấy và tinh chế bằng phương pháp thích hợp. Mỗi lô polysaccharid đã tinh chế phải được kiểm tra

độ thuần khiết. Polysaccharid tinh chế phải đạt các yêu cầu dưới đây mới được sử dụng để pha chế bán thành phẩm cộng hợp.

Nhận dạng: Dùng phương pháp huyết thanh học hoặc quang phổ cộng hưởng từ ^{1}H (hoặc ^{13}C): phải có mặt PRP.

Kích thước phân tử: Sử dụng phương pháp sắc ký lọc trên gel để xác định sự phân bố theo kích thước phân tử polysaccharid. Hệ số phân bố K_0 được xác định bằng cách dựa vào các pic chính của polysaccharid trên sắc ký đồ theo tiêu chuẩn của nhà sản xuất đã đăng ký và được phê duyệt đối với từng loại vắc xin Hib cộng hợp.

Sắc ký lỏng cũng được sử dụng để xác định sự phân bố theo kích thước phân tử polysaccharid.

Độ ẩm: Phương pháp áp dụng phải được cơ quan Kiểm định quốc gia chấp thuận và phải chỉ ra được tính ổn định nằm trong giới hạn chấp thuận theo tiêu chuẩn của nhà sản xuất đối với từng loại vắc xin Hib cộng hợp.

Thành phần polysaccharid: Được tiến hành theo phương pháp đã được phê chuẩn. Hàm lượng polysaccharid được tính thông qua hàm lượng đường ribose (sử dụng phương pháp Bial). Hàm lượng đường ribose không ít hơn 32,0 % so với khối lượng polysaccharid khô kiệt.

Hàm lượng phosphor: Sử dụng phương pháp Chen hoặc phương pháp khác đã được thẩm định. Hàm lượng phosphor phải từ 6,8 % đến 9,0 % so với khối lượng polysaccharid khô kiệt.

Protein tạp: Không quá 1,0 % so với khối lượng polysaccharid khô kiệt (xác định bằng phương pháp Lowry).

Acid nucleic: Không quá 1,0 % so với khối lượng polysaccharid khô kiệt, được xác định bằng cách đo độ hấp thụ của acid nucleic ở bước sóng 260 nm hoặc phương pháp khác đã được thẩm định.

Nội độc tố vi khuẩn: Không quá 10,0 EU/µg polysaccharid (Phụ lục 13.2).

Protein mang

Protein mang được sử dụng để tăng khả năng đáp ứng miễn dịch ở tế bào B và T. Chủng sản xuất protein mang (cộng hợp) phải có hồ sơ chủng bao gồm nguồn gốc chủng, các đặc tính sinh lý, sinh hóa. Sự phát triển của chủng phải cho thấy có tính ổn định bằng cách giám sát tỷ lệ mọc của vi khuẩn, pH của môi trường nuôi cấy và sản lượng.

Protein mang được sản xuất trên chủng vi khuẩn phù hợp, độ tinh khiết của canh trùng nuôi cấy phải được kiểm tra, canh trùng nuôi cấy được bất hoạt và được tinh chế bằng phương pháp thích hợp.

Chỉ protein mang đạt các chỉ tiêu dưới đây mới được sử dụng để pha chế bán thành phẩm cộng hợp.

Giải độc tố bạch hầu và uốn ván: Hàm lượng không nhỏ hơn 1500 Lf/mg protein.

CRM197: Hàm lượng protein thuần khiết không nhỏ hơn 90,0 %.

Phức hợp protein màng ngoài của Neisseria meningitidis nhóm B: Hàm lượng protein không nhiều hơn 8,0 % khối lượng lipopolysaccharid.

Chất gây sốt

Đạt yêu cầu về chất gây sốt (Phụ lục 15.12). Tiêm tĩnh mạch tai thỏ với hàm lượng 0,25 µg/kg khối lượng thỏ.

Bán thành phẩm cộng hợp

Bán thành phẩm cộng hợp chỉ được phép pha chế thành bán thành phẩm cuối cùng khi đạt các yêu cầu dưới đây:

Hóa chất tồn dư

Quy trình tinh chế sản phẩm cộng hợp cần phải loại bỏ hóa chất tồn dư, ví dụ: sản phẩm trung gian cyanid cần được tiến hành theo phương pháp thích hợp đã được thẩm định, đạt theo tiêu chuẩn của nhà sản xuất đối với từng loại vắc xin Hib cộng hợp.

Chất đánh dấu cộng hợp

Xác định bằng số đơn vị lặp lại PRP hoặc hàm lượng PRP tổng số, đạt theo tiêu chuẩn của nhà sản xuất đối với từng loại vắc xin Hib cộng hợp.

Các nhóm chức hoạt hóa tồn dư

Tiến hành theo phương pháp thích hợp đã được thẩm định, đạt theo tiêu chuẩn của nhà sản xuất đối với từng loại vắc xin Hib cộng hợp.

Hàm lượng PRP

Tiến hành theo phương pháp thích hợp đã được thẩm định, đạt theo tiêu chuẩn của nhà sản xuất đối với từng loại vắc xin Hib cộng hợp.

Hàm lượng PRP đã cộng hợp và PRP tự do

Hàm lượng PRP tự do nhỏ hơn 40,0 %, tùy thuộc vào từng loại vắc xin Hib cộng hợp.

Hàm lượng protein

Tiến hành theo phương pháp thích hợp đã được thẩm định.

Tỉ lệ protein và PRP

Nằm trong giới hạn chấp thuận của của nhà sản xuất đối với từng loại vắc xin Hib cộng hợp.

Kích thước phân tử

Tiến hành theo phương pháp thích hợp đã được thẩm định, ví dụ như lọc gel sepharose CL-4B, đạt theo tiêu chuẩn của nhà sản xuất đối với từng loại vắc xin Hib cộng hợp.

Vô khuẩn

Đạt yêu cầu vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Độc tính đặc hiệu của protein mang trong sản phẩm cộng hợp

Bán thành phẩm cộng hợp không có độc tính đặc hiệu của protein mang (nếu protein mang là giải độc tố uốn ván hoặc giải độc tố bạch hầu).

Kiểm định bán thành phẩm cuối cùng

Tá dược, chất bảo quản hoặc chất ổn định được bổ sung với một lượng thích hợp bán thành phẩm cộng hợp để được bán thành phẩm cuối cùng. Bán thành phẩm cuối cùng chỉ được phép pha chế thành thành phẩm khi đạt yêu cầu sau:

Vô khuẩn

Đạt yêu cầu vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Kiểm định vắc xin thành phẩm
Chỉ vắc xin thành phẩm đạt các yêu cầu dưới đây mới được phép xuất xưởng.

Nhận dạng
Dùng phương pháp miễn dịch học thích hợp, sử dụng kháng thể đặc hiệu kháng polysaccharid tinh khiết (khuếch tán miễn dịch kép Ouchterlony hoặc ELISA,...), cho phản ứng đặc hiệu.

Vô khuẩn
Đạt yêu cầu vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Hàm lượng PRP
Trong khoảng ± 20,0 % hàm lượng PRP ghi trên nhãn. Sử dụng phương pháp so màu hoặc phương pháp sắc ký lỏng.

Độ ẩm tồn dư
Không được quá 3,0 % (Phụ lục 15.35).

Chất gây sốt
Đạt yêu cầu về chất gây sốt. Tiêm tĩnh mạch tai thỏ với hàm lượng 0,025 µg đến 1,0 µg PRP/kg khối lượng thỏ (Phụ lục 15.12).

Tá chất
Nhôm: Không quá 1,25 mg tính trên 1 liều đơn dùng cho người (Phụ lục 15.27).
Calci: Không quá 1,3 mg tính trên 1 liều đơn dùng cho người. Tiến hành theo phương pháp thích hợp đã được thẩm định.

Hàm lượng chất bảo quản
Tiến hành theo phương pháp thích hợp đã được thẩm định, tiêu chuẩn phải được cơ quan Kiểm định quốc gia chấp thuận.

An toàn không đặc hiệu
Vắc xin đạt yêu cầu về an toàn không đặc hiệu khi tất cả các chuột thử nghiệm sống sót và tăng cân sau 7 ngày theo dõi (Phụ lục 15.11).

pH
Đối với vắc xin là chế phẩm dạng lỏng: Giá trị pH nằm trong khoảng đã cho thấy là an toàn và hiệu quả trong thử nghiệm lâm sàng và nghiên cứu tính ổn định (Phụ lục 15.33).
Đối với vắc xin là chế phẩm đông khô: Tiến hành đo pH sau khi hoàn nguyên với dung dịch thích hợp.

Cảm quan
Quan sát bằng mắt thường, vắc xin không có dấu hiệu bất thường như: lòng nút, nắp, hàn không đạt yêu cầu, nứt, vỡ, có vật thể lạ...

Bảo quản, hạn dùng
Nhiệt độ bảo quản từ 2 °C đến 8 °C.
Các công bố về hạn sử dụng, nhiệt độ bảo quản sẽ phải dựa trên kết quả nghiên cứu về tính ổn định của vắc xin và phải được cơ quan kiểm định quốc gia phê chuẩn.

Nhãn
Những thông tin ghi trên nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành và đặc biệt phải ghi đủ các thông tin về hàm lượng PRP; tên và hàm lượng của protein mang của 1 liều sử dụng cho người.

VẮC XIN NÃO MÔ CẦU POLYSACCHARID CỘNG HỢP

Vaccinum meningococcale polysaccharidum

Vắc xin não mô cầu có thể ở dạng polysaccharid đơn thuần hoặc cộng hợp, là một vắc xin có chứa polysaccharid tinh khiết đặc hiệu nhóm A, C, Y và/hoặc W135 liên kết cộng hoá trị với một protein mang.
Vắc xin não mô cầu cộng hợp là một chế phẩm vô trùng chứa kháng nguyên polysaccharid tinh khiết đặc hiệu nhóm, điều chế từ *Neisseria meningitidis* nhóm A, C, Y hoặc W135, liên kết đồng hoá trị với một giá mang là protein (giải độc tố uốn ván, giải độc tố bạch hầu, protein bạch hầu CRM197).

Tên quốc tế
"Vaccinum meningococcale polysaccharidum" tiếp đến là nhóm A, C, Y hoặc W135. Tên dịch ra tiếng địa phương phải phù hợp với tên quốc tế.

Sản xuất
Chủng sản xuất được sản xuất dựa trên hệ thống chủng giống gốc. Đã qua thử nghiệm lâm sàng cho thấy có thể tạo ra vắc xin an toàn và hiệu quả cho người.
Phương pháp sản xuất cần được thẩm định để chứng tỏ rằng sản phẩm tạo ra nếu đem kiểm tra sẽ đáp ứng các yêu cầu về độc tính bất thường của huyết thanh miễn dịch và vắc xin dùng cho người.

Kiểm định vắc xin thành phẩm
Bán thành phẩm cuối cùng được điều chế bằng cách trộn bán thành phẩm cộng hợp với chất hấp phụ (nếu được sử dụng), chất bảo quản và chất làm ổn định vắc xin sao cho phù hợp với thông số kỹ thuật về an toàn và công hiệu với loạt vắc xin đã được thử nghiệm trên thực địa lâm sàng.

Cảm quan
Mỗi loạt vắc xin thành phẩm sau khi sản xuất đều phải được kiểm tra bằng cảm quan đối với từng đơn vị đóng gói nhỏ nhất để đảm bảo: không có vật lạ trong lọ vắc xin, nắp hay nút phải chặt và nguyên vẹn. Trong quá trình kiểm tra, cần loại bỏ lọ vắc xin nếu thấy không đạt yêu cầu.

Nhận dạng
Có thể dùng thử nghiệm huyết thanh học sử dụng kháng thể đặc hiệu polysaccharid tinh khiết.

Vô khuẩn
Đạt yêu cầu về vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Hàm lượng saccharid

Hàm lượng saccharid của vắc xin phải được định lượng và nằm trong khoảng giới hạn đã được cơ quan kiểm định quốc gia của nước cấp phép chấp thuận. Các nhà sản xuất khác nhau có công thức pha chế vắc xin cộng hợp khác nhau nên hàm lượng này cũng có thể khác nhau. Các phương pháp đặc thù sao cho sản phẩm bao gồm thử nghiệm xác định gốc phosphorus như soi màu, sắc ký, phương pháp HPAEC-PAD có thể được sử dụng. Các thử nghiệm miễn dịch như nephelometry hoặc ELISA ức chế cũng có thể được sử dụng.

Tiêu chuẩn chấp thuận: Hàm lượng mỗi thành phần polysaccharid, từ 70 % đến 130 % so với lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng saccharid cộng hợp và saccharid tự do

Các phương pháp sắc ký ái nước tủa acid trên đá, tủa với kháng thể đặc hiệu protein mang, siêu ly tâm, lọc gel, siêu lọc đã được sử dụng. Hàm lượng saccharid tự do cũng có thể xác định bằng các thử nghiệm hoá học, miễn dịch học hoặc HPAEC sau khi thẩm tách.

Phân bố kích thước phân tử

Kích thước đặc hiệu của cộng hợp saccharid-protein thường được xác định bằng phương pháp lọc gel trên Sepharose-4B hoặc HPSEC (High Pressure Size Exclusion chromatography) với cột sắc ký phù hợp.

Độ ẩm

Nếu là vắc xin đông khô thì phải kiểm tra độ ẩm tồn dư theo phương pháp đã được cơ quan kiểm định quốc gia của nước cấp phép phê duyệt.

Thử nghiệm phải được tiến hành với tỷ lệ là 1/1000 lọ và không quá 10 lọ và không ít hơn 5 lọ. Độ ẩm tồn dư phải có giá trị trung bình không lớn hơn 2,5 % và không có lọ nào có độ ẩm lớn hơn hoặc bằng 3,0 % (Phụ lục 15.35).

Chất gây sốt

Chất gây sốt được kiểm tra bằng phương pháp tiêm đường tĩnh mạch cho thỏ. Liều tiêm như sau:

Vắc xin đơn giá: Tiêm 0,025 µg polysaccharid/1 ml/kg khối lượng thỏ.

Vắc xin đa giá:

Vắc xin chứa 2 nhóm kháng nguyên, tiêm 0,05 µg polysaccharid/1 ml/kg khối lượng thỏ;

Vắc xin chứa 3 nhóm kháng nguyên, tiêm 0,075 µg polysaccharid/1ml/kg khối lượng thỏ;

Vắc xin chứa 4 nhóm kháng nguyên, tiêm 0,10 µg polysaccharid/1 ml/kg khối lượng thỏ.

Tổng chênh lệch nhiệt độ của 03 thỏ không được quá 1,3 °C (Phụ lục 15.12).

Hàm lượng chất hấp phụ

Nếu vắc xin có chứa chất hấp phụ thì hàm lượng chất hấp phụ phải được xác định theo phương pháp đã được cơ quan kiểm định quốc gia của nước cấp phép phê duyệt.

Nếu vắc xin có chứa chất hấp phụ là nhôm thì hàm lượng nhôm tối đa có trong vắc xin không được quá 1,25 mg/liều đơn dùng cho người (Phụ lục 15.27).

Chất bảo quản

Các nhà sản xuất khác nhau có thể sử dụng các chất bảo quản khác nhau cho vắc xin và hàm lượng chất bảo quản phải được xác định theo phương pháp đã được cơ quan kiểm định quốc gia của nước cấp phép phê duyệt.

Nếu vắc xin có chứa chất bảo quản là thimerosal thì hàm lượng thimerosal tối đa có trong vắc xin không được quá 0,012 % (Phụ lục 15.29).

An toàn chung

Phải đảm bảo an toàn khi kiểm tra trên chuột lang và chuột nhắt trắng. Sử dụng 02 chuột lang có khối lượng xấp xỉ 350 g/con, tiêm ổ bụng với liều 500 µg polysaccharid. Chuột phải tăng trọng bình thường và khoẻ mạnh trong 7 ngày theo dõi (Phụ lục 15.11).

pH (Phụ lục 15.33)

Nếu vắc xin ở dạng lỏng thì pH phải nằm trong khoảng giá trị của lô vắc xin đã được thử nghiệm trên thực địa lâm sàng trước đây. Nếu là vắc xin đông khô thì phải kiểm tra pH sau khi pha với nước hồi chỉnh.

Đóng gói vắc xin

Tùy theo từng nhà sản xuất và phải tuân thủ theo hồ sơ đăng ký đã được cơ quan quản lý của nước cấp phép chấp thuận.

Bảo quản

Vắc xin ở dạng lỏng hoặc đông khô đều phải được bảo quản ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.

Hạn dùng

Tùy theo từng nhà sản xuất và phải tuân thủ theo hồ sơ đăng ký đã được cơ quan quản lý của nước cấp phép chấp thuận.

Nhãn

Theo quy định hiện hành. Cần ghi rõ tên polysaccharid (A, C, Y hoặc W135) có trong vắc xin và số mg polysaccharid có trong liều đơn dùng cho người.

VẮC XIN PHẾ CẦU

Vaccinum pneumococcale polysaccharidicum

Vắc xin phế cầu (dạng polysaccharid) là chế phẩm gồm 23 kháng nguyên vỏ polysaccharid tinh khiết pha với tỷ lệ bằng nhau của các chủng phế cầu *S. pneumoniae* (gọi tắt là kháng nguyên phế cầu): 1, 2, 3, 4, 5, 6B, 7F, 8, 9N, 9V, 10A, 11A, 12F, 14, 15B, 17A hoặc 17F, 18C, 19A, 19F, 20, 22F, 23F, 33F. Vắc xin phế cầu là chế phẩm dạng lỏng, trong suốt và không màu.

Sản xuất

Chủng gốc và chủng sản xuất

Sản xuất vắc xin phải dựa vào hệ chủng giống cho từng loại typ. Chủng *S. pneumoniae* dùng để sản xuất vắc xin phế cầu polysaccharid phải được cơ quan Kiểm định quốc gia chấp thuận. Mỗi chủng phải có khả năng sản sinh polysaccharid của từng typ huyết thanh tương ứng với sản

lượng ổn định, đủ đáp ứng miễn dịch và an toàn cho người. Mỗi chủng gốc phải có hồ sơ chủng (nguồn gốc chủng, các kết quả kiểm tra xác định các đặc tính, sinh lý, sinh hóa, huyết thanh học và di truyền của chủng...).

Canh trường nuôi cấy chủng sản xuất phải có những đặc tính giống chủng gốc: là vi khuẩn Gram dương, không di động, không sinh nha bào, quan sát dưới kính hiển vi có hình thái điển hình của *S. pneumonia*, phát triển thích hợp ở 37 °C, khuẩn lạc trơn có vòng tan máu alpha; bị ly giải bởi muối mật, lên mem inulin, nhạy cảm với optochin, dương tính với phản ứng Quellung.

Phương pháp sản xuất phải được thẩm định để chứng minh sản phẩm đạt yêu cầu về an toàn theo tiêu chuẩn vắc xin và huyết thanh miễn dịch dùng cho người.

Nuôi cấy và gặt

Các chủng sản xuất được nuôi cấy trên môi trường không chứa các thành phần tạo tủa khi tinh chế polysaccharid, các thành phần nhóm máu hoặc các polysaccharid có phân tử lượng lớn.

Sự thuần khiết của vi khuẩn trước khi tách chiết thu polysaccharid phải được kiểm tra theo phương pháp thích hợp. Nếu có sự nhiễm tạp, canh trường nuôi cấy bị hủy bỏ.

Bán thành phẩm đơn giá

Sau khi bất hoạt bằng phenol, các polysaccharid được tách và tinh chế bằng các phương pháp như tủa phân đoạn, thủy phân bằng enzym và siêu lọc, rửa, làm khô trong điều kiện chân không sao cho có độ ẩm thích hợp cho tính ổn định của polysaccharid và được bảo quản ở điều kiện thích hợp để tránh bị ẩm. Độ ẩm tồn dư được xác định bằng cách làm khô dưới áp xuất giảm hoặc nhiệt và phải đạt yêu cầu so với mẫu đối chiếu.

Polysaccharid tinh chế phải đạt các chỉ tiêu dưới đây mới được sử dụng để pha chế bán thành phẩm cuối cùng:

Nhận dạng: Dùng phương pháp huyết thanh học (khuyếch tán miễn dịch kép hoặc điện di miễn dịch); dương tính với từng kháng nguyên phế cầu.

Thành phần polysaccharid: Theo tiêu chuẩn của nhà sản xuất. Được xác định dựa trên khối lượng khô của polysaccharid hoặc phần trăm nitrogen tổng số, phosphorus, acid uronic, hexosamin, methyl pentose và nhóm O-acetyl bằng cách sử dụng các phương pháp so màu hoặc sắc ký trao đổi ion.

Protein tạp chất: Không được quá 3,0 % so với khối lượng polysaccharid. Xác định bằng phương pháp Lowry.

Acid nucleic tạp chất: Không được quá 2,0 % so với khối lượng polysaccharid. Xác định bằng cách đo độ hấp thụ của acid nucleic ở bước sóng 260 nm hoặc phương pháp khác đã được thẩm định.

Kích thước phân tử: Theo tiêu chuẩn của nhà sản xuất. Xác định bằng phương pháp sắc ký lọc gel hoặc sắc ký trao đổi ion. Hằng số phân bố K_D được xác định bằng cách đo sự phân bố theo kích thước phân tử của polysaccharid của đỉnh (pic) chính của đường cong phân tách.

Vô khuẩn: Đạt yêu cầu về vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Độ đặc hiệu: Không có phản ứng chéo giữa từng kháng nguyên phế cầu với tất cả các kháng huyết thanh đặc hiệu kháng các kháng nguyên phế cầu còn lại có trong vắc xin phế cầu.

Kiểm định bán thành phẩm cuối cùng

Bán thành phẩm cuối cùng được điều chế bằng cách trộn bột polysachrid của các typ khác nhau trong điều kiện vô trùng. Hỗn hợp đồng nhất được hòa vào dung dịch đẳng trương thích hợp sao cho một liều dùng cho người chứa 25 µg từng typ polysaccharid. Bán thành phẩm cuối cùng chỉ được phép pha chế thành thành phẩm khi đạt yêu cầu sau:

Vô khuẩn: Đạt yêu cầu về vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Nhận dạng: Phải dương tính với từng kháng nguyên phế cầu. Sử dụng phương pháp miễn dịch học.

Vô khuẩn: Đạt yêu cầu về vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Hàm lượng polysaccharid: Trong khoảng ± 30,0 % hàm lượng polysaccharid ghi trên nhãn. Xác định hàm lượng polysaccharid của từng kháng nguyên phế cầu và hàm lượng polysaccharid tổng số bằng phương pháp miễn dịch học hay phương pháp khác đã được thẩm định.

Chất bảo quản:

Chất bảo quản kháng khuẩn: Trong khoảng 85 % - 115 % hàm lượng ghi trên nhãn. Tiến hành theo phương pháp thích hợp đã được thẩm định.

Phenol: Không được quá 2,5 g/l. Xác định bằng phương pháp thích hợp.

Chất gây sốt: Đạt yêu cầu về chất gây sốt (Phụ lục 15.12). Tiến hành trên thỏ với liều tiêm tĩnh mạch tai thỏ là 2,5 µg mỗi kháng nguyên phế cầu/mL/kg thỏ.

An toàn không đặc hiệu: Vắc xin đạt yêu cầu về an toàn không đặc hiệu khi tất cả các chuột thử nghiệm sống sót và tăng cân sau 7 ngày theo dõi (Phụ lục 15.11).

pH: 4,5 - 7,4 (Phụ lục 15.33).

Cảm quan: Quan sát bằng mắt thường vắc xin không có dấu hiệu bất thường: Lỏng nút, nắp, hàn không đạt yêu cầu, nứt, vỡ, có vật thể lạ...

Đóng gói

Phải tuân thủ theo GMP và các quy định hiện hành.

Bảo quản, hạn dùng

Trong bao bì kín, ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.

Các tuyên bố về hạn sử dụng, nhiệt độ bảo quản sẽ phải dựa trên kết quả nghiên cứu về tính ổn định của vắc xin và phải được cơ quan quản lý phê chuẩn.

Nhãn

Những thông tin ghi trên nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành và đặc biệt phải ghi đủ các thông tin về tên, hàm lượng của mỗi polysaccharid và hàm lượng polysaccharid tổng số.

VẮC XIN PHẾ CẦU CỘNG HỢP HẤP PHỤ

Vaccinum pneumococcale polysaccharidicum coniugatum adsorbatum

Vắc xin phế cầu cộng hợp hấp phụ gồm các kháng nguyên vỏ tinh khiết polysaccharid của các typ huyết thanh phế cầu *S. pneumoniae* (gọi tắt là kháng nguyên phế cầu), mỗi kháng nguyên phế cầu được liên kết cộng hợp riêng rẽ với một protein mang (carrier protein). Vắc xin phế cầu được hấp phụ với một chất hấp phụ hoặc tá chất phù hợp (thường được hấp phụ với nhôm phosphat). Chế phẩm ở dạng lỏng hoặc đông khô, phải đáp ứng các yêu cầu sau đây:

Sản xuất

Phương pháp sản xuất phải tạo ra được một vắc xin phế cầu cộng hợp đảm bảo về tính an toàn và tính sinh miễn dịch ở người. Qui trình sản xuất polysaccharid và chất mang phải dựa trên cơ sở một hệ thống chủng giống.

Phương pháp sản xuất phải được thẩm định để chứng minh sản phẩm đạt yêu cầu về an toàn theo tiêu chuẩn vắc xin và huyết thanh miễn dịch dùng cho người.

Chủng gốc và chủng sản xuất

Mỗi chủng gốc phải có hồ sơ chủng (nguồn gốc chủng, các kết quả kiểm tra xác định các đặc tính sinh lý, sinh hóa, huyết thanh học và di truyền của chủng,..).

Chủng *S. pneumoniae* dùng để sản xuất vắc xin phế cầu cộng hợp phải được cơ quan Kiểm định quốc gia chấp thuận. Mỗi chủng phải có khả năng sản sinh polysaccharid của từng typ huyết thanh tương ứng với sản lượng ổn định, đủ đáp ứng miễn dịch và an toàn cho người.

Canh trường nuôi cấy chủng sản xuất phải có những đặc tính giống chủng gốc: là vi khuẩn Gram dương, không di động, không sinh nha bào, quan sát dưới kính hiển vi có hình thái điển hình của *S. pneumonia*, phát triển thích hợp ở 37 °C, khuẩn lạc trơn có vòng tan máu alpha; bị ly giải bởi muối mật, lên men inulin, nhạy cảm với optochin, dương tính với phản ứng Quellung.

Nuôi cấy và gặt

Các chủng sản xuất được nuôi cấy trên môi trường không chứa các thành phần tạo tủa khi tinh chế polysaccharid.

Sự thuần khiết của vi khuẩn trước khi tách chiết thu polysaccharid phải được kiểm tra theo phương pháp thích hợp như nuôi cấy trên môi trường thạch đĩa phù hợp. Nếu có sự nhiễm tạp, môi trường nuôi cấy bị hủy bỏ.

Tinh chế polysaccharid

Mỗi một typ huyết thanh *S. pneumonia* được nuôi cấy riêng biệt trên môi trường lỏng không chứa polysaccharid khối lượng phân tử cao, nếu một trong các thành phần nuôi cấy có chứa thành phần các nhóm máu thì qui trình sản xuất phải được thẩm định để chứng minh rằng sau khi tinh chế sẽ loại bỏ được chất này.

Sau khi bất hoạt, polysaccharid được tách và tinh chế bằng các phương pháp như tủa phân đoạn, sắc ký, xử lý bằng enzym và siêu ly tâm.

Polysaccharid tinh chế phải đạt các chỉ tiêu dưới đây mới được sử dụng để pha chế bán thành phẩm cộng hợp:

Nhận dạng: Phải dương tính với từng typ kháng nguyên phế cầu. Xác định bằng phương pháp huyết thanh học hoặc quang phổ cộng hưởng từ ^{1}H (hoặc ^{13}C).

Thành phần polysaccharid: Được xác định dựa trên khối lượng khô của polysaccharid hoặc phần trăm nitrogen tổng số, phosphorus, acid uronic, hexosamin, methyl pentose và O-acetyl nhóm bằng cách sử dụng các phương pháp so màu hoặc sắc ký trao đổi ion. Tiêu chuẩn phải được cơ quan quản lý quốc gia chấp thuận.

Độ ẩm: Nếu polysaccharid được bảo quản dưới dạng đông khô, hàm lượng ẩm phải được kiểm tra và nằm trong giới hạn tiêu chuẩn được cơ quan quản lý quốc gia chấp thuận.

Protein tạp chất: Không được quá 3,0 % so với khối lượng polysaccharid. Xác định bằng phương pháp Lowry.

Acid nucleic tạp chất: Không được quá 2,0 % so với khối lượng polysaccharid. Xác định bằng cách đo độ hấp thụ của acid nucleic ở bước sóng 260 nm hoặc phương pháp khác đã được thẩm định.

Chất gây sốt: Đạt yêu cầu về chất gây sốt (Phụ lục 15.12). Sử dụng phương pháp xác định chất gây sốt trên thỏ.

Nội độc tố vi khuẩn: Xác định nội độc tố theo Phụ lục 13.2. Hàm lượng nội độc tố ít hơn 0,5 EU/µg polysaccharid.

Kích thước phân tử: Theo tiêu chuẩn của nhà sản xuất. Sử dụng phương pháp sắc ký lọc gel hoặc sắc ký trao đổi ion. Hằng số phân bố K_D được xác định bằng cách đo sự phân bố theo kích thước phân tử của polysaccharid của đỉnh (pic) chính của đường cong phân tách.

Hoạt hóa polysaccharid

Polysaccharid được hoạt hóa bằng phương pháp hóa học trước khi cộng hợp.

Trước và trong quá trình hoạt hóa bằng phương pháp hóa học, các polysaccharid được chia thành các đơn phân (partially depolymerized).

Các polysaccharid được hoạt hóa đạt các chỉ tiêu dưới đây mới được sử dụng trong quá trình cộng hợp:

Kích thước phân tử: Kích thước phân tử của từng kháng nguyên phế cầu nằm trong tiêu chuẩn được cơ quan quản lý quốc gia chấp thuận. Xác định bằng phương pháp sắc ký lọc gel hoặc phương pháp khác đã được thẩm định.

Protein mang

Protein mang được sử dụng để tăng khả năng đáp ứng miễn dịch ở tế bào T. Chủng sản xuất protein mang (cộng hợp) phải có hồ sơ chủng bao gồm nguồn gốc chủng, các đặc tính sinh lý, sinh hóa, tính an toàn. Sự phát triển của chủng phải cho thấy có tính ổn định bằng cách giám sát tỷ lệ mọc của vi khuẩn, pH của nuôi cấy và sản lượng. Độ tinh khiết của canh trường nuôi cấy phải được kiểm tra, canh trường nuôi cấy được bất hoạt và được tinh chế bằng phương pháp thích hợp.

Các protein mang thường được sử dụng là: Giải độc tố uốn ván, giải độc tố bạch hầu, protein CRM 197, protein D - protein bề mặt tế bào của vi khuẩn không điển hình

Haemophilus influenza.
Protein mang đạt các yêu cầu dưới đây mới được sử dụng để pha chế bán thành phẩm cộng hợp:
Nhận dạng: Phải cho phản ứng dương tính. Xác định bằng phương pháp huyết thanh học.
Vô khuẩn: Đạt yêu cầu về vô khuẩn (Phụ lục 15.7).
Nội độc tố vi khuẩn: Không được quá 1,0 EU/µg protein.
Hàm lượng protein: Không được ít hơn 90 % hàm lượng protein tổng số. Được xác định bằng phương pháp phù hợp đã được thẩm định.

Bán thành phẩm đơn giá
Sự cộng hợp xảy ra khi có polysaccharid đã được hoạt hóa gắn với protein mang qua liên kết cộng hóa trị bằng nhiều phương pháp khác nhau, phụ thuộc vào nhà sản xuất. Quy trình tinh chế sản phẩm cộng hợp nhằm loại bỏ hóa chất tồn dư của quá trình cộng hợp bằng phương pháp thích hợp.
Chỉ bán thành phẩm đơn đạt các yêu cầu dưới đây mới được pha chế thành bán thành phẩm cuối cùng.
Nhận dạng: Sử dụng phương pháp huyết thanh học, phản ứng dương tính với từng kháng nguyên phế cầu.
Hóa chất tồn dư: Không được có hóa chất tồn dư. Xác định bằng phương pháp sắc ký khối phổ hoặc phương pháp khác đã được thẩm định.
Tỷ lệ polysaccharid - protein: Từ 0,3 đến 3,0 đối với từng kháng nguyên phế cầu. Thực hiện bằng cách xác định từng hàm lượng polysaccharid và hàm lượng protein hoặc xác định trực tiếp tỉ lệ này bằng cách sử dụng phương pháp quang phổ cộng hưởng từ ^{1}H hoặc phương pháp khác đã được thẩm định.
Polysaccharid cộng hợp và polysaccharid tự do: Theo tiêu chuẩn của nhà sản xuất. Xác định bằng phương pháp thích hợp đã được thẩm định.
Hàm lượng protein: Theo tiêu chuẩn của nhà sản xuất đối với từng typ kháng nguyên. Xác định bằng phương pháp thích hợp đã được thẩm định như phương pháp sắc ký lỏng, sắc ký mao quản,....
Vô khuẩn: Đạt yêu cầu về vô khuẩn (Phụ lục 15.7).
Tính độc đặc hiệu của protein mang: Không có tính độc. Áp dụng với protein mang là giải độc tố uốn ván, giải độc tố bạch hầu; tiến hành theo phương pháp đã được thẩm định.
Nội độc tố vi khuẩn: Không được lớn hơn 0,75 EU/µg polysaccharid. Sử dụng phương pháp LAL test.

Kiểm định bán thành phẩm cuối cùng
Tá dược, chất bảo quản được bổ sung với một lượng thích hợp các bán thành phẩm cộng hợp của từng kháng nguyên phế cầu để được bán thành phẩm cuối cùng. Bán thành phẩm cuối cùng chỉ được phép pha chế thành thành phẩm khi đạt yêu cầu sau:
Vô khuẩn: Đạt yêu cầu về vô khuẩn (Phụ lục 5.7).

Kiểm định vắc xin thành phẩm
Nhận dạng: Phải dương tính với từng kháng nguyên phế cầu. Xác định bằng phương pháp miễn dịch học.
Vô khuẩn: Đạt yêu cầu về vô khuẩn (Phụ lục 15.7).
Hàm lượng polysaccharid: Trong khoảng ± 30,0 % hàm lượng polysaccharid ghi trên nhãn. Xác định hàm lượng polysaccharid của từng kháng nguyên phế cầu hoặc polysaccharid tổng số bằng phương pháp miễn dịch học hay phương pháp khác đã được thẩm định.
Độ ẩm tồn dư: Không được quá 2,5 % và không có lọ nào quá 3,0 % (Phụ lục 15.35). Áp dụng cho vắc xin phế cầu dạng đông khô.
Nội độc tố vi khuẩn: Đạt theo tiêu chuẩn đã đăng ký với cơ quan Kiểm định quốc gia. Phương pháp xác định theo Phụ lục 13.2.
Nhôm: Không được quá 1,25 mg trong 1 liều đơn dùng cho người (Phụ lục 15.27).
Hàm lượng chất bảo quản: Tiến hành theo phương pháp thích hợp đã được thẩm định, tiêu chuẩn phải được cơ quan Kiểm định quốc gia chấp thuận.
An toàn không đặc hiệu: Vắc xin đạt yêu cầu về an toàn không đặc hiệu khi tất cả các chuột thử nghiệm sống sót và tăng cân sau 7 ngày theo dõi (Phụ lục 15.11).
pH:
Đối với vắc xin là chế phẩm dạng lỏng: Giá trị pH nằm trong khoảng mà cho thấy là an toàn và hiệu quả trong thử nghiệm lâm sàng và nghiên cứu tính ổn định (Phụ lục 15.33).
Đối với vắc xin là chế phẩm đông khô: Tiến hành đo pH sau khi hoàn nguyên với dung dịch thích hợp; giá trị pH nằm trong khoảng mà cho thấy là an toàn và hiệu quả trong thử nghiệm lâm sàng và nghiên cứu tính ổn định (Phụ lục 15.33).
Cảm quan: Quan sát bằng mắt thường vắc xin không có dấu hiệu bất thường: lỏng nút, nắp, hàn không đạt yêu cầu, nứt, vỡ, không có vật thể lạ...

Đóng gói
Phải tuân thủ theo GMP và các quy định hiện hành.

Bảo quản, hạn dùng
Trong bao bì kín, ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.
Các tuyên bố về hạn sử dụng, nhiệt độ bảo quản sẽ phải dựa trên kết quả nghiên cứu về tính ổn định của vắc xin và phải đệ trình lên cơ quan quản lý quốc gia phê chuẩn.

Nhãn
Những thông tin ghi trên nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành và đặc biệt phải ghi đủ các thông tin về hàm lượng của từng polysaccharid; tên và hàm lượng của protein mang của 1 liều sử dụng cho người; tên, hàm lượng của chất hấp phụ; điều kiện sử dụng, bảo quản vắc xin (lắc trước khi dùng, không được để đông băng).

VẮC XIN PHÒNG PAPILLOMAVIRUS Ở NGƯỜI (TÁI TỔ HỢP)

Vaccinum papillomaviri humani (ADNr)

Vắc xin phòng papillomavirus ở người (HPV) là loại vắc xin được sản xuất từ các hạt giống như virus (virus-like particles, VLPs,) nhưng không gây nhiễm; có độ tinh khiết cao, chứa protein capsit chính (L1) của 1 hoặc nhiều typ HPV.

Các kháng nguyên HPV được điều chế theo công nghệ tái tổ hợp ADN. Tùy theo nhà sản xuất, VLPs tinh khiết có thể được hấp phụ vào tá chất dạng phối hợp nhôm hydroxyd và 3-0-desacyl-4'-monophosphoryl lipid A (MPL) hoặc nhôm hydroxyphosphat sulfat.

SẢN XUẤT

Vắc xin HPV được sản xuất bằng cách đưa gen mã hóa protein capsid của virus vào tế bào nấm men hoặc tế bào côn trùng/hệ thống vector biểu hiện *Baculovirus* rồi thu và tinh chế VLPs. Việc sản xuất vắc xin HPV dựa vào hệ thống ngân hàng tế bào và chủng giống gốc.

Vắc xin mẫu chuẩn: Vắc xin HPV chuẩn được lấy từ 1 lô vắc xin hoặc một trong các lô vắc xin đã được nghiên cứu lâm sàng và được khẳng định là có hiệu quả bảo vệ. Vắc xin mẫu chuẩn cần phải đạt yêu cầu về tính ổn định.

Đánh giá đặc tính VLPs

Đặc tính của VLPs phải được đánh giá ngay trong quá trình sản xuất vắc xin. Các kỹ thuật thường dùng để đánh giá đặc tính của VLPs bao gồm xác định thành phần protein là kỹ thuật SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulphate Polyacrylamide Gel Electrophoresis), Western Blot, hấp phụ khối, phân tích trình tự amino acid. Hình thái và mức độ kết tập của các VLPs cũng được xác định để khẳng định các epitop có mặt trong vắc xin và là yếu tố cần thiết tạo hiệu quả cho vắc xin. Bên cạnh đó, các thành phần protein, lipid, acid nucleic và carbon hydrat cũng cần được xác định trong quá trình sản xuất vắc xin.

Ngân hàng tế bào và chủng giống gốc

Sản xuất vắc xin trên tế bào nấm men

Việc sử dụng bất kỳ dòng tế bào nào đều phải dựa vào hệ thống ngân hàng tế bào. Ngân hàng tế bào gốc và ngân hàng tế bào sản xuất phải đạt các yêu cầu về nhận dạng, độ tinh khiết, khả năng mọc và tính ổn định mới được đưa vào sản xuất. Đối với tế bào gốc và tế bào sản xuất, cần được đánh giá về tính đồng nhất gen. Đặc tính của tế bào chủ và vector biểu hiện cần được mô tả rõ. Các phương pháp vật lý được sử dụng trong quá trình sản xuất nhằm kích thích và kiểm soát sự biểu hiện của gen từ tế bào vật chủ.

Các đặc tính của chủng sản xuất tái tổ hợp (tế bào vật chủ phối hợp với hệ thống vector biểu hiện) phải được mô tả đầy đủ, chứng minh không có các yếu tố tự sinh và thông tin về tính đồng nhất gen của các ngân hàng tế bào sản xuất và ngân hàng tế bào gốc. Cần mô tả đầy đủ các đặc tính sinh học của tế bào chủ và các vector biểu hiện.

Sản xuất vắc xin trên tế bào côn trùng/hệ thống vector biểu hiện Baculovirus

Trên tế bào côn trùng: Ngân hàng tế bào phải đạt yêu cầu về nhận dạng, độ tinh khiết, khả năng mọc, tính ổn định, các yếu tố ngoại lai thì mới được đưa vào sản xuất. Các đặc tính này có thể được đánh giá ở các giai đoạn phù hợp trong quá trình sản xuất. Nếu các tế bào côn trùng được sử dụng để sản xuất VLPs thì việc dùng tế bào côn trùng phải dựa vào một hệ thống ngân hàng tế bào gốc. Ngoài ra, tế bào gốc, tế bào sản xuất nếu nhân lên ở số lần tới hoặc vượt quá giới hạn cho phép thì phải được kiểm tra về tính sinh khối u trên một hệ thống thử nghiệm trên động vật và kiểm tra sự có mặt của các *Retrovirus* và các virus khác trên động vật chân đốt.

Baculovirus tái tổ hợp: Việc sử dụng vector *Baculovirus* tái tổ hợp là dựa vào hệ thống chủng giống gốc với số lần cấy chuyền xác định từ chủng virus ban đầu thành chủng gốc và chủng sản xuất. Vector biểu hiện *Baculovirus* tái tổ hợp chứa chuỗi mã hóa của kháng nguyên L1 của HPV. Sử dụng kỹ thuật sinh học phân tử kết hợp với một số thử nghiệm khác để xác định các phân đoạn của cấu trúc biểu hiện trong protein tái tổ hợp tinh chế và khẳng định chất lượng cũng như tính ổn định của kháng nguyên L1. *Baculovirus* tái tổ hợp phải được theo dõi trong quá trình sản xuất vắc xin bao gồm các thông tin như nguồn gốc gen, nhận dạng, cấu trúc, cấu tạo và đặc tính gen. Chủng gốc *Baculovirus* tái tổ hợp được sản xuất với số lượng lớn và được bảo quản ở điều kiện nhiệt độ phù hợp.

Chỉ những chủng giống gốc nào đạt yêu cầu các thử nghiệm dưới đây mới được sử dụng để nhân giống.

Nhận dạng

Nhận dạng chủng gốc và chủng làm việc bằng cách sử dụng một kỹ thuật phù hợp, ví dụ kỹ thuật khuếch đại gen.

Nồng độ virus

Nồng độ virus trong chủng virus gốc và chủng sản xuất phải đảm bảo tính đồng nhất trong quá trình sản xuất.

Các yếu tố ngoại lai

Chủng virus làm việc cũng phải tuân thủ các tiêu chuẩn như chủng virus giống gốc và tế bào chứng. Các yếu tố ngoại lai cần chú ý là *Spiroplasma* và virus sinh sản trên côn trùng đặc biệt là những virus sinh sản trên côn trùng có khả năng gây bệnh cho người (ví dụ: *Arbovirus*).

Vô khuẩn

Chủng *Baculovirus* tái tổ hợp phải được kiểm tra xem có bị nhiễm vi khuẩn, nấm và *Mycoplasma* bằng thử nghiệm thích hợp (Phụ lục 15.7).

Mycobacteria

Chủng *Baculovirus* tái tổ hợp sẽ phải được kiểm tra về *Mycobacterium* spp.

Kiểm tra các tế bào chứng dùng cho sản xuất chủng

Xem phần kiểm tà tế bào chứng dưới đây.

Nhân giống virus và thu hoạch

Quá trình nuôi cấy tế bào và chủng *Baculovirus* giống gốc đều phải được thực hiện trong điều kiện vô khuẩn hoàn toàn và không có bất cứ loại tế bào nào khác đang được nuôi cấy.

Tại khu vực dành cho sản xuất nuôi cấy tế bào/hệ thống biểu hiện *Baculovirus*, virus được nuôi cấy trong môi trường nuôi cấy trung gian và được kiểm tra nghiêm ngặt 5 thử nghiệm dưới đây:

Nhận dạng

Nhận dạng virus bằng cách nhận dạng typ HPV và sử dụng thử nghiệm miễn dịch với các kháng thể đặc hiệu hoặc các kỹ thuật sinh học phân tử như kỹ thuật khuếch đại gen.

Vô khuẩn

Mỗi môi trường nuôi cấy trung gian có chứa virus đều phải được kiểm tra và đạt yêu cầu về vô khuẩn. Kiểm tra với 10 ml cho mỗi môi trường (Phụ lục15.7).

Nồng độ virus

Nồng độ virus trong mỗi môi trường nuôi cấy trung gian có chứa virus được xác định bằng các thử nghiệm phù hợp như thử nghiệm tạo đám/quầng hoặc khuếch đại gen, mục đích để đảm bảo tính đồng nhất trong quá trình sản xuất.

Các yếu tố ngoại lai

Tất cả các môi trường nuôi cấy trung gian có chứa virus đều phải đảm bảo đạt yêu cầu khi kiểm tra về yếu tố ngoại lai.

Tế bào chứng

Tế bào chứng được lấy ra từ các môi trường nuôi cấy trung gian chứa virus đều phải đạt yêu cầu khi tiến hành thử nghiệm nhận dạng và kiểm tra các yếu tố ngoại lai.

Mẻ gặt đơn

Một mẻ gặt đơn phải đạt các yêu cầu sau đây mới được sử dụng để tiến hành sản xuất kháng nguyên đơn giá tinh chế.

Nhận dạng

Mỗi mẻ gặt đơn phải được tiến hành thử nghiệm nhận dạng typ HPV, sử dụng thử nghiệm miễn dịch hoặc sinh học phân tử như PCR hoặc lai. Thử nghiệm nhận dạng có thể thay thế bằng một phần của thử nghiệm kiểm tra độ tinh khiết của kháng nguyên.

Vô khuẩn

Mỗi mẻ gặt đơn đều phải được kiểm tra và đáp ứng yêu cầu về tính vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Các yếu tố ngoại lai

Tất cả các mẻ gặt đơn đều phải được kiểm tra về các yếu tố ngoại lai trong suốt quá trình cấy tế bào/sản xuất hệ thống biểu hiện *Baculovirus*. Như đã đề cập ở trên, cần đặc biệt chú ý đến những virus sinh sản trên côn trùng trong các ngân hàng tế bào và chủng virus giống gốc có khả năng gây bệnh cho người (ví dụ: *Arbovirus*).

Tế bào chứng

Trong quá trình cấy tế bào/sản xuất hệ thống biểu hiện *Baculovirus*, tế bào chứng phải đạt yêu cầu về nhận dạng và yếu tố ngoại lai. Cần đặc biệt chú ý đến những virus sinh sản trên côn trùng trong các ngân hàng tế bào và trong chủng virus giống gốc có khả năng gây bệnh cho người.

Kháng nguyên đơn giá tinh chế

Chỉ các kháng nguyên đơn giá tinh chế đạt yêu cầu mới được đưa vào sản xuất vắc xin bán thành phẩm cuối cùng. Các thử nghiệm dưới đây có thể không yêu cầu nếu đã được thực hiện ở giai đoạn kháng nguyên đơn giá hấp phụ.

Protein toàn phần

Hàm lượng protein toàn phần được xác định bằng một phương pháp thử nghiệm phù hợp đã được thẩm định. Hàm lượng protein phải nằm trong tiêu chuẩn đăng ký đã được phê duyệt.

Hàm lượng kháng nguyên và nhận dạng

Hàm lượng và tính đặc hiệu của mỗi typ kháng nguyên HPV được xác định bằng phương pháp hóa miễn dịch phù hợp như thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA), thử nghiệm hấp phụ miễn dịch gắn men (ELISA). Nên sử dụng kháng thể đơn dòng kháng trực tiếp với các epitop kháng nguyên hoặc kỹ thuật khuếch tán đơn. Tỷ lệ kháng nguyên/protein phải đạt yêu cầu theo tiêu chuẩn cho phép đã được phê duyệt.

Độ tinh khiết kháng nguyên

Độ tinh tinh khiết của kháng nguyên đơn giá tinh khiết được xác định bằng các phương pháp phù hợp như kỹ thuật SDS-PAGE, giới hạn xác định là 1 % các tạp chất hoặc tốt hơn so với tổng protein. Một chế phẩm chuẩn sẽ được sử dụng để đánh giá mỗi phép thử. Độ tinh khiết của protein được tính bằng tỷ lệ giữa protein L1 với tổng protein và đơn vị tính theo phần trăm. Các typ trong vắc xin HPV phải đạt yêu cầu về độ tinh khiết kháng nguyên theo tiêu chuẩn được phê duyệt.

Tỷ lệ monomer L1

Thử nghiệm đánh giá độ tinh khiết của kháng nguyên cũng có mục đích đánh giá tính toàn vẹn của các monomer L1. Tỷ lệ monomer L1 là tỷ lệ giữa monomer L1 nguyên vẹn/ tổng protein. Tỷ lệ này được tính theo phần trăm.

Cấu trúc và kích cỡ của VLP

Cấu trúc và kích cỡ của các VLP được xác định và theo dõi bằng phương pháp phù hợp như phương pháp phân bố ánh sáng động (dynamic light scattering). Kích cỡ của VLP phải nằm trong giới hạn cho phép đã được phê duyệt.

Thành phần

Hàm lượng các thành phần protein, lipid, acid nucleic và carbon hydrat cũng cần được xác định ở các công đoạn phù hợp.

ADN tồn dư

Không được quá 10 ng ADN tồn dư trong kháng nguyên tinh khiết tính trên mỗi liều đơn dùng cho người, được xác định bằng các phương pháp có độ nhạy cao.

Protein tế bào chủ tồn dư
Hàm lượng protein tế bào chủ tồn dư được xác định bằng các thử nghiệm phù hợp. Kết quả phải nằm trong giới hạn cho phép đã được phê duyệt.

Các hóa chất sử dụng trong quá trình phá vỡ tế bào và tinh chế
Các hóa chất sử dụng trong quá trình tinh chế và các giai đoạn khác của quá trình sản xuất được xác định bằng các thử nghiệm phù hợp. Hàm lượng của các hóa chất này phải nằm trong giới hạn cho phép được phê duyệt.

Albumin
Nếu huyết thanh động vật được dùng trong nuôi cấy tế bào côn trùng hoặc tế bào động vật có vú để sản xuất vắc xin thì hàm lượng albumin tồn dư phải được xác định.

Vô khuẩn
Mỗi kháng nguyên đơn giá tinh khiết đều phải được kiểm tra và đáp ứng yêu cầu vô khuẩn. Kiểm tra với 10 ml cho mỗi mẫu (Phụ lục15.7).

Kháng nguyên đơn giá hấp phụ
Các kháng nguyên đơn giá tinh khiết được hấp phụ vào một chất hấp phụ phù hợp như muối nhôm. Chỉ những kháng nguyên đơn giá hấp phụ đạt yêu cầu các thử nghiệm dưới đây mới được sử dụng để sản xuất vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Vô khuẩn
Mỗi kháng nguyên đơn giá hấp phụ đều phải được kiểm tra và đáp ứng yêu cầu vô khuẩn. Kiểm tra với 10 ml cho mỗi mẫu (Phụ lục15.7).

Nội độc tố vi khuẩn
Mỗi kháng nguyên đơn giá hấp phụ đều phải được kiểm tra hàm lượng nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2). Kết quả kiểm tra phải nằm trong giới hạn cho phép đã được phê duyệt.

Hàm lượng kháng nguyên và nhận dạng
Mỗi typ kháng nguyên HPV được nhận dạng bằng các phương pháp hóa miễn dịch phù hợp như thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA), kỹ thuật ELISA. Nên sử dụng kháng thể đơn dòng kháng trực tiếp với epitop kháng nguyên. Tỷ lệ kháng nguyên/protein phải đạt yêu cầu theo tiêu chuẩn đã đăng ký của nhà sản xuất.

Nồng độ chất hấp phụ
Mỗi mẫu kháng nguyên đơn giá phải được kiểm tra và xác định nồng độ chất hấp phụ. Nồng độ chất hấp phụ phải nằm trong khoảng cho phép đã được phê duyệt.

KIỂM ĐỊNH VẮC XIN BÁN THÀNH PHẨM CUỐI CÙNG

Vắc xin bán thành phẩm cuối cùng được sản xuất từ các kháng nguyên HPV đơn giá tinh khiết hoặc kháng nguyên HPV đơn giá hấp phụ. Chất bảo quản kháng khuẩn và tá chất dạng phối hợp nhôm hydroxyd và 3-0-desacyl-4'-monophosphoryl lipid A (MPL) hoặc nhôm hydroxyphosphat sulfat có thể được thêm vào. Chỉ có những mẫu vắc xin bán thành phẩm cuối cùng đạt yêu cầu các thử nghiệm dưới đây mới được sử dụng để sản xuất vắc xin thành phẩm.

Chất bảo quản kháng khuẩn
Hàm lượng chất bảo quản kháng khuẩn trong vắc xin bán thành phẩm cuối cùng được xác định bằng các phương pháp phù hợp. Tổng hàm lượng chất bảo quản cho phép phải từ 85 % đến 115 % hàm lượng chất bảo quản đã đăng ký của nhà sản xuất.

Vô khuẩn
Đạt yêu cầu về vô khuẩn. Kiểm tra với 10 ml cho mỗi mẫu (Phụ lục15.7).

Chất hấp phụ
Nếu thành phần nhôm được sử dụng là chất hấp phụ thì hàm lượng nhôm phải nằm trong giới hạn cho phép đối với từng loại vắc xin (Phụ lục 15.27).

Mức độ hấp phụ
Mức độ hấp phụ (khả năng hấp phụ hoàn toàn) của kháng nguyên trong vắc xin bán thành phẩm cuối cùng phải được đánh giá. Tuy nhiên, có thể bỏ qua thử nghiệm này nếu chứng minh được tính ổn định của quy trình hoặc nếu đã tiến hành đánh giá ở vắc xin thành phẩm.

Công hiệu (Có thể tiến hành công hiệu *in vitro* hoặc công hiệu *in vivo*)
Công hiệu vắc xin HPV được tiến hành song song với vắc xin mẫu chuẩn và chứng (internal control). Có thể dùng phương pháp gây miễn dịch trên chuột để xác định hiệu giá kháng thể thu được (công hiệu *in vivo*) hoặc phương pháp sử dụng kháng thể đặc hiệu thực hiện trong phòng thí nghiệm để định lượng trực tiếp hàm lượng kháng nguyên có trong vắc xin (công hiệu *in vitro*).

KIỂM ĐỊNH VẮC XIN THÀNH PHẨM

Chỉ những vắc xin thành phẩm đạt yêu cầu các thử nghiệm dưới đây mới được sử dụng trên người. Thử nghiệm xác định hàm lượng chất bảo quản có thể không yêu cầu nếu đã thực hiện và đạt yêu cầu đối với vắc xin bán thành phẩm cuối cùng. Bên cạnh đó, thử nghiệm công hiệu trên động vật thí nghiệm *(in vivo)* cũng có thể không yêu cầu nếu đã thực hiện và đạt yêu cầu đối với vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Thể tích đơn vị phân liều và cảm quan
Thể tích: Kiểm tra ít nhất 3 đơn vị đóng ống về thể tích và độ kín, khít. Mỗi đơn vị đóng ống vắc xin phải đảm bảo có thể tích không được thấp hơn thể tích ghi trên nhãn và trong hồ sơ đăng ký; đảm bảo độ kín, khít.
Cảm quan: Vắc xin phải không có vật thể lạ, có hình thái và màu sắc như đã đăng ký. Quan sát bằng mắt thường về dạng sản phẩm và màu sắc.

Nhận dạng
Các typ HPV khác nhau trong vắc xin được nhận dạng bằng các thử nghiệm hóa miễn dịch phù hợp (thường bằng

phương pháp ELISA sử dụng kháng thể đặc hiệu hoặc bằng thử nghiệm *in vivo*). Thử nghiệm công hiệu có thể bao gồm cả thử nghiệm nhận dạng.

Vô khuẩn
Đáp ứng yêu cầu về tính vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

pH
Phải nằm trong giới hạn cho phép (Phụ lục 15.33).

Chất bảo quản kháng khuẩn
Xác định hàm lượng chất bảo quản trong vắc xin thành phẩm bằng các phương pháp hóa học hoặc hóa lý phù hợp. Hàm lượng chất bảo quản không được nhỏ hơn hàm lượng tối thiểu có tác dụng bảo quản và không được lớn hơn 115 % hàm lượng ghi trên nhãn.

Chất gây sốt (Phụ lục 15.12)
Mỗi lô vắc xin thành phẩm đều phải được kiểm tra chất gây sốt trên thỏ. Có thể tiến hành cả thử nghiệm kiểm tra nội độc tố nếu có điều kiện thích hợp.
Riêng vắc xin có sử dụng tá chất là MPL thì thử nghiệm chất gây sốt nên được kiểm tra. Thử nghiệm chất gây sốt được tiến hành cho đến khi chứng minh được tính an toàn và ổn định của sản xuất.

Nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2)
Không được quá 5 EU/liều đơn dùng cho người.
Những chế phẩm có chứa chất kích thích miễn dịch (như MPL) thường gây nhiễu thử nghiệm, vì vậy phải kiểm tra chất gây sốt trên thỏ đối với các sản phẩm này.

Chất hấp phụ (Phụ lục 15.27)
Nếu vắc xin có chứa chất hấp phụ, hàm lượng chất hấp phụ phải nằm trong giới hạn cho phép đã được phê duyệt.

Mức độ hấp phụ
Mức độ hấp phụ của mỗi kháng nguyên cũng được đánh giá. Thử nghiệm này có thể không phải tiến hành trong kiểm định xuất xưởng thông thường nếu đã chứng minh được tính ổn định của sản phẩm.

Tá chất (nếu sử dụng MPL)
Xác định bằng phương pháp sắc ký khí.
Tiêu chuẩn chấp thuận: Từ 30 µg/liều đến 50 µg/liều.

An toàn chung
Mỗi lô vắc xin thành phẩm phải được kiểm tra về độc tính không mong muốn (có thể được gọi là độc tính không đặc hiệu) bằng thử nghiệm an toàn chung (Phụ lục 15.11). Thử nghiệm này có thể không phải thực hiện trong kiểm định xuất xưởng thông thường nếu công hiệu của vắc xin được tiến hành theo phương pháp *in vivo*.

Công hiệu *in vitro*
Công hiệu *in vitro* của vắc xin phòng HPV được xác định bằng kỹ thuật ELISA, theo phương pháp "sandwich" hai giai đoạn. Các kháng nguyên VLP (L1) kết hợp với kháng thể IgG kháng HPV đa dòng thỏ (hoặc các loại kháng thể đặc hiệu typ HPV khác) đã được gắn trên các phiến nhựa (kháng thể 1). Phức hợp kháng nguyên - kháng thể 1 tiếp tục được gắn kháng thể chuột, đặc hiệu VLP (kháng thể 2) và cộng hợp. Chất hiện màu được gắn với phức hợp kháng thể 1 - kháng nguyên - kháng thể 2. Hàm lượng kháng nguyên được tính toán dựa trên mật độ màu của giếng chứa các mẫu vắc xin.
Phản ứng ELISA được thực hiện với phần nước nổi sau khi đã ly tâm của vắc xin để có được các kháng nguyên không hấp phụ. Quy trình thực hiện công hiệu *in vitro* của mỗi typ kháng nguyên HPV tương tự nhau và được thực hiện riêng rẽ.

Thử nghiệm công hiệu và nhận dạng đối với vắc xin Cervarix:
Vật liệu:
Phiến nhựa mới, 96 giếng
Vắc xin phòng HPV
HPV 16 và 18 chuẩn
HPV 16 và 18 mẫu chứng
Kháng thể thỏ đa dòng kháng HPV 16 và 18 (kháng thể 1).
Kháng thể chuột đơn dòng kháng HPV 16 và 18 (kháng thể 2, "sơ cấp").
Cộng hợp kháng thể kháng chuột – Biotin (kháng thể 3),
Phức hợp Streptavidin-biotin-peroxidase.
Tiến hành:
Chuẩn bị phiến: Phiến trắng miễn dịch 96 giếng được gắn kháng thể thỏ đa dòng kháng HPV pha loãng trong dung dịch PBS, ủ phiến 4 °C qua đêm, rửa và được làm bão hòa bằng dung dịch PBS-casein ở 37 °C/1 h.
Kiểm định mẫu vắc xin: Vắc xin mẫu chuẩn, vắc xin mẫu thử và mẫu chứng được ly tâm với tốc độ 13.000 r/min trong 10 min để tách toàn bộ phần nước nổi. Pha loãng bậc 2 phần nước nổi ở các mẫu vắc xin sao cho nồng độ kháng nguyên ở các mẫu vắc xin sao cho nồng độ kháng nguyên ở các độ pha thấp nhất đạt khoảng 250 ng/mL đối với HPV-16 và 2000 ng/mL đối với HPV-18.
Rồi pha tiếp bậc 2 ra từ 2^0 đến 2^{-10} để làm thử nghiệm công hiệu. Thử nghiệm nhận dạng chỉ cần 1 độ pha là 2°. Các mẫu vắc xin đã pha loãng được nhỏ vào các giếng phiến, 3 giếng cho mỗi độ pha, ủ 37 °C/2 h, lắc nhẹ. Rửa phiến rồi nhỏ kháng thể chuột đơn dòng kháng HPV vào tất cả các giếng sau khi đã rửa sạch, ủ 37 °C/1 h. Rửa phiến rồi nhỏ dung dịch cộng hợp kháng thể kháng chuột - Biotin và ủ 37 °C/1 h. Rửa và nhỏ phức hợp chất hiện màu Streptavidin-biotin-peroxidase, ủ 37 °C/30 min. Rửa phiến rồi nhỏ dung dịch chất hiện màu TMB, ủ 15 min ở nhiệt độ phòng tránh ánh sáng. Nhỏ dung dịch dừng phản ứng. Đo mật độ quang học với bước sóng 450/620 nm.
Tiêu chuẩn cho thử nghiệm nhận dạng:
Thử nghiệm có giá trị khi OD của các giếng trống nhỏ hơn 0,2 (< 0,2).
Kháng nguyên HPV trong mẫu thử nghiệm được coi là dương tính khi giá trị trung bình OD mẫu thử lớn hơn OD tương ứng với đường tiệm cận dưới của mẫu chuẩn.

Thử nghiệm công hiệu:
Tính kết quả theo phần mềm Excel. Hệ số tương quan (R^2) của mẫu chuẩn phải lớn hơn 95 %.
Hàm lượng kháng nguyên của từng typ trong mẫu thử được tính từ ít nhất 3 độ pha liên tiếp trong số 10 độ pha loãng dùng trong phản ứng.
Tiêu chuẩn cho thử nghiệm công hiệu:
Typ 16: Công hiệu tương quan của vắc xin mẫu thử và vắc xin mẫu chứng phải từ 0,78 đến 1,45.
Typ 18: Công hiệu tương quan của vắc xin mẫu thử và vắc xin mẫu chứng phải từ 0,79 đến 1,47.

Thử nghiệm định lượng và nhận dạng kháng nguyên đối với vắc xin Gardasil:
Vật liệu:
Phiến nhựa mới, 96 giếng
Vắc xin tứ giá phòng HPV
Kháng thể bắt giữ (capture antibody)
Kháng thể đơn dòng đặc hiệu typ HPV-6, 11, 16, 18.
Kháng thể đơn dòng chuột - Goat anti-mouse IgG_{2b}-HRP antibody.
Kháng thể cộng hợp - Horseradish peroxidase (HPR-conjugated antibody).
Tetramethylbenzidin (TMB).
Tiến hành:
Chuẩn bị phiến thử nghiệm: Phiến miễn dịch trắng, 96 giếng được gắn bản bằng kháng thể đơn dòng kháng HPV đặc hiệu, pha loãng trong dung dịch PBS. Phiến gắn bản được ủ qua đêm ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C và được cố định bằng dung dịch PBS có 1 % BSA, 0,05 % Tween 20. Để ở nhiệt độ từ 22 °C đến 28 °C trong 1 h đến 6 h.
Kiểm định mẫu vắc xin: Vắc xin mẫu chuẩn, vắc xin mẫu thử được ly tâm với tốc độ 650 r/min trong 10 min để tách lấy phần nước nổi. Pha loãng nước nổi bằng dung dịch PBS có 1 % BSA và 0,05 % Tween 20 trong các phiến trắng riêng rẽ với các độ pha loãng bậc 2, sao cho nồng độ kháng nguyên của các typ HPV đạt khoảng 2 µg/mL. Pha tiếp bậc 3 từ 3^0 đến 3^{-10} để làm thử nghiệm công hiệu. Thử nghiệm nhận dạng chỉ cần 1 độ pha là 3^0. Toàn bộ các mẫu vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin thử nghiệm với các độ pha loãng ở trên được chuyển tương ứng sang phiến đã gắn bản bằng kháng thể trước đó. Dung dịch đệm citrat được thêm vào các giếng ngay sau đó để một lần nữa loại trừ chất hấp phụ trong vắc xin, ủ các phiến ở nhiệt độ từ 22 °C đến 28 °C qua đêm và lắc nhẹ. Sau đó rửa phiến rồi nhỏ kháng thể đơn dòng chuột vào tất cả các giếng. Ủ 1 h ở nhiệt độ từ 22 °C đến 28 °C. Rửa phiến rồi nhỏ kháng thể cộng hợp, ủ 1 h ở nhiệt độ từ 22 °C đến 28 °C. Rửa rồi nhỏ chất hiện màu là dung dịch TMB không pha loãng. Để 5 min rồi nhỏ dung dịch dừng phản ứng. Đo mật độ quang với bước sóng 450 nm.
Tính kết quả theo chương trình SoftMax Pro hoặc phần mềm Excel.
Tiêu chuẩn chấp thuận:
Hàm lượng của mỗi typ phải nằm trong giới hạn nhà sản xuất đăng ký đã được phê duyệt.
Hàm lượng HPV tổng số phải không được lớn hơn 500 IU/ml (≤ 500 IU/ml).

Công hiệu *in vivo* (Yêu cầu đối với vắc xin nhị giá)
Động vật thí nghiệm:
Chuột nhắt trắng giống BALB/C hoặc các giống chuột khác đã được thẩm định, khoẻ mạnh và từ cùng một đàn, khoảng 6 tuần đến 8 tuần tuổi, tốt nhất là chuột cùng một giới.
Chuẩn bị vắc xin thử nghiệm:
Vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin mẫu thử được pha loãng bậc 2 thành 5 độ pha sao cho nồng độ kháng nguyên của mẫu pha loãng cuối cùng đạt khoảng 0,56 µg/0,5 ml. Dung dịch để pha vắc xin là nước muối sinh lý. Tiêm màng bụng 0,5 ml mỗi độ pha loãng vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin mẫu cần kiểm tra cho mỗi chuột. Mỗi độ pha loãng vắc xin tiêm ít nhất 10 chuột. Tất cả các chuột sau gây miễn dịch được nuôi từ 21 ngày đến 22 ngày trong điều kiện như nhau. Tiến hành gây mê và lấy máu tim chuột. Các mẫu máu được ly tâm 3000 r/min trong 10 min ở nhiệt độ 4 °C đến 8 °C, tách huyết thanh. Các mẫu huyết thanh được bảo quản ở nhiệt độ âm 20 °C (-20 °C). Xác định hiệu giá kháng thể kháng HPV bằng kỹ thuật ELISA trên bộ sinh phẩm chẩn đoán đặc hiệu. Kết quả được tính theo chương trình Probit Analysis (WHO).
Thử nghiệm có giá trị khi:
ED_{50} của vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin mẫu thử đều nằm trong khoảng giữa liều tiêm lớn nhất và nhỏ nhất.
Phân tích thống kê cho thấy đạt yêu cầu về tuyến tính và song song.
Giới hạn tin cậy (P=0,95) nằm trong giới hạn cho phép.
Tiêu chuẩn chấp thuận:
Công hiệu tương quan không được nhỏ hơn 0,5 (≥ 0,5).

Đóng gói
Vắc xin phòng HPV được đóng trong lọ thủy tinh trung tính hoặc bơm tiêm đóng sẵn (thủy tinh loại I) với pít tông có đầu bằng cao su (cao su butyl), có hoặc không có kim tiêm. Mỗi lọ/bơm tiêm chứa 1 liều đơn 0,5 ml huyền dịch. Hộp carton có thể chứa một hoặc nhiều lọ/bơm tiêm đơn liều tùy theo từng nhà sản xuất.

Bảo quản
Vắc xin phòng HPV phải được bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C, tuyệt đối không được làm vắc xin đông băng. Giữ nguyên trong hộp để tránh ánh sáng.

Nhãn
Thông tin trên vỏ hộp, nhãn lọ, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu theo quy định hiện hành.

Cách dùng, liều dùng
Đường dùng: Tiêm bắp vào vùng cơ delta.
Liều dùng, lịch tiêm: Theo hướng dẫn cụ thể đã đăng ký của nhà sản xuất.

VẮC XIN QUAI BỊ

Vaccinum parotitidis vivum

Vắc xin quai bị là chế phẩm chứa virus quai bị sống, giảm độc lực, dạng đông khô; được sản xuất từ các virus phát triển trên dòng tế bào thích hợp.
Hoàn nguyên vắc xin ngay trước khi sử dụng bằng nước hồi chỉnh như đã ghi trên nhãn, được dung dịch trong, có thể có màu nếu có chất chỉ thị pH.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu dưới đây:

Sản xuất

Chủng sản xuất
Sản xuất được dựa trên hệ thống chủng gốc (master seed) virus giảm độc lực, được phê duyệt bởi Cơ quan Kiểm định Quốc gia. Chủng virus quai bị dùng để sản xuất vắc xin phải có hồ sơ ghi chép lịch sử chủng, bao gồm những thông tin về chủng gốc và các đời nhân lên tiếp theo của chủng này. Chủng sản xuất được bảo quản ở dạng đông khô trong điều kiện nhiệt độ dưới -20 °C; nếu không đông khô phải được bảo quản ở nhiệt độ dưới -60 °C và được giám sát chặt chẽ nhiệt độ trong quá trình bảo quản. Chủng sản xuất phải tuân thủ các điều kiện dưới đây:
Nhận dạng:
Các lô chủng gốc và chủng sản xuất phải được nhận dạng bằng phương pháp trung hòa với kháng huyết thanh đặc hiệu quai bị trên nuôi cấy tế bào hoặc nhận dạng bằng phương pháp RT-PCR.
Hàm lượng virus:
Hàm lượng virus của các lô chủng gốc và chủng sản xuất phải được kiểm tra để đảm bảo tính ổn định của sản xuất.
Các yếu tố ngoại lai:
Lô chủng sản xuất phải tuân thủ các yêu cầu đối với các lô chủng sản xuất vắc xin, không được có các yếu tố ngoại lai.
Độc lực:
Lô chủng sản xuất phải tuân thủ yêu cầu về thử nghiệm độc lực của các vắc xin sống. Khỉ *Macaca* và *Cercopithecus* phù hợp với thử nghiệm này.

Tế bào sản xuất
Sử dụng ngân hàng tế bào sản xuất hoặc từ tế bào phôi có nguồn gốc từ trứng không có tác nhân gây bệnh (SPF) và được cơ quan kiểm định quốc gia phê chuẩn.
Huyết thanh dùng trong môi trường nuôi cấy tế bào:
Huyết thanh dùng để nhân tế bào dùng cho sản xuất vắc xin quai bị phải được kiểm tra và chứng minh là đạt yêu cầu vô khuẩn (không có vi khuẩn, nấm và *Mycoplasma* và chứng minh không có chứa virus). Huyết thanh người không được sử dụng trong tất cả các môi trường nuôi cấy của quá trình sản xuất vắc xin.

Quy trình sản xuất và kiểm định sản xuất
Chủng virus quai bị được phát triển trên tế bào phôi hoặc tế bào từ ngân hàng tế bào sử dụng môi trường thích hợp. Hỗn dịch virus được gặt, hộn, bổ sung chất bảo quản, lọc, pha loãng, đóng lọ và đông khô theo quy trình đã được phê chuẩn. Trong quá trình sản xuất, tất cả các khâu đều được kiểm tra từ nguyên liệu nguồn (trứng, môi trường sử dụng cho sản xuất, huyết thanh bào thai bê, trypsin tách tế bào....); tế bào sử dụng cho sản xuất, mẻ gặt đơn, loạt hỗn dịch virus hộn, vắc xin bán thành phẩm trung gian, vắc xin bán thành phẩm cuối cùng, vắc xin thành phẩm được kiểm tra tác nhân ngoại lai, kiểm tra hiệu giá virus, kiểm tra tính vô khuẩn...
Tất cả quá trình sản xuất ngân hàng tế bào và các nuôi cấy tế bào tiếp theo sau đó phục vụ cho quá trình sản xuất vắc xin quai bị đều phải được tiến hành trong các điều kiện vô trùng, trong khu vực không lưu giữ các dòng tế bào khác. Huyết thanh động vật có thể được sử dụng trong môi trường nuôi cấy của quá trình sản xuất. Huyết thanh và trypsin dùng để pha chế huyền dịch tế bào và pha môi trường nuôi cấy sẽ phải cho thấy không chứa các yếu tố ngoại lai. Môi trường nuôi cấy tế bào có thể chứa một chỉ thị pH như đỏ phenol và lượng kháng sinh nhỏ nhất có tác dụng.

Kiểm định mẻ gặt đơn
Mỗi mẻ gặt đơn phải đạt các tiêu chuẩn dưới đây mới được sử dụng để pha chế vắc xin bán thành phẩm cuối cùng:
Nhận dạng: Mẻ gặt đơn chứa virus quai bị phải được nhận dạng virus bằng phương pháp trung hòa hoặc bằng phương pháp RT-PCR.
Nồng độ virus: Nồng độ virus trong mỗi mẻ gặt đơn phải được xác định để giám sát tính ổn định của sản xuất và từ đó xác định độ pha được dùng cho vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.
Các yếu tố ngoại lai: Mỗi mẻ gặt đơn đều phải kiểm tra để xác định không chứa các yếu tố ngoại lai.
Kiểm tra tế bào và trứng: Nếu sử dụng tế bào lưỡng bội người cho sản xuất, phải kiểm tra để nhận dạng chúng; các tế bào chứng và trứng chứng phải được kiểm tra để xác định không chứa các yếu tố ngoại lai.
Vắc xin quai bị sống giảm độc lực có thể được điều chế với chất ổn định thích hợp và đông khô ở dạng vắc xin đơn hoặc phối hợp với vắc xin sởi và rubella sống giảm độc lực.

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm cuối cùng

Các mẻ gặt đơn vắc xin đạt các yêu cầu nêu trên sẽ được hộn lại và lọc để loại bỏ tế bào. Thêm chất ổn định thích hợp và được pha thành độ pha loãng thích hợp.
Mỗi lô vắc xin bán thành phẩm cuối cùng sẽ phải đạt yêu cầu dưới đây mới được tiếp tục tiến hành các bước tiếp theo để sản xuất vắc xin thành phẩm:

Vô khuẩn
Vắc xin bán thành phẩm cuối cùng phải được kiểm tra tính vô khuẩn trên môi trường thích hợp, không có vi khuẩn, nấm và *Mycoplasma*.

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Nhận dạng
Sử dụng phương pháp thích hợp đã được cơ quan kiểm định quốc gia quy định.

Nhận dạng bằng phương pháp trung hòa vi lượng

Dùng kháng thể đặc hiệu trung hòa vắc xin quai bị. Hỗn dịch virus quai bị - kháng thể sau khi trung hòa được gây nhiễm trên tế bào Vero một lớp. Thử nghiệm luôn có chứng âm và chứng dương đi kèm, đọc kết quả sau 2 tuần.

Tiêu chuẩn chấp thuận: Vắc xin đạt yêu cầu khi tế bào Vero không bị hủy hoại ở mẫu vắc xin, giống như mẫu chứng âm.

Cách tiến hành:

Ngày thứ nhất: Nuôi cấy tế bào trên phiến 6 giếng hoặc 24 giếng. Lượng tế bào 1.10^5 - $1,5.10^5$ tế bào/ml hỗn dịch.

Ngày thứ 2: Trung hòa kháng nguyên bằng kháng thể đặc hiệu.

Pha loãng kháng thể theo các độ pha loãng khác nhau.

Hoàn nguyên vắc xin.

Kết hợp kháng nguyên, kháng thể theo tỉ lệ thể tích 1 : 1 (phản ứng trung hoà).

Ủ hỗn dịch đã trung hòa (kháng nguyên - kháng thể) và hỗn dịch không trung hòa (chỉ có vắc xin ở các nồng độ 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}; và chỉ có kháng thể theo độ pha phù hợp) trong chu trình nhiệt thích hợp.

Khuyến cáo: Có thể dùng chu trình nhiệt như sau: đặt vào bể ổn định nhiệt 37 °C/30 min, 23 °C/30 min, 4 °C trong thời gian từ 18 h trở lên (≥ 18 h).

Ngày thứ 3:

Gây nhiễm tế bào: Nhỏ hỗn dịch đã trung hòa và không trung hòa vào các phiến tế bào. Có các giếng chứng tế bào, chứng vắc xin theo các nồng độ, chứng kháng thể theo các độ pha kèm theo.

Ủ ở tủ ấm 37 °C có 5 % CO_2.

Theo dõi hàng ngày và đọc kết quả từ ngày thứ 4 cho đến ngày thứ 7.

Thử nghiệm có giá trị khi:

Giếng chứng tế bào vẫn phát triển bình thường.

Có xuất hiện hủy hoại trên tế bào Vero ở các nồng độ vắc xin pha loãng.

Nhận dạng bằng phương pháp RT-PCR

Dùng mồi đặc hiệu cho virus quai bị.

Có thông tin chi tiết về đoạn mồi này.

Thử nghiệm bao gồm mẫu thử và chứng âm.

Tiêu chuẩn chấp thuận: Vắc xin đạt yêu cầu khi sản phẩm RT-PCR có băng kích cỡ (size) đúng.

Khuyến cáo:

Có thể dùng cặp mồi như sau:

Mồi xuôi 5'-AGT AGT GTC GAT GAT CTC AT-3',

Mồi ngược 5'-GCT CAA GCC TTG ATC ATT GA-3'.

Kích cỡ sản phẩm: 674 bp.

Chu trình nhiệt/thời gian:

50 °C/30 min;

95 °C/thời gian (theo hướng dẫn của bộ kít RT-PCR);

94 °C/1 min
55 °C/1 min
72 °C/1 min
} 40 chu kỳ;

72 °C/10 min;

4 °C/đến khi điện di.

Hiệu giá vắc xin

Hiệu giá vắc xin quai bị được xác định bởi liều gây hủy hoại 50 % tế bào Vero ($CCID_{50}$).

Nguyên vật liệu:

Mẫu vắc xin quai bị thử nghiệm: 3 lọ, kèm theo nước hồi chỉnh.

Vắc xin quai bị mẫu chuẩn: 1 lọ

Hai chai tế bào Vero loại 75 cm^2 mọc đẹp, kín một lớp.

Các hóa chất:

PBS (Phosphate buffered Saline).

Trysin 0,25 % EDTA.

MEM hoặc M199 có chứa 2 % FBS (huyết thanh bào thai bê).

Tiến hành:

Thử nghiệm được tiến hành trong tủ cấy vô trùng BSC class II, trong khu vực vô trùng.

Tiến hành trên ít nhất 3 thử nghiệm kép cho vắc xin mẫu thử và tính kết quả bằng giá trị trung bình nhân của 3 thử nghiệm đó.

Pha loãng vắc xin mẫu chuẩn và mẫu thử:

Ví dụ: Tiến hành pha loãng theo Bảng 1.

Bảng 1: Ví dụ về cách tiến hành pha loãng vắc xin

Độ pha loãng	Thể tích môi trường (ml)	Thể tích vắc xin (ml)
$10^{-1,0}$ (A)	2,7	0,3
$10^{-1,5}$ (B)	2,16	1 (từ A)
$10^{-2,0}$ (C)	2,16	1 (từ B)
$10^{-2,5}$ (D)	2,16	1 (từ C)
$10^{-3,0}$ (E)	2,16	1 (từ D)
$10^{-3,5}$ (F)	2,16	1 (từ E)
$10^{-4,0}$ (G)	2,16	1 (từ F)
$10^{-4,5}$ (H)	2,16	1 (từ G)
$10^{-5,0}$ (K)	2,16	1 (từ H)

Tiến hành cho môi trường theo bảng trên vào các lọ thủy tinh nhỏ.

Hồi chỉnh vắc xin, lắc kỹ rồi lấy 0,3 ml cho vào độ pha loãng đầu tiên 10^{-1}, lắc kỹ rồi lấy 1 ml nhỏ vào lọ có độ pha $10^{-1,5}$, tiếp tục quy trình tương tự đến độ pha cuối cùng. Chú ý thay đầu côn sau mỗi độ pha.

Sau khi pha loãng xong tiến hành nhỏ vào phiến theo hàng ngang, mỗi độ pha loãng nhỏ 10 giếng, mỗi giếng 100 µl. Nhỏ theo độ pha loãng từ thấp đến cao, nếu làm ngược lại phải thay đầu côn ở mỗi độ pha loãng.

Nhỏ vào 2 dãy giếng còn lại mỗi giếng 100 µl môi trường.

Lặp lại quy trình trên với các lọ vắc xin còn lại và vắc xin chuẩn.

Sau khi pha loãng xong, cất phiến vào ngăn mát tủ lạnh (2 °C đến 8 °C).

Tiến hành chuẩn bị hỗn dịch tế bào, lượng tế bào cần là 2×10^5 tế bào/ml.

Tế bào được nuôi cấy, tách, pha đủ lượng tế bào theo đậm độ nêu trên và đổ ra máng.

Lấy phiến ra và tiến hành nhỏ tế bào lên tất cả các giếng, mỗi giếng 100 µl.

Cất vào tủ ấm 36 °C có 5 % CO_2.
Đọc kết quả từ ngày thứ 7 đến ngày thứ 9.
Cách đọc và tính kết quả:
Khi tiến hành đọc kết quả thì quan sát các giếng chứng dưới kính hiển vi phản pha trước để dễ phân biệt sự hủy hoại tế bào của virus với tế bào Vero phát triển bình thường. Chỉ cần có dấu hiệu huỷ hoại tế bào thì giếng đó được tính là "hủy hoại".
Tính kết quả theo công thức Karber hoặc Reed - Muench như sau:

$$\log CCID_{50} = L - d \times (S - 0,5)$$

Trong đó:
L là log bậc pha loãng thấp nhất dùng trong phản ứng;
D là log hệ số pha loãng;
S là tổng số phần trăm các giếng hủy hoại.
Thử nghiệm có giá trị nếu:
Các giếng chứng tế bào mọc đẹp, không bị nhiễm nấm, vi khuẩn.
Hiệu giá của vắc xin chuẩn dao động trong vòng $0,5\log_{10}$ so với hiệu giá vắc xin đã xác định của chuẩn.
Hiệu giá của 3 lọ vắc xin mẫu thử song song không lệch quá $0,5\log_{10}$.
Kết quả hủy hoại giảm dần theo độ pha loãng tăng dần của vắc xin.
Dãy các độ pha loãng sử dụng phải bao gồm được mức độ hủy hoại tế bào từ 0 % đến 100 %.
Tiêu chuẩn chấp thuận:
Hiệu giá virus của vắc xin quai bị xác định được không được nhỏ hơn lượng ghi trên nhãn. Hiệu giá virus tối thiểu ghi trên nhãn không được nhỏ hơn $lg10^3$ $CCID_{50}$ đối với một liều đơn cho người.

Tính ổn định nhiệt
Thử nghiệm tính ổn định của vắc xin quai bị được tiến hành trên nguyên tắc xác định hiệu giá mẫu thử khi được ủ ở 37 °C, so với mẫu được bảo quản ở (5 ± 3) °C trong 7 ngày.
Tiến hành xác định hiệu giá virus theo phương pháp tương tự như mô tả ở trên.
Tiêu chuẩn chấp thuận: Mẫu vắc xin đạt yêu cầu khi hiệu giá virus của mẫu ủ ở 37 °C không giảm quá 1lg so với vắc xin mẫu thử bảo quản ở (5 ± 3) °C. Hiệu giá thấp nhất phải không được nhỏ hơn $lg10^3$ $CCID_{50}$/0,5 ml (1 liều đơn dùng cho người).

An toàn chung (Phụ lục 15.11).
Vắc xin quai bị phải đạt yêu cầu về an toàn khi thử nghiệm trên chuột lang và chuột nhắt. Chuột phải khỏe mạnh và tăng trọng bình thường sau 7 ngày theo dõi.

Vô khuẩn
Đạt yêu cầu vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Độ ẩm tồn dư
Không được quá 3,0 % (Phụ lục 15.35).

Cảm quan
Đạt yêu cầu theo đăng ký của nhà sản xuất.

Mycoplasma
Không được có *Mycoplasma* (Phụ lục 15.36).
Khuyến cáo: Có thể sử dụng phương pháp PCR để xác định sự có mặt của *Mycoplasma* trong vắc xin quai bị.

Ovalbumin
Nếu vắc xin được sản xuất từ phôi gà hoặc chim, hàm lượng ovalbumin phải không được quá 1 µg ovalbumin/ liều đơn cho người, xác định hàm lượng này theo phương pháp hóa miễn dịch.

Albumin tồn dư
Nhỏ hơn 50 ng/liều đơn dùng cho người. Xác định bằng phương pháp hóa miễn dịch thích hợp.

Bảo quản
Vắc xin quai bị được bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C, tránh ánh sáng.

Nhãn
Theo quy định hiện hành, và cần có các thông tin sau đây:
Tên chủng virus được sử dụng sản xuất;
Loại tế bào sử dụng cho sản xuất;
Hiệu giá thấp nhất của virus;
Lượng kháng sinh còn tồn dư trong vắc xin, các chất bảo quản và hàm lượng của chúng (nếu có);
Bảo quản vắc xin trong điều kiện tránh ánh sáng;
Các yếu tố phải tránh tiếp xúc trực tiếp với vắc xin.

Cách dùng, liều dùng
Tiêm dưới da, liều 0,5 ml hoặc 0,7 ml (theo quy định của nhà sản xuất).

VẮC XIN ROTA SỐNG GIẢM ĐỘC LỰC (UỐNG)
Vaccinum rotaviri vivum perorale

Vắc xin rota sống giảm độc lực (uống) là chế phẩm chứa virus Rota sống, giảm độc lực, dạng lỏng hoặc đông khô. Chế phẩm đông khô sau khi được hồi chỉnh với dung dịch hồi chỉnh tạo thành dung dịch cho màu khi có mặt của chỉ thị pH.

Sản xuất

Chủng sản xuất
Sản xuất phải dựa trên hệ thống chủng giống. Số đời từ chủng gốc cấy chuyền sang vắc xin thành phẩm cuối cùng phải ít hơn số đời từ chủng gốc cấy chuyền sang vắc xin thử nghiệm lâm sàng, nếu không có quy định khác và phải được cơ quan Kiểm định quốc gia chấp thuận. Chủng phải được bảo quản ở nhiệt độ dưới âm 60 °C (-60 °C) nếu ở dạng không đông khô và dưới âm 20 °C (-20 °C) nếu ở dạng đông khô.

Tế bào sản xuất
Tế bào dùng cho sản xuất vắc xin phải đạt các yêu cầu quy định của Tổ chức Y tế Thế giới. Có thể sử dụng huyết thanh động vật trong môi trường nuôi cấy tế bào, nhưng

trong môi trường duy trì tế bào khi nhân virus không được có protein. Có thể có đỏ phenol và các kháng sinh phù hợp ở nồng độ cho phép trong môi trường nuôi cấy tế bào.

Quy trình sản xuất và kiểm định sản xuất

Quy trình sản xuất phải tuân thủ theo hướng dẫn của Tổ chức Y tế Thế giới. Phải thực hiện các thử nghiệm kiểm định trong quá trình sản xuất ở các công đoạn: Vật liệu nguồn (tế bào, môi trường nuôi cấy,...); mẻ gặt đơn, bán thành phẩm trước ly tâm, trước lọc, bán thành phẩm sau lọc, vắc xin thành phẩm. Vắc xin phải đạt những yêu cầu đã ghi trong chuyên luận vắc xin dùng cho người và chỉ được cho phép sử dụng sau khi đạt được các yêu cầu sản xuất và kiểm định trong quá trình sản xuất, đồng thời đạt các yêu cầu dưới đây.

Sự nhân virus, các mẻ gặt đơn typ

Tế bào sử dụng và quá trình nuôi cấy thực hiện trong điều kiện vô trùng. Huyết thanh và trypsin sử dụng không được chứa các yếu tố ngoại lai. Huyết thanh động vật được sử dụng trong môi trường phát triển hoặc môi trường duy trì để nuôi cấy tế bào; trong quá trình nhân lên của virus, bắt buộc môi trường không có huyết thanh. Môi trường nuôi cấy tế bào có thể chứa một lượng đỏ phenol và kháng sinh thích hợp. Điều kiện lý tưởng là môi trường nuôi cấy không chứa kháng sinh.

Cất giữ virus trung gian trong quá trình nuôi cấy ở nhiệt độ dưới âm 60 °C (dưới - 60 °C).

Gây nhiễm virus, kiểm tra các điều kiện nhận dạng, vô khuẩn và nồng độ virus. Thu hoạch các mẻ gặt đơn typ. Các mẻ gặt đơn typ phải tuân theo các tiêu chuẩn để làm tinh sạch các mẻ giặt đơn typ. Yêu cầu kiểm tra các thử nghiệm nhận dạng, vô khuẩn, nồng độ virus và các yếu tố ngoại lai.

Tinh sạch các mẻ gặt đơn, các tiêu chí kiểm tra mẻ giặt đơn

Tinh sạch các mẻ giặt đơn từ các mẻ giặt đơn typ đã tinh sạch. Các mẻ giặt đơn typ được lọc để loại bỏ các mảnh vỡ tế bào. Chỉ những mẻ giặt đơn typ tinh sạch theo tiêu chuẩn mới được sử dụng làm bán thành phẩm vắc xin.

Vô khuẩn: Đáp ứng yêu cầu về vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Nồng độ virus: Được xác định bằng phương pháp trên tế bào gây nhiễm và phương pháp PCR.

ADN tồn dư: Tối đa 100 µg ADN/liều đơn dùng cho người (đối với virus nuôi cấy trên tế bào sống).

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm cuối cùng

Bán thành phẩm cuối cùng được chuẩn bị từ một hoặc nhiều mẻ giặt đơn đã tinh sạch chứa nhiều hơn 1 typ virus. Thêm chất ổn định thích hợp.

Vô khuẩn: Đáp ứng yêu cầu về vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Cảm quan

Mỗi loạt vắc xin thành phẩm sau khi sản xuất đều phải được kiểm tra bằng cảm quan đối với từng đơn vị đóng gói nhỏ nhất để đảm bảo: không có vật lạ trong lọ vắc xin; nắp hay nút phải chặt và đảm bảo tính nguyên vẹn. Trong quá trình kiểm tra, cần loại bỏ lọ vắc xin nếu thấy không đạt yêu cầu.

Nhận dạng

Virus vắc xin được đóng trong lọ vắc xin thành phẩm phải được nhận dạng là virus rota, đối với vắc xin rota đa giá thì cần nhận dạng mỗi typ virus bằng phương pháp phù hợp. Các phương pháp như trung hòa tạo đám hoại tử, kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang phù hợp cho nhận dạng sự có mặt của virus rota khi sử dụng kháng huyết thanh đa dòng đặc hiệu. Kỹ thuật RT-PCR cũng có thể được sử dụng.

Vô khuẩn

Đáp ứng yêu cầu về vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

pH

pH của loạt vắc xin thành phẩm được kiểm tra sau khi hộn các lọ vắc xin thành phẩm đạt được giới hạn thể tích phù hợp để đo pH. Trong trường hợp là vắc xin đông khô, pH được đo sau khi hồi chỉnh vắc xin với dung dịch hồi chỉnh kèm theo. pH của vắc xin phải nằm trong khoảng giới hạn đã đăng ký.

Độ ẩm

Độ ẩm tồn dư của vắc xin dưới dạng đông khô không được quá 3,0 % (Phụ lục 15.35).

Công hiệu

Hiệu giá của vắc xin thành phẩm được xác định riêng biệt đối với tối thiểu 3 lọ vắc xin.

Sử dụng kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang hoặc kỹ thuật tạo đám hoại tử trên tế bào MA-104, hoặc Vero hoặc những tế bào nhạy cảm khác để xác định hiệu giá. Kết quả được tính bằng FFU/liều hoặc PFU/ml. Hiệu giá của vắc xin cũng có thể được xác định bằng phương pháp vi lượng trên tế bào thích hợp, kết quả được tính theo đơn vị $CCID_{50}$/liều.

Vắc xin đông khô được hồi chỉnh với dung dịch pha loãng kèm theo để xác định hiệu giá virus.

Một giới hạn về hiệu giá đối với liều vắc xin sử dụng cần được nhà sản xuất thiết lập sau khi đã được chứng minh qua thử nghiệm lâm sàng về tính an toàn và đáp ứng miễn dịch của vắc xin trên người. Các chỉ tiêu kỹ thuật về hiệu giá tối thiểu đối với 1 liều sử dụng cần được xác định cụ thể và được sự chấp thuận của cơ quan thẩm quyền quốc gia.

Công hiệu của vắc xin phải đạt yêu cầu tối thiểu theo hàm lượng ghi trên nhãn.

Khuyến cáo: Đối với vắc xin đông khô thì hiệu giá của vắc xin phải đạt tối thiểu $10^{6,0}CCID_{50}$/liều.

Có thể sử dụng đơn vị PFU, FFU.

Thử nghiệm tính ổn định nhiệt

Xác định hiệu giá virus trên liều sử dụng khi để vắc xin ở nhiệt độ bảo quản theo quy định và để vắc xin ở nhiệt độ tăng cường. Mức độ hiệu giá giảm tối đa cho phép trong quá trình thử nghiệm tính ổn định nhiệt được xác nhận dựa trên kinh nghiệm của nhà sản xuất đã đăng ký và được phê chuẩn bởi cơ quan có thẩm quyền. Đối với vắc xin đa giá,

nếu không có sự khác biệt có ý nghĩa về hiệu giá giảm giữa các serotype thì mức độ giảm hiệu giá có thể căn cứ vào hiệu giá tổng.
Khuyến cáo: Đối với vắc xin đông khô thì hiệu giá của vắc xin để ở 37 °C trong 7 ngày không được giảm quá 0,5log$CCID_{50}$ so với vắc xin bảo quản ở 2 °C đến 8 °C, đồng thời phải đạt điều kiện hiệu giá vắc xin ổn định nhiệt phải đạt tối thiểu $10^{6,0}CCID_{50}$/liều.
Có thể sử dụng đơn vị PFU, FFU.

Bảo quản
Vắc xin được bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C.

Hạn dùng
Theo sự chấp thuận của cơ quan kiểm định quốc gia.

Nhãn
Những thông tin trên nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu quy định hiện hành.

Nước hồi chỉnh
Nước hồi chỉnh được sản xuất theo tiêu chuẩn GMP được cơ quan kiểm định quốc gia phê duyệt.

VẮC XIN RUBELLA
Vaccinum rubellae vivum

Vắc xin rubella là một chế phẩm chứa virus rubella sống, giảm độc lực, dạng đông khô; được sản xuất từ các virus phát triển trên dòng tế bào thích hợp.
Hoàn nguyên vắc xin ngay trước khi sử dụng bằng nước hồi chỉnh như đã ghi trên nhãn, được dung dịch trong, có thể có màu nếu có chất chỉ thị pH.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu dưới đây:

Sản xuất

Chủng sản xuất
Sản xuất được dựa trên hệ thống chủng gốc virus giảm độc lực, được phê duyệt bởi Cơ quan Kiểm định quốc gia. Chủng virus rubella dùng để sản xuất vắc xin sẽ phải được xác định bằng hồ sơ ghi chép lịch sử chủng bao gồm những thông tin về chủng gốc và các đời nhân lên tiếp theo của chủng này. Chủng sản xuất được bảo quản ở dạng đông khô trong điều kiện nhiệt độ dưới âm 20 °C (-20 °C); nếu không đông khô phải được bảo quản ở nhiệt độ dưới âm 60 °C (-60 °C) và được giám sát chặt chẽ nhiệt độ trong quá trình bảo quản.
Chủng sản xuất phải tuân thủ các điều kiện dưới đây:
Nhận dạng:
Các lô chủng gốc và chủng sản xuất phải được nhận dạng virus rubella bằng phương pháp trung hòa với kháng huyết thanh đặc hiệu rubella trên nuôi cấy tế bào hoặc nhận dạng bằng phương pháp RT-PCR.
Hàm lượng virus:
Hàm lượng virus của các lô chủng gốc và chủng sản xuất phải được kiểm tra để đảm bảo tính ổn định của sản xuất.
Các yếu tố ngoại lai:
Lô chủng sản xuất phải tuân thủ các yêu cầu đối với đối với các lô chủng sản xuất vắc xin, không được có các yếu tố ngoại lai.
Độc lực:
Lô chủng sản xuất phải tuân thủ yêu cầu về thử nghiệm kiểm tra độc lực của các vắc xin sống. Khỉ *Macaca* và *Cercopithecus* phù hợp với thử nghiệm này.

Tế bào sản xuất
Sử dụng ngân hàng tế bào sản xuất hoặc từ tế bào phôi có nguồn gốc từ trứng không có tác nhân gây bệnh (SPF) và được Cơ quan kiểm định quốc gia phê chuẩn.

Huyết thanh dùng trong môi trường nuôi cấy tế bào
Huyết thanh dùng để nhân tế bào dùng cho sản xuất vắc xin rubella phải được kiểm tra và chứng minh là đạt yêu cầu vô khuẩn (không có vi khuẩn, nấm và *Mycoplasma* và chứng minh không chứa virus).
Huyết thanh người không được sử dụng trong tất cả các nuôi cấy của quá trình sản xuất vắc xin.

Quy trình sản xuất và kiểm định sản xuất
Chủng virus rubella được phát triển trên tế bào phôi hoặc tế bào từ ngân hàng tế bào sử dụng môi trường thích hợp. Hỗn dịch virus được gặt, hộn, bổ sung chất bảo quản, lọc, pha loãng, đóng lọ và đông khô theo quy trình đã được phê chuẩn. Trong quá trình sản xuất, tất cả các khâu đều được kiểm tra từ nguyên liệu nguồn (trứng, môi trường sử dụng cho sản xuất, huyết thanh bào thai bê, trypsin tách tế bào,...); tế bào sử dụng cho sản xuất, mẻ gặt đơn, loạt hỗn dịch virus hộn, vắc xin bán thành phẩm trung gian, vắc xin bán thành phẩm cuối cùng, vắc xin thành phẩm được kiểm tra tác nhân ngoại lai, kiểm tra hiệu giá virus, kiểm tra tính vô khuẩn...
Tất cả quá trình sản xuất ngân hàng tế bào và các nuôi cấy tế bào tiếp theo sau đó phục vụ cho quá trình sản xuất vắc xin rubella đều phải được tiến hành trong các điều kiện vô trùng, trong khu vực không lưu giữ các dòng tế bào khác. Huyết thanh động vật có thể được sử dụng trong môi trường nuôi cấy của quá trình sản xuất. Huyết thanh và trypsin dùng để pha chế huyền dịch tế bào và pha môi trường nuôi cấy sẽ phải cho thấy không chứa các yếu tố ngoại lai. Môi trường nuôi cấy tế bào có thể chứa một chỉ thị pH như đỏ phenol và lượng kháng sinh nhỏ nhất có tác dụng.

Kiểm định mẻ gặt đơn
Mỗi mẻ gặt đơn phải đạt các tiêu chuẩn dưới đây mới được sử dụng để pha chế vắc xin bán thành phẩm cuối cùng:

Nhận dạng
Mẻ gặt đơn chứa virus rubella sẽ phải được nhận dạng virus bằng phương pháp trung hòa huyết thanh trên môi trường nuôi cấy có sử dụng kháng thể đặc hiệu hoặc bằng phương pháp PCR.

Nồng độ virus
Nồng độ virus trong mỗi mẻ gặt đơn phải được xác định để giám sát tính ổn định của sản xuất và từ đó xác định độ pha được dùng cho vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Các yếu tố ngoại lai
Mỗi mẻ gặt đơn đều phải kiểm tra để xác định không chứa các yếu tố ngoại lai.

Kiểm tra tế bào và trứng
Nếu sử dụng tế bào lưỡng bội người cho sản xuất, phải kiểm tra tế bào chứng để nhận dạng; các tế bào chứng và trứng chứng phải được kiểm tra để xác định không chứa các yếu tố ngoại lai.
Vắc xin rubella sống giảm độc lực có thể được điều chế với chất ổn định thích hợp và đông khô ở dạng vắc xin đơn hoặc phối hợp với vắc xin sởi và quai bị sống giảm độc lực.

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm cuối cùng
Các mẻ gặt đơn vắc xin đạt các yêu cầu nêu trên sẽ được hộn lại và lọc để loại bỏ tế bào. Thêm chất ổn định thích hợp và các mẻ gặt đã được hộn sẽ được pha thành độ pha loãng thích hợp.
Mỗi lô vắc xin bán thành phẩm cuối cùng sẽ phải đạt các yêu cầu dưới đây mới được tiếp tục tiến hành các bước tiếp theo để sản xuất vắc xin thành phẩm.

Vô khuẩn: Đạt yêu cầu vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Nhận dạng
Sử dụng phương pháp thích hợp đã được cơ quan kiểm định quốc gia phê chuẩn.

Nhận dạng bằng phương pháp trung hòa vi lượng
Dùng kháng thể đặc hiệu trung hòa vắc xin rubella. Hỗn dịch virus rubella - kháng thể sau phản ứng, được dùng để gây nhiễm trên tế bào RK-13 một lớp. Thử nghiệm luôn có chứng âm và chứng dương đi kèm, đọc kết quả sau 2 tuần.
Tiến hành:
Ngày thứ nhất:
Nuôi cấy tế bào trên phiến 6 giếng hoặc 24 giếng.
Lượng tế bào: 1.10^5 tế bào/ml đến $1,5.10^5$ tế bào/ml hỗn dịch.
Ngày thứ 2:
Pha kháng thể theo các độ pha loãng khác nhau.
Hoàn nguyên vắc xin bằng nước hồi chỉnh kèm theo.
Trộn kháng nguyên, kháng thể theo tỉ lệ thể tích 1 : 1 (phản ứng trung hoà).
Ủ hỗn dịch đã trung hòa (có kháng nguyên và kháng thể) và hỗn dịch không trung hòa (chỉ có vắc xin ở các nồng độ 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}; và chỉ có kháng thể theo độ pha phù hợp) trong chu trình nhiệt thích hợp.
Khuyến cáo: Có thể dùng chu trình nhiệt như sau: đặt vào bể ổn định nhiệt 37 °C/30 min, 23 °C/ 30 min, 4 °C trong 18 h trở lên (≥ 18 h).
Ngày thứ 3:
Gây nhiễm trên tế bào: Nhỏ hỗn dịch đã trung hòa và không trung hòa vào các giếng trên phiến tế bào đã chuẩn bị trước. Phải có các giếng chứng tế bào, chứng vắc xin theo các nồng độ, chứng kháng thể theo các độ pha kèm theo.
Đặt vào tủ ấm 32 °C có 5 % CO_2.
Theo dõi hàng ngày và đọc kết quả từ ngày thứ 4 cho đến ngày thứ 7.
Thử nghiệm có giá trị khi ở giếng chứng âm tế bào vẫn phát triển bình thường; trong khi đó, có xuất hiện hủy hoại tế bào ở giếng chứng dương.
Tiêu chuẩn chấp thuận: Vắc xin đạt yêu cầu khi tế bào RK-13 không bị hủy hoại ở giếng chứa vắc xin, giống như mẫu chứng âm.

Nhận dạng bằng phương pháp RT-PCR
Dùng mồi đặc hiệu cho virus rubella.
Có thông tin chi tiết về đoạn mồi này.
Thử nghiệm bao gồm mẫu thử và chứng âm.
Tiêu chuẩn chấp thuận: Vắc xin đạt yêu cầu khi sản phẩm RT-PCR có băng kích cỡ (size) đúng.
Khuyến cáo:
Có thể dùng cặp mồi như sau:
Mồi xuôi: 5'-CAA CAC GCC GCA CGG ACA AC-3'.
Mồi ngược: 5'-CCA CAA GCC GCG AGC AGT CA-3'.
Kích thước: 185 bp.
Chu trình nhiệt/thời gian:
50 °C/30 min;
95 °C/thời gian (theo hướng dẫn của bộ kít RT-PCR);
94 °C/1 min
60 °C/1 min } 35 chu kỳ;
72 °C/1 min
72 °C/10 min
4 °C/đến khi điện di.

Hiệu giá vắc xin
Nguyên tắc: Hiệu giá vắc xin rubella được xác định bởi liều gây hủy hoại 50 % tế bào RK-13 ($CCID_{50}$).
Vật liệu:
Mẫu vắc xin rubella thử nghiệm: 3 lọ, kèm theo nước hồi chỉnh.
Vắc xin rubella mẫu chuẩn: 1 lọ
Hai chai tế bào RK-13 loại 75 cm^2 mọc đẹp, kín một lớp.
Hóa chất:
PBS: Phosphate buffered Saline
Trysin 0,25 % EDTA
MEM 2 % đến 5 % FBS (huyết thanh bào thai bê)
Tiến hành:
Thử nghiệm được tiến hành trong tủ cấy vô trùng BSC class II, trong khu vực vô trùng.
Tiến hành trên ít nhất 3 thử nghiệm kép cho 3 lọ vắc xin mẫu thử riêng biệt và tính kết quả bằng giá trị trung bình nhân của 3 thử nghiệm đó.
Pha loãng vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin mẫu thử từ độ pha từ 10^{-1} đến 10^{-5};
Ví dụ: Tiến hành pha loãng như Bảng 1.

Bảng 1: Ví dụ về cách tiến hành pha loãng vắc xin

Độ pha loãng	Thể tích môi trường (ml)	Thể tích vắc xin (ml)
$10^{-1,0}$ (A)	2,7	0,3
$10^{-1,5}$ (B)	2,16	1 (từ A)
$10^{-2,0}$ (C)	2,16	1 (từ B)
$10^{-2,5}$ (D)	2,16	1 (từ C)
$10^{-3,0}$ (E)	2,16	1 (từ D)
$10^{-3,5}$ (F)	2,16	1 (từ E)
$10^{-4,0}$ (G)	2,16	1 (từ F)
$10^{-4,5}$ (H)	2,16	1 (từ G)
$10^{-5,0}$ (K)	2,16	1 (từ H)

Cho môi trường theo bảng trên vào các lọ hoặc ống thủy tinh vô khuẩn có thể tích 3 ml đến 6 ml.
Hồi chỉnh vắc xin, lắc kỹ rồi lấy 0,3 ml cho vào độ pha loãng đầu tiên 10^{-1}.
Lắc kỹ, lấy 1 ml nhỏ vào lọ có độ pha $10^{-1,5}$.
Tiếp tục quy trình tương tự đến độ pha cuối cùng. Chú ý thay đầu côn sau mỗi độ pha.
Sau khi pha loãng xong, tiến hành nhỏ vào phiến vi chuẩn độ theo hàng ngang, mỗi độ pha loãng nhỏ 10 giếng, mỗi giếng 100 µl.
Nhỏ theo độ pha loãng từ thấp đến cao, nếu làm ngược lại phải thay đầu côn ở mỗi độ pha loãng.
Nhỏ vào 2 dãy giếng còn lại mỗi giếng 100 µl môi trường.
Mỗi lọ vắc xin thực hiện một quy trình riêng biệt như trên.
Lặp lại quy trình trên với lọ vắc xin còn lại và vắc xin chuẩn.
Cất các phiến đã nhỏ xong vào tủ lạnh (2 °C đến 8 °C).
Tiến hành chuẩn bị hỗn dịch tế bào: Lượng tế bào cần là từ 1×10^5 tế bào/ml đến 2×10^5 tế bào/ml.
Nuôi cấy, tách tế bào và pha đủ thể tích tế bào cần dùng với đậm độ thích hợp nêu trên rồi đổ ra máng.
Lấy phiến ra và tiến hành nhỏ tế bào lên tất cả các giếng, mỗi giếng 100 µl.
Ủ ở tủ ấm 32 °C trong khoảng 12 ngày.
Đọc kết quả từ ngày thứ 10 đến ngày thứ 12.
Cách đọc và tính kết quả:
Khi tiến hành đọc kết quả thì quan sát các giếng chứng trên kính hiển vi phản pha trước để dễ phân biệt sự hủy hoại tế bào của virus với các tế bào RK-13 phát triển bình thường. Dấu hiệu hủy hoại là tế bào co lại tạo thành tế bào khổng lồ đa nhân, tạo những khoảng trống trên mặt đáy phiến, chỉ cần có dấu hiệu huỷ hoại tế bào thì giếng đó được tính là "hủy hoại".
Tính kết quả theo công thức Karber hoặc Reed - Muench:

$$\log CCID_{50} = L - d\,(S - 0,5)$$

Trong đó:
L là log bậc pha loãng thấp nhất dùng trong phản ứng;
d là log hệ số pha loãng;
S là tổng số phần trăm các giếng hủy hoại.
Thử nghiệm có giá trị nếu:
Các giếng chứng tế bào mọc đẹp, không bị nhiễm nấm, vi khuẩn.
Hiệu giá của vắc xin chuẩn dao động trong vòng $0,5\log_{10}$ so với hiệu giá vắc xin đã xác định của chuẩn.
Hiệu giá của 3 lọ vắc xin mẫu cần kiểm tra song song không lệch quá $0,5\log_{10}$.
Kết quả hủy hoại giảm dần theo độ pha loãng tăng dần của vắc xin.
Dãy các độ pha loãng sử dụng phải bao gồm được mức độ hủy hoại tế bào từ 0 % đến 100 %.
Tiêu chuẩn chấp thuận:
Hiệu giá virus của vắc xin rubella cần kiểm tra không được nhỏ hơn lượng ghi trên nhãn. Hiệu giá virus tối thiểu ghi trên nhãn không được nhỏ hơn $lg10^3$ $CCID_{50}$ đối với một liều đơn cho người.

Tính ổn định nhiệt
Thử nghiệm tính ổn định của vắc xin rubella được tiến hành bằng cách so sánh hiệu giá của mẫu vắc xin cần kiểm tra được ủ ở 37 °C với mẫu được ủ ở (5 ± 3) °C, trong 7 ngày.
Tiêu chuẩn chấp thuận: Tính ổn định nhiệt của vắc xin đạt yêu cầu khi hiệu giá virus của vắc xin mẫu được ủ ở 37 °C không giảm quá 1lg so với vắc xin mẫu ủ ở (5 ± 3) °C. Hiệu giá thấp nhất không được nhỏ hơn $lg10^3$ $CCID_{50}$/0,5 ml (1 liều đơn dùng cho người).

An toàn chung (Phụ lục 15.11)
Vắc xin rubella phải an toàn khi thử nghiệm trên chuột lang và chuột nhắt.
Tiêu chuẩn chấp thuận: Chuột phải khỏe mạnh và tăng trọng bình thường sau 7 ngày theo dõi.

Vô khuẩn
Đạt yêu cầu vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Độ ẩm
Không được quá 3,0 % (Phụ lục 15.35).

Cảm quan
Đạt yêu cầu theo đăng ký của nhà sản xuất.

Mycoplasma
Không được có *Mycoplasma* (Phụ lục 15.36).
Khuyến cáo: Có thể dùng phương pháp nuôi cấy trực tiếp hoặc PCR để phát hiện *Mycoplasma* trong vắc xin.

Albumin tồn dư
Nhỏ hơn 50 ng/liều đơn dùng cho người. Xác định bằng phương pháp hoá miễn dịch thích hợp.

Bảo quản
Bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C, tránh ánh sáng.

Nhãn
Theo quy định hiện hành và cần có các thông tin như sau:
Tên chủng virus được sử dụng sản xuất.
Loại tế bào sử dụng cho sản xuất.
Nồng độ thấp nhất của virus.
Lượng kháng sinh còn tồn dư trong vắc xin, các chất bảo quản và liều lượng của chúng (nếu có).

Các yếu tố phải tránh tiếp xúc trực tiếp với vắc xin.
Chú ý: Vắc xin quai bị nhạy cảm với ánh sáng, vì vậy phải bảo quản tránh ánh sáng đối với vắc xin đông khô và vắc xin đã hoàn nguyên.
Phụ nữ mang thai và những phụ nữ sắp có thai trước hai tháng: Không nên tiêm vắc xin này.

Cách dùng, liều dùng
Tiêm dưới da, liều 0,5 ml.

VẮC XIN SỞI
Vaccinum morbillorum vivum

Vắc xin sởi là chế phẩm chứa virus sởi sống giảm độc lực, dòng khô, được phát triển trên nuôi cấy tế bào thích hợp. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu sau đây.

Sản xuất
Chủng sản xuất: Sản xuất được dựa trên hệ thống chủng giống gốc (Master seed) virus giảm độc lực được phê chuẩn bởi Viện Kiểm định quốc gia, chủng được bảo quản ở nhiệt độ dưới âm 60 °C (-60 °C).
Tế bào sản xuất: Sử dụng ngân hàng tế bào sản xuất hoặc từ tế bào phôi gà có nguồn gốc từ trứng gà không có tác nhân gây bệnh (SPF). Tế bào dùng cho sản xuất vắc xin phải đạt các yêu cầu theo qui định của Tổ chức Y tế Thế giới.
Quy trình sản xuất và kiểm định sản xuất: Chủng virus sởi được phát triển trên tế bào phôi gà hoặc tế bào từ ngân hàng tế bào sử dụng môi trường phù hợp. Hỗn dịch virus được gặt, hộn, bổ sung chất bảo quản, lọc, pha loãng và đông khô theo qui trình đã được phê chuẩn. Trong quá trình sản xuất, tất cả các khâu đều được kiểm tra từ nguyên liệu nguồn (trứng gà, môi trường sử dụng cho sản xuất, huyết thanh bê, trypsin tách tế bào...); tế bào sử dụng cho sản xuất, vắc xin bán thành phẩm, vắc xin bán thành phẩm cuối cùng, vắc xin thành phẩm.
Hình dạng bên ngoài: Bao gồm 01 lọ vắc xin sởi đông khô và 01 lọ nước hồi chỉnh vắc xin để tiêm.

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Nhận dạng
Tiến hành theo phương pháp thích hợp, như phương pháp trung hòa vi lượng hoặc miễn dịch huỳnh quang.
Tiêu chuẩn: Là virus sởi.

Vô khuẩn
Đạt vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Mycoplasma
Vắc xin sởi phải không có *Mycoplasma* (Phụ lục 15.36).

Công hiệu và tính ổn định nhiệt
Chuẩn độ hiệu giá và thử nghiệm tính ổn định nhiệt bằng phương pháp trung hòa vi lượng trên nuôi cấy tế bào Vero hoặc phương pháp tạo đám hoại tử PFU trên tế bào vero.

Phương pháp tạo đám hoại tử: Gây nhiễm vắc xin đã pha loãng 10^{-1}; 10^{-2}; 10^{-3}; ...lên tế bào vero kín 1 lớp (phiến 6 giếng), hấp phụ ở (37 ±1) °C trong 60 min, phủ thạch lần 1 (không có đỏ trung tính), nuôi ở (37 ±1) °C, 5 % CO_2 trong 7 ngày, phủ thạch lần 2 ở ngày thứ 7 (có đỏ trung tính), nuôi ở (37 ±1) °C, 5 % CO_2 trong 3 ngày, đếm đám hoại tử (PFU) không bắt màu trên nền tế bào bắt màu đỏ, tính hiệu giá/0,5 ml.
Chuẩn độ hiệu giá trung hòa vi lượng: Vắc xin sởi được hồi chỉnh và pha loãng bậc 10 từ nồng độ 10^{-1} đến 10^{-5} bằng môi trường DMEM 2 % huyết thanh bê. Sau đó cho vào mỗi giếng 0,1 ml hỗn dịch virus đã được pha loãng, 10 giếng/1 nồng độ. Cho 0,1 ml hỗn dịch tế bào Vero (150 000 tế bào/ml) vào mỗi giếng, ủ ở 36 °C trong 9 ngày. Kết quả được tính theo công thức Karber.
Thử nghiệm đạt khi có hiệu giá 1000 $CCID_{50}$/0,5 ml.
Xác định tính ổn định nhiệt: Vắc xin sởi được bảo quản ở nhiệt độ 37 °C trong 1 tuần, hiệu giá vắc xin không được giảm quá 1 log so với mẫu vắc xin sởi bảo quản ở 4 °C.
Thử nghiệm đạt khi mẫu ổn định nhiệt có hiệu giá >1000 $CCID_{50}$/0,5ml.

An toàn chung
Vắc xin sởi phải an toàn khi thử nghiệm trên chuột lang và chuột nhắt. Chuột phải khỏe mạnh và tăng trọng bình thường sau 7 ngày theo dõi. Phụ lục 15.11.

Độ ẩm tồn dư
Độ ẩm tồn dư của vắc xin không được quá 3 % (Phụ lục 15.35).
Albumin tồn dư: Dưới 50 ng/ml.

Bảo quản, hạn dùng
Vắc xin sởi được bảo quản ở nhiệt độ 2 °C - 8 °C, tránh ánh sáng.
Trong điều kiện bảo quản như trên vắc xin sởi có hạn dùng là 24 tháng kể từ ngày kiểm tra công hiệu lần cuối cùng.

Nhãn
Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

Liều tiêm, đường tiêm
Tiêm dưới da, liều tiêm 0,5 ml/liều.

VẮC XIN SỞI, QUAI BỊ VÀ RUBELLA (VẮC XIN MMR)
Vaccinum morbillorum, parotitidis et rubellae vivum

Vắc xin phối hợp sởi, quai bị và rubella là chế phẩm đông khô được sản xuất từ chủng virus sởi, quai bị và rubella sống, giảm độc lực thích hợp.
Vắc xin được hoàn nguyên với dung dịch hồi chỉnh ngay trước khi sử dụng tạo thành dung dịch trong suốt, đổi màu khi có mặt của chỉ thị pH.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu dưới đây:

Sản xuất

Chủng sản xuất

Sản xuất được dựa trên hệ thống chủng gốc virus giảm độc lực được phê chuẩn bởi cơ quan Kiểm định quốc gia.

Tế bào sản xuất

Sử dụng tế bào sản xuất từ ngân hàng tế bào có nguồn gốc từ người, động vật hay dạng khác; không có tác nhân gây bệnh đặc hiệu (SPF) và được cơ quan Kiểm định quốc gia phê chuẩn. Tế bào chủng gốc và tế bào sản xuất được bảo quản ở dạng đông băng âm 70 °C (- 70 °C) hoặc trong nitrogen lỏng.

Quy trình sản xuất và kiểm định sản xuất

Chủng virus sởi, quai bị, rubella được nuôi cấy trên tế bào phôi hoặc tế bào từ ngân hàng tế bào trong môi trường thích hợp. Hỗn dịch virus được gặt, hộn, bổ sung chất bảo quản, lọc, pha loãng, đóng lọ và đông khô theo qui trình đã được phê chuẩn. Trong quá trình sản xuất, tất cả các khâu đều được kiểm tra từ nguyên liệu nguồn (trứng, môi trường sử dụng cho sản xuất, huyết thanh bào thai bê, trypsin tách tế bào, ...); tế bào sử dụng cho sản xuất, mẻ gặt đơn, loạt hỗn dịch virus hộn, vắc xin bán thành phẩm trung gian, vắc xin bán thành phẩm cuối cùng, ...được kiểm tra tác nhân ngoại lai, kiểm tra nồng độ virus, kiểm tra tính vô khuẩn.

Các mẻ gặt đơn

Các mẻ gặt đơn từng thành phần sởi, quai bị, rubella phải đảm bảo các yếu tố như sau:

Dịch lỏng virus phải được thu theo phương pháp thích hợp mà cơ quan kiểm định quốc gia cho phép. Từng mẻ gặt đơn được thu từ một qui trình nuôi cấy virus trên tế bào liên tục. Những mẻ gặt đơn được sử dụng một phần hoặc tất cả, được làm ổn định và cất giữ ở nhiệt độ dưới -- 60 °C cho đến khi thử nghiệm được hoàn thành. Không được sử dụng chất kháng sinh trong qui trình này.

Các mẻ gặt đơn từng thành phần virus sởi, quai bị, rubella phải được kiểm tra tra tính vô khuẩn (Phụ lục 15.7), kiểm tra *Mycoplasma* bằng phương pháp đã được cơ quan kiểm định quốc gia phê chuẩn và kiểm tra nồng độ virus sống bằng phương pháp chuẩn độ trên tế bào thích hợp.

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm cuối cùng

Các mẻ gặt đơn virus được hộn lại sau khi tinh sạch và loại bỏ xác tế bào. Các chất bảo quản, tá dược hoặc dung dịch pha loãng (dung dịch hồi chỉnh) được cơ quan kiểm định quốc gia phê chuẩn mới được cho vào bán thành phẩm. Những chất bảo quản này không làm ảnh hưởng đến tính an toàn và hiệu lực của sản phẩm. Thành phần các bán thành phẩm riêng rẽ của sởi, quai bị, rubella được trộn lẫn theo nồng độ nhất định và có thể pha loãng khi cần thiết. Bán thành phẩm cuối cùng được đưa vào đóng ống và đông khô. Bán thành phẩm cuối cùng đảm bảo không có chất kháng sinh.

Vô khuẩn

Mỗi vắc xin bán thành phẩm phải đạt yêu cầu vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Kiểm định vắc xin thành phẩm cuối cùng

Nhận dạng

Sử dụng phương pháp trung hòa vi lượng: Dùng kháng thể đặc hiệu để trung hòa với từng loại virus sởi, quai bị, rubella trong vắc xin. Thử trên tế bào Vero (đối với virus sởi, quai bị), tế bào RK-13 (đối với virus rubella). Sau khi pha loãng kháng nguyên, kháng thể đến nồng độ phù hợp và dùng qui trình thích hợp để trung hòa rồi gây nhiễm trên tế bào. Vắc xin chứa đúng virus sởi, quai bị, rubella khi không có dấu hiệu tế bào bị hủy hoại tại các giếng gây nhiễm các virus trên.

Có thể sử dụng phương pháp khác là phương pháp RT-PCR, dùng đoạn gen đặc hiệu của từng loại virus để nhận biết từng thành phần.

Công hiệu

Sử dụng phương pháp trung hòa vi lượng (trung hòa 2 thành phần để xác định thành phần còn lại) trên các loại tế bào xác định hoặc có thể sử dụng phương pháp khác được cơ quan kiểm định quốc gia phê chuẩn.

Tiêu chuẩn chấp thuận:

Hiệu giá của vắc xin sởi ≥ $lg10^3CCID_{50}$ /liều.

Hiệu giá của vắc xin quai bị ≥ $lg10^{3,7}CCID_{50}$ /liều.

Hiệu giá của vắc xin rubella ≥ $lg10^3CCID_{50}$ /liều.

(Liều vắc xin đăng ký của nhà sản xuất là 0,5 ml hoặc 0,7 ml).

Sử dụng ít nhất 3 lọ vắc xin riêng rẽ để kiểm tra công hiệu cho từng thành phần.

Thử nghiệm có giá trị khi đáp ứng yêu cầu: Sự chênh lệch hiệu giá của ít nhất 3 lọ vắc xin (hoặc nhiều hơn) được kiểm tra không được quá $0,5logCCID_{50}$

(Đơn vị tính công hiệu có thể sử dụng $CCID_{50}$, PFU, $TCID_{50}$,...được cơ quan kiểm định quốc gia chấp thuận).

Tính ổn định nhiệt

Vắc xin MMR được bảo quản 37 °C trong 7 ngày. Xác định hiệu giá. So sánh với mẫu vắc xin được bảo quản ở 2 °C đến 8 °C.

Tiêu chuẩn chấp thuận:

Vắc xin đạt yêu cầu khi có hiệu giá đạt tiêu chuẩn tối thiểu trên liều tiêm như sau:

Hiệu giá của vắc xin sởi ≥ $lg10^3CCID_{50}$ /liều.

Hiệu giá của vắc xin quai bị ≥ $lg10^{3,7}CCID_{50}$/liều.

Hiệu giá của vắc xin rubella ≥ $lg10^3CCID_{50}$/liều.

Chênh lệch hiệu giá với mẫu thử bảo quản ở 2 °C đến 8 °C không được giảm quá 1lg.

An toàn chung

Vắc xin MMR phải an toàn khi thử nghiệm trên chuột lang và chuột nhắt. Chuột phải khỏe mạnh và tăng trọng bình thường sau 7 ngày theo dõi (Phụ lục 15.11).

Vô khuẩn

Không phát hiện thấy nấm và tạp khuẩn (Phụ lục 15.7).

Độ ẩm tồn dư

Không được quá 3,0 % (Phụ lục 15.35).

Cảm quan
Không có vật thể lạ trong vắc xin, lọ vắc xin được đóng nút kín. Sau khi hoàn nguyên vắc xin đông khô với nước hồi chỉnh sẽ được dung dịch trong suốt với màu theo tiêu chuẩn đăng ký của nhà sản xuất.

Mycoplasma
Không có *Mycoplasma* mọc trên môi trường thích hợp sau thời gian nuôi cấy (Phụ lục 15.36).
Có thể sử dụng phương pháp PCR.

Ovalbumin
Thành phần quai bị (được sản xuất từ trứng) trong vắc xin được sản xuất từ phôi gà yêu cầu:
Hàm lượng ovalbumin nhỏ hơn 1 µg/liều (0,5 ml). Xác định bằng phương pháp hóa miễn dịch.

Hàm lượng BSA
Hàm lượng BSA nhỏ hơn 50 ng/liều đơn dùng cho người. Xác định bằng phương pháp hóa miễn dịch.

Bảo quản
Vắc xin MMR được bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C, tránh ánh sáng.

Hạn dùng
Được chấp thuận theo phê duyệt của cơ quan kiểm định quốc gia.

Nhãn
Thông tin ghi trên nhãn, hộp phải theo qui định hiện hành.
Thường bao gồm các thông tin như sau:
Tên chủng virus được sử dụng sản xuất.
Loại tế bào sử dụng sản xuất chủng virus.
Công hiệu thấp nhất của virus/liều.
Lượng kháng sinh còn tồn dư trong vắc xin, các chất bảo quản và liều lượng của chúng (nếu có).
Lượng nước hồi chỉnh khi cho vào hoàn nguyên vắc xin theo khuyến cáo của nhà sản xuất.
Bảo quản vắc xin và hoàn nguyên vắc xin trong điều kiện tránh ánh sáng.
Khuyến cáo đối với phụ nữ mang thai và những phụ nữ sắp có thai trước hai tháng không nên tiêm vắc xin.
Nhà sản xuất nên đăng ký rõ thông tin thời gian để vắc xin đông khô tan hoàn toàn trong dung dịch pha tiêm và thời gian sử dụng vắc xin còn đủ hiệu lực sau khi hoàn nguyên.
Đăng ký rõ tiêu chuẩn cảm quan của vắc xin từ lúc vắc xin hòa tan hoàn toàn đến thời gian dài nhất mà vắc xin sử dụng vẫn còn hiệu lực.

Liều tiêm, đường tiêm
Tiêm dưới da, liều 0,5 ml hoặc 0,7 ml.

Tiêu chuẩn nước hồi chỉnh
Nước hồi chỉnh phải đảm bảo lớn hơn liều tiêm (0,5 ml hoặc 0.7 ml), trong, không có vật thể lạ. Có hồ sơ kèm theo được cơ quan kiểm định quốc gia phê duyệt.

VẮC XIN TẢ UỐNG BẤT HOẠT
Vaccinum cholerae perorale inactivatum

Vắc xin tả uống bất hoạt (mORCVAX) là chế phẩm sinh học được điều chế từ vi khuẩn tả toàn tế bào đã bất hoạt bằng formaldehyd hoặc nhiệt độ.
Mỗi liều 1,5 ml vắc xin tả uống gồm:
Vibrio cholerae O1, El Tor, Phil. 6973 (bất hoạt bằng formaldehyd): 600 E.U. LPS.
Vibrio cholerae O139, 4260B (bất hoạt bằng formaldehyd): 600 E.U. LPS.
Vibrio cholerae O1, Cairo 50 (bất hoạt bằng nhiệt độ): 300 E.U. LPS.
Vibrio cholerae O1, Cairo 50 (bất hoạt bằng formaldehyd): 300 E.U. LPS.
Vibrio cholerae O1, Cairo 48 (bất hoạt bằng nhiệt độ): 300 E.U. LPS.
Chất bảo quản: Thimerosal.

Sản xuất

Chủng sản xuất
Các chủng sản xuất *V. cholerae* typ sinh học El Tor, typ huyết thanh Inaba (chủng Phil. 6973), *V. cholerae*, O139 typ sinh học mới (chủng 4260B), *V. cholerae* typ sinh học cổ điển, typ huyết thanh Ogawa (chủng Cairo 50), *V. cholerae* typ sinh học cổ điển, typ huyết thanh Inaba (chủng Cairo 48) dùng để sản xuất vắc xin tả uống phải được cơ quan kiểm định quốc gia chấp nhận.
Nhận dạng và tính thuần khiết của chủng sản xuất: Xác định chỉ có vi khuẩn *V. cholerae* (với các typ sinh học trên), là trực khuẩn Gram âm, mảnh, hơi cong. Khuẩn lạc trên môi trường thạch máu có dạng tròn, bóng, hơi lồi. Có khuẩn lạc điển hình trên môi trường thạch TCBS. Lên men đường saccharose và mannose, không lên men đường arabinose.
Kiểm tra chủng sản xuất bằng phản ứng ngưng kết huyết thanh:
Đánh dấu các vị trí trên lam kính. Nhỏ 20 µl kháng huyết thanh (polyvalent, Inaba, Ogawa, O139) và nước muối sinh lý (K) vào các vị trí đã được đánh dấu trên lam kính. Nhỏ 20 µl canh khuẩn tả vào mỗi loại kháng huyết thanh trên. Trộn đều và đọc kết quả.
Tiêu chuẩn chấp thuận:

Chủng	Polyvalent	Inaba	Ogawa	O139	K
V. cholerae O1, El Tor, Phil. 6973	+	+	-	-	-
V. cholerae O139, 4260B	-	-	-	+	-
V. cholerae O1, Cairo 48	+	+	-	-	-
V. cholerae O1, Cairo 50	-	-	+	-	-

Kiểm tra chủng sản xuất vắc xin tả trên thạch TCBS:
Lắc đều tuýp chứa canh khuẩn tả, nhỏ 0,1 ml canh khuẩn vào đĩa thạch TCBS, dùng que cấy cấy ria trên đĩa thạch. Ủ các đĩa thạch ở nhiệt độ (35 ± 1,0) °C trong 48 h. Theo dõi sự phát triển của khuẩn lạc và sự chuyển màu của môi trường nuôi cấy tại thời điểm 24 h và 48 h. Đọc kết quả sau 48 h.
Tiêu chuẩn chấp thuận: Khuẩn lạc trong, môi trường TCBS từ màu xanh lá cây chuyển màu vàng.
Kiểm tra tính chất sinh vật hóa học của chủng sản xuất:
Lắc đều tuýp (ống) chứa canh khuẩn tả, cấy 0,1 ml canh khuẩn vào từng ống môi trường (arabinose, mannose, saccharose). Ủ các ống môi trường ở nhiệt độ (35 ± 1,0) °C trong 48 h, theo dõi sự chuyển màu của môi trường. Đọc kết quả sau 48 h.
Dương tính (+): Môi trường chuyển sang màu vàng.
Âm tính (-): Môi trường giữ nguyên màu ban đầu.
Tiêu chuẩn chấp thuận: Tính chất sinh vật hóa học của tất cả các chủng sản xuất vắc xin tả: arabinose (-), mannose (+), saccharose (+).

Sản xuất
Vi khuẩn tả được nuôi cấy trên môi trường thích hợp. Kết thúc nuôi cấy, canh khuẩn được kiểm tra đậm độ vi khuẩn. Vi khuẩn tả được bất hoạt bằng formaldehyd hoặc nhiệt độ tùy từng chủng. Sau bất hoạt, vi khuẩn tả được thu bằng phương pháp ly tâm hoặc lọc tiếp tuyến (TFF).

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm

Vô khuẩn
Đạt yêu cầu về vô khuẩn (Phụ lục15.7).

Kiểm tra sau bất hoạt
Phương pháp tiến hành: Lắc đều tuýp chứa canh khuẩn tả sau bất hoạt, cấy 0,5 ml canh khuẩn tả vào đĩa thạch máu ngựa 15 %, láng nhẹ, đều. Mỗi mẫu thử cấy trên 02 đĩa thạch máu. Ủ các đĩa thạch máu trên vào tủ ấm (35 ± 1,0) °C trong 48 h. Theo dõi sự phát triển của vi khuẩn tả tại thời điểm 24 h và 48 h.
Tiêu chuẩn chấp thuận: Không thấy sự phát triển của vi khuẩn tả trên đĩa thạch máu ngựa.

Đo đậm độ vi khuẩn bằng bộ so độ đục chuẩn
Phương pháp tiến hành: Tiến hành theo hướng dẫn của nhà sản xuất bộ so độ đục.
Ví dụ: Trộn kỹ mẫu nước cốt tả trên máy trộn. Dùng pipetman hút 100 µl mẫu thử cho vào ống thử của bộ soi độ đục, cho dần dần xml dung dịch pha loãng (PBS 0,01 M có pH 7,2 hoặc nước muối sinh lý) vào cho đến khi độ đục của ống thử bằng với độ đục của ống chuẩn số 10. Đậm độ vi khuẩn tả được tính như sau:
Quy đổi thành 1 ml ta có: (0,1 ml nước cốt + x ml dung dịch pha loãng) × 10 = X ml
Đậm độ của mẫu cần đo = X ml × (a × 10^9 vi khuẩn/ml) (trong đó a × 10^9 là chỉ số được cung cấp bởi hãng của ống số 10 trong bộ so độ đục chuẩn tương đương).

Định lượng LPS
Sử dụng phương pháp ELISA để định lượng hàm lượng của từng LPS có trong bán thành phẩm.

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm cuối cùng

Vô khuẩn
Đạt yêu cầu về vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Cảm quan
Mẫu kiểm định của mỗi loạt vắc xin thành phẩm sẽ phải được kiểm tra bằng mắt thường. Sau khi lắc đều, vắc xin tạo thành huyền dịch đồng nhất, màu nâu nhạt.

Vô khuẩn
Phải đạt yêu cầu về vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

pH
Nằm trong khoảng từ 6,8 - 7,4 (Phụ lục 15.33).

Protein toàn phần
Không được quá 5 % (Phụ lục 15.18).

Formaldehyd
Không được quá 0,02 % (Phụ lục 15.25).

Thimerosal
Không được quá 0,02 % (Phụ lục 15.29).

Thử nghiệm công hiệu
Thử nghiệm công hiệu được tiến hành trên thỏ không có kháng thể kháng vi khuẩn tả. Mỗi loạt vắc xin tả uống cần 3 thỏ có khối lượng từ 2 kg đến 2,2 kg.
Vắc xin tả uống được pha loãng trong dung dịch PBS 0,01 M (pH 7,2) hoặc nước muối sinh lý để đạt 4 tỉ vi khuẩn/ml. Gây miễn dịch cho thỏ bằng cách tiêm vào bắp chân sau, mỗi thỏ 1 ml vắc xin đã được pha loãng như trên. Mỗi thỏ được tiêm ba mũi, mỗi mũi cách nhau 1 tuần (vào các ngày 0, 7 và 14). Sau tiêm, thỏ được chăm sóc, theo dõi hàng ngày.
Đến ngày thứ 24, thỏ được lấy máu và tách huyết thanh trong điều kiện vô khuẩn. Tiến hành phản ứng ngưng kết trong ống nghiệm giữa huyết thanh thỏ và các vi khuẩn tả mẫu. Huyết thanh của mỗi thỏ được pha loãng bậc 2 thành các độ pha: 1/20, 1/40, 1/80, 1/160, 1/320 và 1/640.
Kháng nguyên vi khuẩn tả gồm 3 chủng: Cairo 48, Cairo 50 và El Tor (Phil. 6973) được đo đậm độ vi khuẩn và pha loãng để có 1 tỉ vi khuẩn/ml.
Tiến hành phản ứng ngưng kết từng loại kháng nguyên đặc hiệu với huyết thanh thỏ ở các bậc pha loãng khác nhau. Đọc kết quả sau 48 h.
Tính kết quả: Hiệu giá huyết thanh được tính ở độ pha loãng thấp nhất vẫn có hiện tượng ngưng kết.
Tiêu chuẩn: Công hiệu của vắc xin tả uống đạt yêu cầu khi hiệu giá trung bình từng loại kháng nguyên nhỏ hơn 1/80 (≤ 1/80).

Đóng gói, bảo quản
Đóng trong lọ thủy tinh trung tính và bảo quản ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C, không được để đông băng.

Hạn dùng
Hạn dùng của vắc xin được nghiên cứu dựa trên tính ổn định của công hiệu trên ít nhất 3 loạt liên tiếp (được sản xuất từ 3 loạt bán thành phẩm riêng biệt).
Vắc xin tả uống bất hoạt có hạn dùng không quá 2 năm kể từ sau ngày sản xuất.

Nhãn
Ghi rõ những thông tin cần có đối với nhãn theo qui định hiện hành.

Chỉ định, liều dùng
Vắc xin tả uống bất hoạt chỉ dùng đường uống.
Liều dùng: 1,5 ml/người.
Lịch dùng: 2 liều, mỗi liều cách nhau 14 ngày.

VẮC XIN THƯƠNG HÀN UỐNG
Vaccinum febris typhoidi perorale vivum

Vắc xin thương hàn uống, sống, giảm độc lực là một chế phẩm đông khô được chứa trong viên bọc gelatin; điều chế từ chủng *Salmonella typhi* Ty 21a, đã được nuôi cấy trên môi trường thích hợp. Trong mỗi viên chứa 1.10^9 đến 5.10^9 đơn vị sống *S.typhi* Ty 21a.

Sản xuất

Chủng sản xuất
Chủng đột biến *S. typhi* Ty 21a đã cho thấy đạt tính an toàn và có hiệu lực trên người. Đặc điểm chính của chủng này là thiếu hụt enzym uridin diphosphat-galactose-4-epimerase. Hoạt tính của galactopermease, galactokinaes và galactose-1-phosphat uridyl-transferase đã bị giảm 50 % đến 90 %. Ở bất kể môi trường nuôi cấy nào, chủng vi khuẩn này cũng không chứa kháng nguyên Vi. Chủng này chỉ ngưng kết với kháng huyết thanh kháng O:9 nếu phát triển trên môi trường có chứa galactose. Chủng có chứa kháng nguyên H:d và không sinh hydrogen sulphid trên môi trường thạch Kligler có chứa sắt. Chủng không độc với chuột nhắt trắng. Chủng Ty 21a sẽ gây dung giải nếu phát triển trên môi trường có chứa 1 % galactose.
Dùng hệ thống chủng gốc để sản xuất vắc xin.
Sản xuất chủng gốc: Từ một khuẩn lạc đơn sẽ được nuôi cấy trên môi trường thích hợp (canh thang BHI phù hợp với mục đích này) không có galactose và ủ ở nhiệt độ thích hợp cho phát triển tối ưu. Khi nuôi cấy đã đạt đến pha ổn định, canh khuẩn sẽ được gặt, ly tâm tách cặn và cho vào ống. Sau đó pha chế thành huyền dịch có đậm độ thích hợp và tiến hành đông khô, sao cho mỗi ống có chứa ít nhất 10^9 đơn vị sống của chủng. Các ống chủng gốc sau khi đông khô được bảo quản ở 5 °C ± 3 °C.
Sản xuất chủng làm việc: Chủng làm việc được sản xuất từ một ống chủng gốc. Quá trình nuôi cấy, gặt, ly tâm lấy cặn, pha chế và đông khô cũng theo trình tự như đối với chủng gốc. Mỗi ống chủng làm việc đông khô phải chứa ít nhất 10^9 đơn vị sống của chủng. Các ống chủng làm việc sau khi đông khô được bảo quản ở 5 °C ± 3 °C.

Kiểm tra chủng sản xuất
Nhận dạng và tinh thuần khiết:
Xác định chỉ có vi khuẩn Ty 21a, là trực khuẩn Gram âm, di động.
Nuôi cấy qua 3 lần chuyển chủng trên môi trường có hoặc không có galactose, ngưng kết với kháng huyết thanh H:d, không ngưng kết với kháng huyết thanh Vi. Ngược lại chỉ những khuẩn lạc phát triển trên môi trường có chứa galactose (1 g/L) mới ngưng kết với kháng huyết thanh O:9.
Khi nuôi cấy trên môi trường thạch Endo và ủ ở 37 °C trong 7 ngày, mọc khuẩn lạc có màu môi trường, có hiện tượng ly giải và dần dần trở nên trong suốt. Các khuẩn lạc lên men galactose sẽ không xuất hiện tại bất kỳ thời điểm nào trong 7 ngày ủ ở 37 °C.
Trên môi trường nuôi cấy chỉ thị có chứa galactose ủ ở 37 °C trong 48 h, xuất hiện khuẩn lạc lõm ở giữa, viền có màu xanh xám và giữa có màu sẫm cho đến khi chết và ly giải giống như chủng Ty 21a trên môi trường thạch có chứa galactose.
Nuôi cấy trên môi trường thạch Kligler có chứa sắt, khuẩn lạc không đen, chứng tỏ không sinh hydrogen sulphid.
Gây ly giải vi khuẩn trên môi trường nuôi cấy có galactose: Nuôi cấy lắc trên môi trường BHI (với hàm lượng galactose 100 g/L môi trường) ở 37 °C, vi khuẩn bị ly giải trong vòng 1 h.
Kiểm tra độc tính trên chuột nhắt trắng:
Chủng vi khuẩn nuôi cấy trên môi trường BHI và ủ ở 37 °C trong 6 h, được tiêm vào ổ bụng cho 5 chuột nhắt trắng có khối lượng từ 18 g đến 22 g. Huyền dịch vi khuẩn có chứa ít nhất 5×10^7 vi khuẩn sẽ không giết chết chuột trong vòng 7 ngày theo dõi.
Xác định các enzym (bao gồm cả các enzym trong quá trình lên men galactose):
Thử nghiệm cho thấy vi khuẩn Ty 21a có hoạt tính enzym thấp hơn so với chủng Ty 2. Khi so sánh hoạt tính của chủng Ty 2 (coi là 100 %) thì hoạt tính của chủng Ty 21a là 0 % epimerase, 5 % đến 20 % galactokinase, 25 % đến 50 % galactose-1-phosphat-uridyltransferase và 40 % đến 50 % galactose-permease.
Sự hấp thu và phân bố nội tế bào của galactose ^{14}C:
Sau 7 h nuôi cấy ở 30 °C, ít nhất 90 % galactose trong môi trường (1 g/lít) bị mất do chủng vi khuẩn (bằng cách đo ^{14}C trên tế bào). Phương pháp thử nghiệm cũng cho thấy có khoảng 75 % galactose có trên vách tế bào vi khuẩn.
Đặc tính của lipopolysaccharid (LPS)
Lipopolysaccharid chiết xuất từ vách tế bào của chủng vi khuẩn thương hàn Ty 21a được nuôi cấy trong môi trường BHI có chứa galactose ^{14}C (1 g/L), ủ ở 30 °C trong 7 h, sẽ bị thủy phân trong *dung dịch acid acetic 1 %* và được kiểm tra polysaccharid. Sử dụng phương pháp sắc ký gel, dùng Sephadex G50; những vi khuẩn thương hàn của cả loại khuẩn lạc nhẵn và xù xì đều có chứa LPS, theo tỷ lệ tương đương đối với chủng độc *S. typhi* Ty 2. Hơn nữa, sự phân bố của các đường keto-deoxy-octonat (KDO), galactose, glucose và rhamnose của LPS đạt tỷ lệ tương đương giữa chủng Ty 2 và Ty 21a.

Yêu cầu trong quy trình sản xuất
Môi trường nuôi cấy chủng sản xuất không được gây ra phản ứng độc hại hay dị ứng cho người.
Chủng sản xuất được nuôi cấy và ủ ở nhiệt độ thích hợp trong khoảng thời gian đủ để đạt tới pha ổn định sớm thì tiến hành gặt. Số lần cấy chuyền từ chủng làm việc cho đến khi lên men cuối cùng không được vượt quá 4 lần.
Trước khi ly tâm sản phẩm lên men: Cần lấy mẫu kiểm tra nhận dạng của chủng Ty 21a, kiểm tra độ sống trên môi trường thạch BHI và ủ ở 37 °C trong 36 h.
Sau ly tâm, lấy sinh khối của các mẻ gặt đơn pha thành huyền dịch ổn định (hoặc vẫn để riêng các mẻ gặt đơn) và giữ trong đông băng cho đến khi đông khô.

Kiểm định bán thành phẩm cuối cùng

Nhận dạng
Các mẫu thử dạng bột sẽ được hoàn nguyên và kiểm tra nhận dạng như trong mục "Nhận dạng và tinh thuần khiết".

Độ sống
Xác định độ sống theo khối lượng. Kết quả độ sống của quá trình đông khô tối thiểu phải đạt được 10 % so với các mẻ gặt đơn trước khi đông khô.
Tiêu chuẩn độ sống: Không ít hơn 40×10^9 đơn vị sống *S. typhi* Ty 21a.

Độ ẩm tồn dư (Phụ lục 15.35)
Bán thành phẩm cuối cùng sẽ phải được kiểm tra độ ẩm tồn dư và giá trị này không được vượt quá giới hạn quy định của cơ quan kiểm định quốc gia.
Có 2 phương pháp phổ biến được áp dụng cho thử nghiệm này. Khi sử dụng phương pháp Karl Fischer (Phụ lục 10.3) để kiểm tra thì độ ẩm tồn dư trong bán thành phẩm cuối cùng phải dưới 3 %. Nếu sử dụng phương pháp semi-micro để kiểm tra thì độ ẩm tồn dư trong mẫu bán thành phẩm cuối cùng phải nằm trong khoảng 1,5 % đến 4,0 %.

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Từ bán thành phẩm cuối cùng đông khô, đã được làm đồng nhất hoàn toàn và đếm số lượng đơn vị sống; nếu không ít hơn $2 - 5 \times 10^9$ đơn vị sống, sẽ đóng vào 1 viên bọc gelatin; để đảm bảo khi đóng viên, mỗi viên là một liều cho người và chứa tối thiểu 2×10^9 đơn vị sống vắc xin.
Mẫu kiểm định thành phẩm sẽ được lấy từ mỗi viên vắc xin và làm các thử nghiệm dưới đây:

Nhận dạng
Kiểm tra nhận dạng với 3 viên cho mỗi mẫu thử theo phương pháp như mô tả ở phần "Nhận dạng và tinh thuần khiết".

Độ sống
Kiểm tra độ sống với 5 viên cho mỗi mẫu thử. Kết quả độ sống của mẫu thử được coi như công hiệu của loạt vắc xin thương hàn uống sống giảm độc lực Ty 21a.
Thử nghiệm độ sống của mỗi loạt vắc xin sẽ phải được kiểm tra trên 2 mẫu song song và kết quả là giá trị trung bình độ sống của 2 mẫu này.

Quy trình kiểm tra độ sống cho mỗi mẫu thử: Cho toàn bộ bột vắc xin của 5 viên vào mỗi bình có chứa bi thủy tinh đã được sấy vô trùng, cho tiếp 20 ml nước muối sinh lý (NMSL) vô khuẩn vào mỗi bình trên. Lắc các bình mẫu trên bằng máy lắc rung 200 r/min và đặt trong buồng lạnh 4 °C trong 30 min. Dùng huyền dịch vắc xin trên, pha loãng bằng NMSL và tùy theo số đơn vị sống có trong mỗi viên vắc xin mà mức độ pha loãng đến đâu sẽ dừng lại cho thích hợp. Nhỏ huyền dịch vắc xin pha loãng ở độ pha thích hợp vào ít nhất 5 đĩa thạch BHI, với thể tích 0,1 ml/đĩa và ủ ở 35 °C đến 37 °C trong 30 h đến 36 h hoặc lâu hơn. Đếm số lượng khuẩn lạc trong các đĩa môi trường và tính số lượng khuẩn lạc trung bình của mỗi mẫu thử. Từ kết quả này sẽ tính được số khuẩn lạc trung bình của 2 mẫu thử kiểm tra song song.
Ví dụ: Huyền dịch vắc xin sau khi đã được lắc rung trong buồng lạnh theo quy trình như trên sẽ được pha loãng bậc 10 bằng NMSL vô khuẩn đến 10^{-6}. Cấy huyền dịch vắc xin ở độ pha loãng 10^{-6} vào tối thiểu 5 đĩa thạch BHI với thể tích 0,1 ml/ đĩa; áp dụng công thức sau để tính độ sống trung bình của dung dịch gốc:

$$X = C \times 20 \times 10^6$$

Trong đó:
X là đơn vị sống
C là số khuẩn lạc trung bình của 2 mẫu thử.
Từ kết quả trên, tính ra số đơn vị sống (Y) trong viên vắc xin thương hàn uống Ty 21a theo công thức sau:

$$Y = \frac{X}{5}$$

Tiêu chuẩn chấp thuận: Độ sống phải từ 2×10^9 đến 5×10^9 đơn vị sống *S. typhi* Ty 21a trong 1 viên bọc gelatin.

Độ tạp nhiễm
Sử dụng ít nhất 3 viên vắc xin cho một mẫu thử nghiệm. Lựa chọn môi trường thích hợp để có thể kiểm tra, phát hiện sự có mặt của các vi khuẩn gây bệnh như *Salmonella* (trừ Ty21a),*Shigella, Escherichiacoli, Pseudomonasaeruginosa, Staphylococcus aureus* và *Vibrio parahaemolyticus*.
Tiêu chuẩn chấp thuận: Vắc xin đạt yêu cầu khi không có mặt của các yếu tố gây bệnh nêu trên. Số lượng đơn vị sống tạp nhiễm không gây bệnh trong một liều vắc xin uống cho người (1 viên) không được vượt quá 2×10^2 vi khuẩn và 20 nấm.

An toàn không đặc hiệu
Mỗi loạt thành phẩm vắc xin thương hàn uống Ty 21a phải được kiểm tra an toàn không đặc hiệu bằng cách tiêm 0,01 liều vắc xin cho người vào ổ bụng cho mỗi trong số 5 chuột nhắt trắng khối lượng từ 18 g/con đến 22 g/con; và cho uống 1 liều vắc xin cho người cho mỗi trong số 3 chuột lang (khối lượng từ 250 g/con đến 350 g/con).
Chuột nhắt được theo dõi trong vòng 7 ngày sau khi tiêm, chuột lang được theo dõi trong 14 ngày sau khi uống vắc xin.
Tiêu chuẩn chấp thuận: Không có chuột nào có biểu hiện nhiễm bệnh trong khoảng thời gian theo dõi.

Tính ổn định

Vắc xin ở dạng thành phẩm sẽ phải được kiểm tra tính ổn định bằng phương pháp được cơ quan kiểm định quốc gia chấp thuận. Thông thường tính ổn định của vắc xin này được đánh giá bằng kết quả độ sống.

Tiêu chuẩn chấp thuận: Độ sống không được thấp hơn 2×10^9 đơn vị sống *S. typhi* Ty 21a trong 1 viên bọc gelatin trong suốt thời hạn sử dụng mà nhà sản xuất đã đệ trình.

Cảm quan

Mẫu kiểm định của mỗi loạt thành phẩm sẽ phải được kiểm tra bằng mắt thường. Nếu kết quả kiểm tra cho thấy có sự bất thường không theo đúng yêu cầu cần phải hủy bỏ.

Đóng gói, bảo quản, hạn dùng

Đóng gói và dán nhãn:

Nhãn trên vỉ, trên hộp và tờ hướng dẫn sử dụng cần ghi đầy đủ các thông tin theo quy định hiện hành và đặc biệt ghi rõ: số đơn vị sống tối thiểu của một viên vắc xin và chỉ dùng để uống.

Bảo quản:

Nhà sản xuất sẽ đưa ra điều kiện bảo quản và vận chuyển cho sản phẩm để đảm bảo rằng các dạng vắc xin này khi được bảo quản trong điều kiện thích hợp sẽ vẫn đạt được các tiêu chuẩn cho đến hết hạn sử dụng. Thông thường, vắc xin này ở dạng viên bọc gelatin sẽ phải được bảo quản trong điều kiện khô và tối ở 5 °C ± 3 °C.

Hạn dùng:

Hạn sử dụng của vắc xin dạng viên bọc không được quá 18 tháng tính từ ngày sản xuất. Nếu số liệu cho thấy tính ổn định của sản phẩm dài hơn thì hạn dùng có thể kéo dài hơn.

VẮC XIN THƯƠNG HÀN Vi POLYSACCHARID

Vaccinum Vi polysacaridi typhoidi

Vắc xin thương hàn Vi polysaccharid là một chế phẩm tinh chế từ vỏ Vi polysaccharid của vi khuẩn. Polysaccharid này được điều chế từ chủng *Salmonella typhi* Ty2 hoặc một chủng thích hợp khác có khả năng sản sinh ra Vi polysaccharid.

Vỏ Vi polysaccharid gồm các đơn vị lặp lại của acid N-acetyl-α-galactosaminuronic bằng liên kết 1-4, được acetyl hoá ở O-3.

Sản xuất

Chủng sản xuất

Chủng *Salmonella typhi* dùng để sản xuất vắc xin Vi polysaccharid phải được cơ quan Kiểm định quốc gia chấp thuận. Chủng này phải cho thấy có khả năng sản sinh ra Vi polysaccharid với sản lượng ổn định, đủ đáp ứng miễn dịch và an toàn cho người.

Phương pháp sản xuất phải được thẩm định và chứng minh rằng sản phẩm (nếu được kiểm tra) sẽ hoàn toàn đạt các yêu cầu về an toàn không đặc hiệu đối với huyết thanh miễn dịch và vắc xin cho người sử dụng.

Chỉ có chủng đạt các đặc tính như sau mới được dùng để sản xuất vắc xin: Nhuộm soi sau nuôi cấy phải có hình dạng đặc trưng của *S. typhi*; trong môi trường nuôi cấy, có lên men đường glucose nhưng không sinh hơi; oxidase âm tính; huyền dịch vi khuẩn ngưng kết đặc hiệu với huyết thanh kháng Vi thích hợp hoặc khuẩn lạc có quầng sáng xung quanh trên môi trường thạch đĩa có chứa kháng huyết thanh đặc hiệu.

Sản xuất chủng gốc và chủng sản xuất

Chủng gốc sẽ phải được ghi chép bằng hồ sơ chủng, bao gồm cả nguồn gốc chủng và các đặc tính sinh hoá, huyết thanh học. Các nuôi cấy từ chủng sản xuất sẽ phải có cùng đặc tính như nuôi cấy từ chủng gốc. Chủng sản xuất phải đạt các tiêu chuẩn như chủng gốc.

Nuôi cấy và gặt

Sự phát triển của chủng *S. typhi* phải cho thấy có tính ổn định bằng cách giám sát tỷ lệ mọc của vi khuẩn, pH của nuôi cấy và sản lượng của Vi polysaccharid. Thông thường nuôi cấy chủng ở 35 °C đến 37 °C. Chủng làm việc (chủng sản xuất, working seed) có thể nuôi cấy trên môi trường đặc, ủ 12 h đến 18 h ở 35 °C đến 37 °C; sau đó cấy chuyển sang môi trường lỏng (là canh khuẩn để cấy vào môi trường nuôi cấy cuối cùng). Môi trường nuôi cấy cuối cùng là môi trường bán tổng hợp, không chứa chất đã được kết tủa bởi cetrimoni bromid và không chứa các sản phẩm từ máu hoặc các polysaccharid có khối lượng phân tử cao, và ít nhất phải chứng minh rằng chúng đã được loại bỏ sau khi tinh chế.

Sự thuần khiết của vi khuẩn sau khi nuôi cấy phải được khẳng định bằng cách kiểm tra tiêu bản nhuộm soi dưới kính hiển vi (độ phóng đại ít nhất 1000 lần) và bằng nuôi cấy trong môi trường đặc thích hợp. Canh khuẩn nuôi cấy được bất hoạt vào thời điểm bắt đầu pha ổn định bằng cách thêm formaldehyd. Các tế bào vi khuẩn phải được loại bỏ bằng cách ly tâm, polysaccharid được tủa từ môi trường nuôi cấy bằng cách thêm cetrimoni bromid (hexadecyltrimethyl-amoni bromid). Tủa polysaccharid được gặt và bảo quản ở -20 °C trước khi tinh chế.

Tinh chế Vi polysaccharid

Polysaccharid được tinh chế bằng cách tủa với phức hợp cetrimoni bromid, dùng quy trình thích hợp để loại bỏ acid nucleic, các protein và lipopolysaccharid. Polysaccharid sẽ được tủa với muối calci trong sự có mặt của *ethanol (TT)* và làm khô ở 2 °C đến 8 °C. Bột thu được chính là Vi polysaccharid tinh chế. Độ ẩm tồn dư phải được kiểm tra theo phương pháp phân tích khối lượng và cho thấy thấp hơn so với mẫu chuẩn.

Chỉ Vi polysaccharid tinh chế đạt các tiêu chuẩn dưới đây mới được sử dụng để pha chế vắc xin bán thành phẩm cuối cùng:

Protein: Không quá 10 mg/g polysaccharid.

Acid nucleic: Không quá 20 mg/g polysaccharid.

O-Acetyl: Không thấp hơn 2 mmol/g polysaccharid.

Kích thước phân tử: Kiểm tra bằng sắc ký cột, dùng cột dài 0,9 m và đường kính trong 16 mm, chuẩn cột với dung

dịch natri clorid 0,2 mol/kg, pH 7,0 đến 7,5. Dùng 5 mg polysaccharid cho vào 1 ml dung dịch natri clorid 0,2 mol/kg và rót vào cột, rửa giải với tốc độ 20 ml/h. Thu thập mẫu khoảng 2,5 ml. Kiểm tra điểm đáp ứng với K_D = 0,25 và làm 2 thể tích mẫu dung dịch rửa giải trước và sau điểm đáp ứng. Tiến hành xác định hàm lượng O-Acetyl của cả 2 mẫu trên. Không được thấp hơn 50 % polysaccharid được tìm thấy ở mẫu dung dịch rửa giải ra trước khi K_D = 0,25.
Nhận dạng: Dùng phương pháp hóa miễn dịch thích hợp.
Nội độc tố vi khuẩn: Không được quá 150 EU/µg polysaccharid.

Vắc xin bán thành phẩm cuối cùng

Bán thành phẩm cuối cùng được điều chế từ một hoặc nhiều loạt đơn Vi polysaccharid tinh chế. Nếu sử dụng bán thành phẩm này để đóng lọ đa liều thì phải cho thêm chất bảo quản kháng khuẩn và được hòa tan trước trong một dung môi thích hợp, sao cho sản phẩm cuối cùng chứa 25 µg polysaccharid/1 liều tiêm cho người. Hàm lượng chất bảo quản trong bán thành phẩm cuối cùng không được gây biến tính Vi polysaccharid và các thành phần khác của vắc xin. Vắc xin bán thành phẩm được pha chế (trong điều kiện vô trùng) trong dung dịch không có chứa chất gây sốt và được lọc vô trùng qua màng lọc.
Bán thành phẩm cuối cùng chỉ được phép pha chế thành thành phẩm khi đạt các yêu cầu sau:

Vô khuẩn
Đạt yêu cầu vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Thimerosal
Đạt theo Phụ lục 15.29

Hàm lượng Vi polysaccharid
Dùng thử nghiệm hóa miễn dịch định lượng đã được cơ quan Kiểm định quốc gia chấp thuận để xác định hàm lượng Vi polysaccharid của mẫu bán thành phẩm cuối cùng (Phụ lục 15.37).

Nhận dạng
Dùng thử nghiệm huyết thanh học, dựa vào sự kết tủa miễn dịch.

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Các thử nghiệm dưới đây phải được tiến hành với mỗi loạt vắc xin thành phẩm.

Cảm quan
Vắc xin dạng lỏng, trong suốt, không màu, không có vật thể lạ mắt thường có thể nhìn thấy và không có những dấu hiệu bất thường khác như: Lỏng nút, nắp, hàn không đạt yêu cầu...

Nhận dạng
Thử nghiệm nhận dạng được tiến hành bằng phương pháp hóa miễn dịch thích hợp.

Xác định hàm lượng Vi polysaccharid
Lấy mẫu ngẫu nhiên, ít nhất 3 lọ (hoặc ống), xác định hàm lượng Vi polysaccharid bằng thử nghiệm hóa miễn dịch định lượng, so sánh với mẫu chuẩn polysaccharid (Phụ lục 15.37).

Vô khuẩn
Phải đạt yêu cầu vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Chất gây sốt
Mỗi loạt vắc xin thành phẩm phải được kiểm tra chất gây sốt bằng cách tiêm vắc xin thương hàn Vi polysaccharid có nồng độ 25 ng/ml vào tĩnh mạch tai thỏ (1 ml/kg thể trọng thỏ) (Phụ lục 15.12).

An toàn không đặc hiệu
Loạt vắc xin thành phẩm thương hàn Vi polysaccharid đạt yêu cầu về an toàn không đặc hiệu khi tất cả các chuột thử nghiệm đều sống sót và không bị giảm cân trong ít nhất 7 ngày theo dõi (Phụ lục 15.11).

Chất bảo quản
Thimerosal: Đạt theo Phụ lục 15.29
Phenol (Nếu được sử dụng để điều chế vắc xin): Không được nhiều hơn 2,5 g/l (Phụ lục 15.28).

Độ ẩm tồn dư (Nếu vắc xin ở dạng đông khô)
Phương pháp áp dụng phải được cơ quan kiểm định quốc gia chấp thuận. Thông thường sử dụng phương pháp Karl Fischer. Lấy mẫu ngẫu nhiên để kiểm định theo tỷ lệ 1/1000 lọ, tuy nhiên tối đa là 10 lọ và cũng không được ít hơn 5 lọ (Phụ lục 15.35).
Tiêu chuẩn chấp thuận: Độ ẩm tồn dư trung bình giữa các lọ không được lớn hơn 2,5 %, không được lọ nào có độ ẩm tồn dư 3 % hoặc lớn hơn.

pH
7,0 ± 0,5 (Phụ lục 15.33).

Nghiên cứu tính ổn định
Nghiên cứu tính ổn định phải được tiến hành để xác định hạn dùng của vắc xin thương hàn Vi polysaccharid. Nghiên cứu này có thể dựa trên các thử nghiệm xác định hàm lượng O-Acetyl và kích thước phân tử của ít nhất là 3 loạt vắc xin thành phẩm (các loạt vắc xin thành phẩm này phải được sản xuất từ những bán thành phẩm Vi polysaccharid tinh chế riêng biệt). Các loạt vắc xin dùng trong thời gian nghiên cứu phải được bảo quản ở điều kiện như ghi trên hướng dẫn dành cho người sử dụng.
Tiêu chuẩn chấp thuận: Kích thước phân tử của mỗi loạt vắc xin thành phẩm phải đạt ít nhất 50 % Vi polysaccharid từ cột được rửa giải trước khi K_D đạt tới 0,25. Thử nghiệm về tính ổn định phải được cơ quan kiểm định quốc gia chấp thuận.

Đóng gói

Việc đóng gói, dán nhãn phải tuân thủ theo GMP.

Bảo quản, hạn dùng

Các tuyên bố về hạn dùng và nhiệt độ bảo quản sẽ phải dựa trên những nghiên cứu về tính ổn định của vắc xin và phải đệ trình lên cơ quan kiểm định quốc gia về vắc xin và sinh phẩm.
Nhiệt độ bảo quản 2 °C đến 8 °C.

Hạn dùng
Hạn dùng không được quá 3 năm kể từ ngày đóng ống thành phẩm.

Nhãn
Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

VẮC XIN THỦY ĐẬU
Vaccinum varicella vivum

Vắc xin thủy đậu là chế phẩm đông khô được sản xuất từ chủng virus thủy đậu sống giảm độc lực, phát triển trên tế bào lưỡng bội người. Vắc xin được hồi chỉnh với dung dịch hồi chỉnh ngay trước khi dùng tạo thành dung dịch trong, cho màu khi có mặt chỉ thị pH.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu dưới đây.

Sản xuất
Sản xuất vắc xin dựa trên hệ thống chủng giống gốc virus và hệ thống ngân hàng tế bào. Phương pháp sản xuất phải cho thấy hiệu suất vắc xin thủy đậu sống giảm độc lực ổn định về tính sinh miễn dịch và tính an toàn cho người sử dụng. Virus trong vắc xin thành phẩm sẽ không được cấy chuyển trên tế bào vượt quá đời thứ 38 tính từ đời virus gốc.

Chủng sản xuất
Chủng virus thủy đậu sẽ được nhận dạng là chủng Oka thông qua hồ sơ bao gồm thông tin về nguồn gốc của chủng, phương pháp giảm độc lực và đời cấy chuyển đã được đánh giá trên lâm sàng là đã giảm độc và có hiệu quả. Các lô chủng phải được sản xuất trên cùng một loại tế bào sử dụng để sản xuất vắc xin thành phẩm. Chủng được bảo quản ở nhiệt độ dưới âm 20 °C (-20 °C) nếu ở dạng đông khô hoặc dưới âm 60 °C (-60 °C) nếu không ở dạng đông khô.
Chỉ có những lô chủng virus đạt những yêu cầu sau đây mới được sử dụng để sản xuất.
Nhận dạng: Lô chủng giống gốc và chủng sản xuất được nhận dạng là virus thủy đậu bởi phương pháp trung hòa huyết thanh trên tế bào, sử dụng kháng thể đặc hiệu.
Nồng độ virus: Nồng độ virus của lô chủng sản xuất và lô chủng giống gốc được xác định theo quy định để đảm bảo tính ổn định của sản xuất.
Tác nhân ngoại lai: Lô chủng sản xuất phải tuân thủ những yêu cầu đối với chủng vắc xin virus sống.

Lựa chọn tế bào cho sản xuất
Dòng tế bào dùng cho sản xuất vắc xin thủy đậu phải dựa trên hệ thống ngân hàng tế bào. Tế bào có nguồn gốc từ người được bảo quản ở âm 70 °C (-70 °C) hoặc trong nitrogen lỏng. Cơ quan kiểm định quốc gia phải phê chuẩn ngân hàng tế bào gốc và số lượng tối đa số đời cấy chuyển đã được thiết lập.

Môi trường nuôi cấy tế bào
Huyết thanh sử dụng cho nuôi cấy tế bào phải không nhiễm vi khuẩn, nấm, *Mycoplasma* và các virus, tác nhân ngoại lai khác.
Penicilin và các beta-lactam khác không được sử dụng trong bất cứ giai đoạn sản xuất nào.
Các kháng sinh khác có thể được sử dụng ở các giai đoạn sản xuất nhưng phải được cơ quan kiểm định quốc gia chấp nhận.

Các mẻ gặt đơn
Trước khi cấy lô chủng virus, tế bào phải được kiểm tra xem có bị hủy hoại do các tác nhân gây nhiễm không. Nếu có bằng chứng của bất kỳ một tác nhân ngoại lai nào thì toàn bộ nhóm tế bào liên quan sẽ không được sử dụng để sản xuất vắc xin.
Sau khi cấy virus, tế bào được ủ ở điều kiện nhiệt độ thích hợp. Nếu huyết thanh động vật được sử dụng trong môi trường phát triển hoặc môi trường duy trì để nuôi cấy tế bào thì huyết thanh phải được loại bỏ khỏi tế bào trước hoặc sau khi cấy virus nhưng phải trước khi tiến hành thu hoạch virus. Tế bào nuôi cấy phải được rửa và môi trường phát triển phải được thay thế bằng môi trường duy trì không có huyết thanh.
Các tế bào nuôi đã được gây nhiễm từ mẻ gặt đơn sẽ được làm sạch và hỗn lại. Hỗn dịch tế bào được xử lý bằng sóng siêu âm hoặc là các phương pháp thích hợp khác.

Mẻ hỗn virus
Mẻ hỗn virus được điều chế từ một hoặc vài mẻ gặt đơn đạt tiêu chuẩn. Mẻ hỗn virus phải được kiểm tra tính vô khuẩn. Những mẫu chưa kiểm tra được ngay phải bảo quản ở âm 60 °C (-60 °C).
Mẻ hỗn virus được tinh sạch bằng phương pháp thích hợp và loại được tối đa các mảnh vỡ tế bào.
Số lượng virus sống phải được xác định bằng phương pháp chuẩn độ trên tế bào có đối chiếu với mẫu chuẩn virus thủy đậu sống.

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm cuối cùng
Bán thành phẩm được sản xuất bằng cách trộn các mẻ hỗn dịch virus. Chỉ những chất bảo quản, tá chất hoặc dung dịch được cơ quan kiểm định quốc gia phê chuẩn mới được cho vào bán thành phẩm. Những chất này phải đảm bảo không làm ảnh hưởng đến tính an toàn và hiệu lực của sản phẩm.

Vô khuẩn
Đạt yêu cầu về vô khuẩn (Phụ lục 15.7).
Nếu vắc xin có chứa chất bảo quản, phải tiến hành phương pháp thích hợp để ngăn chặn các yếu tố gây nhiễu đối với thử nghiệm vô khuẩn.

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Cảm quan
Mỗi loạt vắc xin thành phẩm sau khi sản xuất phải được kiểm tra bằng cảm quan để đảm bảo các lọ hay ống vắc xin trước khi xuất xưởng đều phải đạt yêu cầu về cảm quan như: không có vật lạ trong lọ vắc xin; nắp hay nút phải chặt và đảm bảo tính nguyên vẹn. Nếu ống hay lọ vắc xin nào không đạt yêu cầu cần được loại bỏ.

Nhận dạng
Kiểm tra nhận dạng được thực hiện trên ít nhất 1 lọ thành phẩm từ mỗi lô thành phẩm cuối cùng bằng phương pháp thích hợp do cơ quan kiểm định quốc gia phê chuẩn.
Nhận dạng kháng nguyên trong vắc xin được xác định bằng phương pháp trung hòa huyết thanh trên tế bào với kháng thể đặc hiệu, hoặc sử dụng huyết thanh miễn dịch đặc hiệu.

Công hiệu
Sử dụng phương pháp có độ chính xác cao để xác định hàm lượng virus. Dùng mẫu chuẩn virus thủy đậu phù hợp để thẩm định quy trình.
Tiêu chuẩn chấp thuận: Hàm lượng virus không ít hơn $2,0 \times 10^3$ PFU/liều đơn ở người.
Đối với tính ổn định nhiệt cũng cần được cơ quan kiểm định quốc gia xem xét như một yếu tố trong việc thiết lập tính ổn định của quá trình sản xuất.

An toàn chung
Đạt yêu cầu về an toàn chung (Phụ lục 15.11).

Vô khuẩn
Đạt yêu cầu về vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Độ ẩm
Không được quá 2,0 % (Phụ lục 15.35).
Độ ẩm tồn dư trong mẫu phải được xác định bằng phương pháp thích hợp do cơ quan kiểm định quốc gia phê chuẩn.

Hàm lượng protein huyết thanh động vật tồn dư
Nếu huyết thanh được sử dụng trong nuôi cấy tế bào thì hàm lượng albumin huyết thanh tồn dư phải ít hơn 50 ng/liều đơn ở người.

Bảo quản
Vắc xin thủy đậu nên đóng liều đơn ở dạng đông khô và được bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C.
Nếu sử dụng trong điều kiện bảo quản khác thì phải được thẩm định đầy đủ và được phê chuẩn bởi cơ quan kiểm định quốc gia.

Hạn dùng
Hạn sử dụng phải được phê chuẩn của cơ quan kiểm định quốc gia.

Nhãn
Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng theo yêu cầu của các quy định hiện hành và cần có các thông tin như sau:
Chủng virus sử dụng sản xuất vắc xin;
Tên tế bào dùng sản xuất vắc xin;
Nồng độ thấp nhất của virus;
Thời gian hoàn nguyên và thời gian sử dụng vắc xin sau khi hoàn nguyên;
Khuyến cáo với phụ nữ có thai;
Tránh tiếp xúc với chất tẩy rửa.

VẮC XIN VIÊM GAN A BẤT HOẠT, HẤP PHỤ
Vaccinum hepatitidis A inactivatum adsorbatum

Vắc xin viêm gan A bất hoạt, hấp phụ là chế phẩm chứa một chủng virus viêm gan A nuôi cấy trên tế bào, được bất hoạt bằng một phương pháp đã được phê chuẩn và thường được hấp phụ với nhôm hydroxyd hoặc nhôm phosphat.

Sản xuất

Chủng virus
Phải đạt các tiêu chuẩn sau:
Có đầy đủ hồ sơ, thông tin về nguồn gốc virus.
Đạt được các tiêu chuẩn đặt ra cho virus sử dụng để sản xuất vắc xin bất hoạt.
Đã qua thử nghiệm lâm sàng cho thấy có thể tạo ra vắc xin an toàn và hiệu quả.
Chủng sản xuất được sản xuất dựa trên hệ thống chủng giống gốc đã được phê chuẩn bởi cơ quan có thẩm quyền.
Chủng sản xuất được bảo quản ở dưới âm 60 °C (-60 °C).

Tế bào sản xuất
Gồm tế bào lưỡng bội người, dòng tế bào thường trực hoặc tế bào tiên phát đã được mô tả đặc tính đầy đủ và được phê chuẩn bởi cơ quan kiểm định quốc gia.

Môi trường nuôi cấy tế bào sử dụng trong sản xuất
Phải được thẩm định để đảm bảo năng xuất và hiệu quả trong sản xuất vắc xin. Tất cả các thành phần bổ sung vào môi trường nuôi cấy đều phải đảm bảo vô khuẩn và an toàn (huyết thanh bê, trypsin tách tế bào, chất chỉ thị pH, kháng sinh...).

Quá trình sản xuất
Chủng virus viêm gan A thường được nuôi cấy trên dòng tế bào lưỡng bội người (tế bào MRC5 hoặc KMB17) hoặc dòng tế bào thường trực khác, sử dụng môi trường nuôi cấy thích hợp. Hỗn dịch virus được gặt, hộn lại, tinh sạch, bất hoạt, bổ sung chất bảo quản, lọc, pha loãng, bổ sung tá chất và đóng ống theo quy trình đã được phê duyệt. Trong quá trình sản xuất, tất cả các khâu đều được kiểm tra từ nguyên liệu nguồn như: Chủng virus, tế bào sử dụng cho sản xuất, môi trường nuôi cấy, huyết thanh bê, trypsin tách tế bào, chất chỉ thị pH, kháng sinh, hóa chất bất hoạt, chất bảo quản...
Trong trường hợp sử dụng tế bào thận khỉ tiên phát để sản xuất thì các thử nghiệm đặc hiệu để kiểm soát virus ở khỉ phải được thực hiện bao gồm thử nghiệm: SIV, SV 40, virus B và lao.

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm

Vô khuẩn
Đạt yêu cầu vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Chất bảo quản
Nếu quy trình sản xuất có sử dụng các chất bảo quản, thì việc xác định hàm lượng các chất này được thực hiện bằng một phương pháp hóa học hoặc hóa lý. Hàm lượng

các chất bảo quản này phải nằm trong giới hạn 85 % đến 115 % lượng ghi trên nhãn.

Nhôm
Nếu sử dụng nhôm hydroxyd hoặc nhôm hydrat phosphat làm chất hấp phụ, thì hàm lượng tối đa cho phép là 1,25 mg Al^{+3} trong một liều đơn dùng cho người (Phụ lục 15.27).

Formaldehyd tồn dư
Không quá 0,2 g/L (Phụ lục 15.25).

Kiểm định vắc xin thành phẩm
Trường hợp các thử nghiệm kiểm tra hàm lượng formaldehyd tồn dư (nếu có sử dụng), hàm lượng chất bảo quản (nếu có) hay các thử nghiệm kiểm tra trên động vật mà đã kiểm tra trên vắc xin bán thành phẩm và cho kết quả đạt yêu cầu thì những thử nghiệm này có thể không cần kiểm tra trên vắcxin thành phẩm.

Nhận dạng
Vắc xin phải chứa kháng nguyên virus viêm gan A được nhận dạng bằng phương pháp ELISA, sử dụng kháng thể đặc hiệu hoặc bằng thử nghiệm *in vivo*.

Cảm quan
Khi lắc vắc xin viêm gan A bất hoạt, hỗn dịch có màu trắng đục.

Vô khuẩn
Đạt yêu cầu vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

pH
Phải nằm trong giới hạn do nhà sản xuất đăng ký đã được phê duyệt (Phụ lục 15.33).

An toàn chung
Vắc xin viên gan A bất hoạt hấp phụ phải đạt an toàn trên chuột nhắt và chuột lang. Chuột phải khỏe mạnh, tăng cân sau 7 ngày theo dõi (Phụ lục 15.11).

Chất gây sốt
Vắc xin viêm gan A bất hoạt hấp phụ phải đạt yêu cầu về chất gây sốt trên thỏ. Tổng nhiệt độ chênh lệch của 3 thỏ không được quá 1,3 °C (Phụ lục 15.12).

Nội độc tố vi khuẩn
Đạt tiêu chuẩn theo nhà sản xuất đăng ký đã được phê duyệt (Phụ lục 13.2).

Công hiệu
Công hiệu vắc xin viêm gan A bất hoạt, hấp phụ được tiến hành song song với vắc xin mẫu chuẩn. Có thể được xác định theo phương pháp gây miễn dịch trên chuột để xác định hiệu giá kháng thể thu được (công hiệu *in vivo*) hoặc phương pháp sử dụng kháng thể đặc hiệu thực hiện trong phòng thí nghiệm để định lượng trực tiếp hàm lượng kháng nguyên có trong vắc xin (công hiệu *in vitro*).
Công hiệu in vivo:
Động vật thí nghiệm: Chuột nhắt trắng (giống chuột tùy thuộc vào quy trình của các nhà sản xuất) khỏe mạnh và từ cùng một đàn, khoảng 5 tuần tuổi, tốt nhất là cùng giới.
Xác định công hiệu tương quan: Vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin mẫu thử được pha loãng thành ít nhất 3 độ pha. Dung dịch để pha loãng là nước muối sinh lý (dung dịch natri clorid 0,9 %) có chứa loại tá chất được sử dụng trong mẫu kiểm tra. Tiêm màng bụng 1 mL/chuột, mỗi độ pha tiêm miễn dịch ít nhất 10 chuột. Sử dụng một nhóm chuột tiêm dung dịch pha loãng làm chứng. Tất cả các chuột sau gây miễn dịch được nuôi từ 28 đến 32 ngày trong điều kiện như nhau. Tiến hành gây mê, lấy máu tim chuột. Các mẫu máu được ly tâm ở 3000 r/min trong 10 min ở 4 °C đến 8 °C, tách huyết thanh và cất riêng rẽ mẫu máu của từng chuột ở -20 °C.
Xác định hiệu giá kháng thể đặc hiệu kháng virus viêm gan A bằng phương pháp (ELISA) dùng kit thương phẩm có chất lượng tốt. Kết quả được tính theo chương trình Probit Analysis (WHO).
Thử nghiệm có giá trị khi:
ED_{50} của vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin mẫu thử đều nằm trong khoảng giữa liều tiêm lớn nhất và liều tiêm nhỏ nhất. Phân tích thống kê cho thấy đạt yêu cầu về tuyến tính và song song.
Giới hạn tin cậy của công hiệu tương quan nằm trong khoảng 33 % đến 300 %.
Tiêu chuẩn công hiệu *in vivo*: Công hiệu tương quan (p = 95 %) không nhỏ hơn 1 so với mẫu chuẩn.

Hàm lượng nhôm
Nếu sử dụng hydroxyd nhôm hoặc nhôm hydrat phosphat là chất hấp phụ thì hàm lượng tối đa cho phép là 1,25 mg Al^{+3} trong một liều đơn dùng cho người (Phụ lục 15.27).

Formaldehyd tồn dư
Không được quá 0,2 g/L (Phụ lục 15.25).

Chất bảo quản
Nếu quy trình sản xuất có sử dụng các chất bảo quản thì việc xác định hàm lượng các chất này được thực hiện bằng một phương pháp hóa học hoặc hóa lý. Hàm lượng các chất bảo quản này phải từ 85 % đến 115 % lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng protein
Được xác định theo phương pháp phù hợp, thường là dùng phương pháp Lowry. Hàm lượng protein phải nằm trong giới hạn cho phép (Phụ lục 15.34).

Bảo quản, hạn dùng
Vắc xin được bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C, tránh sáng và tránh làm vắc xin đông băng.
Các tuyên bố về hạn dùng, nhiệt độ bảo quản sẽ phải dựa trên kết quả nghiên cứu về tính ổn định của vắc xin và phải được cơ quan kiểm định quốc gia phê chuẩn.

Nhãn
Những thông tin trên nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu quy định hiện hành.

Cách dùng, liều dùng
Theo hướng dẫn sử dụng đã được phê duyệt.

VẮC XIN VIÊM GAN A BẤT HOẠT, VIROSOM

Vaccinum hepatitidis A inactivatum virosomate

Vắc xin viêm gan A bất hoạt, virosom là hỗn dịch của một chủng virus viêm gan A phù hợp nuôi cấy trên tế bào và được bất hoạt bằng một phương pháp đã được phê chuẩn rồi phối trộn với các virosom theo một tỷ lệ phù hợp, các phospholipid được sử dụng như là tá chất.
Các virosom là vỏ của virus cúm phù hợp với từng sản phẩm.

Sản xuất

Phương pháp sản xuất cần được thẩm định để chứng tỏ rằng sản phẩm tạo ra nếu đem kiểm tra sẽ đáp ứng tất cả các yêu cầu về độc tính bất thường của huyết thanh miễn dịch và vắc xin dùng cho người (Phụ lục 15.11).
Quy trình sản xuất gồm 3 giai đoạn.
Giai đoạn 1: Sản xuất vắc xin viêm gan A (bất hoạt).
Quy trình sản xuất vắc xin viêm gan A bất hoạt được mô tả trong chuyên luận Vắc xin viêm gan A (bất hoạt, hấp phụ) và phải tuân thủ tất cả các yêu cầu về sản xuất và kiểm định giống như phần Sản xuất vắc xin viêm gan A (bất hoạt, hấp phụ).
Giai đoạn 2: Sản xuất các virosom.
Virosom là phần vỏ của một loại virus cúm đã được phê duyệt dùng cho sản phẩm đặc hiệu, có chứa kháng nguyên bề mặt hemagglutinin. Quy trình sản xuất các virosom này cũng giống như quy trình sản xuất vắc xin cúm bất hoạt (dạng split), gồm các bước: Chủng virus viêm gan A phù hợp được gây nhiễm vào trứng, ủ rồi thu dịch niệu; tinh sạch virus; bất hoạt; phá vỡ và thu phần vỏ virus chứa các glycoprotein của virus cúm (trong đó có kháng nguyên hemagglutinin). Sau đó được bổ sung thêm các phospholipid phù hợp như lecithin, kephalin... rồi loại bỏ các chất sử dụng trong quá trình tinh sạch, tẩy rửa bằng sắc ký hấp phụ hoặc một phương pháp phù hợp để thu được các virosom.
Quy trình sản xuất các virosom phải tuân thủ tất cả các yêu cầu về sản xuất và kiểm định giống như phần sản xuất Vắc xin cúm bất hoạt.
Giai đoạn 3: Phối trộn.
Vắc xin viêm gan A sau khi bất hoạt được trộn với các virosom theo một tỷ lệ phù hợp đã được thẩm định tạo ra bán thành phẩm cuối cùng.
Trong quá trình sản xuất, tất cả các khâu đều được kiểm tra từ nguyên liệu nguồn như: Chủng virus, tế bào gốc, tế bào sử dụng cho sản xuất, môi trường nuôi cấy, huyết thanh bê, trypsin tách tế bào, chất chỉ thị pH, kháng sinh, hóa chất bất hoạt, chất bảo quản... Vắc xin phải đạt những yêu cầu đã ghi trong chuyên luận vắc xin dùng cho người và các yêu cầu dưới đây.

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm cuối cùng

Hàm lượng protein
Được xác định theo phương pháp phù hợp, thường dùng phương pháp Lowry (Phụ lục 15.34). Hàm lượng protein phải nằm trong giới hạn được phê duyệt.

Hàm lượng phospholipid
Được xác định theo phương pháp phù hợp, thường dùng phương pháp hóa miễn dịch hoặc phương pháp hóa lý. Hàm lượng phospholipid phải nằm trong giới hạn được quy định cho từng sản phẩm.

Nhận dạng và định lượng hàm lượng hemagglutinin
Được xác định theo phương pháp phù hợp, thường là dùng phương pháp khuyếch tán miễn dịch đơn (SRD). Hàm lượng hemaglutinin phải nằm trong giới hạn được phê duyệt. Thử nghiệm định lượng hàm lượng hemagglutinin được dùng như thử nghiệm nhận dạng.

Nhận dạng và định lượng hàm lượng kháng nguyên HAV
Được xác định theo phương pháp hóa miễn dịch phù hợp, thường là dùng phương pháp ELISA. Hàm lượng HAV phải nằm trong giới hạn cho phép. Thử nghiệm định lượng hàm lượng HAV được dùng như thử nghiệm nhận dạng.

Tỷ lệ giữa hàm lượng kháng nguyên HAV và hemagglutinin
Phải nằm trong giới hạn cho phép.

Hàm lượng ovalbumin
Được xác định theo phương pháp hóa miễn dịch phù hợp, thường dùng phương pháp ELISA. Hàm lượng ovalbumin không quá 1 µg/liều đơn dùng cho người.

Hàm lượng BSA tồn dư
Được xác định theo phương pháp hóa miễn dịch phù hợp, thường là dùng phương pháp ELISA. Hàm lượng BSA nằm trong giới hạn nhà sản xuất đăng kí nhưng không được quá 50 ng/ml.

Vô khuẩn
Đạt yêu cầu về vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Chất bảo quản
Nếu quy trình sản xuất có sử dụng các chất bảo quản, thì việc xác định hàm lượng các chất này được thực hiện bằng một phương pháp hóa học hoặc hóa lý. Hàm lượng các chất bảo quản này phải nằm trong giới hạn từ 85 % đến 115 % lượng ghi trên nhãn.

Hóa chất tồn dư
Các hóa chất được sử dụng trong quá trình sản xuất phải được kiểm tra theo phương pháp đã được phê chuẩn. Hàm lượng hóa chất tồn dư trong phải nằm trong giới hạn cho phép.

Formaldehyd tồn dư
Lượng tối đa cho phép là 0,2 g/L (Phụ lục 15.25).

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Trường hợp các thử nghiệm kiểm tra hàm lượng formaldehyd tồn dư (nếu có sử dụng), hàm lượng chất bảo quản (nếu có), BSA tồn dư, ovalbumin tồn dư hay các thử nghiệm kiểm tra trên động vật mà đã kiểm tra trên vắc xin bán thành phẩm và cho kết quả đạt yêu cầu thì những thử nghiệm này có thể không cần kiểm tra trên vắc xin thành phẩm.

Nhận dạng kháng nguyên HAV
Vắc xin phải chứa kháng nguyên virus viêm gan A được nhận dạng bằng phương pháp ELISA sử dụng kháng thể đặc hiệu hoặc bằng thử nghiệm *in vivo*.

Nhận dạng và định lượng hàm lượng hemagglutinin
Được xác định theo phương pháp phù hợp, thường dùng phương pháp khuyếch tán miễn dịch đơn. Hàm lượng hemagglutinin phải nằm trong giới hạn từ 12 - 25 µg/ml. Thử nghiệm định lượng hàm lượng hemagglutinin bao gồm cả thử nghiệm nhận dạng.

Cảm quan
Đạt các yêu cầu theo tiêu chuẩn đã đăng ký.

Mycoplasma
Được tiến hành theo phương pháp đã được phê chuẩn. Vắc xin cần kiểm tra phải không có *Mycoplasma* (Phụ lục 15.36).

Vô khuẩn
Đạt yêu cầu vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

pH
Từ 6,3 đến 7,3 (Phụ lục 15.33).

Thể tích
Không ít hơn thể tích ghi trên nhãn (Phụ lục 11.1).

An toàn chung
Phải đạt an toàn trên chuột nhắt và chuột lang. Chuột phải khỏe mạnh, tăng cân sau 7 ngày theo dõi (Phụ lục 15.11).

Nội độc tố vi khuẩn
Không quá 4 EU/ml hoặc 2 EU/liều đơn dùng cho người (Phụ lục 13.2).

Hàm lượng phospholipid
Được xác định theo phương pháp phù hợp, thường là dùng phương pháp hóa miễn dịch hoặc phương pháp hóa lý. Hàm lượng phospholipid phải nằm trong giới hạn được phê duyệt.

Formaldehyd
Không được quá 0,2 g/L (Phụ lục 15.25).

Kích thước của virosom
Kích thước của virosom-HAV hoàn chỉnh phải nằm trong giới hạn đã được phê chuẩn.

Chất bảo quản
Nếu quy trình sản xuất có sử dụng các chất bảo quản thì việc xác định hàm lượng các chất này được thực hiện bằng phương pháp hóa học hoặc hóa lý phù hợp. Hàm lượng các chất bảo quản phải không ít hơn 85 % và không quá 115 % lượng ghi trên nhãn.

Công hiệu
Công hiệu vắc xin viêm gan A (bất hoạt, virosom) cần kiểm tra được tiến hành song song với vắc xin mẫu chuẩn bằng phương pháp hóa miễn dịch phù hợp, thường sử dụng phương pháp ELISA trên bộ kit sinh phẩm chẩn đoán hoặc theo phương pháp ELISA tự gắn. Dùng kháng thể kháng HAV để xác định hàm lượng kháng nguyên HAV trong vắc xin mẫu thử thông qua vắc xin mẫu chuẩn.
Hàm lượng kháng nguyên HAV phải nằm trong giới hạn đã được phê chuẩn.

Bảo quản
Vắc xin được bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C, tránh ánh sáng và không được để vắc xin đông băng.

Nhãn
Những thông tin trên nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu quy định hiện hành và cần bao gồm các thông tin sau: Nguồn gốc sinh học của tế bào dùng để sản xuất vắc xin; vỏ virus cúm được sản xuất từ trứng gà; không được để vắc xin đông băng; lắc kỹ trước khi dùng.

VẮC XIN VIÊM GAN A SỐNG GIẢM ĐỘC LỰC
Vaccinum hepatitidis A vivum

Vắc xin viêm gan A sống, giảm độc lực là vắc xin đông khô được sản xuất từ chủng virus viêm gan A giảm độc lực phù hợp, phát triển trên tế bào lưỡng bội người.
Vắc xin được hồi chỉnh ngay trước khi sử dụng với một dung dịch hồi chỉnh kèm theo, tạo ra một dung dịch trong suốt, đồng nhất.

Sản xuất

Chủng virus
Phải đạt các tiêu chuẩn sau:
Có đầy đủ hồ sơ, thông tin về nguồn gốc virus.
Đạt được các tiêu chuẩn đặt ra cho virus sử dụng để sản xuất vắc xin sống giảm độc lực.
Đã qua thử nghiệm lâm sàng cho thấy có thể tạo ra vắc xin an toàn và hiệu quả.
Chủng sản xuất được sản xuất dựa trên hệ thống chủng giống gốc virus giảm độc lực được phê chuẩn bởi cơ quan có thẩm quyền. Chủng được bảo quản ở -60 °C.

Tế bào sản xuất
Gồm tế bào lưỡng bội người, dòng tế bào thường trực hoặc tế bào tiên phát đã được mô tả đầy đủ các đặc tính và được phê chuẩn bởi cơ quan có thẩm quyền.

Môi trường sử dụng để sản xuất
Phải được thẩm định để đảm bảo năng suất và hiệu quả trong sản xuất vắc xin. Tất cả các thành phần bổ sung vào môi trường nuôi cấy đều phải đảm bảo vô trùng và an toàn.

Quá trình sản xuất
Chủng virus viêm gan A thường được nuôi cấy trên dòng tế bào lưỡng bội người, hoặc dòng tế bào thường trực khác, sử dụng môi trường nuôi cấy thích hợp. Hỗn dịch virus được gặt, hộn lại, tinh sạch, bổ sung chất bảo quản, lọc, pha loãng và đông khô theo quy trình đã được phê duyệt. Trong quá trình sản xuất, tất cả các khâu đều được kiểm tra từ nguyên liệu nguồn như: Chủng virus sử dụng,

tế bào sử dụng cho sản xuất, môi trường sử dụng cho sản xuất, huyết thanh bê, trypsin tách tế bào, chất chỉ thị pH, kháng sinh, tá chất,...

Trong trường hợp sử dụng tế bào thận khỉ tiên phát để sản xuất thì các thử nghiệm đặc hiệu để kiểm soát virus ở khỉ phải được thực hiện bao gồm thử nghiệm: SIV, SV 40, virus viêm gan B và lao.

Vắc xin mẫu chuẩn: Phải tuân thủ và đáp ứng các tiêu chuẩn quy định chung cho mẫu chuẩn sử dụng trong các sản phẩm về sinh học và y học ứng dụng trên người.

Kiểm tra mẻ gặt đơn

Hiệu giá virus: Được kiểm tra theo phương pháp đã được phê duyệt. Hiệu giá phải nằm trong giới hạn đã được phê duyệt.

Vô khuẩn: Đạt yêu cầu vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Mycoplasma: Được tiến hành theo phương pháp đã được phê chuẩn. Mẻ gặt đơn phải không phát hiện thấy có *Mycoplasma* (Phụ lục 15.36).

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm

Hiệu giá virus

Được kiểm tra theo phương pháp đã được phê duyệt. Hiệu giá phải nằm trong giới hạn đã được phê duyệt.

Vô khuẩn

Đạt yêu cầu vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Mycoplasma

Không có *Mycoplasma* (Phụ lục 15.36).

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm cuối cùng

Vô khuẩn

Đạt yêu cầu vô khuẩn (Phụ lục 15.7). Tiến hành thử với 10 ml vắc xin bán thành phẩm cuối cùng cho mỗi môi trường nuôi cấy.

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Nhận dạng

Kiểm tra bằng phương pháp ELISA hoặc PCR. Thử nghiệm nhận dạng có thể được bao hàm trong thử nghiệm công hiệu.

Cảm quan

Phải đạt các tiêu chuẩn đã đăng ký.

Độ ẩm

Không được quá 3,0 % (Phụ lục 15.35).

Cloroform

Không được quá 0,006 % hoặc không được quá 60 µg/liều đơn dùng cho người.

Công hiệu và ổn định nhiệt

Chuẩn độ hiệu giá và thử nghiệm ổn định nhiệt (vắc xin để 37 °C trong 3 ngày) được tiến hành song song bằng gây nhiễm trên tế bào lưỡng bội người (MRC5 hoặc KMB17) rồi định lượng virus bằng phương pháp ELISA. Sử dụng kít thương phẩm hoặc kít của nhà sản xuất.

Hộn đều 5 ống vắc xin rồi pha loãng bậc 10 bằng môi trường Hanks. Sau đó cho vào mỗi chai tế bào (25 cm^2) 1 ml mẫu vắc xin đã pha loãng, sử dụng ít nhất 4 độ pha, mỗi độ pha gây nhiễm 4 chai tế bào. Sử dụng 4 chai tế bào làm chứng, nhỏ 1 ml môi trường Hanks/chai. Ủ 2 h ở 37 °C. Thêm từ 6 ml đến 8 ml môi trường duy trì có 2 % huyết thanh bào thai bê vào và nuôi ở nhiệt độ (36 ± 0,5) °C. Hàng tuần kiểm tra và thay môi trường. Tiến hành gặt tế bào sau 25 - 28 ngày, tinh sạch virus và xác định hiệu giá virus viêm gan A của lô vắc xin bằng phương pháp ELISA. Hiệu giá virus viêm gan A của vắc xin bảo quản ở 2 - 8 °C và mẫu vắc xin ủ ổn định nhiệt phải không dưới 6,5lg$CCID_{50}$/liều; đồng thời hiệu giá virus của mẫu vắc xin ủ ổn định nhiệt không được giảm quá 0,5lg so với mẫu vắc xin bảo quản ở 2 °C đến 8 °C. Mẫu ổn định nhiệt phải không dưới 6,5lg$CCID_{50}$/liều đồng thời mẫu ổn định nhiệt hiệu giá không được giảm quá 0,5lg.

Hàm lượng BSA tồn dư

Kiểm tra bằng phương pháp ELISA trên kít thương phẩm. Hàm lượng BSA tồn dư trong vắc xin phải nằm trong giới hạn được phê duyệt.

Gentamicin

Kiểm tra bằng phương pháp ELISA trên kít thương phẩm. Hàm lượng kháng sinh gentamicin tồn dư trong vắc xin phải không quá 50 ng/liều đơn dùng cho người.

Vô khuẩn

Đạt yêu cầu vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

An toàn chung

Vắc xin viên gan A sống giảm độc lực phải đạt an toàn trên chuột nhắt và chuột lang. Chuột phải khỏe mạnh, tăng cân sau 7 ngày theo dõi (Phụ lục 15.11).

Bảo quản

Bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C, tránh ánh sáng.

Nhãn

Những thông tin trên nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu quy định hiện hành.

VẮC XIN VIÊM GAN B TÁI TỔ HỢP

Vaccinum hepatitidis B recombinatum

Vắc xin viêm gan B tái tổ hợp (rDNA) được sản xuất từ kháng nguyên bề mặt (HBsAg) - là một protein của virus viêm gan B. Kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B được sản xuất theo công nghệ tái tổ hợp ADN và thường được hấp phụ với nhôm hydroxyd hoặc nhôm phosphat hydrat.

Sản xuất

Vắc xin viêm gan B tái tổ hợp được điều chế bằng cách sử dụng HBsAg tổng hợp ở tế bào nấm men (*Saccharomyces cerevisiae, Pichia pastoris, Hansenula polymorpha)*, tế bào trứng chuột đất vàng (CHO - Chinese hamster ovary) hoặc các dòng tế bào thích hợp khác đã được chuyển nạp (transformation) với một plasmid có chứa gen mã hóa

HBsAg. HBsAg được thu từ tế bào bằng cách làm ly giải hoặc phá vỡ tế bào nấm men và được tinh chế nhờ các kỹ thuật sinh hóa lý.
Vắc xin tái tổ hợp có thể chứa sản phẩm của gen S (protein loại nhỏ) hoặc phối hợp sản phẩm của gen S và tiền S2 (protein loại trung bình) hoặc phối hợp cả sản phẩm của gen S, tiền S2 và tiền S1 (protein loại lớn).

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm

Hàm lượng protein
Protein trong mẫu thử được định lượng theo phương pháp Lowry (Phụ lục 15.34).

Nhận dạng và hàm lượng HBsAg
Xác định hàm lượng HBsAg bằng các thử nghiệm hóa miễn dịch phù hợp, như thử nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA), thử nghiệm hấp phụ miễn dịch gắn men (ELISA), thấm miễn dịch hoặc khuếch tán miễn dịch đơn. Vắc xin mẫu thử được so sánh với vắc xin mẫu chuẩn.

Độ tinh khiết của kháng nguyên
Được xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3) hoặc các phương pháp khác phù hợp như SDS - PAGE (Phụ lục 15.39).
Tiêu chuẩn chấp thuận: Không nhỏ hơn 95 % so với hàm lượng protein toàn phần.

Lipid
Không lớn hơn 100 µg/100 µg protein (Phụ lục 15.40).

Cesi (Cs)
Không lớn hơn 5 µg/20 µg protein (Phụ lục 15.41).

Tween 20
Không lớn hơn 50 µg/100 µg protein (Phụ lục 15.42).

Polysaccharid
Không lớn hơn 10 µg/100 µg protein (Phụ lục 15.38).

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.

Thimerosal
Không được lớn hơn 0,012 % (Phụ lục 15.29).

Vô khuẩn
Đạt yêu cầu về vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Cảm quan
Sau khi lắc, vắc xin viêm gan B có màu trắng, hơi đục.

pH
5,4 đến 7,4 (Phụ lục 15.33).

Protein toàn phần
Xác định bằng phương pháp Lowry. Hàm lượng protein toàn phần có trong vắc xin không được quá 40 µg/ml (Phụ lục 15.34).

Nhôm
Hàm lượng nhôm trong vắc xin tối đa không được quá 1,25 mg/liều đơn dùng cho người (Phụ lục 15.27).

Formaldehyd
Không được quá 0,01 % (Phụ lục 15.25).

Thimerosal
Không được quá 0,012 % (Phụ lục 15.29).

Vô khuẩn
Đạt yêu cầu về vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

An toàn chung
Vắc xin viêm gan B phải đảm bảo an toàn khi thử nghiệm trên chuột lang và chuột nhắt trắng. Chuột phải khoẻ mạnh và tăng trọng bình thường sau 7 ngày theo dõi (Phụ lục 15.11).

Chất gây sốt
Vắc xin viêm gan B phải an toàn về mặt chất gây sốt khi tiêm cho thỏ. Tổng nhiệt độ chênh lệch 3 thỏ không được quá 1,3 °C (Phụ lục 15.12).

Công hiệu
Công hiệu vắc xin viêm gan tái tổ hợp được tiến hành song song giữa vắc xin mẫu thử với vắc xin mẫu chuẩn; có thể được xác định bằng phương pháp thực nghiệm trên động vật thí nghiệm (công hiệu *in vivo*) để xác định hiệu giá kháng thể, hoặc phương pháp miễn dịch trên phòng thí nghiệm (công hiệu *in vitro*) để xác định hàm lượng kháng nguyên HBsAg có trong vắc xin.

Thử nghiệm công hiệu in vivo
Động vật thí nghiệm:
Chuột nhắt trắng giống BALB/C hoặc ICR hoặc một giống chuột phù hợp khác, khỏe mạnh và từ cùng một đàn, khoảng 5 tuần đến 6 tuần tuổi, tốt nhất là chuột cùng một giới.
Xác định công hiệu tương quan:
Vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin mẫu thử được pha loãng bậc 2 thành 5 độ pha. Dung dịch để pha vắc xin là nước muối sinh lý có chứa nhôm hydroxyd (hàm lượng nhôm hydroxyd không quá 500 µg/ml). Tiêm màng bụng 1 ml mỗi độ pha loãng vắc xin cho mỗi chuột. Mỗi độ pha loãng vắc xin tiêm ít nhất 15 chuột. Tất cả các chuột sau gây miễn dịch được nuôi từ 28 ngày đến 32 ngày trong điều kiện như nhau. Tiến hành gây mê và lấy máu tim chuột. Các mẫu máu được ly tâm 3000 r/min ở nhiệt độ 4 °C đến 8 °C, tách huyết thanh. Các mẫu huyết thanh được bảo quản ở nhiệt độ -20 °C. Xác định hiệu giá kháng thể kháng HBsAg bằng thử nghiệm hấp phụ miễn dịch gắn men (ELISA) trên bộ sinh phẩm chẩn đoán thương mại có sẵn. Kết quả được tính theo phần mềm thống kê chuyên dụng.
Thử nghiệm có giá trị khi:
ED_{50} của vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin mẫu thử đều nằm trong khoảng giữa liều tiêm lớn nhất và nhỏ nhất.
Phân tích thống kê cho thấy đạt yêu cầu về tuyến tính và song song.
Giới hạn độ tin cậy của công hiệu tương quan nằm trong khoảng 33 % đến 300 %.
Tiêu chuẩn công hiệu trên thực nghiệm:
Công hiệu tương quan (P = 95 %) không nhỏ hơn 1.

Thử nghiệm công hiệu in vitro

Vắc xin thử nghiệm được pha loãng song song với vắc xin mẫu chuẩn bằng PBS 0,1 M (pH 7,2 - 7,4) với các độ pha loãng bậc 2 phù hợp. Tiến hành thử nghiệm bằng kỹ thuật ELISA, trên bộ sinh phẩm chẩn đoán thương mại có sẵn. Dùng kháng thể đơn dòng kháng HBsAg để xác định lượng kháng nguyên HBsAg trong vắc xin mẫu thử, so sánh với vắc xin mẫu chuẩn.

Kết quả được tính theo phần mềm Excel, Paraleline hoặc phần mềm chuyên dụng khác.

Tiêu chuẩn chấp thuận:

Theo nhà sản xuất đăng ký.

Đóng gói

Vắc xin viêm gan B được đóng trong lọ thủy tinh trung tính, mỗi lọ chứa 20 µg/1 ml; hoặc 10 µg/1 ml; hoặc 5 µg/1 ml tùy theo từng nhà sản xuất.

Tính ổn định

Nghiên cứu tính ổn định của vắc xin phải được tiến hành trên ít nhất 3 loạt liên tiếp (được sản xuất từ 3 loạt bán thành phẩm khác nhau) khi được bảo quản theo thời gian ở điều kiện như ghi trên nhãn của sản phẩm.

Bảo quản, hạn dùng

Vắc xin viêm gan B phải được bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C, tuyệt đối không được làm vắc xin đông băng.

Trong điều kiện bảo quản như trên, vắc xin viêm gan B tái tổ hợp có hạn dùng là 36 tháng.

Nhãn

Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

Đường tiêm, liều tiêm

Đường dùng: Tiêm bắp vào vùng cơ delta (đối với trẻ sơ sinh, tiêm bắp đùi là tốt hơn).

Liều dùng, lịch tiêm: Theo hướng dẫn cụ thể của nhà sản xuất.

Tiêm nhắc lại sau 5 năm đối với tất cả các lứa tuổi.

VẮC XIN PHỐI HỢP VIÊM GAN A BẤT HOẠT, HẤP PHỤ VÀ VẮC XIN VIÊM GAN B TÁI TỔ HỢP, HẤP PHỤ

Vaccinum hepatitidis A inactivatum et hepatitidis B (ADNr) adsorbatum

Vắc xin phối hợp viêm gan A bất hoạt, hấp phụ và vắc xin viêm gan B tái tổ hợp, hấp phụ là một hỗn dịch chứa một chủng virus viêm gan A phù hợp (nuôi cấy trên tế bào, được bất hoạt bằng một phương pháp đã được phê chuẩn) và vắc xin viêm gan B tái tổ hợp (được sản xuất từ kháng nguyên bề mặt HBsAg là một protein của virus viêm gan. B. Kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B được sản xuất theo công nghệ tái tổ hợp ADN) và thường được hấp phụ với nhôm hydroxyd hoặc nhôm phosphat hydrat.

Sản xuất

Sản xuất độc lập từng loại vắc xin sau đó phối trộn lại để tạo vắc xin phối hợp viêm gan A (bất hoạt, hấp phụ) và vắc xin viêm gan B (tái tổ hợp, hấp phụ).

Quy trình sản xuất của hai thành phần vắc xin này được mô tả trong phần vắc xin viêm gan A (bất hoạt, hấp phụ) và vắc xin viêm gan B (tái tổ hợp, hấp phụ). Vắc xin phối hợp viêm gan A (bất hoạt, hấp phụ) và vắc xin viêm gan B (tái tổ hợp, hấp phụ) phải tuân thủ tất cả các yêu cầu về sản xuất và kiểm định cho từng loại vắc xin.

Vắc xin mẫu chuẩn: Là mẫu phải được chứng minh bằng các kết quả nghiên cứu trên động vật và người trưởng thành khỏe mạnh; sau một liệu trình tiêm miễn dịch đầu tiên, ít nhất 95 % tạo được đáp miễn dịch bảo vệ, tương ứng với hàm lượng kháng thể trong máu Anti HAV phải đạt ít nhất 20 mIU/ml và Anti HBs phải đạt ít nhất 10 mIU/ml.

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm cuối cùng

Vô khuẩn

Đạt yêu cầu vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Chất bảo quản

Nếu quy trình sản xuất có sử dụng các chất bảo quản, thì việc xác định hàm lượng các chất này được thực hiện bằng phương pháp hóa học hoặc hóa lý. Hàm lượng các chất bảo quản phải nằm trong giới hạn từ 85 % đến 115 % lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng 2-phenoxyethanol

Kiểm tra bằng phương pháp sắc ký lỏng. Hàm lượng 2-phenoxyethanol trong vắc xin phải nằm trong giới hạn cho phép.

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Trường hợp các thử nghiệm kiểm tra hàm lượng formaldehyd tồn dư (nếu có sử dụng), hàm lượng chất bảo quản (nếu có), hàm lượng kháng nguyên HBsAg tự do, hàm lượng kháng nguyên HAV tự do (không hấp phụ) hay các thử nghiệm kiểm tra trên động vật mà đã kiểm tra trên vắc xin bán thành phẩm và cho kết quả đạt yêu cầu thì những thử nghiệm này có thể không cần kiểm tra trên vắc xin thành phẩm.

Nhận dạng

Vắc xin phải chứa kháng nguyên virus viêm gan A và kháng nguyên bề mặt của virus viêm gan B (HBsAg), được nhận dạng bằng phương pháp ELISA (xem phần Ghi chú) sử dụng kháng thể đặc hiệu hoặc bằng thử nghiệm *in vivo*.

Cảm quan

Dạng lỏng vẩn đục, không màu; sau khi lắc tạo hỗn dịch màu trắng đục.

Vô khuẩn

Đạt yêu cầu vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Hàm lượng kháng nguyên HAV tự do (không hấp phụ)

Kiểm tra theo phương pháp ELISA (xem phần Ghi chú).

Hàm lượng kháng nguyên HAV tự do (không hấp phụ) phải nằm trong giới hạn được phê duyệt.

Hàm lượng kháng nguyên HBsAg tự do (không hấp phụ)
Kiểm tra theo phương pháp ELISA (xem phần Ghi chú). Hàm lượng kháng nguyên HBsAg tự do (không hấp phụ) phải nằm trong giới hạn được phê duyệt.

pH
Từ 5,8 đến 6,6 (Phụ lục 15.33).

Thể tích
Không ít hơn thể tích ghi trên nhãn (Phụ lục 11.1).

Hàm lượng nhôm
Nếu sử dụng hydroxyd nhôm hoặc nhôm phosphat hydrat là chất hấp phụ, thì hàm lượng phải nằm trong giới hạn được phê duyệt nhưng không được quá 1,25 mg/liều đơn dùng cho người (Phụ lục 15.27).

Hàm lượng nhôm tự do
Phải nằm trong giới hạn được phê duyệt.

Formaldehyd tồn dư
Không được quá 0,2 g/L (Phụ lục 15.25).

Chất bảo quản
Nếu quy trình sản xuất có sử dụng các chất bảo quản, thì việc xác định hàm lượng các chất bảo quản được thực hiện bằng phương pháp hóa học hoặc hóa lý. Hàm lượng các chất bảo quản phải nằm trong giới hạn từ 85 % đến 115 % lượng ghi trên nhãn.

An toàn chung
Phải đạt an toàn trên chuột nhắt và chuột lang. Chuột phải khỏe mạnh, tăng cân sau 7 ngày theo dõi (Phụ lục 15.11).

Nội độc tố vi khuẩn
Không được quá 2 EU/liều đơn dùng cho người.

Công hiệu
Công hiệu vắc xin phối hợp viêm gan A (bất hoạt, hấp phụ) và vắc xin viêm gan B (tái tổ hợp, hấp phụ) được tiến hành độc lập theo các phương pháp và quy trình phù hợp cho từng loại vắc xin thành phần; mỗi loại phải làm song song với vắc xin mẫu chuẩn. Thử nghiệm có thể được xác định theo phương pháp gây miễn dịch trên chuột để xác định hiệu giá kháng thể thu được (công hiệu *in vivo*) hoặc phương pháp sử dụng kháng thể đặc hiệu thực hiện trong phòng thí nghiệm để định lượng trực tiếp hàm lượng từng loại kháng nguyên có trong vắc xin (công hiệu *in vitro*) bằng các loại kit thương phẩm hoặc kít tự gắn. Quy trình và các bước tiến hành sẽ thay đổi theo hướng dẫn của từng phương pháp, từng loại kít được sử dụng.

Bảo quản
Bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C, tránh sáng và tránh làm vắc xin đông băng.

Nhãn
Những thông tin trên nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng quy định hiện hành.

Ghi chú:

Định lượng và nhận dạng thành phần HAV trong vắc xin phối hợp viêm gan A (bất hoạt, hấp phụ) và vắc xin viêm gan B (tái tổ hợp, hấp phụ).

Nguyên lý:
Hàm lượng HAV trong mẫu được định lượng theo phương pháp ELISA. Mẫu thử và mẫu chuẩn được pha loãng ra nhiều nồng độ rồi được nhỏ lên phiến có gắn kháng thể kháng HAV. Phức hợp kháng thể - kháng nguyên được phát hiện nhờ enzym peroxydase gắn kháng thể kháng HAV cộng hợp. Sau đó thêm cơ chất hiện màu (TMB). Cường độ màu tỷ lệ thuận với hàm lượng kháng nguyên có trong mẫu.

Tiến hành:
Chuẩn bị phiến: Phiến trắng miễn dịch 96 giếng được gắn kháng thể anti-HAV IgG người pha loãng trong dung dịch PBS-Tween. Ủ phiến 25 °C qua đêm rồi rửa và làm khô phiến. Dán kín, bảo quản ở 2 °C đến 8 °C, sử dụng trong 1 tuần.
Chuẩn bị mẫu vắc xin: Vắc xin mẫu chuẩn, vắc xin mẫu thử và mẫu chứng (internal control) có hấp phụ nhôm được giải hấp phụ bằng cách thêm dung dịch dinatrihydrophosphat-EDTA có bổ sung Tween 20 và gelatin hoặc muối natri citrat có bổ sung BSA. Quy trình như sau: Ly tâm mẫu với tốc độ 6000 r/min, trong 10 min để tách toàn bộ phần nước nổi rồi thêm dung dịch giải hấp phụ. Lắc đều rồi ủ ở 37 °C. Ly tâm như trên, thu dịch nổi. Tinh sạch lần 2 và 3 như trên rồi tinh sạch lần 4 qua đêm. Hỗn dịch thu được sau các lần tinh sạch với PBS (không có Ca^{2+} và Mg^{2+}) có bổ sung Tween 20 và gelatin. Các mẫu sau giải hấp phụ và mẫu chuẩn HAV không có hấp phụ được pha loãng thành ít nhất 6 độ pha.
Nhỏ các mẫu đã pha loãng vào phiến đã gắn kháng thể anti-HAV IgG người, 2 giếng/độ pha, nhỏ dung dịch pha loãng mẫu thành một hàng làm mẫu trắng. Ủ 90 min ở 37 °C. Thêm kháng thể HAV cộng hợp gắn peroxydase. Ủ 90 min ở 37 °C. Nhỏ TMB có dung dịch nước oxy già 30 % trong đệm acetat. Ủ ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng. Nhỏ 50 µl *dung dịch acid sulfuric 1 N* để dừng phản ứng. Đo OD ở bước sóng 450/620 nm.

Tính kết quả:
Kết quả được tính theo phần mềm Paralelline hoặc Excel. Hệ số tương quan (R^2) đường tuyến tính của chuẩn tính trên phần mềm Excel phải lớn hơn 95 %.
Hàm lượng kháng nguyên HAV trong mẫu thử được tính từ ít nhất 3 độ pha liên tiếp trong số các độ pha loãng dùng trong thử nghiệm.

Quy trình thử nghiệm định lượng và nhận dạng thành phần HBsAg trong vắc xin phối hợp viêm gan A (bất hoạt, hấp phụ) và vắc xin viêm gan B (tái tổ hợp, hấp phụ) theo phương pháp ELISA gián tiếp.

Nguyên lý:
Hàm lượng HBsAg trong vắc xin cần kiểm tra được định lượng theo phương pháp ELISA gián tiếp. Vắc xin được ủ với 1 lượng kháng thể đa dòng người. Sau đó lượng

kháng thể thừa được xác định bằng ủ với HBsAg chuẩn và được phát hiện bằng kháng thể kháng IgG người gắn peroxydase.

Tiến hành:

Mẫu vắc xin được pha loãng trong dung dịch PBS có chứa 0,1 % BSA và 0,1 % (tt/tt) Tween 20, tiếp tục được trộn với kháng thể đa dòng kháng HBsAg và ủ qua đêm ở nhiệt độ phòng. Sau đó ly tâm, dịch nổi được chuyển vào phiến gắn HBsAg ủ qua đêm ở 2 °C đến 8 °C cùng với HBsAg chuẩn tái tổ hợp đã được pha loãng trong *dung dịch đệm carbonat 0,05 M* (pH 9,6)(*) để xác định lượng kháng thể thừa. Lượng kháng thể thừa được xác định bằng cách sử dụng một kháng thể kháng kháng thể người gắn peroxydase. Ủ 37 °C trong 1 h. Rửa, rồi thêm dung dịch chất hiện màu (TMB). Cuối cùng nhỏ dung dịch dừng phản ứng (dung dịch acid sulfuric 1 N).

Đo OD ở bước sóng 450/620 nm. Mật độ màu tỷ lệ nghịch với hàm lượng HBsAg có trong mẫu.

(*) Pha đệm carbonat 0,05 M (pH 9,6):

Dung dịch 1: Hoà tan 2,1 g *natri hydrocarbonat (TT)* trong 500 ml *nước*.

Dung dịch 2: Hoà tan 2,65 g *natri carbonat (TT)* trong 500 ml *nước*.

Bảo quản các dung dịch trên trong lọ kín, ở 25 °C hoặc trong tủ lạnh, hạn dùng 3 tháng.

Trước khi dùng, trộn đều 70 ml Dung dịch 1 và 30 ml Dung dịch 2, được dung dịch đệm carbonat 0,05 M (pH 9,6). Bảo quản hỗn hợp dung dịch đã pha trong lọ kín, ở nhiệt độ phòng, hạn dùng 1 tháng.

Tính kết quả:

Kết quả được tính theo phần mềm Paralelline hoặc Excel. Hệ số tương quan (R^2) đường tuyến tính của chuẩn tính trên phần mềm Excel phải lớn hơn 95 %.

Hàm lượng kháng nguyên HBsAg trong mẫu thử được tính từ ít nhất 3 độ pha liên tiếp trong số các độ pha loãng dùng trong thử nghiệm.

Tiêu chuẩn chấp thuận:

Hàm lượng kháng nguyên HAV phải không dưới 60 % hàm lượng ghi trên nhãn.

Hàm lượng kháng nguyên HBsAg phải từ 21 - 37 µg HBsAg/ml.

VẮC XIN VIÊM NÃO NHẬT BẢN

Vaccinum encephalitidis japonicae

Vắc xin viêm não Nhật Bản là một chế phẩm vô khuẩn được điều chế từ chủng virus viêm não Nhật Bản (chủng Nakayama hoặc Beijing) sau khi đã được gây nhiễm vào não chuột nhắt trắng.

Quy trình sản xuất bao gồm các bước tinh chế bằng protamin sulfat, amoni sulfat, siêu ly tâm trong dung dịch saccharose. Virus viêm não Nhật Bản sau tinh chế phải có độ tinh khiết cao và duy trì được bản chất kháng nguyên để có thể tạo ra đáp ứng miễn dịch tối ưu. Kháng nguyên tinh khiết được bất hoạt bởi formaldehyd và được bảo quản bằng thimerosal.

Kiểm định vắc xin bán thành phẩm

Vô khuẩn

Bán thành phẩm viêm não Nhật Bản phải đạt yêu cầu về vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

Hiệu giá virus

Hiệu giá virus viêm não Nhật Bản được xác định bằng kỹ thuật ELISA. Hiệu giá được sử dụng như một chỉ số theo dõi tính ổn định của quy trình sản xuất.

Kiểm định vắc xin thành phẩm

Cảm quan

Mỗi loạt vắc xin viêm não Nhật Bản thành phẩm phải được kiểm tra bằng mắt thường để đảm bảo các lọ vắc xin không có dấu hiệu bất thường về cảm quan như: Vật lạ trong lọ vắc xin, nắp hay nút đã được đậy chặt và đảm bảo tính nguyên vẹn.

Vắc xin viêm não Nhật Bản ở dạng lỏng là dung dịch trong suốt, không màu.

Nhận dạng

Tiêm cho chuột lang hoặc chuột nhắt trắng, vắc xin viêm não Nhật Bản phải tạo được kháng thể trung hòa có khả năng trung hòa được virus đặc hiệu.

pH

Từ 6,8 đến 7,4 (Phụ lục 15.33).

Hàm lượng protein

Xác định bằng phương pháp Lowry. Hàm lượng protein không được quá 80 µg/ml (Phụ lục 15.34).

Chất bảo quản

Hàm lượng thimerosal không quá 0,12 mg/ml (Phụ lục 15.29).

Formaldehyd

Không quá 0,1 mg/ml (Phụ lục 15.25).

Chất gây sốt

Vắc xin viêm não Nhật Bản phải an toàn về chất gây sốt. Khi tiêm cho thỏ, tổng số nhiệt độ tăng cho 3 thỏ không được quá 1,3 °C (Phụ lục 15.12).

Vô khuẩn

Vắc xin viêm não Nhật Bản phải vô khuẩn (Phụ lục 15.7).

An toàn chung

Vắc xin viêm não Nhật Bản phải đảm bảo an toàn khi tiêm thử nghiệm trên chuột lang và chuột nhắt trắng. Chuột phải khoẻ mạnh và tăng trọng bình thường sau thời gian theo dõi 7 ngày (Phụ lục 15.11).

An toàn đặc hiệu

Vắc xin viêm não Nhật Bản phải đảm bảo an toàn khi tiêm thử nghiệm trên chuột nhắt trắng. Chuột phải khoẻ mạnh và tăng trọng bình thường sau thời gian theo dõi 14 ngày.

Tính an toàn đặc hiệu của vắc xin viêm não Nhật Bản được xác định bằng cách kiểm tra sự có mặt của virus còn sống sót sau quá trình bất hoạt.

Động vật: Sử dụng ít nhất 10 chuột nhắt trắng 4 tuần tuổi có khối lượng khoảng 12 g đến 14 g. Lựa chọn những chuột khoẻ mạnh, không có biểu hiện bệnh lý và tăng trọng bình thường trong thời gian cách ly ít nhất là 3 ngày trước khi tiến hành thử nghiệm. Chuột được chăm sóc và theo dõi trong điều kiện tiêu chuẩn.
Cách tiến hành: Mẫu vắc xin thử nghiệm không pha loãng đem tiêm vào não chuột với liều 0,03 ml cho mỗi chuột.
Theo dõi và đọc kết quả: Toàn bộ chuột thử nghiệm phải theo dõi và cân khối lượng hàng ngày trước khi tiêm và sau khi tiêm. Thời gian theo dõi chuột là 14 ngày kể từ sau ngày tiêm. Trong suốt thời gian theo dõi, chuột thử nghiệm phải khỏe mạnh, tăng trọng và không được có các triệu chứng bất thường. Nếu trong trường hợp có một chuột thử nghiệm bị liệt hoặc chết thì phải tiến hành thử nghiệm lại lần thứ hai với số vắc xin đem thử và số chuột thí nghiệm gấp 2. Nếu trong thử nghiệm lần thứ hai có một chuột bị liệt hoặc chết thì lô vắc xin thử nghiệm đó phải hủy bỏ vì không đạt yêu cầu về tính an toàn đặc hiệu.

Công hiệu
Tiến hành kiểm tra song song với vắc xin chuẩn.
Vắc xin kiểm tra và vắc xin chuẩn được pha loãng ở các độ pha 1/16, 1/32, 1/64 trong dung dịch PBS 0,75 M, pH 7,4 có chứa 0,02 % gelatin. Mỗi độ pha, tiêm 2 liều, mỗi liều 0,5 ml, đường phúc mạc, cách nhau 7 ngày cho 16 chuột nhắt trắng. Toàn bộ chuột được nuôi và theo dõi trong 2 tuần. Sau đó tiến hành lấy máu trong điều kiện vô khuẩn và để riêng máu của từng chuột, để ở 4 °C qua đêm. Tách huyết thanh và hợp huyết thanh của toàn bộ chuột (mỗi chuột 0,1 ml) của cùng một độ pha. Pha loãng huyết thanh 1/10 và bất hoạt bổ thể ở 56 °C trong 30 min. Bảo quản huyết thanh chuột đã pha loãng và bất hoạt ở -20 °C. Tiến hành chuẩn độ hiệu giá kháng thể trung hòa trên tế bào BHK21.
Kết quả được tính toán theo công thức tính giảm 50 % đám hoại tử. Hiệu giá kháng thể trung hòa của vắc xin kiểm tra không được thấp hơn vắc xin chuẩn.

Đóng gói, bảo quản, hạn dùng
Đóng ở trong lọ thủy tinh trung tính: 5,5 ml/lọ và 1 ml/lọ.
Bảo quản ở 2 °C đến 8 °C, tránh ánh sáng; tuyệt đối không được làm đông băng.
Trong điều kiện bảo quản ở trên, vắc xin viêm não Nhật Bản có hạn dùng là 24 tháng kể từ ngày sản xuất.

Nhãn
Những thông tin đối với nhãn, hộp, tờ hướng dẫn sử dụng phải đáp ứng những yêu cầu của các quy định hiện hành.

Liều tiêm, đường tiêm, lịch tiêm
Tiêm dưới da, vị trí tiêm: vào vùng cơ delta.
Dưới 36 tháng tuổi tiêm 0,5 ml/1 liều.
Trên 36 tháng tuổi tiêm 1,0 ml/1 liều.
Lịch tiêm: 2 liều cách nhau 1 tuần đến 2 tuần.
Tiêm nhắc lại: Sau 1 năm và sau đó cứ 3 năm tiêm nhắc lại một lần.

Các chuyên luận

DƯỢC LIỆU

ACTISÔ (Lá)

Folium Cynarae scolymi

Lá phơi hoặc sấy khô của cây Actisô *(Cynara scolymus* L.) họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả

Lá nhăn nheo, dài khoảng 1 m đến 1,2 m, rộng khoảng 0,5 m hay được chia nhỏ. Phiến lá xẻ thùy sâu hình lông chim, mép thùy khía răng cưa to, đỉnh răng cưa thường có gai rất nhỏ, mềm. Mặt trên lá màu nâu hoặc lục, mặt dưới màu xám trắng, lồi nhiều và những rãnh dọc rất nhỏ, song song. Lá có nhiều lông trắng vón vào nhau. Vị hơi mặn và hơi đắng.

Bột

Mảnh biểu bì phiến lá gồm những tế bào hình nhiều cạnh, mang lỗ khí và lông che chở. Mảnh biểu bì gân lá gồm tế bào hình chữ nhật, thành mỏng. Mảnh mạch xoắn, mạch mạng, mạch vòng và mạch vạch. Mảnh mô mềm. Nhiều khối nhựa màu nâu, kích thước to nhỏ không nhất định.

Định tính

A. Cắt nhỏ 3 g dược liệu, cho vào bình cầu, thêm 50 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun sôi hồi lưu trên cách thủy trong 30 min, lọc (dung dịch A).

Lấy 5 ml dung dịch A, bốc hơi trên cách thủy cho hết ethanol. Hòa cắn còn lại trong 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* và 4 ml *nước cất*, lọc. Thêm vào dịch lọc 1 ml *dung dịch natri nitrit 10 % (TT)*, để lạnh ở 10 °C trong 20 min. Thêm 4 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, xuất hiện màu hồng cánh sen bền vững.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Acid formic - butyl acetat - nước (5 : 14 : 5).

Dung dịch thử: Dung dịch A.

Dung dịch chất đối chiếu: Dung dịch cynarin 1 mg/ml trong *methanol (TT)*.

Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có cynarin chuẩn, lấy khoảng 3 g lá Actiso (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần chuẩn bị dung dịch A.

Cách tiến hành: Chấm lên bản mỏng 15 µl dung dịch thử, 10 µl mỗi dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch natri nitrit 10 % (TT)* và sau 1 min phun *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có 1 vết màu vàng (flavonoid); 1 vết màu hồng (cynarin) có cùng giá trị R_f với vết của cynarin trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu. Hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và cùng giá trị R_f với các vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không được quá 0,5 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 3 g dược liệu đã cắt nhỏ hoặc xay thành bột thô. Làm ẩm với *ethanol 96 % (TT)* trong 30 min, cho vào bình Soxhlet chiết với *ethanol 70 % (TT)* trong cách thủy cho tới hết hoạt chất (thử bằng phản ứng định tính A: dịch thử không xuất hiện màu hồng cánh sen). Cất thu hồi dung môi. Thêm 20 ml *nước cất* vào cắn, khuấy kỹ cho tan, lọc qua giấy lọc. Cho dịch lọc vào ống quay ly tâm và thêm 20 ml *dung dịch chì acetat 10 % (TT)*, khuấy đều. Ly tâm với vận tốc 3000 r/min, trong 15 min. Gạn bỏ lớp nước. Thêm vào cắn 5 ml *dung dịch acid acetic 10 % (TT)* và 25 ml *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (TT)*. Chuyển hỗn hợp vào bình định mức 100 ml, lắc đều trong 30 min. Thêm *nước cất* đến vạch, trộn đều. Lấy chính xác 20 ml hỗn hợp vào ống ly tâm và ly tâm như trên. Lấy chính xác 1 ml dung dịch trong ở phía trên cho vào bình định mức 50 ml. Thêm *methanol (TT)* đến vạch, lắc đều. Đo độ hấp thụ cực đại của dung dịch ở bước sóng 325 nm. Mẫu trắng là *methanol (TT)*.

Hàm lượng hoạt chất trong dược liệu được tính theo công thức sau:

$$\frac{A \times 5000}{616 \times P}$$

Trong đó:

A là độ hấp thụ của mẫu đo;

616 là độ hấp thụ của dung dịch cynarin 1 % trong *methanol (TT)* ở bước sóng 325 nm;

P là khối lượng dược liệu thô (đã trừ độ ẩm).

Dược liệu phải chứa không ít hơn 0,1 % hoạt chất tính theo cynarin.

Chế biến

Lá được thu hái vào năm thứ nhất của thời kỳ sinh trưởng hoặc cuối mùa hoa, đem phơi hoặc sấy khô ở 50 °C đến 60 °C. Lá cần được ổn định trước rồi mới bào chế thành dạng thuốc, có thể dùng hơi nước sôi có áp suất cao để xử lý nhanh lá. Sau đó phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô ráo, thoáng mát, phòng ẩm mốc.

Tính vị, quy kinh

Khổ, lương. Vào các kinh can, đởm.

Công năng, chủ trị

Lợi mật, chỉ thống. Chủ trị: Tiêu hóa kém, viêm gan, viêm túi mật, sỏi mật.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 8 g đến 10 g, dạng thuốc sắc.

BA KÍCH (Rễ)

Radix Morindae officinalis

Dây ruột gà

Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Ba kích (*Morinda officinalis* How), họ Cà phê (Rubiaceae).

Mô tả

Rễ hình trụ tròn hay hơi dẹt, cong queo, dài 3 cm trở lên, đường kính 0,3 cm trở lên. Mặt ngoài màu nâu xám hoặc nâu nhạt, có nhiều vân dọc và ngang. Nhiều chỗ nứt ngang sâu tới lõi gỗ. Mặt cắt có phần thịt dày màu tím xám hoặc màu hồng nhạt, giữa là lõi gỗ nhỏ màu vàng nâu. Vị hơi ngọt và hơi chát.

Vi phẫu

Mặt cắt dược liệu hình tròn, từ ngoài vào trong có: Lớp bần gồm 2 đến 3 hàng tế bào hình chữ nhật xếp thành vòng tròn đồng tâm và dãy xuyên tâm, trong lớp bần thường có các tế bào chứa bó tinh thể calci oxalat hình kim, sát lớp bần có các tế bào mô cứng xếp liền nhau tạo thành vòng. Mô mềm vỏ dày, cấu tạo bởi những tế bào thành mỏng, xếp lộn xộn, các tế bào ở phần ngoài bị ép bẹp. Phía trong mô mềm là libe, gồm các tế bào nhỏ tạo thành vòng liên tục. Rải rác trong mô mềm và libe có các bó tinh thể calci oxalat hình kim. Gỗ gồm các mạch gỗ lớn xếp thành bó, các bó kết hợp với nhau tạo thành lõi hình sao 5, 6 cạnh. Trong mô gỗ có những đám tế bào không hóa gỗ.

Bột

Bột có màu nâu nhạt, vị hơi chát, mùi thơm dịu. Soi dưới kính hiển vị thấy: Mảnh bần gồm các tế bào hình chữ nhật, mảnh mô mềm cấu tạo bởi các tế bào hình nhiều cạnh thành mỏng, một số tế bào chứa bó tinh thể calci oxalat hình kim. Sợi gỗ. Có nhiều tế bào mô cứng thành dày hóa gỗ, các lỗ trao đổi rõ. Nhiều tinh thể calci oxalat hình kim, dài khoảng 0,1 mm và các đoạn gãy của chúng. Rải rác có các hạt tinh bột và nhiều mạch điểm.

Định tính

A. Đun sôi 0,10 g bột dược liệu với 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)* và 9 ml *nước*, rồi lọc. Thêm *acid hydrocloric (TT)* cho đến phản ứng hơi acid và 10 ml *ether ethylic (TT)*, lắc. Lớp ether sẽ nhuộm màu vàng. Gạn riêng lớp ether, thêm 5 ml *amoniac (TT)*, lắc. Lớp dung dịch amoniac sẽ nhuộm màu đỏ tím bền vững.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa (30 °C đến 40 °C) - ethyl acetat - acid acetic băng (7,5 : 2,5 : 0,25).

Dung dịch thử: Lấy khoảng 5 g bột dược liệu thêm 10 ml *nước*, lắc để nước thấm đều dược liệu, để yên 15 min, nghiền bột dược liệu trong cối sứ thành bột ướt, thêm 40 ml *methanol (TT)*, cho vào bình cầu miệng mài, đun sôi hồi lưu trên cách thủy trong 30 min, lọc, làm bay hơi dung môi đến cạn. Thêm vào cắn 5 ml *nước* và 20 ml *ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (TT)*, lắc khoảng 3 min đến 5 min, để lắng, gạn lấy phần dịch chiết ether dầu hỏa, làm bay hơi hết dung môi. Hòa cắn trong 2 ml *methanol (TT)* làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 5 g dược liệu Ba kích (mẫu chuẩn) và tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí, phun *dung dịch kali hydroxyd 10 % trong ethanol (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết (2 đến 3 vết) màu đỏ, cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tỷ lệ vụn nát

Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.12).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Tỉ lệ dược liệu xơ, hóa gỗ, đường kính dưới 0,3 cm: Không được có.

Chất chiết được trong dược liệu

Không được ít hơn 50,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10), dùng *nước* làm dung môi.

Chế biến

Có thể đào lấy rễ quanh năm. Rễ được rửa sạch đất cát, loại bỏ rễ con, phơi khô tới khi không dính tay, đập nhẹ cho bẹp, phơi đến khô hoặc sấy nhẹ đến khô.

Bào chế

Ba kích nhục: Lấy Ba kích sạch đồ kỹ hoặc luộc qua, khi còn đang nóng rút bỏ lõi gỗ, cắt đoạn, phơi khô.

Diêm ba kích nhục: Lấy Ba kích sạch trộn với nước muối cho đều, đồ kỹ, rút lõi gỗ, cắt đoạn phơi khô. Cứ 100 kg Ba kích dùng 2 kg muối và lượng nước vừa đủ hòa tan, lọc trong.

Chích ba kích: Lấy Cam thảo giã dập, sắc lấy nước, bỏ bã. Cho Ba kích sạch vào, đun đến khi mềm xốp có thể rút lõi gỗ, lấy ra rút lõi khi còn nóng, cắt đoạn, phơi khô. Cứ 100 kg Ba kích dùng 6 kg Cam thảo.

Bảo quản

Để nơi khô, thoáng, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, tân, vi ôn. Vào kinh thận.

Công năng, chủ trị

Bổ thận dương, mạnh gân xương. Chủ trị: Liệt dương, di tinh, tử cung lạnh, phụ nữ khó mang thai, kinh nguyệt không đều, bụng dưới đau lạnh, phong thấp tê đau, gân xương mềm yếu.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 9 g. Dạng thuốc sắc. Thường phối hợp với một số vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Âm hư hỏa vượng, táo bón không nên dùng.

BÁ TỬ NHÂN
Semen Platycladi orientalis

Là hạt trong "nón cái" già (còn gọi là "quả") được phơi hay sấy khô của cây Trắc bá *[Platycladus orientalis* (L.) Franco], họ Hoàng đàn (Cupressaceae).

Mô tả
Hạt hình trứng dài hoặc bầu dục hẹp, dài 4 mm đến 7 mm, đường kính 1,5 mm đến 3 mm. Mặt ngoài màu trắng vàng nhạt hoặc màu vàng nâu nhạt, có phủ một vỏ lụa dạng màng, đỉnh hơi nhọn, có một điểm nhỏ màu nâu thẫm, đáy tròn tù. Chất mềm, nhiều dầu. Mùi thơm nhẹ, vị nhạt.

Độ ẩm
Không quá 7,0 % (Phụ lục 12.13).

Chỉ số acid
Không quá 40,0 (Phụ lục 7.2).
Tán thành bột thô 50 g mẫu thử, cho vào bình Soxhlet, thêm 100 ml *hexan (TT)*, chiết hồi lưu trong 2 h, để nguội, lọc qua phễu lọc thủy tinh xốp số 3, cất thu hồi dung môi dưới áp lực giảm, lấy một phần dầu thu được để xác định chỉ số acid theo Phụ lục 7.2. Phần còn lại xác định chỉ số carbonyl và chỉ số peroxyd.

Chỉ số carbonyl
Chỉ số carbonyl là số milimol của hợp chất có nhóm carbonyl có trong dầu béo của 1 kg dầu béo.
Không quá 30,0. Xác định theo phương pháp sau:
Cân chính xác 0,02 g dầu béo (thu được từ phép thử Chỉ số acid) cho vào bình định mức 25 ml, thêm *toluen (TT)* để hòa tan và pha loãng đến vạch với cùng dung môi. Lấy chính xác 5,0 ml dung dịch thu được vào bình nón 25 ml có nút mài, thêm 3 ml *dung dịch acid tricloroacetic (TT)* 4,3 % trong *toluen (TT)* và 5 ml *dung dịch 2,4-dinitrophenylhydrazin (TT)* 0,05 % trong *toluen (TT)*, trộn đều, đun 30 min trong cách thủy 60 °C, để nguội, thêm từ từ dọc theo thành bình 10 ml *dung dịch kali hydroxyd 4 % trong ethanol (TT)*, đậy nút bình nón, lắc kỹ trong 1 min, để yên 10 min. Tiến hành đo độ hấp thụ của dung dịch thu được (Phụ lục 4.1) tại bước sóng 453 nm, tính chỉ số carbonyl theo công thức sau:

$$\text{Chỉ số carbonyl} = \frac{A \times 5}{854 \times G} \times 1000$$

Trong đó:
A là độ hấp thụ đo được;
G là khối lượng của dầu béo (g);
854 là giá trị trung bình của hệ số hấp thụ phân tử gam (tính theo milimol) của dẫn chất *2,4*-dinitrophenylhydrazin và nhóm carbonyl.

Chỉ số peroxyd
Chỉ số peroxyd là phần trăm iod tự do được tạo thành từ phản ứng của hợp chất peroxyd trong dầu béo với kali iodid.
Không quá 0,26. Xác định theo phương pháp sau:
Lấy 3 g dầu béo (thu được ở phép thử Chỉ số acid) vào một bình nón 250 ml, thêm 30 ml hỗn hợp *cloroform - acid acetic băng* (1 : 1), lắc cho tan hoàn toàn. Thêm chính xác 1 ml *dung dịch kali iodid bão hòa (TT)* mới pha, đậy kín, lắc nhẹ trong 30 s, để yên ở chỗ tối 3 min, thêm 100 ml *nước*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)* đến khi có màu vàng nhạt, thêm 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)*, tiếp tục chuẩn độ đến khi mất màu xanh dương. Song song tiến hành một mẫu trắng. Tính chỉ số peroxyd theo công thức sau:

$$\text{Chỉ số peroxyd} = \frac{(A - B) \times 0{,}001269}{G} \times 100$$

Trong đó:
A là thể tích *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)* đã dùng với mẫu thử (ml);
B là thể tích *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)* đã dùng với mẫu trắng (ml);
G là khối lượng chất kiểm tra (g);
0,001269 là lượng iod (g) tương đương với 1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (TT)*.

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến
Thu hoạch vào mùa thu và mùa đông. Khi hạt chín, thu hái "quả", lấy hạt phơi khô. Trước khi dùng, loại bỏ tạp chất và vỏ "quả" còn sót lại.
Bá tử sương: Lấy Bá tử nhân khô đã loại bỏ tạp chất và vỏ "quả" còn sót lại, giã nát, gói vào giấy thấm, sấy cho hơi khô, ép bỏ hết dầu, giã nhỏ.

Bảo quản
Để nơi khô, mát, tránh nóng và mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Cam, bình. Vào các kinh tâm, thận, đại trường.

Công năng, chủ trị
Dưỡng tâm, an thần, chỉ hãn, nhuận tràng. Chủ trị: Hư phiền mất ngủ, hồi hộp đánh trống ngực, âm hư, ra mồ hôi trộm, táo bón.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 12 g, thường phối hợp với các vị thuốc khác.

BẠC HÀ
Herba Menthae

Bộ phận trên mặt đất, thu hái vào thời kỳ vừa ra hoa, phơi trong râm hoặc sấy nhẹ cho đến khô của cây Bạc hà (*Mentha arvensis* L.), họ Bạc hà (Lamiaceae).

Mô tả
Thân có thiết diện vuông, nhẹ, xốp, dài khoảng 20 cm đến 40 cm, đường kính khoảng 0,15 cm đến 0,30 cm. Thân chia đốt, khoảng cách giữa các mấu khoảng 3 cm đến 7 cm, màu nâu tím hoặc xanh xám, có nhiều lông hoặc gần như không có lông. Mặt cắt ngang có màu trắng, thân già đôi khi rỗng ở giữa. Lá mọc đối, cuống lá dài từ 0,5 cm đến 1,5 cm, phiến lá hình mũi mác, dài 3 cm đến 7 cm, rộng 1,5 cm đến 3 cm. Đầu lá thuôn nhọn hoặc hơi tù, mép có răng cưa nhọn. Hai mặt lá đều có lông nhiều hay ít. Lá khô dễ vụn nát. Cụm hoa mọc ở kẽ lá. Dược liệu có mùi thơm dễ chịu, vị cay nhẹ, sau mát.

Vi phẫu
Lá: Biểu bì trên và dưới mang lông che chở nhiều hay rất hiếm tùy theo chủng hay thứ, thường tập trung ở gân giữa. Lông che chở đa bào một dãy, thường có từ 2 đến 6 tế bào, bề mặt lấm tấm, có đoạn bị thắt hẹp lại. Lông tiết rất nhiều, có trên cả hai mặt lá, chứa đầy tinh dầu; có hai loại: lông tiết đầu đơn bào, hình bầu dục, chân ngắn; và loại lông tiết đa bào, đầu to tròn có từ 4 đến 8 tế bào chứa tinh dầu, chân một tế bào, thường nằm trong vùng lõm của biểu bì trên và dưới. Hai đám mô dày nằm sát biểu bì trên và dưới ở phần gân chính. Bó libe-gỗ hình cung, nằm giữa phần mô mềm của gân chính. Phía dưới bó libe-gỗ có cung mô dày bao bọc cung libe. Phần phiến lá có mô mềm giậu ở sát biểu bì trên, gồm một hàng tế bào hình chữ nhật xếp sát nhau, bên dưới là mô mềm khuyết.
Thân: Vi phẫu thân có thiết diện vuông với bốn góc lồi nhiều hoặc ít. Biểu bì mang lông che chở và lông tiết như ở lá. Bên dưới biểu bì là mô dày, thường tập trung nhiều ở bốn góc lồi, mô mềm vỏ thường là mô mềm khuyết. Ở thân già thường có các đám sợi trụ bì tập trung ở nơi ứng với bốn góc lồi. Mạch gỗ cấp 2, bó gỗ cấp 1 thường tập trung tại bốn góc lồi làm cho cấu tạo thân ở bốn góc khác ở các cạnh. Mô mềm tủy có thể hóa mô cứng một phần ở vùng sát với gỗ cấp 1.

Bột
Bột có màu xanh lục nhạt, mùi thơm mát. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì có màng hơi ngoằn ngoèo mang lỗ khí kiểu trực bào. Một số chủng có nhiều lông che chở, một số có rất ít. Lông che chở gồm các tế bào dài gần bằng nhau, bề mặt lấm tấm, hay có đoạn thắt ở khoảng giữa. Lông tiết có nhiều, chân ngắn, đầu một hoặc nhiều tế bào (thường là hai, bốn, tám tế bào) chứa tinh dầu màu vàng nhạt, chiết quang, thường gặp ở dạng tròn, không thấy chân. Mảnh mô mềm của lá và thân, mảnh mạch vạch, mạch xoắn; đám sợi, tế bào mô cứng của thân già. Nếu là bột lấy từ cành có hoa thì ngoài các thành phần nêu trên còn có mảnh cánh hoa, đài hoa, chỉ nhị, hạt phấn hoa...

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Cyclohexan - ethyl acetat - aceton (8 : 1 : 1).
Dung dịch thử: Lấy khoảng 0,2 ml tinh dầu bạc hà được ở phần Định lượng, hòa trong 1 ml *cloroform (TT)* dùng làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch menthol 0,1 % trong *cloroform (TT).*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng khoảng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, phun lên bản mỏng *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT).* Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong khoảng 5 min. Quan sát dưới ánh sáng thường.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có hơn 5 vết màu xanh, tím hay xanh tím, trong đó có một vết to nhất và đậm nhất có cùng màu sắc và giá trị R_f với vết menthol của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13), dùng 10 g dược liệu đã cắt nhỏ.

Tro toàn phần
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.8).

Tỷ lệ vụn nát
Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.12).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng
Định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7).
Lấy chính xác khoảng 30 g dược liệu khô đã cắt nhỏ vào bình cầu dung tích 500 ml của bộ dụng cụ định lượng tinh dầu trong dược liệu (tinh dầu nhẹ hơn nước). Thêm 300 ml *nước*, tiến hành cất trong 3 h với tốc độ 2,5 ml/min đến 3,5 ml/min.
Dược liệu phải chứa ít nhất 1,0 % tinh dầu, tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch khi cây vừa ra hoa, lúc trời khô ráo, cắt lấy dược liệu, loại bỏ tạp chất, phơi trong bóng râm hoặc sấy nhẹ ở 30 °C đến 40 °C đến khô.

Bào chế
Loại bỏ tạp chất, thân già, phun nước cho hơi ẩm, ủ hơi mềm, cắt thành đoạn ngắn, kịp thời phơi khô ở nhiệt độ thấp hoặc có thể vi sao (nhiệt độ thấp hơn 60 °C).

Bảo quản
Để nơi khô, mát; từng thời gian kiểm tra lại hàm lượng tinh dầu.

Tính vị, quy kinh
Tân, lương. Vào các kinh phế, can.

Công năng, chủ trị
Sơ phong thanh nhiệt, thấu chẩn, sơ can giải uất. Chủ trị: Cảm mạo phong nhiệt, đau đầu, đau mắt đỏ; thúc đẩy sởi đậu mọc; can uất ngực sườn căng tức.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 12 g đến 20 g, dạng thuốc sắc; khi sắc thuốc nên cho Bạc hà vào sau.

Kiêng kỵ
Người khí hư huyết táo, mồ hôi nhiều, trẻ em dưới 1 tuổi không nên dùng.

BÁCH BỆNH (Rễ)

Radix Eurycomae longifoliae
Bá bệnh, Mật nhân

Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Bách bệnh (*Eurycoma longifolia* Jack), họ Thanh thất (Simaroubaceae).

Mô tả
Rễ hình trụ tròn, đường kính từ 2,0 cm đến 8,5 cm, hơi cong, bị chặt thành từng đoạn 40 cm đến 50 cm. Mặt ngoài màu vàng nâu, trơn hay hơi xù xì, có rễ con. Mặt cắt ngang màu trắng ngà, có lớp bần mỏng, không thấy vân đồng tâm. Chất cứng, khó bẻ gãy.

Vi phẫu
Mặt cắt rễ hình gần tròn, từ ngoài vào trong có: Lớp bần gồm nhiều hàng tế bào hình chữ nhật (6 đến 10 hàng), bong tróc, thành mỏng xếp chồng lên nhau. Mô mềm vỏ gồm nhiều hàng tế bào hình đa giác thành mỏng, có đám mô cứng nằm rải rác. Libe gồm các tế bào nhỏ tạo thành vòng liên tục. Xen kẽ giữa các lớp libe đôi khi có những tia gồm nhiều tế bào xếp chồng lên nhau như cột sống chạy từ phần gỗ ra. Tủy hóa gỗ hoàn toàn, mạch gỗ rộng.

Bột
Bột màu vàng, nhiều xơ, vị đắng rõ. Nhiều hạt tinh bột, đứng riêng lẻ hay kép đôi, kép ba, không rõ vân, hình cầu hay hình trứng, đường kính khoảng 200 µm. Mô mềm gồm các tế bào thành mỏng. Mảnh bần có nhiều tế bào hình đa giác, thành hơi dày, kích thước khoảng 1300 µm × 1700 µm. Tinh thể calci oxalat hình thoi hay khối. Mảnh mạch mạng (kích thước khoảng 500 µm × 480 µm), mạch điểm (kích thước khoảng 400 µm × 1000 µm). Các sợi rời hay kết thành bó. Chất tiết màu đỏ. Tế bào mô cứng hình cầu, thành dày, khoang rộng (kích thước khoảng 250 µm × 150 µm).

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol (9 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột thô dược liệu, thêm 20 ml *methanol (TT)*, đun trên cách thủy trong 10 min, để nguội, lọc. Cho dịch lọc vào chén sứ, cô đến cắn. Hòa cắn bằng 1 ml *methanol (TT)* làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột thô dược liệu Bách bệnh (mẫu chuẩn) và tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Phun *thuốc thử Dragendorff (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có ít nhất 1 vết màu vàng cam có cùng giá trị R_f với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
Thực hiện lặp lại phép thử như mô tả ở trên. Bản mỏng sau khi triển khai xong được phun hỗn hợp *dung dịch vanilin 1 % - acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)* (1 : 1). Sấy bản mỏng ở 110 °C trong 5 min. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có ít nhất 2 vết màu đen đậm và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C đến 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 2,5 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric
Không quá 0,7 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu
Không được dưới 3,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Đào lấy rễ, rửa sạch đất cát, cắt bỏ đầu, sau đó phơi khô hoặc thái lát phơi khô.

Bào chế
Rễ bá bệnh được rửa sạch, phơi khô. Khi dùng, cần cạo bỏ lớp vỏ bần bên ngoài, thái vát thành những miếng mỏng, có kích thước dài 3 cm đến 5 cm, dày 2 mm đến 3 mm. Sao vàng.

Bảo quản
Trong bao bì kín. Để nơi khô, mát, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Vị đắng, tính ôn. Quy kinh thận, tỳ, vị.

Công năng, chủ trị
Bổ khí huyết, ôn tỳ thận. Chủ trị: Khí huyết lưỡng hư, cơ thể yếu mệt, thiếu máu, ăn uống kém, khó tiêu, các bệnh tả, lỵ, các trường hợp sinh dục yếu, dương suy, tảo tiết. Còn dùng để chữa cảm mạo, phát sốt, sốt rét, giải độc rượu, tẩy giun.

Cách dùng, liều lượng
Ngày 8 g đến 16 g, dưới dạng thuốc sắc, thuốc hoàn hoặc ngâm rượu.

Kiêng kỵ
Phụ nữ có thai không được dùng.

BÁCH BỘ (Rễ)
Radix Stemonae tuberosae

Rễ củ đã phơi hoặc sấy khô của cây Bách bộ (*Stemona tuberosa* Lour.), họ Bách bộ (Stemonaceae).

Mô tả
Rễ củ hình trụ cong queo, dài 10 cm đến 20 cm, đường kính 1 cm đến 2 cm. Thường để nguyên cả rễ củ hoặc cắt đôi theo chiều ngang hay bổ đôi theo chiều dọc. Đầu trên đôi khi còn vết tích của cổ rễ, đầu dưới thuôn nhỏ. Mặt ngoài màu vàng nâu nhạt, có nhiều nếp nhăn dọc. Mặt cắt ngang thấy mô mềm vỏ khá dày, màu vàng nâu; lõi giữa màu trắng ngà.

Vi phẫu
Ngoài cùng là lớp bần có chỗ bị rách. Ở rễ củ non vẫn còn biểu bì gồm những tế bào xếp đều đặn, phía ngoài phủ lớp cutin. Lớp mô mềm vỏ rất dày, chiếm phần lớn vi phẫu gồm các tế bào gần tròn tương đối đều nhau, có thành mỏng. Các tế bào mô mềm xếp lộn xộn tạo ra những khoảng gian bào nhỏ. Nội bì cấu tạo bởi một lớp tế bào có thành dày hình chữ nhật, xếp đều đặn. Libe-gỗ cấu tạo cấp 1, phân hóa hướng tâm. Bó libe xếp xen kẽ bó gỗ và nằm sát nhau nên giữa chúng không tạo thành những tia ruột. Mô mềm tủy cấu tạo bởi những tế bào to nhỏ không đều, thành mỏng, xếp lộn xộn.

Bột
Mảnh bần màu vàng gồm tế bào hình nhiều cạnh, thành dày. Mảnh mô mềm tế bào hình tròn, hình chữ nhật, thành mỏng, rải rác có tế bào chứa hạt tinh bột hình trái xoan. Hạt tinh bột có rốn và vân khá rõ, rốn lệch tâm, vân đồng tâm. Sợi dài có thành dày, khoang rộng. Mảnh mạch điểm. Rải rác có tinh thể calci oxalat hình cầu gai, hình khối.

Định tính
A. Cân khoảng 2 g bột dược liệu, thấm ẩm bằng *amoniac đậm đặc (TT)*, để yên 20 min. Thêm 15 ml *cloroform (TT)*, đun trong cách thủy 5 min. Lọc, bốc hơi dịch lọc trên cách thủy đến khô. Hòa tan cắn trong 6 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Lọc, dùng dịch lọc làm các phản ứng sau:
Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, xuất hiện tủa trắng.
Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)*, xuất hiện tủa đỏ nâu.
Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)*, xuất hiện tủa đỏ gạch.
Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 giọt *dung dịch bão hòa acid picric (TT)* sẽ xuất hiện tủa vàng.
B. Cân 1 g bột dược liệu, thêm 5 ml *nước*, đun sôi, lọc. Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 ml *thuốc thử Fehling (TT)*, đun sôi sẽ xuất hiện tủa đỏ gạch.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - amoniac đậm đặc (50 : 9 : 1).
Dung dịch thử: Cân 2 g bột dược liệu đã sấy khô, thấm ẩm bằng *amoniac đậm đặc (TT)*, để yên 20 min, rồi chiết lần 1 với 15 ml *methanol (TT)* trên cách thủy trong 10 min. Sau đó chiết lần 2 với 10 ml *methanol (TT)*. Gộp dịch chiết, để nguội, lọc. Bốc hơi dịch lọc tới khô. Hòa tan cắn bằng 2 ml *methanol (TT)*.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan tuberostemonin LG trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có tuberostemonin LG có thể dùng 2 g bột Bách bộ (mẫu chuẩn) và tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng khoảng 30 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra, để bay hết hơi dung môi ở nhiệt độ phòng. Phun *thuốc thử Dragendorff (TT)*. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có ít nhất 6 vết, trong đó phải có vết màu hồng có giá trị R_f khoảng 0,80 tương đương với vết tuberostemonin LG trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu. Hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 14,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 - 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng
Cân chính xác khoảng 2 g bột dược liệu (qua rây số 355) cho vào bình Soxhlet rồi chiết bằng *methanol (TT)* hoặc *ethanol 96 % (TT)* cho đến khi hết alcaloid (chiết khoảng 2 h, xác định theo Phụ lục 12.3, dùng 1 giọt *thuốc thử Mayer (TT)*). Cất thu hồi dung môi. Hòa tan cắn bằng 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 % (TT)*. Lọc lấy dịch acid. Tráng cắn và giấy lọc với khoảng 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 % (TT)* và gộp chung với dịch lọc trên. Kiềm hóa dịch lọc bằng *amoniac đậm đặc (TT)* tới pH 10, chiết với *ether (TT)* 5 lần, 2 lần đầu mỗi lần 15 ml và 3 lần sau mỗi lần 10 ml. Sau đó chiết tiếp bằng *cloroform (TT)* 4 lần, mỗi lần 10 ml. Gộp dịch chiết ether và cloroform. Làm bay hơi trên cách thủy tới khô. Hòa tan cắn với 10,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)*, thêm 5 ml *nước* và 2 giọt *dung dịch đỏ methyl (TT)*, chuẩn độ acid thừa bằng *dung*

dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ). Hàm lượng alcaloid toàn phần (X %) được tính theo công thức

$$X\% = \frac{(10 - n) \times 3,75}{a}$$

Trong đó:
n là thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* đã dùng, tính bằng ml;
a là khối lượng bột dược liệu đem định lượng đã trừ độ ẩm, tính bằng gam.
Dược liệu phải chứa ít nhất 0,50 % alcaloid toàn phần tính theo tuberostemonin LG ($C_{22}H_{33}NO_4$), tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Đào lấy rễ củ lúc trời khô ráo, tốt nhất là vào mùa thu khi lá bắt đầu chuyển sang màu vàng, rửa sạch đất cát, cắt bỏ rễ ở hai đầu, đem đồ vừa chín hoặc nhúng nước sôi. Loại nhỏ để nguyên, loại to bổ đôi rồi phơi nắng hoặc sấy ở 50 °C đến 60 °C đến khô.

Bào chế
Lấy Bách bộ khô, rửa sạch, ủ mềm, thái lát dày, phơi khô.
Bách bộ tẩm mật: Lấy lát Bách bộ khô, trộn đều với mật ong luyện và một ít nước sôi, ủ 30 min cho ngấm đều, sao nhỏ lửa cho tới không dính tay, lấy ra để nguội. Cứ 100 kg Bách bộ thái lát dùng 12,5 kg mật ong.

Bảo quản
Để nơi khô, ráo, tránh ẩm, mốc.

Tính vị, quy kinh
Cam, khổ, vi ôn. Vào kinh phế.

Công năng, chủ trị
Ôn phế, nhuận phế, chỉ ho, sát trùng. Chủ trị: Ho mới hoặc ho lâu ngày, ho gà, ho lao, viêm phế quản mạn tính. Dùng ngoài trị chấy, rận, ghẻ lở, giun kim, ngứa âm hộ.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 8 g đến 12 g, dạng thuốc sắc, cao, viên hoặc bột.
Dùng ngoài: Lượng thích hợp. Nấu lấy nước để rửa hoặc nấu cao để bôi, xoa.

Kiêng kỵ
Tỳ vị hư hàn không dùng.

BÁCH HỢP (Thân hành)
Bulbus Lilii

Vảy đã chế biến, phơi khô lấy ở thân hành cây Bách hợp (*Lilium brownii* F.E.Brown var. *viridulum* Baker hoặc *Lilium pumilum* DC.), họ Hoa loa kèn (Liliaceae).

Mô tả
Vảy hình bầu dục dài, dài 2 cm đến 5 cm, rộng 1 cm đến 2 cm, phần giữa dày 1,3 mm đến 4 mm, mặt ngoài màu trắng ngà, màu vàng nâu hoặc hơi tía, có các gân dọc màu trắng (các bó mạch), đỉnh nhọn, gốc tương đối phẳng, mép mỏng, không có răng cưa, hơi cong vào phía trong. Chất cứng và dai, mặt gãy phẳng, trơn bóng như sừng. Không mùi, vị hơi đắng.

Vi phẫu
Mặt cắt ngang có hình bầu dục hẹp. Lớp ngoài cùng là biểu bì gồm các tế bào rất đều đặn, phía trong là tế bào hình nhiều cạnh chứa đầy tinh bột, rải rác có những bó mạch.

Bột
Màu vàng nhạt, có các mảnh biểu bì, mảnh mô mềm với tế bào chứa tinh bột. Hạt tinh bột hình trứng, rốn hình sao hay hình mắt chim có vân rõ. Có các mảnh mạch mạng.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: Dùng lớp trên của hỗn hợp dung môi gồm *ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C) - ethyl acetat - acid formic* (15 : 5 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu vào bình nón, thêm 10 ml *methanol (TT)*, lắc hoặc siêu âm 20 min, lọc. Cô dịch lọc đến còn 1 ml dùng làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g Bách hợp (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, phun *dung dịch acid phosphomolybdic 10 % trong ethanol (TT)*, sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 3,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 18,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10), dùng *nước* làm dung môi.

Chế biến
Lúc trời khô ráo, đào lấy thân hành, rửa sạch đất cát, phơi cho hơi se, tách ra từng vảy, phơi khô.

Bào chế
Bách hợp tẩm mật: Lấy Bách hợp sạch, thêm mật ong và một ít nước sôi, quấy đều cho ngấm, cho vào chảo sạch, sao nhỏ lửa tới khi không dính tay thì lấy ra, để nguội. Cứ 100 kg Bách hợp thì dùng 5 kg mật ong đã cạnh.

Bảo quản
Để nơi thoáng, khô.

Tính vị, quy kinh
Cam, hàn. Vào các kinh phế, tâm.

Công năng, chủ trị
Dưỡng âm, nhuận phế, thanh tâm, an thần. Chủ trị: Âm hư, ho lâu ngày, trong đờm lẫn máu, hư phiền, kinh hãi, tim đập mạnh, mất ngủ, hay ngủ mê, tinh thần hoảng sợ.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 12 g. Dạng thuốc sắc hoặc dạng bột.

Kiêng kỵ
Trúng hàn (cảm lạnh), hàn thấp ứ trệ, tỳ, thận dương suy không nên dùng.

BẠCH CẬP (Thân rễ)
Rhizoma Bletillae striatae

Thân rễ phơi hay sấy khô của cây Bạch cập [*Bletilla striata* (Thunb.) Reichb. f.], họ Lan (Orchidaceae).

Mô tả
Thân rễ hình cầu dẹt, không đều, có 2 đến 3 ngạnh dạng móng, dài 1,5 cm đến 5 cm, dày 0,5 cm đến 1,5 cm. Mặt ngoài trắng ngà hoặc trắng xám, có các vòng đồng tâm và có các nốt màu nâu là sẹo của rễ con, các sẹo của thân nhỏ cao lên ở phần trên, phần dưới có vết nối của củ khác. Chất cứng chắc và khó bẻ gãy, mặt cắt ngang màu hơi trắng, trong như sừng. Không mùi. Vị đắng, nhai dính, dẻo.

Bột
Màu trắng ngà hay vàng nhạt, hơi ánh nâu. Soi kính hiển vi thấy: Các mảnh tế bào biểu bì thành dày, hóa gỗ, không phẳng, có những ống lỗ rõ rệt. Tinh thể calci oxalat hình kim dài 18 µm đến 88 µm có trong các tế bào lớn, hình gần tròn, chứa chất nhày hoặc nằm rải rác bên ngoài. Bó sợi đường kính 11 µm đến 30 µm, thành tế bào hóa gỗ có lỗ hình bầu dục hay hình chữ V. Các mạch thang, mạch vạch, mạch xoắn đường kính 10 µm đến 32 µm. Khối hạt tinh bột hồ hóa không màu.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cyclohexan - ethyl acetat - methanol (6 : 2,5 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu vào bình nón, thêm 20 ml *methanol 70 % (TT)*, lắc siêu âm 30 min, lọc. Bốc hơi dịch lọc đến khô, hòa tan cắn trong 20 ml *nước*. Tiến hành chiết 2 lần, mỗi lần với 20 ml *ether (TT)*, gộp các dịch chiết ether, bốc hơi tới còn 1 ml.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Bạch cập (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl dung dịch thử và 10 µl dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí. Phun *dung dịch acid sulfuric 10% trong ethanol (TT)*, sấy ở 105 °C trong vài phút, để yên 30 min đến 60 min. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 1,5 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến
Thu hoạch vào mùa hạ và mùa thu, lấy thân rễ, rửa sạch đất cát, bỏ rễ con, luộc hoặc đồ lên đến khi mặt cắt ngang thân rễ không còn lõi trắng, phơi đến khô se, bỏ vỏ ngoài rồi phơi tiếp đến khô.

Bào chế
Lấy Bạch cập sạch, hấp cho mềm đều, thái phiến phơi khô.

Bảo quản
Để nơi khô, thoáng.

Tính vị, quy kinh
Khổ, cam, sáp, vi hàn. Vào kinh phế, vị.

Công năng, chủ trị
Thu liễm chỉ huyết, sinh cơ tiêu sưng. Chủ trị: Lao phổi ho ra máu, nôn ra máu, chấn thương chảy máu, da nứt nẻ, nhọt độc viêm tấy.

Cách dùng
Ngày dùng từ 6 g đến 15 g, dạng thuốc sắc.
Ngày dùng từ 3 g đến 6 g, dạng thuốc viên hoặc thuốc bột để uống.
Dùng bôi, đắp ngoài với lượng phù hợp.

Kiêng kỵ
Không kết hợp với các loại thuốc Ô đầu (Ô đầu, Phụ tử, Thiên hùng).

BẠCH CHỈ (Rễ)
Radix Angelicae dahuricae

Rễ phơi hay sấy khô của cây Bạch chỉ [*Angelica dahurica* (Hoffm.) Benth. & Hook. f. ex Franch. &Sav.], họ Hoa tán (Apiaceae).

Mô tả
Rễ hình chùy, thẳng hay cong, dài 10 cm đến 20 cm, đường kính phần to có thể đến 3 cm, phần cuối thon nhỏ dần. Mặt ngoài củ có màu vàng nâu nhạt, còn dấu vết của rễ con đã cắt bỏ, có nhiều vết nhăn dọc và nhiều lỗ vỏ lồi lên thành những vết sần ngang. Mặt cắt ngang có màu trắng hay trắng ngà, tầng sinh libe-gỗ rõ rệt. Thể chất cứng, vết bẻ lởm chởm, nhiều bột. Mùi thơm hắc, vị cay hơi đắng.
Dược liệu sau khi đã chế biến là những phiến dày gần tròn. Mặt ngoài màu nâu xám hoặc nâu vàng. Mặt bẻ gẫy màu trắng hoặc trắng xám, có tinh bột, có vòng màu nâu gần tròn hoặc thuôn (của tầng phát sinh libe-gỗ), rải rác có các chấm (nốt) chứa tinh dầu. Mùi thơm, vị cay hơi đắng.

Vi phẫu
Lớp bần gồm nhiều hàng tế bào hình chữ nhật có vách dày. Mô mềm vỏ gồm những tế bào thành mỏng, hình nhiều cạnh, có những khuyết to, nhiều ống tiết to nằm rải rác trong mô mềm và cả trong vùng libe. Libe-gỗ cấp 2 bị tia ruột chia cắt thành từng mảng hình quạt. Tầng sinh libe-gỗ không liên tục. Mô mềm gỗ hóa gỗ rất ít.

Bột
Bột có màu trắng mịn hay trắng ngà, mùi thơm hắc, vị đắng. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh bần màu vàng nâu, vách dày. Mảnh mô mềm chứa nhiều hạt tinh bột, hạt tinh bột có hình trứng hay hình nhiều cạnh đứng riêng rẽ hay dính vào nhau. Mảnh mạch mạng, mạch vạch, mạch điểm. Khối màu vàng, vàng sậm.

Định tính
A. Lấy 5 g bột dược liệu, thêm 50 ml *ethanol (TT)*, lắc đều, đun trên cách thủy 5 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy còn khoảng 10 ml (dung dịch A). Lấy 1 ml dung dịch A cho vào một ống nghiệm, thêm 1 ml *dung dịch natri carbonat 10 % (TT)* hay *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)* và 3 ml *nước cất*, đun trong cách thủy 3 min, để thật nguội, cho từ từ từng giọt *thuốc thử Diazo (TT)* sẽ xuất hiện màu đỏ cam.
B. Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 3 ml *nước*, lắc đều trong 3 min, lọc. Nhỏ 2 giọt dịch lọc vào 1 tờ giấy lọc, để khô, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm thấy có huỳnh quang màu xanh da trời.
C. Cho 0,5 g dược liệu vào ống nghiệm, thêm 3 ml *ether (TT)*, lắc 5 min, để yên 20 min. Lấy 1 ml dịch chiết ether, thêm 2 giọt đến 3 giọt *dung dịch hydroxylamin hydroclorid 7 % trong methanol (TT)* và thêm 3 giọt *dung dịch kali hydroxyd 20 % trong methanol (TT)*. Lắc kỹ, đun nhẹ trên cách thủy, để nguội, điều chỉnh pH tới 3 đến 4 bằng *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*, sau đó thêm 1 giọt đến 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 1 % trong ethanol (TT)*, xuất hiện màu đỏ tím.
D. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Cyclohexan - ethyl acetat* (8 : 2).
Dung dịch thử: Lấy 4 ml dung dịch A, cô trên cách thủy còn khoảng 2 ml.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 5 g bột Bạch chỉ (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 4 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết phát huỳnh quang màu xanh da trời và cùng giá trị R_f với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 14,0 % (Phụ lục 12.13).
Dùng khoảng 10 g dược liệu đã nghiền nhỏ.

Tro toàn phần
Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric
Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ vụn nát
Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.12).

Chất chiết được trong dược liệu
Không được ít hơn 15,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10).
Dùng *ethanol 50 % (TT)* làm dung môi.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Methanol - nước* (55 : 45).
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng imperatorin chuẩn và hòa tan trong *methanol (TT)* để được dung dịch chuẩn có nồng độ 10 µg/ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,4 g bột dược liệu (qua rây số 355) vào bình định mức 50 ml, thêm 45 ml *methanol (TT)*, siêu âm 1 h, để nguội, thêm *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch, trộn đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm được dung dịch thử.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 300 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min đến 2 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch chuẩn. Tính số đĩa lý thuyết, số đĩa lý thuyết không được dưới 3000 tính theo pic của imperatorin.
Tiêm riêng biệt dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{14}O_4$ trong imperatorin chuẩn, tính hàm lượng imperatorin trong dược liệu
Hàm lượng imperatorin ($C_{16}H_{14}O_4$) trong dược liệu không được dưới 0,08 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa hạ, thu. Khi trời khô ráo, đào lấy rễ củ (tránh làm sây sát và gãy, không lấy củ ở cây ra hoa kết quả). Rửa nhanh, cắt bỏ rễ con, phân riêng các rễ củ có kích thước như nhau. Phơi nắng hay sấy ở 40 °C đến 50 °C cho đến khô.

Bào chế
Loại bỏ tạp chất, phân loại to nhỏ, ngâm qua, ủ mềm, thái lát dày, phơi khô trong râm hay sấy nhẹ đến khô. Khi dùng, thái phiến dài 3 cm đến 5 cm, dày 1 mm đến 3 mm. Vi sao.

Bảo quản
Để nơi khô mát, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Tân ôn. Vào các kinh vị, đại trường, phế.

Công năng, chủ trị
Giải biểu, khu phong, thắng thấp, hoạt huyết tống mủ ra, sinh cơ chỉ đau. Chủ trị: Cảm mạo phong hàn, nhức đầu vùng trán, đau xương lông mày, ngạt mũi, chảy nước mũi do viêm xoang, đau răng; mụn nhọt sưng tấy, vết thương có mủ, ngứa ở các bộ phận trong người.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 3 g đến 9 g, dạng thuốc sắc hoặc tán bột. Thường phối hợp với một số vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Âm hư hỏa vượng, nhiệt thịnh không nên dùng.

BẠCH ĐẬU KHẤU (Quả)
Fructus Amomi

Quả gần chín đã phơi khô của cây Bạch đậu khấu (*Amomum krervanh* Pierre ex Gagnep. hoặc *Amomum compactum* Soland. ex Maton), họ Gừng (Zingiberaceae).

Mô tả
Quả hình cầu dẹt, có 3 múi, đường kính 1 cm đến 1,5 cm. Mặt ngoài vỏ màu trắng ngà, có một số đường vân dọc, đôi khi còn sót cuống quả. Vỏ quả khô dễ tách. Mỗi quả có 20 hạt đến 30 hạt, gọi là khấu mễ hoặc khấu nhân, tập hợp thành khối hình cầu gọi là khấu cầu. Khấu cầu chia làm 3 múi có thành mỏng màu trắng ngăn cách, mỗi múi có 7 hạt đến 10 hạt. Hình dạng hạt không đồng nhất, phần nhiều là hình khối nhiều mặt không đều, đường kính khoảng 3 mm, mặt ngoài màu nâu nhạt đến nâu thẫm, có vân nhỏ, chất cứng. Mặt cắt ngang màu trắng. Hạt chứa nhiều tinh dầu. Mùi thơm, vị cay.

Vi phẫu (Hạt)
Vỏ hạt gồm các tế bào hình chữ nhật, có thành hơi dày. Các tế bào chứa sắc tố màu hồng nâu, to nhỏ không đều. Tế bào chứa tinh dầu. Hạt tinh bột có đường kính 3 µm đến 6 µm. Tinh thể calci oxalat hình kim, hình khối lập phương.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Tỷ lệ quả non, lép: Không quá 10,0 %.
Tạp chất khác: Không quá 3,0 %.

Định lượng
Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7), dùng 30 g bột thô dược liệu và 150 ml nước, cất trong 4 h. Dược liệu phải chứa ít nhất 4,0 % tinh dầu tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Hái quả khi có màu lục, bỏ cuống, phơi khô. Khi dùng bỏ vỏ quả lấy hạt, giã nát.

Bảo quản
Để nơi khô, mát, trong bao bì kín, tránh mọt.

Tính vị, quy kinh
Tân, ôn. Vào các kinh phế, tỳ, vị.

Công năng, chủ trị
Hóa thấp, hành khí, tiêu bĩ, ôn vị. Chủ trị: Tiêu hóa kém, hàn thấp nôn mửa, ngực bụng đau trướng, giải độc rượu.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 6 g, dạng thuốc bột hoặc thuốc sắc (cho vào sau khi sắc các thuốc khác).

Kiêng kỵ
Trường vị thực nhiệt, táo bón không dùng.

BẠCH ĐỒNG NỮ (Cành mang lá)
Folium Clerodendri chinense

Lá đã phơi hay sấy khô của cây Bạch đồng nữ (*Clerodendrum chinense* var. *simplex* (Mold.) S. L. Chen), họ Cỏ roi ngựa (Verbenaceae).
Tên đồng nghĩa: *Clenrodendrum philippinum* Schauer var. *simplex* Mold.; *Clerodendrum fragrans* Schauer in DC.

Mô tả
Đoạn cành mang lá, có thể mang hoa. Cành non gần như vuông, có lông tơ mịn màu trắng ngà; cành già gần như nhẵn, màu xanh nâu. Lá đơn, mọc đối, phiến lá hình trái xoan rộng, dài khoảng 20 cm và rộng khoảng 8 cm; chóp lá nhọn, gốc lá hơi lõm hình tim, mép xẻ răng cưa đều; mặt trên nháp, màu xanh xám; mặt dưới có lông tơ và có tuyến nhỏ tròn; gân bên 4 đến 5 đôi, 3 gân gốc; cuống lá dài 3 cm đến 10 cm, có lông. Cụm hoa hình ngù ở đỉnh cành, dày, rộng 5 - 10 cm, cuống có lông. Hoa đơn. Lá bắc giống hình ngọn giáo - thuôn, màu xanh xám, dài 1 - 2 cm, giữa có các gân. Đài hoa màu nâu đất, hình phễu, dài 1,5 - 2,5 cm có lông và có tuyến ở phía ngoài; 5 thùy dạng ngọn giáo, dài 10 - 16 mm. Tràng hơi nhàu, có màu vàng nâu, hình ống, ống tràng dài 2 - 2,5 cm, nhẵn, xẻ 5 thùy phía trên, thùy

hình bầu dục dài 8 - 10 mm. Nhị 4, thò ra khỏi tràng; chỉ nhị đính trên ống tràng. Vòi nhụy dài bằng nhị, đỉnh xẻ 2 thùy.

Vi phẫu

Gân lá: Phía trên lồi ít, phía dưới lồi nhiều. Biểu bì trên và dưới là một lớp tế bào hình tròn, nhỏ, xếp đều đặn. Phía ngoài biểu bì mang nhiều lông che chở đa bào gồm 4 đến 5 tế bào và lông tiết. Phía dưới lớp biểu bì trên là đám mô dày góc, sát biểu bì dưới có 4 đến 5 hàng mô dày, cấu tạo bởi các tế bào hình trứng thành dày. Có nhiều bó libe-gỗ xếp thành cung lớn, mỗi bó gồm cung libe ôm lấy mô gỗ. Mô mềm cấu tạo bởi các tế bào thành mỏng, hình tròn hoặc đa giác.

Phiến lá: Biểu bì giống phần gân lá, mang nhiều lông che chở. Mô giậu là một lớp tế bào hình chữ nhật, xếp sít nhau và thẳng góc với biểu bì trên.

Soi bột

Bột màu nâu xám. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh bần cấu tạo bởi những tế bào hình chữ nhật hay đa giác xếp thành lớp; mảnh mô mềm mang các hạt tinh bột gần tròn; mảnh biểu bì gồm các tế bào thành mỏng mang lỗ khí hình bầu dục; sợi dài, thành dày thường tập trung thành từng bó; lông tiết nhìn nghiêng có đầu to tròn, chân bé, nhìn thẳng từ trên xuống có hình tròn; lông che chở đơn hay đa bào, còn nguyên hay gãy thành từng mảnh; các tế bào mô cứng thành dày, mang tinh thể calxi oxalat hình khối; mảnh mạch điểm hoặc vạch.

Định tính

A. Dùng dung dịch thử để chấm sắc ký trong phần Phương pháp sắc ký lớp mỏng để làm các phản ứng sau:

Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 5 giọt *acid hydrocloric (TT)* và ít bột *magnesi (TT)*, lắc đều, xuất hiện màu đỏ hồng.

Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 2 giọt *dung dịch natri hydroxyd 20 % (TT)*, xuất hiện tủa vàng cam, tủa sẽ tan trong lượng dư thuốc thử.

Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 ml *ethanol 90 % (TT)*, lắc đều, thêm 3 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, dung dịch chuyển từ xanh nhạt sang xanh đen.

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - acid formic - nước (8 : 1 : 1).

Dung dịch thử: Lấy khoảng 10 g bột dược liệu cho vào bình nón 250 ml, thêm 100 ml *ethanol 90 % (TT)*, lắc đều và đun hồi lưu trong cách thủy khoảng 30 min. Lọc, lấy dịch lọc và cô trong cách thủy tới cắn khô. Thêm vào cắn 10 ml *n-hexan (TT)*, dùng đũa thủy tinh khuấy kỹ rồi gạn bỏ lớp dung môi. Làm như vậy thêm một lần nữa. Hòa tan cắn còn lại trong 5 ml *ethanol 90 % (TT)*, đun nóng nhẹ cho tan. Lọc, lấy dịch lọc để chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 10 g bột cành và lá Bạch đồng nữ (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng để khô trong không khí. Quan sát sắc ký đồ dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm và hiện màu bằng hơi *amoniac (TT)*. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 5 g bột dược liệu (qua rây số 355) cho vào bình nón, thêm 50 ml *cloroform (TT)*, ngâm và lắc trong 30 min, lọc. Bỏ dịch chiết cloroform, bay hơi bã đến khô. Thêm tiếp 50 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm 30 min, gạn lấy dịch chiết. Bã được chiết như trên 2 lần nữa. Gộp các dịch chiết, cất thu hồi methanol dưới áp suất giảm tới cắn. Hòa tan cắn trong 10 ml *nước* nóng, đun trong cách thủy ở 60 °C trong 15 min, khuấy kỹ để hòa tan. Lọc nóng qua bông, sau đó lọc tiếp qua giấy lọc gấp nếp. Lọc và tráng nhiều lần để thu dịch lọc (5 ml *nước* nóng/1 lần × 5 lần). Để nguội, gộp dịch lọc và dịch rửa vào bình gạn, lắc với *ethyl acetat (TT)* 5 lần, mỗi lần 50 ml. Gộp dịch chiết ethyl acetat, cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm đến còn khoảng 20 ml, cho vào cốc đã cân bì, bay hơi trên cách thủy đến cắn. Sấy cắn ở 60 °C đến khối lượng không đổi, để nguội trong bình hút ẩm 30 min rồi đem cân ngay. Tính hàm lượng cắn thu được.

Hàm lượng cắn thu được phải không được ít hơn 0,5 %, tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hái quanh năm, tốt nhất vào mùa hè, lúc cây ra hoa, cắt lấy đoạn cành mang lá, rửa sạch, phơi khô.

Bào chế

Chọn lấy lá bánh tẻ, bỏ cuống, thái nhỏ, phơi khô.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô ráo.

Tính vị, quy kinh

Vị khổ, lương. Vào kinh tâm, tỳ.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt giải độc, khu phong trừ thấp, tiêu viêm. Chủ trị: Khí hư bạch đới, viêm loét tử cung, kinh nguyệt không đều, cao huyết áp, mụn nhọt lở ngứa.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng 10 g đến 12 g; dạng thuốc sắc hay thuốc hoàn. Thường phối hợp với một số vị thuốc khác.

Dùng ngoài: Nấu nước rửa vết thương, mụn nhọt lở loét, ghẻ lở. Lượng thích hợp.

BẠCH GIỚI TỬ

Semen Sinapis albae

Hạt cải trắng

Hạt của quả chín đã phơi hay sấy khô của cây Cải trắng (*Sinapis alba* L.), họ Cải (Brassicaceae).

Mô tả

Hạt nhỏ hình cầu, đường kính 1,5 mm đến 3 mm, mặt ngoài màu trắng xám hay vàng nhạt, có vân hình mạng rất nhỏ, rốn hạt hình chấm nhỏ rõ. Hạt khô chắc, khi ngâm nước nở to ra. Lớp vỏ cứng mỏng, bóng. Khi cắt hạt ra thấy có lá mầm gấp, màu trắng, có chất dầu, không màu, vị hăng cay.

Vi phẫu

Vỏ hạt có tế bào chứa chất nhày, hạ bì có 2 lớp tế bào mô dày. Có một hàng tế bào đá xếp đều đặn, thành bên trong dày, thành bên ngoài mỏng. Tế bào mô mềm của lá mầm chứa giọt dầu và hạt aleuron.

Bột

Bột màu vàng. Có các mảnh mô mềm, tế bào vỏ hạt hình đa giác không đều, thành mỏng. Mảnh nội nhũ và lá mầm. Các giọt dầu.

Định tính

Lấy 1 g dược liệu tán nhỏ, thêm 10 ml nước, đun sôi, lọc được dịch lọc A.

A. Lấy 2 ml dịch lọc A, thêm 5 giọt *thuốc thử Millon*, để vài phút sẽ có màu đỏ

Điều chế *thuốc thử Millon* bằng một trong hai cách sau đây:

Cách 1: Hòa tan 10 g *thủy ngân (I) nitrat* trong 8,5 ml *dung dịch acid nitric 32 % (TT)* và pha thêm gấp hai lần thể tích nước, rồi gạn lấy phần nước trong.

Cách 2: Hòa tan 10 g *thủy ngân* trong 15 ml *acid nitric (TT)*, thêm 30 ml *nước* và gạn lấy phần nước trong.

B. Lấy 2 ml dịch lọc A, thêm 5 giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, sẽ có màu vàng nâu.

Độ ẩm

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất

Tỷ lệ hạt non, lép: Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Không được ít hơn 12,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp ngâm lạnh (Phụ lục 12.10). Dùng *nước* làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào cuối mùa hạ, đầu mùa thu, hái quả chín, phơi cho nứt vỏ ngoài, lấy hạt bên trong phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Bạch giới tử sống: Loại tạp chất, khi dùng giã dập.

Bạch giới tử sao: Lấy bạch giới tử sạch, sao nhỏ lửa tới khi bột có màu vàng sẫm, mùi thơm cay bốc lên thì lấy ra để nguội, khi dùng giã dập nát.

Bảo quản

Để nơi khô, thoáng, trong bao bì kín, tránh sâu, mọt.

Tính vị, quy kinh

Tân, ôn. Vào kinh phế.

Công năng, chủ trị

Lý khí trừ đờm, thông kinh lạc chỉ thống. Chủ trị: Ho suyễn, đau tức ngực do hàn đờm. Khớp xương tê đau do đàm thấp lưu trú, âm thư, thũng độc.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Dùng ngoài với lượng thích hợp để đắp nơi đau, thũng độc.

Kiêng kỵ

Phế hư, ho khan không dùng.

BẠCH HOA XÀ THIỆT THẢO

Herba Hedyotis diffusae

Dược liệu là toàn cây phơi hay sấy khô của cây Bạch hoa xà thiệt thảo [*Hedyotis diffusa* (Willd.)], họ Cà phê (Rubiaceae).

Mô tả

Loài cỏ nhỏ. Thân màu nâu nhạt, tròn ở gốc, thân non có bốn cạnh, mang rất nhiều cành. Lá hình mác thuôn, dài khoảng 1,5 cm đến 3,5 cm, rộng 1 mm đến 2 mm, nhọn ở đầu, màu xám, dai, gần như không có cuống, lá kèm khía răng cưa ở đỉnh. Hoa mọc đơn độc, hoặc từng đôi ở nách lá. Hoa nhỏ có 4 lá đài hình giáo nhọn, ống đài hình cầu. Tràng gồm 4 cánh hoa, 4 nhị dính ở họng ống tràng. Quả bế, bầu hạ, còn đài, hình cầu hơi dẹt ở 2 đầu, bên trong có chứa nhiều hạt nhỏ, có góc cạnh.

Vi phẫu

Thân: Mặt cắt ngang gần như vuông, các góc hơi tù. Biểu bì gồm một hàng tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn, có những tế bào u to thành gai ngắn, mập tầm silic. Mô mềm vỏ gồm 4 đến 5 hàng tế bào thành mỏng xếp lộn xộn; to nhỏ không đều có chứa tinh thể calci oxalat hình kim tụ lại hay rải rác. Vòng libe-gỗ cấp 2 uốn lượn theo hình dạng của mặt cắt, có các mạch gỗ to. Mô mềm ruột cấu tạo bởi các tế bào hình tròn thành mỏng gồm khoảng 3 đến 4 hàng tế bào sau đó là khuyết.

Lá: Biểu bì trên gồm một lớp tế bào hình chữ nhật to, biểu bì dưới gồm một lớp tế bào nhỏ hơn, cả hai đều có các u lồi tầm silic. Mô mềm giậu gồm nhiều lớp tế bào xếp sát biểu bì trên. Tế bào mô mềm thành mỏng, có tế bào chứa tinh thể calci oxalat hình kim. Bó libe-gỗ ở gân lá xếp thành hình vòng cung ở giữa lá.

Bột
Bột có màu nâu. Tế bào biểu bì không màu thành mỏng, tinh thể calci oxalat hình kim nằm riêng lẻ hay tụ thành từng bó. Mảnh biểu bì có các u lồi tầm silic. Sợi có thành dày. Mảnh mạch xoắn, mạch điểm.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cloroform - ethyl acetat (7 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 5 g bột dược liệu, thêm 50 ml *nước*, đun sôi trong 10 min. Lọc qua bông, thêm vào dịch lọc 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)*, đun trong cách thủy sôi 30 min. Để nguội, chiết với 20 ml *ether ethylic (TT)*. Gạn lấy dịch chiết ether, để bay hơi ở nhiệt độ phòng đến cắn. Hòa cắn trong 1 ml *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan acid oleanolic chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch acid oleanolic 1 %. Nếu không có acid oleanolic có thể dùng 5 g bột Bạch hoa xà thiệt thảo (mẫu chuẩn) chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi khai triển, lấy bản mỏng ra khỏi bình sắc ký, để bay hơi hết dung môi ở nhiệt độ phòng. Phun lên bản mỏng hỗn hợp đồng lượng *dung dịch vanilin 2 % trong ethanol 96 % (TT)* và *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol 96 % (TT)*. Sấy bản mỏng ở 105 °C cho đến khi xuất hiện vết. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết có cùng vị trí và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất
Không quá 2,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 8,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96,0 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hái vào mùa hạ, lấy toàn cây, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô. Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, cắt đoạn, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Cam, khổ, hàn. Quy vào các kinh: can, vị, đại trường, tiểu trường.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt giải độc, lợi niệu thông lâm, tiêu ung tán kết. Chủ trị: Ho, hen xuyễn do phế thực nhiệt, lâm lậu do bàng quang thấp nhiệt, viêm amidan, viêm họng cấp, sang chẩn, rắn độc cắn, mụn nhọt ung bướu, dương hoàng (viêm gan cấp tính).

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 15 g đến 60 g dạng khô, hoặc từ 60 g đến 320 g dạng tươi, phối hợp trong các bài thuốc.
Dùng ngoài dạng tươi, lượng thích hợp giã nát đắp tại chỗ.

Kiêng kỵ
Không dùng cho phụ nữ có thai.

BẠCH TẬT LÊ (Quả)
Fructus Tribuli terrestris
Thích tật lê, Gai chống, Gai sầu

Quả chín phơi khô của cây Bạch tật lê (*Tribulus terrestris* L.), họ Tật lê (Zygophyllaceae).

Mô tả
Quả hình cầu, đường kính 12 mm đến 15 mm. Vỏ quả màu lục hơi vàng, có các gờ dọc và nhiều gai nhỏ, xếp đối xứng một đôi gai dài và một đôi gai ngắn; hai mặt bên thô ráp, có vân mạng lưới, màu trắng xám. Chất cứng, không mùi. Vị đắng, cay.

Bột
Màu lục vàng. Soi kính hiển vi thấy: Sợi vỏ quả hóa gỗ, ở lớp trên và lớp dưới xếp đan chéo nhau, sợi đơn lẻ rải rác; đôi khi có bó sợi nối tiếp các tế bào đá. Tế bào đá hình bầu dục dài hoặc gần tròn, xếp thành từng nhóm. Tế bào vỏ cứng hình nhiều cạnh hoặc gần vuông, đường kính khoảng 30 µm; thành tế bào có vân hình mạng lưới dày lên và hóa gỗ. Các tinh thể calci oxalat hình lăng trụ đường kính 8 µm đến 20 µm.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G.*
Dung môi khai triển: Dùng lớp dưới của hỗn hợp dung môi gồm *cloroform - methanol - nước* (13 : 7 : 2) được để yên ở dưới 10 °C.
Dung dịch thử: Lấy 3 g bột dược liệu vào bình nón, thêm 50 ml *cloroform (TT)*, siêu âm 30 min, lọc. Bỏ dịch chiết cloroform, bay hơi bã đến khô. Thêm 1 ml *nước* vào bã trộn đều, thêm tiếp 50 ml *n-butanol đã bão hòa nước (TT)*, lắc siêu âm 30 min, gạn lấy dịch chiết butanol, rửa hai lần với cùng thể tích *amoniac (TT)*, bỏ nước rửa. Bay hơi n-butanol đến khô, hòa tan cắn trong 1 ml *methanol (TT)* dùng làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 3 g bột Bạch tật lê (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí. Phun *dung dịch p-dimethylaminobenzaldehyd* (Hòa tan 1 g *p-dimethylaminobenzaldehyd (TT)* trong 34 ml *acid hydrocloric (TT)* và 100 ml *methanol (TT)*, trộn đều). Sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.8).

Chế biến
Thu hoạch vào mùa thu, khi quả chín, cắt cả cây, phơi khô, thu lấy quả, bỏ gai cứng.

Bào chế
Tật lê: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, trừ bỏ gai cứng còn sót, phơi khô.
Tật lê sao: Lấy Tật lê sạch, cho vào nồi, sao lửa nhỏ, cho đến khi màu hơi vàng là được, lấy ra phơi khô.

Bảo quản
Để nơi khô, tránh mốc.

Tính vị, quy kinh
Tân, khổ, vi ôn, hơi độc. Vào kinh can, phế.

Công năng, chủ trị
Bình can giải uất, hoạt huyết, khu phong, sáng mắt, ngừng ngứa. Chủ trị: Nhức đầu, chóng mặt; ngực sườn đau trướng, tắc sữa, viêm (nhọt) vú; đau mắt đỏ kéo màng mắt; phong chẩn, ngứa.

Liều lượng, cách dùng
Ngày dùng từ 6 g đến 9 g, dạng thuốc sắc.

BẠCH THƯỢC (Rễ)
Radix Paeoniae lactiflorae

Rễ đã cạo bỏ lớp bần và phơi hay sấy khô của cây Thược dược (*Paeonia lactiflora* Pall.), họ Hoàng liên (Ranunculaceae).

Mô tả
Rễ hình trụ tròn, thẳng hoặc đôi khi hơi uốn cong, hai đầu phẳng; đều nhau hoặc một đầu to hơn, dài 5 cm đến 18 cm, đường kính 1 cm đến 2,5 cm. Mặt ngoài hơi trắng hoặc hồng nhạt, đôi khi có màu nâu thẫm, nhẵn hoặc có nếp nhăn dọc và vết tích của rễ nhỏ. Chất rắn chắc, nặng, khó bẻ gãy. Mặt cắt phẳng màu trắng ngà hoặc hơi phớt hồng, vỏ hẹp, gỗ thành tia rõ đôi khi có khe nứt. Không mùi. Vị hơi đắng và chua.

Dược liệu thái lát: Lát mỏng gần tròn, bên ngoài nhẵn mịn, màu trắng hoặc hơi phớt hồng. Vị hơi đắng và chua.

Bột
Bột màu trắng. Soi kính hiển vi thấy: Các khối tinh bột bị hồ hóa. Tinh thể calci oxalat đường kính 11 µm đến 35 µm xếp thành hàng hay rải rác trong tế bào mô mềm; mạch mạng có đường kính 20 µm đến 65 µm. Sợi gỗ dài, đường kính 15 µm đến 40 µm, thành dày hơi hóa gỗ.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G.*
Dung môi khai triển: *Cloroform - ethyl acetat - methanol - acid formic* (40 : 5 : 10 : 0,2).
Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ethanol 96 % (TT)*, lắc kỹ trong 5 min, lọc. Bốc hơi dịch lọc đến khô, hòa tan cắn trong 2 ml *ethanol 96 % (TT)* được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan paeoniflorin chuẩn trong *ethanol 96 % (TT)* được dung dịch có chứa 1 mg/ml. Nếu không có paeoniflorin chuẩn thì lấy 0,5 g bột Bạch thược (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng rẽ lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch vanilin 5 % trong acid sulfuric (TT)*, sấy ở 105 °C đến khi xuất hiện rõ vết. Trên sắc ký đồ, dung dịch thử phải có vết cùng giá trị R_f và màu sắc với vết của paeoniflorin hoặc phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 4,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 0,5 % (Phụ lục 12.11).

Kim loại nặng
Không quá 5 phần triệu Pb, 0,3 phần triệu Cd, 2 phần triệu As, 0,2 phần triệu Hg và 20 phần triệu Cu (Phụ lục 9.4.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không được ít hơn 22,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *nước* làm dung môi.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Acetonitril - dung dịch acid phosphoric 0,1 %* (14 : 86).
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng paeoniflorin chuẩn và hòa tan trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 60 µg/ml.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,1 g bột dược liệu vào bình định mức 50 ml, thêm 35 ml *ethanol 50 % (TT)*, lắc siêu âm trong 30 min, để nguội, thêm *ethanol 50 % (TT)* đến vạch, lắc đều, lọc qua giấy lọc thường, bỏ 10 ml dịch lọc đầu, lọc dịch lọc sau qua màng lọc 0,45 µm được dung dịch thử.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký dung dịch chuẩn theo điều kiện đã mô tả, tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết tính theo pic paeoniflorin không được dưới 2000.

Tiến hành sắc ký dung dịch chuẩn và dung dịch thử theo điều kiện đã mô tả, ghi sắc ký đồ. Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{23}H_{28}O_{11}$ của paeoniflorin chuẩn, tính hàm lượng paeoniflorin trong dược liệu.

Dược liệu phải chứa ít nhất 1,6 % paeoniflorin ($C_{23}H_{28}O_{11}$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Đào lấy rễ, rửa sạch đất cát, cắt bỏ đầu đuôi và rễ con, cạo sạch vỏ ngoài sau đó luộc chín hoặc luộc chín rồi bỏ vỏ, phơi khô hoặc thái lát phơi khô.

Dược liệu thái lát: Lấy rễ chưa thái lát, làm ẩm, ủ mềm, thái lát mỏng, phơi khô.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Khổ, toan, vi hàn. Vào các kinh tỳ, can, phế.

Công năng, chủ trị

Bổ huyết, dưỡng âm, thư cân, bình can, chỉ thống. Chủ trị: Huyết hư, da xanh xao, đau sườn ngực, mồ hôi trộm, kinh nguyệt không đều, âm hư phát sốt, chóng mặt đau đầu, chân tay co rút, đau bụng do can khắc tỳ.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 8 g đến 12 g, dạng thuốc sắc, hoặc thuốc hoàn. Thường phối hợp với một số vị thuốc khác.

Kiêng kỵ

Đầy bụng không nên dùng. Không dùng cùng Lê lô.

BẠCH TRUẬT (Thân rễ)

Rhizoma Atractylodis macrocephalae

Thân rễ phơi hay sấy khô của cây Bạch truật (*Atractylodes macrocephala* Koidz.), họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả

Thân rễ to (quen gọi là củ) có hình dạng thay đổi, hình chùy có nhiều mấu phình ra, phía trên thót nhỏ lại, hoặc từng khúc mập, nạc, dài 5 cm đến 10 cm, đường kính 2 cm đến 5 cm. Mặt ngoài màu nâu nhạt hoặc xám, có nhiều mấu, có vân hình hoa cúc, có nhiều nếp nhăn dọc. Chất cứng khó bẻ gãy, mặt cắt không phẳng, có màu vàng đến nâu nhạt, rải rác có khoang chứa tinh dầu màu nâu vàng, mùi đặc trưng.

Vi phẫu

Lớp bần gồm nhiều hàng tế bào xếp khá đều đặn. Lớp mô mềm gồm những tế bào hình nhiều cạnh, có thành mỏng, có khoang chứa tinh dầu và rải rác có các tinh thể calci oxalat hình kim. Phía trên libe có những đám tế bào mô cứng đa số hóa sợi. Tầng phát sinh libe-gỗ thành vòng rõ rệt. Libe-gỗ xếp thành tia tỏa tròn. Tia ruột hẹp.

Bột

Bột có màu vàng nâu, mùi thơm đặc trưng, vị đắng. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh bần gồm những tế bào hình nhiều cạnh, thành dày. Tế bào mô cứng hình nhiều cạnh, thành dày, có lỗ trao đổi. Mảnh mô mềm chứa tinh thể calci oxalat hình cầu gai và có các khoang chứa tinh dầu có màu nâu đến nâu vàng. Tinh thể calci oxalat hình kim có đầu nhọn nằm riêng rẽ hay thành đám. Mảnh mạch vạch, mạch mạng. Khối nhựa màu vàng, nâu, đỏ.

Định tính

A. Lắc 2 g bột dược liệu với 20 ml *ether (TT)* trong 10 min và lọc. Bốc hơi 10 ml dịch lọc tới khô, thêm vài giọt *dung dịch vanilin - acid sulfuric (TT)*, đun nóng trên cách thủy 3 min đến 5 min, xuất hiện màu hồng tím.

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

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) - ethyl acetat* (50 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 5 ml *n-hexan (TT)* cho vào bình nút kín, lắc khoảng 30 min, lọc lấy dịch lọc để làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,5 g bột Bạch truật (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra sấy nhẹ hoặc để khô ngoài không khí, rồi phun *dung dịch vanilin 1 % trong dung dịch acid sulfuric 5 %*. Sấy bản mỏng ở 60 °C trong khoảng 15 min đến khi các vết xuất hiện rõ, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và cùng màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu, vết chính ở trên cùng có màu đỏ.

Độ ẩm

Không quá 14,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 3,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch thân rễ ở cây đã trồng 2 năm đến 3 năm, khi lá ở gốc cây đã khô vàng, đào lấy thân rễ, rửa sạch đất, bỏ rễ con, phơi hay sấy nhẹ cho khô.

Bào chế
Bạch truật đã loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái lát dày, làm khô.
Thổ Bạch truật: Lấy Bạch truật phiến, dùng bột mịn phục long can (đất lòng bếp) sao đến khi mặt ngoài có màu đất, rây bỏ đất, cứ 100 kg Bạch truật phiến dùng 20 kg bột mịn phục long can.
Bạch truật sao: Lấy cám mật chích, cho vào trong nồi nóng, khi khói bốc lên thì cho Bạch truật phiến vào sao cho đến khi có màu vàng sém, có mùi thơm cháy, lấy ra rây bỏ cám mật chích, cứ 100 kg Bạch truật phiến dùng 40 kg cám mật chích. Có thể chỉ sao Bạch truật với cám gạo, cách làm như trên.

Bảo quản
Để nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Khổ, cam, ôn. Vào các kinh tỳ, vị.

Công năng, chủ trị
Kiện tỳ ích khí, táo thấp, lợi thủy, cố biểu liễm hàn, an thai.
Chủ trị: Tiêu hóa kém, bụng trướng tiêu chảy, phù thũng, tự hãn, động thai.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc hoặc bột. Bạch truật sao cám, tẩm mật ong tăng tác dụng kiện tỳ, sao cháy có tác dụng chỉ huyết.

Kiêng kỵ
Âm hư nội nhiệt, tân dịch hư hao gây đại tiện táo, không dùng.

BÁN BIÊN LIÊN
Herba Lobeliae chinensis

Toàn cây phơi hay sấy khô của cây Bán biên liên (*Lobelia chinensis* Lour.), họ Hoa chuông (Campanunlaceae).

Mô tả
Thường cuốn với nhau tạo thành khối. Thân rễ có màu vàng nâu nhạt, mặt ngoài nhẵn hoặc có nếp nhăn dọc nhỏ, đường kính 1 mm đến 2 mm. Rễ nhỏ mảnh, màu vàng, mang nhiều rễ phụ. Thân cây nhỏ, mảnh, phân nhánh nhiều, màu lục xám, có nhiều nốt sần nhỏ, đôi khi mang rễ sợi. Lá mọc so le, không cuống, phiến lá hình ngọn giáo hẹp, dài 1 cm đến 2,5 cm, rộng 2 cm đến 5 cm, mép lá có răng cưa nông, thưa, lá thường xoăn lại, màu nâu lục. Hoa nhỏ có cuống mảnh, mọc đơn độc, tràng hoa dính liền thành ống ở phần dưới, xẻ 5 thùy ở phần trên, quay sang một phía, màu đỏ tím nhạt, có lông tơ mịn ở mặt trong ống tràng. Mùi nhẹ, vị hơi ngọt, cay.

Bột
Màu lục vàng xám hoặc màu vàng nâu nhạt. Tế bào biểu bì lá có thành hơi lồi lên, uốn lượn, lỗ khí kiểu hỗn bào có 3 tế bào đến 7 tế bào kèm. Mạch xoắn, mạch lưới có đường kính 7 µm đến 34 µm. Bó tinh thể calci oxalat thường thấy ở bên các bó mạch, đôi khi xếp thành hàng. Ống nhựa mủ chứa các giọt dầu. Tế bào mô mềm hình chữ nhật, thành hơi dày lên, chứa các hạt inulin.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Cloroform - methanol* (9 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 50 ml *methanol (TT)*, siêu âm trong 30 min, để nguội, lọc. Bay hơi dịch lọc tới khô và hòa tan cặn trong 2 ml *methanol (TT)* được dung dịch chấm sắc ký.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Bán biên liên (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*, sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi các vết hiện rõ. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng ban ngày và dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 366 nm. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không được quá 10,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Chất chiết được trong dược liệu
Không được ít hơn 12,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10) dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hái vào mùa hạ, loại bỏ tạp chất, rửa sạch, cắt đoạn, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản
Để nơi khô, mát.

Tính vị, quy kinh
Vị ngọt, cay, tính hàn. Vào kinh tâm, tiểu tràng, phế.

Công năng, chủ trị
Thanh tâm, giải độc, lợi tiểu, tiêu sưng. Chủ trị: Ung nhọt sưng đau, côn trùng hoặc rắn độc cắn, bụng chướng to, phù thũng, viêm gan vàng da, eczema.

Liều lượng, cách dùng
Ngày dùng 9 g đến 15 g, dạng thuốc sắc, hoặc hãm; thường phối hợp với các vị thuốc khác.

BÁN CHI LIÊN

Herba Scutellariae barbatae
Hoàng cầm râu, Nha loát thảo

Toàn cây phơi hoặc sấy khô của cây Bán chi liên (*Scutellaria barbata* D. Don), họ Bạc hà (Lamiaceae).

Mô tả
Rễ mảnh dẻ. Thân vuông, tụ lại thành bó, tương đối mỏng, mặt ngoài màu tím sẫm hoặc màu xanh lục hơi nâu. Lá mọc đối, có cuống ngắn, phiến lá hầu như nhàu nát, khi dàn phẳng có hình trứng ba cạnh hoặc hình mác, dài 1,5 cm đến 3 cm, rộng 0,5 cm đến 1 cm, đỉnh lá tù, gốc lá hình nêm rộng, mép lá nguyên hoặc hơi khía tai bèo; mặt trên lá màu lục sẫm, mặt dưới màu lục xám. Hoa mọc đơn độc trong kẽ lá ở phần trên của cành, thùy của đài hoa tù hoặc hơi tròn; tràng hoa hai môi, màu vàng nâu hoặc tía xanh nhạt, dài khoảng 1,2 cm, có lông tơ. Quả dẹt, màu nâu nhạt. Mùi nhẹ, vị hơi đắng.

Vi phẫu
Thân: Vi phẫu hình gần vuông. Từ ngoài vào trong gồm: Lớp tế bào biểu bì hình chữ nhật xếp đều đặn, thỉnh thoảng có lông tiết, bên ngoài có lớp cutin. Phần mô mềm vỏ mỏng gồm các tế bào gần tròn, thành mỏng, xếp theo hướng tiếp tuyến. Mô dày bên ngoài phần mô mềm vỏ, thường dày lên ở mép các góc vuông. Nội bì rõ, gồm một lớp tế bào hình chữ nhật. Bó mạch sát nhau, phát triển hơn ở 4 góc. Libe hẹp, tầng phát sinh gỗ rõ, gỗ tương đối rộng, sắp xếp thành một vòng, các bó mạch xếp xuyên tâm. Lõi rộng, các tế bào mô mềm hình gần tròn, thường rỗng ở phần giữa.
Gân lá: Phía trên lồi ít, phía dưới lồi nhiều. Biểu bì trên bao gồm một lớp tế bào, rải rác có lông che chở, lông tiết. Dưới biểu bì có một lớp mô dày. Mô mềm gồm những tế bào hình gần tròn thành mỏng kích thước không đều. Bó libe - gỗ ở giữa gân chính, gồm cung libe bao quanh phía dưới của bó gỗ.
Rễ: Biểu bì gồm 1 lớp tế bào, các tế bào hình gần vuông hoặc hình chữ nhật. Phần mô mềm vỏ rộng, nội bì rõ, bao gồm 1 lớp tế bào hình gần tròn, sắp xếp đều đặn. Libe hẹp, tầng phát sinh gỗ thành vòng liên tục, các mạch gỗ rải rác.

Bột
Bột dược liệu có màu xanh hơi vàng. Soi kính hiển vi thấy: Tế bào biểu bì của thân hình trứng hoặc hình chữ nhật không đều, lỗ khí và túi tiết rõ, lỗ khí kiểu trực bào với 4 đến 7 tế bào kèm. Thành tế bào biểu bì lá uốn cong. Túi tiết gồm 4 đến 8 tế bào, hình gần tròn hoặc hình elip. Lông tiết gồm vài tế bào ở đầu, cuống 1 tế bào. Lông che chở gồm 1 đến 4 tế bào, các tế bào ở đỉnh tương đối dài với các u lồi nhỏ trên bề mặt. Mảnh mạch mạng, mạch xoắn. Sợi tập trung thành bó, thường bị gẫy và thành tương đối dày.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel 60F$_{254}$ được hoạt hoá ở 100 °C trong 30 min.
Dung môi khai triển: Dicloromethan - methanol - acid formic (10 : 0,5 : 0,5).
Dung dịch thử: Lấy khoảng 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml *methanol (TT)*, lắc đều, siêu âm 15 min, lọc. Lấy dịch lọc làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 1 g bột Bán chi liên (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch nhôm clorid 3 % trong ethanol (TT)*, sấy bản mỏng ở nhiệt độ 120 °C trong 5 min. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 11,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 10,5 % (Phụ lục 9.8). Dùng 1 g dược liệu.

Tro không tan trong acid
Không quá 3,5 % (Phụ lục 9.7). Dùng 1 g dược liệu.

Tạp chất
Không quá 2 % (Phụ lục 12.11).

Kim loại nặng
Không quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8, phương pháp 3). Lấy 1 g dược liệu để thử. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 26,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 70 % (TT)* làm dung môi.

Định lượng

Flavon toàn phần
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng chính xác scutellarin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 0,2 mg/ml.
Dãy chuẩn: Lấy chính xác 0,4; 0,8; 1,2; 1,6 và 2,0 ml dung dịch chuẩn vào các bình định mức 25 ml, thêm *methanol (TT)* đến vạch, lắc đều.
Dung dịch thử: Hút chính xác 1 ml dung dịch A (thu được trong phần định lượng Scutellarin) cho vào bình định mức 50 ml, pha loãng bằng *methanol (TT)* đến vạch.
Cách tiến hành:
Tiến hành phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến (Phụ lục 4.1), đo độ hấp thụ của dãy dung dịch chuẩn ở bước sóng hấp thụ cực đại 335 nm, dùng *methanol (TT)*

làm mẫu trắng, vẽ đường chuẩn biểu thị sự liên quan giữa nồng độ và độ hấp thụ. Đo độ hấp thụ của dung dịch thử. Tính nồng độ flavon toàn phần (scutellarin) trong dung dịch thử dựa vào đường chuẩn.
Dược liệu phải chứa ít nhất 1,50 % flavon toàn phần, tính theo scutellarin ($C_{21}H_{18}O_{12}$), tính trên dược liệu khô kiệt.

Scutellarin
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - nước - acid acetic (35 : 61 : 4).
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng chính xác scutellarin chuẩn trong pha động để được dung dịch chứa 80 µg/ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 1 g bột dược liệu (qua rây số 355) cho vào bình Soxhlet, thêm *ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C) (TT)* và đun sôi hồi lưu trong cách thủy cho đến khi dịch chiết không màu. Loại bỏ dịch chiết ether dầu, làm bay hơi hết ether dầu trong bã dược liệu, thêm *methanol (TT)* và tiếp tục đun sôi hồi lưu trong cách thủy cho đến khi dịch chiết methanol không màu. Chuyển dịch chiết methanol vào bình định mức 100 ml, thêm *methanol (TT)* đến vạch, lắc đều (Dung dịch A). Hút chính xác 25 ml dung dịch thu được, cô trên cách thủy đến cạn. Dùng *methanol 20 %* để hòa tan và chuyển toàn bộ cắn vào bình định mức 25 ml, pha loãng với *methanol 20 %* đến vạch, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 335 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch chuẩn, tiến hành sắc ký. Tính số đĩa lý thuyết của cột, số đĩa lý thuyết của cột phải không dưới 1500 tính theo pic scutellarin.
Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử, tiến hành sắc ký. Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{21}H_{18}O_{12}$ của scutellarin chuẩn, tính hàm lượng scutellarin trong dược liệu.
Dược liệu phải chứa không dưới 0,2 % scutellarin ($C_{21}H_{18}O_{12}$), tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hái vào mùa hè và mùa thu khi cành lá đang xum xuê, loại bỏ tạp chất, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế
Khi dùng cắt đoạn 5 cm đến 7 cm, sao qua.

Bảo quản
Để nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh
Tân, khổ, hàn. Vào kinh phế, can, thận.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt giải độc, hóa ứ, lợi tiểu. Chủ trị: Hỗ trợ điều trị ung thư phổi, ung thư trực tràng, ung thư dạ dầy, thực quản, chửa trứng, gan bị cứng hóa, bụng báng, viêm tuyến vú, nhọt sưng thũng.

Dùng ngoài trị rắn độc cắn, té ngã chấn thương. Lấy cây tươi giã nát, đắp bó nơi đau.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 15 g đến 30 g, dạng thuốc sắc. Thường phối hợp với một số vị thuốc khác.

BÁN HẠ (Thân rễ)
Rhizoma Pinelliae
Bán hạ bắc

Thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Bán hạ [*Pinellia ternata* (Thunb.) Breit.], họ Ráy (Araceae).

Mô tả
Dược liệu có dạng hình cầu hay hình cầu dẹt, đường kính 1 cm đến 1,5 cm. Mặt ngoài trắng hay vàng nhạt. Đỉnh có chỗ lõm là vết sẹo của thân cây, xung quanh có nhiều vết sẹo rễ là các chấm nhỏ. Phía đáy tù và tròn, hơi nhẵn. Chất cứng chắc, mặt cắt trắng và có nhiều bột. Mùi nhẹ, vị hăng, tê và kích ứng.

Bột
Bột màu trắng ngà. Soi kính hiển vi thấy khá nhiều hạt tinh bột, hình tròn, hình bán nguyệt, hay hình nhiều cạnh, đường kính 2 µm đến 20 µm, rốn hình khe, hình chữ V hoặc hình sao, vân không rõ. Hạt tinh bột đơn hay kép từ 2 đến 6 hạt. Tinh thể calci oxalat hình kim, dài 20 µm đến 144 µm, tập trung hoặc rải rác khắp nơi. Mạch xoắn, đường kính 10 µm đến 24 µm.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: n-Butanol - acid acetic - nước (8 : 3 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml *methanol (TT)*, đun hồi lưu trong 30 min, lọc, bốc hơi dịch lọc đến khi còn khoảng 0,5 ml được dung dịch thử.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan *arginin, alanin, valin* và *leucin* chuẩn trong *methanol 70 % (TT)* để được dung dịch có nồng độ mỗi chất chuẩn là 1 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có các chất chuẩn đối chiếu như trên, dùng 1 g bột Bán hạ (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl dung dịch thử, 1 µl dung dịch chất đối chiếu hoặc 5 µl dung dịch dược liệu đối chiếu. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *thuốc thử ninhydrin (TT)*, sấy ở 105 °C đến khi rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu, cùng R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu hoặc có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết của dung dịch chất đối chiếu.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) - ethyl acetat - aceton - acid formic (30 : 6 : 4 : 0,5).
Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 1 h, để nguội, lọc. Bốc hơi dịch lọc đến khô. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)* được dung dịch chấm sắc ký.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột Bán hạ (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*, sấy ở 105 °C đến khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
C. Định tính Pháp bán hạ
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) - ethyl acetat - aceton - acid formic (30 : 6 : 5 : 0,5).
Dung dịch thử: Lấy 2 g bột Pháp bán hạ, thêm 2 ml *acid hydrocloric (TT)* và 20 ml *cloroform (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 1 h, để nguội, lọc. Bốc hơi dịch lọc đến khô. Hòa cắn trong 0,5 ml *ethanol (TT)* được dung dịch thử.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan acid glycyrrhetinic chuẩn trong *ethanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Lấy 2 g bột Bán hạ (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu và có vết cùng màu sắc và giá trị R_f với vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu .

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không được quá 4,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không dưới 9,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10). Dùng *nước* làm dung môi.

Định lượng
Cân chính xác khoảng 5 g bột dược liệu (qua rây số 250) vào bình nón nút mài, thêm 50 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 1 h. Để nguội, lọc, lấy bã dược liệu chiết tương tự như trên thêm 2 lần nữa. Gộp các dịch lọc và bay hơi đến cắn khô. Thêm chính xác 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ)*, siêu âm trong 30 min, chuyển toàn bộ dung dịch thu được vào bình định mức 50 ml, dùng nước đun sôi để nguội tráng rửa bát cô, gộp dịch rửa vào bình định mức, thêm nước mới đun sôi để nguội đến vạch, lắc đều. Lấy 25,0 ml dung dịch thu được, chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (CĐ)* với chỉ thị là *dung dịch phenolphtalein (TT)*. Song song tiến hành một mẫu trắng.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ)* tương đương với 5,904 mg acid butandioic. Tính hàm lượng acid toàn phần có trong dược liệu theo acid butandioic ($C_4H_6O_4$).
Dược liệu phải chứa không ít hơn 0,25 % acid toàn phần tính theo acid butandioic ($C_4H_6O_4$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Đào lấy thân rễ vào mùa hạ và mùa thu, rửa sạch, gọt bỏ lớp bần bên ngoài và rễ con, phơi hay sấy khô. Thái miếng trước khi sử dụng (Bán hạ sống).

Bào chế
Bán hạ tẩm phèn chua (Thanh bán hạ): Lấy Bán hạ đã được làm sạch, phân loại to nhỏ, lấy loại có cùng kích thước, ngâm trong dung dịch phèn chua 8 % cho đến khi không còn lõi trắng và vị thuốc gây cảm giác tê nhẹ. Lấy ra, rửa sạch, cắt thành lát mỏng và làm khô, dùng 20 kg phèn chua cho 100 kg Bán hạ. Dược liệu sau khi chế là những miếng nhỏ hình elip, hình thoi hơi tròn hoặc hình chữ nhật, trên bề mặt có màu nâu hoặc nâu nhạt, có một số đốm nhỏ màu trắng và có những đường vạch ngắn, có những vân đỏ tía dưới lớp bần còn lại. Bề mặt nhẵn, chắt cứng, dễ gãy. Màu nhạt, vị hơi mặn, se và tê.
Bán hạ tẩm gừng (Khương bán hạ): Lấy Bán hạ đã được làm sạch, phân loại to nhỏ, lấy loại có cùng kích thước, ngâm trong nước cho đến khi không còn lõi trắng. Gừng thái lát, sắc lấy nước đặc, thêm phèn và Bán hạ, đun sôi kỹ, lấy ra, để ngoài không khí đến khô được một nửa thì đem cắt thành những lát mỏng và phơi khô. 100 kg Bán hạ dùng 25 kg Gừng và 12,5 kg phèn. Dược liệu sau khi chế là những miếng nhỏ hình chữ nhật hoặc hơi tròn. Bên ngoài màu nâu đến nâu đen. Bề mặt cứng, nhẵn và bóng láng, bên trong màu nâu vàng nhạt. Mùi thơm nhẹ, có vị tê nhẹ, có chất nhày khi nhai.
Pháp bán hạ:
Lấy Bán hạ đã được làm sạch, phân loại to nhỏ, lấy loại có cùng kích thước, ngâm nước cho đến khi không còn lõi trắng, bỏ nước.
Lấy Cam thảo, thêm nước thích hợp, sắc 2 lần, lấy dịch chiết.
Lấy vôi sống, thêm nước thích hợp, khuấy đều, gạn lấy nước vôi.
Trộn đều dịch chiết Cam thảo và nước vôi.
Thêm Bán hạ đã ngâm ở trên vào hỗn hợp dịch chiết cam thảo và nước vôi đã chuẩn bị ở trên, ngâm tẩm, mỗi ngày khuấy 1 - 2 lần/ngày và duy trì pH của dung dịch ngâm ở

pH>12 đến khi nếm vị thuốc gây cảm giác hơi tê lưỡi, mặt cắt có màu vàng đều là được. Lấy ra rửa sạch, phơi âm can hoặc sao khô. 100 kg Bán hạ dùng 15 kg Cam thảo, 10 kg vôi sống. Dược liệu sau khi chế gần hình cầu hoặc bị vỡ thành các khối không đều. Bên ngoài có màu vàng nhạt, vàng hoặc vàng nâu. Bề mặt nhẵn cứng, bên trong có màu vàng đến vàng xám, vị hơi ngọt, hơi se.

Bảo quản
Để nơi khô ráo, thoáng gió, tránh mọt.

Tính vị, quy kinh
Tân, ôn, có độc. Vào hai kinh tỳ, vị.

Công năng, chủ trị
Giáng nghịch cầm nôn, tiêu đờm hóa thấp, tán kết tiêu bĩ.
Chủ trị: Ho có đờm, nôn mửa, chóng mặt đau đầu do đờm thấp, đờm hạch, đờm kết với khí gây mai hạch khí.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 9 g (sau khi chế biến theo yêu cầu chữa bệnh), dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Dùng ngoài tán nhỏ, làm bột trộn với rượu đắp nơi đau.
Chế gừng: Dùng trong trường hợp bị nôn, bị ho.
Tẩm phèn chua: Dùng trong trường hợp có đờm.
Pháp bán hạ: Dùng trong trường hợp nhiều đờm.
Bán hạ sống: Dùng ngoài để đắp mụn nhọt sưng đau.

Kiêng kỵ
Âm huyết hư, tân dịch kém và người có thai không nên dùng. Không kết hợp với các thuốc loại Ô đầu.

BÈO TẤM
Herba Spirodelae polyrrhizae
Phù bình, Tử bình, Bèo tấm tía

Toàn cây phơi sấy khô của cây Bèo tấm (*Spirodela polyrrhiza* (L.) Schield., họ Bèo tấm (Lemmaceae).

Mô tả
Dược liệu là những búi nhỏ từ những cây bèo họp lại, mỗi cây thường có 2 đến 3 phiến (cánh bèo) hình trứng nhỏ dính với nhau bằng các rễ mảnh dạng sợi.

Soi bột
Bột màu lục xám, vị nhạt, hơi tê lưỡi, mùi hơi tanh. Soi dưới kính hiển vi thấy: mảnh phiến lá có các tế bào thành uốn lượn, mang các lỗ khí, các đám tinh thể hình kim xếp thành bó. Nhiều lông che chở đa bào gồm 5 đến 7 tế bào xếp thành một dãy, rải rác có sợi thành mỏng kết thành bó. Các tinh thể calci oxalat hình kim riêng lẻ hay xếp thành bó.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* $60F_{254}$.
Dung môi khai triển: *Ethyl acetat - butanol - acid formic - nước* (6 : 3 : 1 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột thô dược liệu, ngâm 30 min trong 20 ml *methanol (TT)* thỉnh thoảng lắc, lọc, cô dịch lọc tới khoảng 1 ml dùng làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Bèo tấm (mẫu chuẩn), tiến hành chiết cùng điều kiện như đối với dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên cùng bản mỏng 5 µl đến 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi khai triển, bản mỏng được để khô ngoài không khí ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 4 h).

Tạp chất
Không được quá 1 %. (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không dưới 8,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *nước* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa hè, rửa sạch, loại bỏ tạp chất, phơi sấy khô.

Bảo quản
Để nơi khô ráo, thoáng mát, định kỳ phơi sấy lại.

Tính vị, quy kinh
Vị cay, tính hàn. Vào kinh phế.

Công năng, chủ trị
Giải nhiệt, lợi tiểu. Chữa mẩn ngứa, phù thũng.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 3 g đến 9 g, dạng thuốc sắc để uống hoặc sắc lấy nước để ngâm rửa.

BÌM BÌM BIẾC (Hạt)
Semen Pharbitidis
Khiên ngưu tử, Hắc sửu

Dược liệu là hạt phơi hay sấy khô của cây Bìm bìm biếc [*Pharbitis nil* (L.) Choisy], họ Bìm bìm (Convolvulaceae).

Mô tả
Hạt gần giống một phần năm khối cầu. Mặt lưng lồi hình cung, có một rãnh nông ở giữa. Mặt bụng hẹp, gần như một đường thẳng tạo thành do hai mặt bên. Rốn nằm ở cuối mặt bụng và lõm xuống. Hạt dài 4 mm đến 7 mm, rộng 3 mm đến 4,5 mm. Mặt ngoài hơi lồi lõm, màu nâu đen (hắc sửu). Vỏ cứng, mặt cắt ngang màu lá mạ đến nâu nhạt. Ngâm hạt vào nước vỏ hạt sẽ nứt và tách ra.

Vi phẫu
Lớp tế bào biểu bì kéo dài theo hướng tiếp tuyến, rải rác có lông che chở. Tế bào hình giậu gồm 2 đến 3 lớp, kéo dài theo hướng xuyên tâm, đầu nhọn xen kẽ nhau, mép ngoài của lớp tế bào hình giậu có một dải hẹp có độ chiết quang lớn, sáng. Lớp tế bào vỏ trong rải rác có đám tế bào mạch. Nội nhũ mỏng, khó nhìn thấy. Lá mầm uốn lượn, tế bào tương đối đều đặn chứa nhiều nội chất và có túi tiết hình tròn hoặc hình bầu dục có tinh bột và dầu. Thân mầm.

Bột
Màu nâu nhạt. Mảnh vỏ ngoài có 2 đến 3 hàng tế bào biểu bì, tế bào hình giậu màu vàng 2 đến 3 hàng có khi thấy cả dải phát quang sáng. Tế bào hình giậu có khi tách riêng ra. Mảnh vỏ giữa hình dáng kích thước tế bào không cố định. Mảnh vỏ trong tế bào to, thành mỏng. Mảnh mô mềm lá mầm có hoặc không có túi tiết. Giọt dầu.

Định tính
Lấy cắn nhựa thu được ở mục Định lượng, sấy khô tán nhỏ, thêm 5 ml *dung dịch amoniac loãng (TT)*. Lắc kỹ 15 min, dịch trên không được có màu vàng nhưng khi soi dưới ánh sáng tử ngoại thì xuất hiện huỳnh quang màu vàng sáng.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng
Cân chính xác khoảng 10 g bột dược liệu (qua rây số 355), cho vào bình Soxhlet, chiết bằng *ethanol 90 % (TT)* trong 4 h. Chuyển dịch chiết ethanol vào cốc có mỏ, rồi bốc hơi đến cắn khô. Chuyển cắn nhựa này vào chén đã cân bì, tráng cốc 3 lần mỗi lần khoảng 5 ml *ethanol 90 % (TT)*, tập trung dịch tráng vào chén và bốc hơi ethanol. Rửa cắn nhựa bằng 10 ml *nước* sôi, khuấy kỹ 2 min, để lắng rồi gạn phần nước vào phễu lọc, tiếp tục rửa như vậy nhiều lần cho đến khi nước rửa hết màu. Hòa tan cắn nhựa trên phễu với một ít *ethanol 90 % (TT)* nóng và hứng dịch lọc vào chén chứa cắn nhựa. Bốc hơi ethanol cho đến cắn khô. Sau đó sấy cắn nhựa ở 100 °C trong 3 h.
Dược liệu không được chứa ít hơn 1,2 % nhựa tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Cắt cây vào cuối mùa hạ khi quả đã chín nhưng chưa nứt, phơi khô, đập tách vỏ, sàng lấy hạt và loại bỏ tạp chất.

Bào chế
Khiên ngưu tử sống: Loại bỏ tạp chất, đập vỡ trước khi dùng.
Khiên ngưu tử sao: Sao khiên ngưu tử sạch nhỏ lửa đến khi hạt hơi phồng, đập vỡ hạt trước khi dùng.

Bảo quản
Nơi khô ráo, thoáng mát.

Tính vị, quy kinh
Khổ, hàn, tiểu độc. Quy vào các kinh phế, thận, đại tràng.

Công năng, chủ trị
Trục thủy, sát trùng. Chủ trị: Phù thũng có bụng trướng đầy, khó thở, bí đái, giun sán.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 4 g đến 8 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Không dùng cho phụ nữ có thai, người tỳ vị hư nhược. Kỵ Ba đậu.

BÌNH VÔI
Tuber Stephaniae

Phần gốc thân phình ra thành củ đã cạo bỏ vỏ nâu đen ở ngoài hoặc thái thành miếng phơi hay sấy khô của cây Bình vôi [*Stephania glabra* (Roxb.) Miers] hoặc một số loài Bình vôi khác có chứa L-tetrahydropalmatin, họ Tiết dê (Menispermaceae).

Mô tả
Phần gốc thân phát triển thành củ to, có củ rất to, hình dáng thay đổi tuỳ theo nơi củ phát triển. Vỏ ngoài màu nâu đen, khi cạo vỏ ngoài có màu trắng xám. Hoặc đã thái thành miếng to, nhỏ không đều, có màu trắng xám, vị đắng.

Bột
Bột có màu vàng xám, vị đắng. Soi kính hiển vi thấy: Tế bào mô cứng thành dày, khoang rộng, mảnh mạch điểm, mảnh tế bào mô mềm thành mỏng, tinh thể calci oxalat hình khối chữ nhật dài và nhỏ, rải rác có những hạt tinh bột nhỏ hình tròn và hình trứng.

Định tính
A. Lấy 5 g bột dược liệu cho vào bình nón có dung tích 200 ml, thấm ẩm dược liệu bằng *dung dịch amoniac 6 M (TT)*, để yên 30 min. Cho vào bình nón 50 ml *cloroform (TT)*, lắc 5 min đến 10 min, rồi để yên 1 h, lọc. Lấy 30 ml dịch lọc cho vào bình gạn, thêm 5 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*, lắc 2 min đến 3 min, gạn lấy phần dịch chiết acid cho vào 4 ống nghiệm:
Ống 1: Thêm 2 giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, xuất hiện tủa vàng nhạt.
Ống 2: Thêm 2 giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)*, xuất hiện tủa đỏ cam.
Ống 3: Thêm 2 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)*, xuất hiện tủa nâu.
Ống 4: Thêm 2 giọt *dung dịch acid picric(TT)*, xuất hiện tủa vàng.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G.*
Dung môi khai triển: *Toluen - aceton - ethanol - amoniac* (45 : 45 : 7 : 3).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu chiết như phần định tính ở trên, lấy phần dịch chiết cloroform rồi cô trên cách thủy đến cắn khô, để nguội, hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol 90 % (TT).*
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan L-tetrahydropalmatin chuẩn trong *ethanol 90 % (TT)* để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *thuốc thử Dragendorff (TT).* Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu sắc và giá trị R_f với vết của L-tetrahydropalmatin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 14,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Dung dịch đệm pH 4,5 - acetonitril* (70 : 30), điều chỉnh tỷ lệ nếu cần. Lọc qua màng lọc có kích thước lỗ lọc 0,45 µm, lắc siêu âm.
Dung dịch đệm pH 4,5: Hỗn hợp gồm dung dịch *kali dihydrophosphat 0,05 M - triethylamin* (1000 : 2), điều chỉnh pH bằng *acid phosphoric (TT).*
Dung dịch chuẩn: Hòa tan L-tetrahydropalmatin chuẩn trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,05 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0.5 g bột dược liệu (qua rây số 355) chuyển vào một túi giấy lọc. Thấm ẩm bằng 0,5 ml *dung dịch amoniac 6 M (TT)*, để yên trong 40 min. Chuyển túi giấy lọc vào bình Soxhlet dung tích 100 ml, thêm 40 ml *cloroform (TT)*, chiết trong 4 h đến hết alcaloid. Lấy dịch chiết cô trên cách thủy tới cắn, hòa tan cắn trong *dung dịch acid sulfuric 10 M (TT)* (5 lần, mỗi lần 10 ml). Lọc qua giấy lọc vào bình gạn. Kiềm hóa dịch lọc bằng *amoniac đậm đặc (TT)* đến pH 10. Chiết bằng *cloroform (TT)* 4 lần, mỗi lần 10 ml. Gộp các dịch chiết cloroform, bốc hơi trên cách thủy đến cắn khô. Dùng pha động hòa tan cắn và chuyển vào bình định mức 50 ml, thêm pha động đến vạch, lắc đều. Lọc qua giấy lọc thường, bỏ 10 ml dịch lọc đầu. Phần dịch lọc tiếp tục lọc qua màng lọc 0,45 µm được dung dịch thử.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (Lichrosorb RP 18 là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 283 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành: Tiêm riêng biệt dung dịch chuẩn, dung dịch thử. Tiến hành sắc ký theo điều kiện đã nêu.
Dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{21}H_{25}NO_4$ trong L-tetrahydropalmatin chuẩn, tính hàm lượng L-tetrahydropalmatin ($C_{21}H_{25}NO_4$) trong dược liệu.
Dược liệu phải chứa ít nhất 0,4 % (kl/kl) L-tetra-hydropalmatin ($C_{21}H_{25}NO_4$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Có thể thu hái quanh năm, đào lấy củ, rửa sạch, cạo bỏ vỏ đen, thái mỏng, phơi hay sấy khô.

Bảo quản
Để nơi khô, thoáng mát.

Tính vị, quy kinh
Khổ, cam, lương. Vào hai kinh can, tỳ.

Công năng, chủ trị
An thần, tuyên phế. Chủ trị: Mất ngủ, sốt nóng, nhức đầu, đau dạ dày, ho nhiều đờm, hen suyễn khó thở.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc, thuốc bột hoặc rượu thuốc.

BỒ BỒ
Herba Adenosmatis indiani

Thân, cành mang lá và hoa đã phơi khô của cây Bồ bồ [*Adenosma indianum* (Lour.) Merr.] họ Hoa mõm chó (Scrophulariaceae).

Mô tả
Thân hình trụ tròn (đôi khi có thiết diện hơi vuông), màu nâu nhạt, có lông (dài và thưa hơn so với nhân trần). Lá mọc đối, nhăn nheo, hình trứng thuôn, đầu lá nhọn, gốc lá tròn. Mặt trên lá màu nâu thẫm, có nhiều lông, mặt dưới lá màu lục ít lông hơn. Mép lá khía răng cưa nhọn. Gân lá hình lông chim. Lá dài khoảng 3,5 cm, rộng 1,5 cm đến 2 cm. Cụm hoa tận cùng dày đặc hình cầu hay hình trụ tròn. Hoa hình môi, môi trên nguyên, môi dưới chia làm 3 thùy tròn. Cánh hoa thường rụng, chỉ còn lá bắc và đài. Quả mọng, nhiều hạt (ít gặp). Dược liệu mùi thơm hắc, vị đắng, hơi cay.

Vi phẫu
Lá: Biểu bì trên và dưới gồm một hàng tế bào xếp đều đặn, mang lông che chở đa bào một dãy và lỗ khí, riêng biểu bì dưới mang lông tiết. Mô dày góc nằm sát biểu bì trên và dưới ở phần gân giữa. Mô mềm gồm tế bào gần tròn, thành mỏng. Bó libe-gỗ hình cung nằm giữa gân lá, gồm: Cung libe ở phía dưới, cung gỗ ở phía trên. Đôi khi có tế bào mô cứng hình thoi. Cấu tạo của phiến lá không đối xứng.

Thân: Biểu bì gồm một hàng tế bào xếp đều đặn, mang lông che chở đa bào, lông tiết. Mô mềm vỏ tế bào có thành mỏng. Nội bì rõ. Libe mỏng, trong đó rải rác có đám sợi mô cứng. Tầng phát sinh libe-gỗ rõ. Mạch gỗ xếp thành dãy xuyên tâm. Mô mềm ruột gồm tế bào to, thành mỏng.

Bột

Mảnh biểu bì lá gồm các tế bào thành mỏng, ngoằn ngoèo mang lông che chở và lỗ khí, riêng biểu bì dưới có mang lông tiết. Lông che chở có 3 đến 8 tế bào nguyên vẹn hoặc bị gãy, đầu lông nhọn, gốc phình to, tế bào giữa đôi khi thắt lại. Lông tiết hình cầu, đầu có 8 tế bào, chân ngắn có 1 tế bào. Mảnh biểu bì thân gồm các tế bào hình chữ nhật thành mỏng, mang lông che chở, lông tiết. Mảnh đài hoa, tế bào thành mỏng, mang lông che chở và lông tiết. Bó sợi dài, thành hơi dày. Mảnh mạch xoắn. Tế bào mô cứng hình thoi (ít thấy).

Định tính

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

Bản mỏng: *Silica gel G.*

Dung môi khai triển: *Ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) - toluen - ethyl acetat* (100 : 15 : 5).

Dung dịch thử: Cất kéo hơi nước 5 g dược liệu đã được cắt nhỏ với 50 ml *nước* trong bộ cất tinh dầu khoảng 2 h, rồi hứng lấy 10 ml dịch chiết. Để nguội, lắc với 2 ml *toluen (TT)*, gạn lấy phần dịch chiết toluen.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch cineol 0,2 % (tt/tt) trong *cloroform (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, phun thuốc thử gồm *dung dịch vanilin 1 % trong ethanol (TT)* và *acid sulfuric (TT)* (tỷ lệ 1 ml : 1 giọt, pha trước khi dùng), sấy bản mỏng ở 105 °C trong 5 min. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ, dung dịch thử phải có 6 vết có màu xanh tím, xanh, hồng, vàng, tím, hồng nhạt, trong đó phải có một vết có cùng màu sắc và có giá trị R_f với vết của cineol trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

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

Bản mỏng: *Silica gel G.*

Dung môi khai triển: *Toluen - ethyl acetat - acid formic* (80 : 20 : 10).

Dung dịch thử: Đun trong cách thủy 1 g bột dược liệu với 5 ml *ethyl acetat (TT)* trong 2 min, lọc lấy dịch chiết, cô cách thủy còn 1 ml.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Bồ bồ (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký đến khoảng 10 cm, lấy bản mỏng ra để khô trong không khí, phun hỗn hợp *dung dịch acid boric 10 %* và *dung dịch acid oxalic 10 %* (tỷ lệ 2 : 1). Sấy bản mỏng ở 105 °C, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết của dung dịch đối chiếu. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có ba vết phát quang màu lục sáng cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất

Gốc, rễ: Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tỉ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.12).

Định lượng tinh dầu

Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Dùng 40 g dược liệu đã cắt nhỏ, thêm 200 ml nước, cất trong 3 h. Hàm lượng tinh dầu không ít hơn 0,5 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hái khi cây đang ra hoa, phơi trong râm mát hay sấy ở 40 °C đến 50 °C đến khô. Tránh sấy nóng quá làm bay mất tinh dầu.

Bảo quản

Để nơi khô, mát.

Tính vị

Tân, vi khổ, vi ôn.

Công năng, chủ trị

Sơ phong giải biểu, thanh nhiệt lợi thấp. Chủ trị: Sốt, đau đầu, không ra mồ hôi, vàng da, viêm gan virus, ăn không tiêu.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 8 g đến 20 g, dạng thuốc sắc hoặc hãm.

Kiêng kỵ

Không phải thấp nhiệt không nên dùng.

BỒ CÔNG ANH

Herba Lactucae indicae

Thân mang lá đã phơi hay sấy khô của cây Bồ công anh (*Lactuca indica* L.), họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả

Lá mỏng nhăn nheo, nhiều hình dạng, thường có lá hình mũi mác, gần như không có cuống, mặt trên màu nâu sẫm, mặt dưới màu nâu nhạt, mép lá khía răng cưa, to nhỏ không đều. Có lá chỉ có răng cưa thưa hay gần như nguyên. Gân giữa to và nổi nhiều. Vị hơi đắng. Đoạn thân dài 3 cm đến 5 cm, tròn, thẳng, lõi xốp, đường kính khoảng 0,2 cm, mặt ngoài màu nâu nhạt, lồm đồm, có mấu mang lá hoặc vết tích của cuống lá.

Vi phẫu

Lá:

Gân giữa của lá: Mặt trên phẳng, mặt dưới lồi, hình chữ V. Biểu bì trên và dưới gồm một lớp tế bào xếp đều đặn. Lớp mô dày tương đối mỏng xếp sát biểu bì. Mô mềm cấu tạo bởi những tế bào tròn hoặc nhiều cạnh, thành mỏng xếp sít nhau. Ở giữa gân lá có một khuyết to rỗng. Các bó libe-gỗ kích thước không đều, xếp rời nhau, xen kẽ bó to và bó nhỏ theo hình chữ V, bó to nhất ở dưới. Mỗi bó libe-gỗ được bao phủ bởi 2 cung mô dày úp vào nhau. Bó libe-gỗ có libe ở phía dưới và phía ngoài, gỗ ở phía trên và phía trong.

Phiến lá: Biểu bì trên và dưới gồm một lớp tế bào đều đặn không có lông. Biểu bì dưới mang lỗ khí. Mô giậu gồm 2 hàng tế bào xếp đều đặn. Mô khuyết gồm những tế bào không đều nhau để hở những khoảng trống nhỏ. Thịt lá dị thể không đối xứng.

Thân: Biểu bì gồm một lớp tế bào nhỏ xếp đều đặn. Mô dày gồm 2 đến 4 lớp tế bào có kích thước nhỏ thành dày. Mô mềm vỏ gồm những tế bào thành mỏng xếp lộn xộn. Các bó libe-gỗ xếp thành vòng tròn trong đó libe tạo thành từng đám, gỗ tạo thành vòng liên tục. Ở những phần tương ứng với libe, các mạch gỗ phát triển thành hàng tạo thành các bó libe-gỗ. Các bó libe-gỗ phát triển mạnh ở những chỗ thân lồi ra.

Bột

Lá: Mảnh biểu bì trên của lá gồm những tế bào thành mỏng, ít ngoằn ngoèo. Mảnh biểu bì dưới gồm những tế bào thành mỏng ngoằn ngoèo, trong có lỗ khí. Lỗ khí thường có 3 đến 4 tế bào phụ. Mảnh mô mềm gân giữa gồm những tế bào hình chữ nhật thành mỏng xếp đều đặn. Mảnh mô mềm phiến lá gồm những tế bào thành mỏng chứa diệp lục, có mạch xoắn xếp thành từng dãy.

Định tính

Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm, bột dược liệu phát quang màu xanh.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Kim loại nặng

Không quá 20 phần triệu. Tiến hành như sau:

Dung dịch thử: Lấy 1,5 g bột dược liệu vào 1 chén bằng sứ hoặc thạch anh, có nắp đậy, đốt dần dần để than hóa hoàn toàn. Để nguội, thêm 1 ml hỗn hợp (pha trước khi dùng) gồm 1 thể tích *acid nitric (TT)* và 3 thể tích *acid hydrocloric (TT),* bốc hơi tới khô trên cách thủy. Làm ẩm cặn bằng 3 giọt *acid hydrocloric (TT),* thêm 10 ml nước nóng và làm ẩm trong 2 min. Sau đó thêm 1 giọt *dung dịch phenolphtalein (TT),* thêm từng giọt *amoniac đậm đặc (TT)* cho đến khi dung dịch xuất hiện màu đỏ nhạt, thêm 2 ml *acid acetic loãng (TT),* lọc nếu cần, rửa phễu và cặn bằng 10 ml nước. Chuyển dịch lọc và dịch rửa vào ống thử Nessler, thêm nước vừa đủ 50 ml.

Dung dịch đối chiếu: Bốc hơi đến khô 1 ml hỗn hợp (pha trước khi dùng) gồm 1 thể tích *acid nitric (TT)* và 3 thể tích *acid hydrocloric (TT).* Sau đó tiến hành như chỉ dẫn với dung dịch thử, sau đó thêm 3,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* và thêm nước vừa đủ 50 ml.

Cách tiến hành: Thêm 1 giọt *dung dịch natri sulfid (TT_1)* vào dung dịch thử và dung dịch đối chiếu, lắc mạnh, để yên 5 min. So sánh màu của 2 ống nghiệm bằng cách nhìn dọc ống hoặc quan sát trên nền trắng. Dung dịch thử không được đậm màu hơn dung dịch đối chiếu.

Chế biến

Thu hái vào khoảng tháng 5 đến 7, lúc cây chưa ra hoa hoặc bắt đầu ra hoa, loại bỏ lá già, phơi hoặc sấy nhẹ đến khô.

Bào chế

Rửa sạch lá, cắt đoạn 3 cm đến 5 cm, phơi khô để dùng.

Nấu cao: Rửa sạch, phơi khô, nấu thành cao đặc (1 ml cao tương đương 10 g dược liệu).

Bảo quản

Để nơi khô, thường xuyên phơi lại, tránh mốc, mục.

Tính vị, quy kinh

Cam, vi khổ, hàn. Vào các kinh can, vị.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt giải độc, tiêu viêm tán kết. Chủ trị: Mụn nhọt sang lở, tắc tia sữa, viêm tuyến vú, nhiễm trùng đường tiết niệu.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 8 g đến 30 g dược liệu khô, dạng thuốc sắc, thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Dược liệu tươi: Đắp ngoài trị mụn nhọt, sưng vú, tắc tia sữa.

Kiêng kỵ

Các chứng âm hư hoặc tràng nhạc, ung nhọt đã vỡ cấm dùng.

BỒ KẾT (Gai)

Spina Gleditsiae australis

Tạo giác thích

Gai ở thân và cành đã phơi hay sấy khô của cây Bồ kết (*Gleditsia australis* Hemsl.), họ Đậu (Fabaceae).

Mô tả

Gai phân nhánh, các gai chính to hơn và thường mang 1 đến 2 nhánh gai nhỏ. Gai chính hình nón thuôn dài, chiều dài từ 3 cm đến 15 cm, đường kính từ 0,3 cm đến 1 cm; gai nhánh dài từ 1 cm đến 6 cm, đỉnh nhọn. Mặt ngoài màu nâu đến nâu tía. Chất cứng, khó bẻ gãy. Mùi nhẹ, vị nhạt.

Dược liệu đã thái lát: Các lát thường thon về phía đỉnh

(ngọn), bên trong có phần gỗ màu trắng hơi vàng, phần tủy màu hơi nâu đỏ; chất giòn, dễ bẻ gãy.

Vi phẫu
Biểu bì gồm 1 hàng tế bào được phủ cutin, đôi khi có lông che chở đơn bào. Mô mềm vỏ gồm 2 đến 3 hàng tế bào, rải rác có tế bào chứa chất màu đỏ nâu. Bó sợi trụ bì xếp thành vòng không liên tục, được bao quanh bởi các tế bào mô mềm thành mỏng chứa tinh thể calci oxalat hình lăng trụ, thường kèm 1 hoặc 1 - 3 nhóm tế bào đá. Libe hẹp. Tầng phát sinh libe-gỗ thành vòng không liên tục. Gỗ thành vòng, tia gỗ có 1 - 2 tế bào. Ruột rộng, tế bào mô mềm ruột có chứa các hạt tinh bột.

Bột
Bột màu nâu, có nhiều sợi. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì màu nâu nhạt, gồm các tế bào nhiều cạnh, thành dày, chứa tinh thể calci oxalat hình lăng trụ và chất màu đỏ nâu. Mảnh mô mềm gồm các tế bào nhiều cạnh thành mỏng. Sợi gồm nhiều loại, có loại màu vàng nhạt, dài, thành dày, khoang không rõ, đôi khi kèm theo các tế bào thành mỏng chứa tinh thể calci oxalat hình lăng trụ và chất màu đỏ nâu. Có loại sợi gỗ dài, thành dày, khoang rộng, đứng riêng lẻ hay kèm theo mảnh mạch. Đám tế bào mô cứng thành dày, khoang rộng, có ống trao đổi rõ. Mảnh mạch mạng, mạch chấm.

Định tính
A. Lấy khoảng 1 g bột dược liệu, ngâm với 5 ml *nước* trong 1 h, lọc. Cho dịch lọc vào ống nghiệm, lắc, có nhiều bọt bền trong 15 min.
B. Lấy khoảng 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ethanol 90 % (TT)*, đun sôi trên cách thủy 10 min, lắc, lọc. Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 0,5 ml *anhydrid acetic (TT)*, thêm từ từ 0,5 ml *acid sulfuric (TT)* xuống đáy ống nghiệm, tại lớp phân cách giữa 2 dung dịch có màu nâu đỏ.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: Lớp dưới của hỗn hợp dung môi gồm *dicloroethan - methanol - amoniac* (9 : 1 : 0,2).
Dung dịch thử: Lấy khoảng 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm trong 30 min, lọc. Bay hơi dịch lọc tới cắn khô, hòa cắn trong 10 ml *nước*, chiết với 10 ml *ethyl acetat (TT)*, tách lớp dịch chiết ethyl acetat và để bay hơi đến cắn khô, hòa cắn trong 1 ml *methanol (TT)* được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 1 g bột gai Bồ kết (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô trong không khí, quan sát dưới ánh đèn tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Những vết phát huỳnh quang thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng màu và cùng giá trị R_f với các vết phát huỳnh quang thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Tiếp tục phun *dung dịch vanilin - acid sulfuric (TT)*, sấy bản mỏng ở 100 °C cho đến khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất
Không quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến
Gai bồ kết thu hái quanh năm, phơi khô hoặc thái lát rồi mới phơi hay sấy khô.

Bào chế
Loại bỏ tạp chất; gai chưa thái lát thì ngâm qua nước cho mềm, thái lát dày 0,1 cm đến 0,3 cm, phơi khô.

Bảo quản
Để nơi khô, định kỳ phơi sấy, tránh ẩm, tránh mọt.

Tính vị, quy kinh.
Tân, ôn. Vào các kinh can, vị.

Công năng, chủ trị
Tiêu thũng, trừ độc, trừ mủ, sát trùng. Chủ trị: Nhọt độc sơ khởi hoặc làm mủ không vỡ. Dùng ngoài điều trị ngứa, lở, hủi.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 3 g đến 9 g, dạng thuốc sắc. Thường dùng phối hợp với một số vị thuốc khác. Dùng ngoài lượng thích hợp, có thể chưng giấm, lấy dịch chiết để bôi, đắp nơi đau.

Kiêng kỵ
Phụ nữ có thai không nên dùng.

BỒ KẾT (Quả)
Fructus Gleditsiae australis
Tạo giác, Trư nha tạo

Quả chín phơi hay sấy khô của cây Bồ kết (*Gleditsia australis* Hemsl.), họ Đậu (Fabaceae).

Mô tả
Quả dẹt và hơi cong, dài 5 cm đến 11 cm, rộng 1,5 cm đến 2 cm. Mặt ngoài nâu tía phủ chất sáp màu trắng tro, lấm tấm như bột, lau sạch có màu sáng bóng, dễ thấy các bướu và tuyến nhỏ, các vết nứt dạng vân lưới. Đỉnh quả có gốc vòi nhụy tồn tại dạng mỏ chim, gốc quả có vết sẹo của cuống quả. Chất cứng, giòn, dễ gẫy. Mặt gẫy màu vàng nâu đến lục nhạt, giữa xốp hoặc là khoang chứa hạt. Mùi hăng nhẹ, vị ngọt sau hơi cay.

Bột
Màu vàng nâu, nhiều tế bào thành dày hóa gỗ hình tròn hay hình bầu dục hoặc hình không đều, đường kính 15 µm

đến 53 µm. Nhiều sợi thường xếp thành bó, đường kính sợi 10 µm đến 35 µm, thành hơi hoá gỗ, được bao quanh bởi các tế bào mô mềm có chứa tinh thể calci oxalat hình lăng trụ và một vài cụm sợi tinh thể, đi kèm bó sợi thường có tế bào thành dày hình gần vuông. Các tinh thể calci oxalat hình lăng trụ dài 6 µm đến 15 µm, những bó tinh thể đường kính 6 µm đến 14 µm. Nhiều tế bào mô mềm có thành hoá gỗ, có nhiều lỗ (hốc) và ống trao đổi rõ. Tế bào biểu bì vỏ quả màu nâu đỏ, hình đa giác, thành tương đối dày, với lớp cutin có gợn vân dạng hạt.

Định tính
A. Lấy khoảng 1 g bột dược liệu, thêm 8 ml *ethanol 95 % (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy khoảng 5 min, để nguội, lọc. Lấy khoảng 0,5 ml dịch lọc cho vào 1 chén sứ nhỏ, bốc hơi tới khô trên cách thủy, để nguội. Thêm 3 giọt *anhydrid acetic (TT)*, khuấy đều rồi thêm 2 giọt *acid sulfuric (TT)* dọc theo thành chén, sẽ xuất hiện màu đỏ tía.
B. Đun sôi khoảng 1 g bột dược liệu với 10 ml *nước* trong 10 min, lọc. Lắc mạnh dịch lọc, lớp bọt tạo thành bền vững trên 15 min.

Độ ẩm
Không quá 14,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất
Không quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 45,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *nước* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch vào tháng 10 - 11, hái lấy quả chín (quả có màu hơi vàng), loại bỏ tạp chất, rửa sạch, phơi khô, khi dùng giã nát.

Bảo quản
Để nơi khô, thoáng, tránh mọt.

Tính vị, quy kinh
Tân, hàm, ôn, hơi độc. Vào các kinh phế, đại trường.

Công năng, chủ trị
Khai khiếu, tiêu đờm, tán kết, tiêu thũng. Chủ trị: Trúng phong cấn răng, đàm thịnh, quan khiếu không thông, họng đau tê đờm trướng ngại, ho suyễn khó khạc đờm, đại tiện táo kết.
Dùng ngoài trị nhọt độc sưng tấy.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 1 g đến 1,5 g, thường dùng loại hoàn, tán.
Dùng ngoài lượng thích hợp, tán thành bột mịn, thổi nhẹ vào mũi cho hắt hơi, hoặc đắp nơi đau.

Kiêng kỵ
Có thai hoặc thổ huyết, khạc ra huyết cấm dùng.

BỒ CỐT CHỈ (Quả)
Fructus Psoraleae corylifoliae
Phá cố chỉ, Đậu miêu

Quả chín đã phơi hay sấy khô của cây Bồ cốt chỉ (*Psoralea corylifolia* L.), họ Đậu (Fabaceae).

Mô tả
Quả hình thận, hơi dẹt, dài 3 mm đến 5 mm, rộng 2 mm đến 4 mm, dày khoảng 1,5 mm. Mặt ngoài màu đen, nâu đen hoặc nâu xám, có vết nhăn và vân hình mạng lưới nhỏ. Đỉnh tròn, tù, có núm nhỏ nhô lên; một bên mặt hơi lõm vào, có vết cuống quả ở một đầu. Vỏ quả mỏng, khó tách rời hạt. Hạt có hai lá mầm, cây mầm trắng hay hơi vàng, có chất dầu. Quả cứng chắc, mùi thơm nhẹ, vị hơi đắng.

Vi phẫu
Quả: Vỏ quả có thiết diện cong tròn đều ở mặt trong, mặt ngoài nhấp nhô, lồi lõm. Lớp ngoài cùng là vỏ quả ngoài mang nhiều lông che chở có vết lấm tấm trên bề mặt. Bên dưới biểu bì là nhiều lớp tế bào mô mềm hình chữ nhật nằm ngang, rải rác có các ống tiết chứa giọt tinh dầu màu vàng xanh. Trên một vài lát cắt có thể gặp bó libe-gỗ nằm trong vỏ quả giữa.
Hạt: Vỏ hạt gồm một lớp tế bào hình giậu xếp hướng tâm tạo thành vòng liên tục, bên trong là lớp tế bào đặc biệt có dạng hình trụ đứng và loe rộng ở hai đầu, xếp khít nhau ở hai mặt tiếp tuyến, giữa có khoảng gian bào. Kế đến là tế bào mô mềm hình chữ nhật nằm ngang, xếp thành nhiều hoặc ít lớp làm cho vỏ hạt có chỗ dày chỗ mỏng không đều. Trong vùng mô mềm của vỏ hạt có thể gặp bó libe-gỗ bị cắt ngang hay cắt dọc. Hai lá mầm xếp khít nhau tạo thành tổng thể hình bầu dục, có thể tách rời ở giữa. Ở vùng tiếp giáp giữa hai lá mầm, tế bào mô mềm có dạng hình giậu xếp thành 3 đến 5 lớp, kế đến là tế bào mô mềm có dạng hình đa giác. Trong vùng giữa của mỗi lá mầm có thể có bó libe-gỗ mới thành lập, phân hóa gỗ và libe chưa rõ ràng.

Bột
Bột có màu nâu đen, mùi thơm, vị hơi đắng. Nhiều lông che chở bề mặt lấm tấm; mảnh mô mềm; mảnh vỏ hạt gồm các tế bào hình chữ nhật xếp khít nhau như hàng rào; mảnh mạch vạch, mạch xoắn nhỏ và hiếm gặp; giọt dầu béo.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G
Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C) - ethyl acetat - methanol (20 : 15 : 1).
Dung dịch thử: Ngâm 0,5 g bột dược liệu trong 10 ml *cloroform (TT)* khoảng 1 h, lọc. Bốc hơi dịch lọc trên cách

thủy đến cắn khô. Hòa tan cắn trong 1 ml *cloroform (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan hỗn hợp hai chất psoralen chuẩn và isopsoralen chuẩn trong *cloroform (TT)* để được dung dịch có chứa mỗi chất 0,5 mg/ml. Nếu không có hai chất đối chiếu trên thì có thể dùng 0,5 g bột Bồ cốt chỉ (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng khoảng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm đến 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát các vết dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 10,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần
Không quá 8,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất
Quả lép không quá 3,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến
Thu hoạch vào mùa thu, hái lấy cụm quả đã chín, phơi khô, tách lấy quả, loại bỏ cuộng và tạp chất, phơi hoặc sấy khô lại.

Bào chế
Bồ cốt chỉ sống: Loại bỏ tạp chất.
Diêm Bồ cốt chỉ (chế muối): Lấy Bồ cốt chỉ sạch trộn đều với nước muối 20 % ủ cho thấm đều hết nước muối, cho vào chảo, sao nhỏ lửa đến khi khô phồng lên, lấy ra để nguội. Dùng 2 kg muối cho 100 kg Bồ cốt chỉ.

Bảo quản
Để nơi khô, thoáng mát.

Tính vị, quy kinh
Tân, khổ, ôn. Vào kinh thận, tỳ và tâm bào.

Công năng, chủ trị
Bổ mệnh môn hỏa, chỉ tả. Chủ trị: Liệt dương, di tinh, đái dầm, niệu tần, thắt lưng đầu gối đau có cảm giác lạnh, ngũ canh tả. Dùng ngoài trị bạch biến, hói trán.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 9 g, dạng thuốc sắc.
Dùng ngoài: Dạng cồn thuốc 20% đến 30%, bôi chỗ đau.

Kiêng kỵ
Âm hư hỏa động, tiểu tiện ra máu, đại tiện táo bón, viêm đường tiết niệu không nên dùng.

BỐI MẪU (Thân hành)

Bulbus Fritillariae

Xuyên bối mẫu

Thân hành đã phơi hay sấy khô của cây Xuyên bối mẫu (*Fritillaria cirrhosa* D. Don), Ám tử bối mẫu (*Fritillaria unibracteata* Hsiao et K.C.Hsia), Cam túc bối mẫu (*Fritillaria przewalskii* Maxim.) hoặc Thoa sa bối mẫu (*Fritillaria delavayi* Franch.), họ Loa kèn (Liliaceae).
Tùy theo đặc điểm khác nhau của các loại Bối mẫu người ta chia ra 3 loại dược liệu: Tùng bối, Thanh bối, Lỗ bối tương ứng với 3 loài dược liệu ở trên.

Mô tả
Tùng bối: Thân hành hình nón hoặc hình cầu, cao 0,3 cm đến 0,8 cm, đường kính 0,3 cm đến 0,9 cm. Mặt ngoài màu trắng ngà, 2 vảy ngoài có kích thước rất khác nhau. Vảy ngoài lớn hơn bao lấy vảy trong, phần vảy không bị bao bọc có hình răng lược liềm, phần này có tên là "hoài trung bảo nguyệt" (ôm trăng trong tay). Đỉnh thân hành kín, chồi hình cầu hơi thon, có 1 đến 2 vảy nhỏ, đỉnh tù hoặc hơi nhọn, gốc bằng, hơi lõm, ở giữa có chấm tròn màu nâu xám, thỉnh thoảng thấy vết tích rễ. Chất cứng, giòn, vết bẻ trắng, có chất bột. Vị hơi đắng.
Thanh bối: Thân hành hình tròn dẹt, cao 0,4 cm đến 1,4 cm, đường kính 0,4 cm đến 1,6 cm. Có hai vảy ngoài đồng dạng bọc lấy nhau. Đỉnh mở ra có chồi và 2 đến 3 vảy nhỏ bên trong, có vết tích của thân hình trụ, mảnh khảnh.
Lỗ bối: Thân hành hình nón dài, cao 0,7 cm đến 2,5 cm, đường kính 0,5 cm đến 2,5 cm. Mặt ngoài màu trắng ngà, hoặc vàng nâu, hơi lốm đốm nâu, 2 vảy ngoài đồng dạng. Đỉnh mở ra và hơi thon, gốc hơi nhọn hoặc tương đối tù.

Bột
Bột màu trắng ngà, mùi đặc trưng, vị hơi đắng. Soi kính hiển vi thấy:
Tùng bối và thanh bối: Nhiều hạt tinh bột hình trứng, hình cầu dài hoặc bất định hình, một số hạt hơi phân nhánh, đường kính 5 µm đến 64 µm, rốn hạt hình khe ngắn hay dạng điểm, hình chữ V hay chữ U, có vân tăng trưởng mờ. Tế bào biểu bì hình chữ nhật, thành lượn sóng nhất là ở bề mặt, đôi khi thấy lỗ khí tròn hay tròn dẹt, tế bào không đều. Mạch xoắn, đường kính 5 µm đến 26 µm.
Lỗ bối: Hạt tinh bột hình trứng lớn, hình vỏ sò, hình thận hay hình bầu dục, đường kính tới 60 µm, rốn hạt hình chữ V, hình sao hay dạng điểm, thấy rõ vân tăng trưởng. Mạch xoắn và mạch hình mạng, đường kính tới 64 µm.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 0,5 % (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ vụn nát
Qua rây có kích thước mắt rây là 3,15 mm: Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.12).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 9,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 50 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa hè, thu, đào lấy thân hành, loại bỏ rễ con, vỏ thô, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô ở nhiệt độ thấp.

Bảo quản
Để nơi khô, đựng trong thùng hoặc lọ kín, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Khổ, cam, vi hàn. Vào các kinh phế, tâm.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt, nhuận phế, hóa đờm, tán kết. Chủ trị: Ho rào do phế nhiệt, ho khan, ho đờm có máu, ho lao (không có vi khuẩn); loa lịch (tràng nhạc), áp xe vú, bướu cổ.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 4 g đến 9 g, dạng thuốc sắc hoặc dùng bột, để hòa với nước thuốc thang đã sắc, uống mỗi lần từ 1 g đến 2 g.

Kiêng kỵ
Không dùng phối hợp với Phụ tử, Ô đầu.

CÀ ĐỘC DƯỢC (Hoa)
Flos Daturae metelis

Hoa phơi hay sấy khô của cây Cà độc dược (*Datura metel* L.), họ Cà (Solanaceae).

Mô tả
Hoa khô thường nhàu nát, hình dài. Hoa chưa nở dài 3 cm đến 5 cm, hoa đã nở dài 7 cm đến 12 cm. Đài hình ống, dài bằng 2/5 tràng hoa; màu lục xám hoặc màu vàng xám, đỉnh có 5 thùy với 5 gân ở dáy; bề mặt hơi có lông mịn; tràng hình loa kèn, màu vàng nhạt hoặc màu vàng nâu, đỉnh có 5 thùy, nhọn, ngắn, có 3 gân dọc rõ ở dưới đỉnh; giữa hai thùy có chỗ hơi lõm; nhị 5, chỉ nhị dính liền vào ống tràng, dài bằng 3/4 tràng; vòi nhuỵ hình gậy. Mẫu hoa sấy khô, chất mềm dẻo; mẫu hoa phơi khô, giòn, mùi nhẹ; vị hơi đắng.

Bột
Bột màu vàng nhạt, vị hơi đắng. Hạt phấn gần hình cầu hoặc hình bầu dục dài, đường kính 39 µm đến 42 µm, có cấu tạo 3 lỗ rãnh, bề mặt có đường gân nhỏ phân nhánh, tạo thành hình mạng lưới ở hai cực. Lông che chở của đài có 1 đến 3 tế bào, thành tế bào sần sùi. Mỗi lông tiết có 1 đến 5 tế bào ở đầu và 1 đến 5 tế bào ở chân. Các lông che chở ở mép cánh hoa có 1 đến 10 tế bào, thành tế bào hơi sần sùi. Lông che chở ở gốc chỉ nhị dày, có 1 đến 5 tế bào, đường kính chân lông đạt tới 128 µm, đỉnh tròn tù. Trong các tế bào tràng và đài hoa có tinh thể calci oxalat dạng cát, lăng trụ và cụm calci oxalat.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G.*
Hệ dung môi khai triển: *Ethyl acetat - methanol - amoniac đậm đặc* (17 : 2 : 1).
Dung dịch thử : Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 1 ml *amoniac đậm đặc (TT)*, trộn kỹ, thêm 25 ml *cloroform (TT)* khuấy kỹ, để lắng qua đêm, lọc, bốc hơi dịch lọc đến khô. Hòa tan cặn trong 1 ml *cloroform (TT)*, được dung dịch thử.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan atropin sulfat chuẩn và scopolamin hydrobromid chuẩn trong methanol để được dung dịch có chứa mỗi chất 4 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có 2 chất chuẩn trên, dùng 1 g bột hoa Cà độc dược (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký xong, lấy bản mỏng ra, phơi khô ngoài không khí, phun *thuốc thử Dragendorff (TT)*. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết atropin và scopolamin của dung dịch chất đối chiếu. Hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng
Cân chính xác khoảng 10 g bột mịn dược liệu, đã được sấy khô 4 h ở 60 °C; làm ẩm bằng *hỗn hợp ethanol - amoniac đậm đặc - ether* (5 : 4 : 10), để yên 12 h, cho vào bình Soxhlet chiết bằng *ether (TT)*, trên cách thủy đến khi chiết hết alcaloid (Phụ lục 12.3, dùng thuốc thử Dragendorff). Bốc hơi dịch chiết trên cách thủy cho bay gần hết ether, thêm 25 ml *dung dịch acid sulfuric 0,5 N (TT)*, tiếp tục bốc hơi cho đến hết ether. Để yên dung dịch đến khi còn hơi ẩm, lọc qua bông, chuyển dịch lọc vào bình gạn. Mặt khác, rửa bã cặn dược liệu bằng 5 ml *dung dịch acid sulfuric 0,5 N (TT)* và 2 lần với *nước*, mỗi lần 5 ml. Gộp các nước rửa với dung dịch acid trong bình gạn, chiết với 10 ml, 5 ml, 5 ml *cloroform (TT)*, đến khi cloroform không còn có màu. Gộp các dung dịch cloroform và chiết bằng 10 ml *dung dịch acid sulfuric 0,1 N (TT)*, gạn bỏ lớp cloroform, gộp các dịch chiết acid sulfuric lại, trung hòa bằng *amoniac đậm đặc (TT)* và thêm 2 ml *amoniac đậm đặc (TT)*. Chiết ngay với 20 ml, 15 ml, 15 ml, 10 ml, 5 ml *cloroform*

(TT), đến khi chiết được hết alcaloid. Lọc các dung dịch cloroform trên cùng một phễu lọc có *natri sulphat khan (TT)*. Rửa tiếp phễu lọc hai lần, mỗi lần với 4 ml *cloroform (TT)*. Gộp các dịch chiết cloroform và dịch rửa, bốc hơi dung môi trên cách thủy. Thêm 3 ml *ethanol trung tính (TT)* để hòa tan cặn, bốc hơi đến khô và tiếp tục đun nóng trong 15 min. Đun nhẹ để hòa tan cặn trong 2 ml *cloroform (TT)*, cho thêm chính xác 20 ml dung dịch chuẩn độ *dung dịch acid sulfuric 0,02 N (CĐ)*, đun cách thủy cho bốc hơi hết cloroform; để nguội ở nhiệt độ phòng, thêm 2 giọt đến 3 giọt *dung dịch đỏ methyl (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)* đến khi xuất hiện màu vàng.
1 ml *dung dịch acid sulfuric 0,02 N (CĐ)* tương đương với 6.068 mg $C_{17}H_{21}NO_4$.
Hàm lượng alcaloid trong dược liệu không được dưới 0,30 %, tính theo scopolamin ($C_{17}H_{21}NO_4$), tính trên dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Từ tháng 4 đến tháng 11, thu hái hoa lúc bắt đầu nở, phơi hoặc sấy khô ở nhiệt độ thấp.

Bảo quản
Để nơi khô, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Tân, ôn, có độc. Vào các kinh phế, can.

Công năng, chủ trị
Bình suyễn, chỉ khái, giải co cứng, chỉ thống. Chủ trị: Ho suyễn khò khè, thượng vị đau có cảm giác lạnh, phong thấp tê đau, trẻ em co giật mạn tính.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 0,3 g đến 0,6 g, dạng thuốc hoàn. Có thể dùng dưới dạng thuốc hút (dược liệu thái nhỏ cuộn thành điếu thuốc hút, chia liều để dùng, mỗi ngày không được dùng quá 1,5 g dược liệu).

CÀ ĐỘC DƯỢC (Lá)
Folium Daturae metelis

Lá phơi hay sấy khô của cây Cà độc dược (*Datura metel* L.), họ Cà (Solanaceae).

Mô tả
Lá khô nhăn nheo, màu nâu, mùi hăng đặc biệt, dài 9 cm đến 16 cm, rộng 4 cm đến 9 cm. Cuống lá dài 4 cm đến 6 cm. Đầu lá nhọn, gốc lá lệch (hai bên gốc phiến lá không đều nhau). Mép lá thường lượn sóng, có khía răng cưa nông. Mặt trên phiến lá màu lục xám, mặt dưới màu lục nhạt. Gân chính màu xám nhạt.

Vi phẫu
Gân lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới gồm một lớp tế bào mang nhiều lông che chở có bề mặt lấm tấm, lông tiết có đầu đa bào và chân đơn bào. Mô dày nằm sát biểu bì trên và biểu bì dưới. Mô mềm cấu tạo bởi những tế bào có thành mỏng, hình tròn hay đa giác không đều, rải rác có những tế bào chứa tinh thể calci oxalat dạng cát. Bó libe-gỗ hình cung ở giữa gân lá, libe tạo thành vòng bao quanh gỗ.
Phiến lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới gồm một lớp tế bào mang lông che chở và lông tiết. Mô giậu gồm các tế bào hình chữ nhật, xếp vuông góc với biểu bì trên, phía dưới là mô khuyết, rải rác có các tinh thể calci oxalat hình cầu gai nằm giữa mô giậu và mô khuyết.

Bột
Bột màu lục xám, mùi hăng đặc biệt, vị đắng. Mảnh biểu bì mang lỗ khí, mang lông tiết hoặc lông che chở. Lông che chở đa bào cấu tạo bởi 3 đến 4 tế bào thành mỏng, bề mặt lấm tấm. Thỉnh thoảng có một số lông che chở đa bào có eo thắt. Lông tiết đầu đa bào, chân đơn bào. Mảnh mạch xoắn. Mảnh mô mềm hình giậu. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai.

Định tính
Lấy khoảng 3 g bột dược liệu cho vào một bình nón khô có nút mài dung tích 100 ml. Thấm ẩm bằng vừa đủ *amoniac đậm đặc (TT)*. Thêm 15 ml hỗn hợp *ether - cloroform* (3 : 1). Để yên từ 45 min đến 1 h, thỉnh thoảng lắc đều. Lọc dịch chiết ether - cloroform vào một bát sứ nhỏ, lấy bã dược liệu chiết như trên 2 lần nữa, gộp các dịch chiết ether - cloroform vào một bát sứ nhỏ, bốc hơi trên nồi cách thủy tới khô. Hòa tan cắn với 3 giọt đến 5 giọt *acid nitric (TT)* rồi bốc hơi trên nồi cách thủy đến khô, cắn có màu vàng. Để nguội, nhỏ vào cắn 5 giọt *aceton (TT)* và 1 đến 2 giọt *dung dịch kali hydroxyd 10 % trong ethanol 90 % (TT)* vừa mới pha sẽ xuất hiện màu tím không bền.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng
Cân chính xác khoảng 25 g bột mịn dược liệu, đã được sấy khô 4 h ở 60 °C; cho vào bình Soxhlet, làm ẩm bằng hỗn hợp *ethanol - amoniac đậm đặc - ether* (5 : 4 : 10), để yên 12 h, thêm 500 ml *ether (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy đến khi chiết hết alcaloid (Phụ lục 12.3, dùng thuốc thử Dragendorff). Bốc hơi dịch chiết trên cách thủy cho bay gần hết ether, thêm 25 ml *dung dịch acid sulfuric 0,5 N (TT)*, tiếp tục bốc hơi cho đến hết ether. Để yên dung dịch đến khi còn hơi ẩm, lọc qua bông, chuyển dịch lọc vào bình gạn. Mặt khác, rửa cắn bằng 5 ml *dung dịch acid sulfuric 0,5 N (TT)* và 2 lần với *nước*, mỗi lần 5 ml. Gộp các nước rửa với dung dịch acid sulfuric trong bình gạn, chiết với 10 ml, 5 ml, 5 ml *cloroform (TT)* đến khi cloroform không còn có màu. Trộn đều các dung dịch

cloroform và chiết bằng 10 ml *dung dịch acid sulfuric 0,1 N (TT)*, gạn bỏ lớp cloroform, gộp các dung dịch acid sulfuric lại, trung hòa bằng *amoniac đậm đặc (TT)* và thêm 2 ml *amoniac đậm đặc (TT)* nữa. Chiết ngay với 20 ml, 15 ml, 15 ml, 10, 5 ml *cloroform (TT)*, đến khi chiết được hết alcaloid. Lọc các dung dịch cloroform trên cùng một phễu lọc có *natri sulphat khan (TT)*. Rửa tiếp phễu lọc hai lần, mỗi lần với 4 ml *cloroform (TT)*. Gộp các dịch chiết cloroform và dịch rửa, bốc hơi dung môi trên cách thủy đến cắn. Thêm 3 ml *ethanol trung tính (TT)* để hòa tan cắn, bốc hơi đến khô và tiếp tục đun nóng trong 15 min. Đun nhẹ để hòa tan cặn trong 2 ml *cloroform (TT)*, cho thêm chính xác 20 ml *dung dịch acid sulfuric 0,02 N (CĐ)*, đun cách thủy cho bốc hơi hết cloroform; để nguội ở nhiệt độ phòng, thêm 2 giọt đến 3 giọt *dung dịch đỏ methyl (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)* đến khi xuất hiện màu vàng. 1 ml *dung dịch acid sulfuric 0,02 N (CĐ)* tương đương với 6,068 mg $C_{17}H_{21}NO_4$.
Dược liệu phải chứa không được dưới 0,12 % alcaloid tính theo scopolamin ($C_{17}H_{21}NO_4$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Vào tháng 4 đến tháng 10, khi trời khô ráo, hái lá bánh tẻ, loại bỏ các lá bị sâu bệnh và héo vàng, đem phơi nắng hoặc sấy nhẹ đến khô.

Bảo quản
Để nơi khô ráo tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Tân, ôn, có độc. Vào kinh tâm, phế.

Công năng, chủ trị
Bình xuyễn, chỉ khái, chỉ thống. Chủ trị: Hen suyễn, đau loét dạ dày ruột, nôn say tàu xe, đau răng, phong thấp, động kinh ở trẻ em, gây tê mê cho phẫu thuật, cai nghiện ma tuý.

Cách dùng, liều lượng
Liều tối đa cho người lớn dạng bột 0,2 g/lần, 0,6 g trong 24 h. Có thể dùng lá cuốn để hút không được vượt quá 1 g/ngày.

Kiêng kỵ
Không dùng cho người hen suyễn do nhiễm trùng hô hấp, cao huyết áp, thiên đầu thống.

CÀ GAI LEO
Herba Solani procumbensis

Phần trên mặt đất được phơi hoặc sấy khô ở 50 °C đến 60 °C của cây Cà gai leo (*Solanum procumbens* Lour.), họ Cà (Solanaceae).

Mô tả
Dược liệu là những đoạn thân lá dài từ 2 cm đến 5 cm, màu xanh nhạt hoặc nâu xám hoặc vàng nâu. Lá nguyên có hình trứng hoặc thuôn. Gốc lá hình rìu hoặc hơi tròn, mép nguyên hoặc hơi lượn và có khía thùy. Phiến lá dài từ 2 cm đến 4 cm, rộng 1,2 cm đến 2,0 cm, cuống dài 0,3 cm đến 0,8 cm, mặt trên sẫm, mặt dưới nhạt phủ đầy lông tơ màu trắng; hai mặt đều có gai ở gân chính, nhất là mặt trên; cuống lá cũng có gai.

Bột
Bột có màu xám, mùi thơm đặc trưng, vị hơi đắng. Quan sát dưới kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì phiến lá mang lông che chở và lỗ khí, có nhiều mảnh mạch xoắn, nhiều lông che chở hình sao, lông che chở đa bào một dãy, nhiều lông đơn bào và lông tiết; sợi thành dày đứng riêng lẻ, mảnh biểu bì thân, mảnh mô mềm có tinh thể calci oxalat hình cầu gai nằm ngoài hoặc trong tế bào.

Định tính
A. Lấy khoảng 3 g bột dược liệu, thêm 2 ml *amoniac (TT)*, trộn cho thấm đều, để yên 30 min. Thêm 20 ml *cloroform (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 30 min, để nguội, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cắn. Hòa cắn trong 5 ml *dung dịch acid sulfuric 1 % (TT)* bằng cách lắc siêu âm trong 5 min, để nguội, lọc, chia dịch lọc vào 3 ống nghiệm để làm các phản ứng sau:
Ống 1: Nhỏ một giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, xuất hiện tủa trắng.
Ống 2: Nhỏ một giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)*, xuất hiện tủa vàng cam.
Ống 3: Nhỏ một giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)*, xuất hiện tủa nâu.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi triển khai: *Cloroform - methanol - amoniac* (50 : 9 : 1).
Dung dịch thử: Lấy khoảng 2,0 g bột dược liệu cho vào bình cầu dung tích 100 ml. Thêm 30 ml *dung dịch acid acetic 5 % trong methanol (TT)*, đun hồi lưu trong cách thủy trong 1 h. Lọc, chuyển dịch lọc vào bình gạn 50 ml, thêm 15 ml *n-hexan (TT)*, lắc kỹ và để phân lớp, lấy phần dịch chiết methanol, cô trên cách thủy đến cắn. Dùng khoảng 5 ml *dung dịch amoniac 5 % (TT)* để hòa cắn và chuyển sang bình gạn. Thêm 10 ml *cloroform (TT)*, lắc kỹ, gạn lấy lớp cloroform và làm khan bằng *natri sulfat khan (TT)*, cô trên cách thủy đến cắn. Hòa tan cắn bằng 1 ml *methanol (TT)* được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 2,0 g bột Cà gai leo (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt trên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch ceric sulfat 1 % trong acid sulfuric 10 % (TT)*. Sấy bản mỏng ở nhiệt độ 120 °C trong 15 min. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng
Phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1).
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 0,05 g solasodin chuẩn, cho vào bình định mức 100 ml, thêm một ít *methanol (TT)*, lắc cho tan hết solasodin, thêm tiếp *methanol (TT)* đến vạch và lắc đều.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 3,0 g bột dược liệu (qua rây có cỡ mắt rây 1,25 mm), đun hồi lưu trong cách thủy trong 3 h với 50 ml *dung dịch acid acetic 5 % trong methanol (TT)*. Để nguội, lọc qua phễu thủy tinh xốp số 4, rửa bình và phễu lọc bằng 30 ml *dung dịch acid acetic 5 % trong methanol (TT)*, gộp dịch lọc và dịch rửa, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa tan cặn bằng lắc siêu âm với *methanol (TT)*, chuyển vào bình định mức 10 ml, thêm *methanol (TT)* đến vạch. Đậy nút và lắc đều.
Cách tiến hành:
Lần lượt cho vào 3 bình gạn dung tích 50 ml các dung dịch sau:

Dung dịch sử dụng	Bình 1	Bình 2	Bình 3
	Dung dịch chuẩn (ml)	Dung dịch thử (ml)	Mẫu trắng (ml)
Dung dịch đệm phosphat 0,1 M pH 8,0 (TT)	5	5	5
Dung dịch xanh bromothymol 0,2 % (Hoà tan 0,2 g *xanh bromthymol (TT)* trong *ethanol 20 % (TT)*, thêm *ethanol 20 % (TT)* vừa đủ 100 ml).	0,5	0,5	0,5
Dung dịch solasodin chuẩn (0,5 mg/ml)	0,5	0	0
Dung dịch thử	0	0,5	0
Methanol (TT)	0	0	0,5
Cloroform (TT)	10	10	10

Lắc kỹ 3 bình trên trong 15 min, sau đó để yên khoảng 30 min cho phân lớp. Gạn lấy lớp cloroform vào 3 bình gạn khác. Lắc lớp cloroform với 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,05 N (TT)*. Để yên 30 min cho phân lớp. Gạn lấy dung dịch kiềm màu xanh.
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 616 nm (Phụ lục 4.1) của các dung dịch kiềm thu được.
Tính hàm lượng glycoalcaloid trong mẫu thử theo solasodin dựa vào độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của solasodin chuẩn.
Hàm lượng glycoalcaloid toàn phần trong dược liệu không được thấp hơn 0,1 % tính theo solasodin ($C_{27}H_{43}NO_2$), tính trên dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hái quanh năm bộ phận trên mặt đất, tốt nhất vào lúc cây bắt đầu ra hoa. Toàn cây được chặt thành từng đoạn dài từ 2 cm đến 5 cm, sau đó phơi hoặc sấy khô ở nhiệt độ 50 °C đến 60 °C.

Bào chế
Trước khi dùng, lấy dược liệu vi sao hoặc sao vàng.

Bảo quản
Bảo quản trong bao bì kín, để nơi khô ráo, thoáng mát.

Tính vị, quy kinh
Khổ, ôn, hơi có độc.

Công năng, chủ trị
Phát tán phong thấp, tiêu độc, trừ ho, giảm đau, cầm máu.
Chủ trị: Phong thấp, đau nhức các đầu gân xương, ho khan, ho gà, dị ứng, xơ gan, viêm nhiễm quanh răng.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 16 g đến 20 g, dưới dạng thuốc sắc. Thường dùng phối hợp với một số vị thuốc khác.

CÁ NGỰA
Hippocampus
Hải mã

Cả con cá đã phơi hay sấy khô của một số loài Cá ngựa (*Hippocampus* spp.), họ Cá chìa vôi (Syngnathidae).

Mô tả
Cá ngựa có thân hình hơi dẹt, dài và cong. Toàn thân dài khoảng 15 cm đến 20 cm, có khi hơn; phần phình to ở giữa thân rộng từ 2 cm đến 4 cm; màu vàng nhạt hoặc nâu đen. Thân và đuôi chia thành các ô hình chữ nhật, các ô này được tạo bởi các đốt xương vòng song song; ở đỉnh các đốt thân có các gai nhọn, thân có 7 gờ dọc, đuôi cuộn lại ở cuối và chỉ có 4 gờ. Đầu hơi giống hình đầu ngựa, giữa đầu có các gai to nhỏ lên. Miệng dài như một cái vòi, không có răng, hai mắt lõm sâu. Thể nhẹ, chất xương, cứng rắn, hơi có mùi tanh, vị hơi mặn. Cá ngựa loại to, đầu đuôi đầy đủ, không có sâu mọt là loại tốt.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g dược liệu đã nghiền nhỏ, 105 °C, 4 h).

Chế biến
Hai mùa hạ, thu, bắt cá ngựa về rửa sạch, loại bỏ màng da, bỏ ruột, uốn cong đuôi rồi phơi khô, thường buộc lại từng đôi một (1 con đực, 1 con cái).

Bào chế
Loại bỏ tạp chất, vụn nhỏ, khi dùng giã nát, tán bột. Thường vặt bỏ gai trên đầu, tẩm rượu, hơ hoặc sao kỹ với cám, tán nhỏ để dùng hoặc ngâm rượu với thuốc khác để uống.

Bảo quản
Để nơi khô, mát, trong lọ, hộp kín có chứa một ít long não hay hồ tiêu để phòng sâu mọt.

Tính vị, quy kinh
Cam, hàm, ôn. Vào các kinh can, thận.

Công năng, chủ trị
Ôn thận tráng dương, tán kết tiêu thũng. Chủ trị: Liệt dương, di niệu, thận hư, tái xuyễn, trưng hà, u cục ở trong bụng, ngã tổn thương.
Dùng ngoài trị mụn nhọt sưng đau.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, dạng thuốc uống.
Dùng ngoài: Tán thành bột mịn bôi vào chỗ đau. Lượng thích hợp.

Kiêng kỵ
Phụ nữ mang thai kiêng dùng.

CẢI CỦ (Hạt)

Semen Raphani sativi
Lai phục tử, La bặc tử

Hạt lấy từ quả chín, phơi hay sấy khô của cây Cải củ (*Raphanus sativus* L.), họ Cải (Brassicaceae).

Mô tả
Hạt nhỏ hình trứng tròn hoặc hình bầu dục hơi dẹt, dài 2,5 mm đến 4 mm, rộng 2 mm đến 3 mm. Mặt ngoài màu nâu vàng, nâu đỏ hoặc nâu xám, ở một đầu có rốn hạt hình tròn, màu nâu sẫm; đầu kia có mấy rãnh dọc. Vỏ hạt mỏng và giòn, bên trong có hai lá mầm màu trắng vàng, có dầu. Không mùi, vị nhạt hơi đắng, cay.

Định tính
A. Lấy một lượng nhỏ bột dược liệu (khoảng 20 mg) cho vào ống nghiệm, thêm một hạt nhỏ *natri hydroxyd (TT)*, đun ống nghiệm trên đèn cồn, để nguội. Hòa hỗn hợp trên trong 2 ml *nước*, lọc. Lấy 1 ml dịch lọc, acid hóa bằng *dung dịch acid hydrocloric 5 % (TT)*, khí hydrosulfur sẽ bốc lên làm cho *giấy tẩm chì acetat (TT)* biến thành màu đen nâu, sáng bóng.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi khai triển: Lớp trên của hỗn hợp dung môi gồm *ethyl acetat - acid formic - nước* (10 : 2 : 3).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 30 ml *ether (TT)*, đun hồi lưu 1 h và loại bỏ dịch ether, bay hơi bã tới khô. Thêm 20 ml *methanol (TT)* vào bã, đun hồi lưu 1 h, lọc và bốc hơi dịch lọc tới cắn, hòa tan cắn trong 2 ml *methanol (TT)* dùng làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g Hạt cải củ (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Các vết trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
Phun hỗn hợp gồm *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulphuric (TT) - ethanol 96 % (TT)* (10 : 90), sấy bản mỏng đến khi các vết hiện rõ. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 8,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần
Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất
Tỷ lệ hạt non, lép không quá 5,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 10,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa hạ, khi quả chín, cắt lấy cây, phơi khô, đập lấy hạt, loại bỏ tạp chất, phơi khô.

Bào chế
Hạt cải củ: Lấy hạt cải củ, loại sạch tạp chất, rửa sạch phơi khô, khi dùng giã nát.
Hạt cải củ sao: Lấy hạt cải củ sạch, sao nhỏ lửa đến khi hơi phồng và có mùi thơm, lấy ra để nguội, khi dùng giã nát.

Bảo quản
Để nơi khô, thoáng, tránh sâu, mọt.

Tính vị, quy kinh
Tân, cam, bình. Vào kinh phế, tỳ, vị.

Công năng, chủ trị
Tiêu thực trừ trướng, giáng khí hóa đờm. Chủ trị: Ăn uống đình trệ, thượng vị đau trướng, đại tiện bí kết, tiêu chảy, kiết lỵ, đờm nghẽn, ho suyễn.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 5 g đến 10 g, dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ
Cơ thể hư nhược, thuộc chân khí hư thì không được dùng.

CAM THẢO (Rễ và Thân rễ)
Radix et Rhizoma Glycyrrhizae

Rễ và thân rễ còn vỏ hoặc đã cạo lớp bần, được phơi hay sấy khô của ba loài Cam thảo *Glycyrrhiza uralensis* Fisch., *Glycyrrhiza inflata* Bat. hoặc *Glycyrrhiza glabra* L., họ Đậu (Fabaceae).

Mô tả
Glycyrrhiza uralensis: Đoạn rễ hình trụ, thẳng hay hơi cong queo, thường dài 20 cm đến 100 cm, đường kính 0,6 cm đến 3,5 cm. Lớp bần ngoài cùng bị cạo bỏ hoặc dính chặt. Rễ chưa cạo lớp bần bên ngoài có màu nâu đỏ hoặc nâu xám có các vết sẹo của rễ con, những vết nhăn dọc và các lỗ vỏ nhô lên. Rễ đã cạo lớp bần có màu vàng nhạt. Chất cứng chắc, khó bẻ gãy, vết bẻ màu vàng nhạt có nhiều xơ dọc, có tinh bột. Mặt cắt ngang có nhiều tia ruột từ trung tâm tỏa ra, trông giống như nan hoa bánh xe, đôi khi có khe nứt, tầng phát sinh libe-gỗ thành vòng rõ. Đoạn thân rễ hình trụ, bên ngoài có các núm sẹo, tủy ở trung tâm mặt cắt ngang. Mùi đặc biệt, vị ngọt hơi khé cổ.
Glycyrrhiza inflata: Đoạn rễ và thân rễ hóa gỗ, chất cứng chắc, đôi khi phân nhánh, mặt ngoài thô ráp và có màu nâu xám. Mặt bẻ có nhiều sợi hóa gỗ thành đám, ít tinh bột. Thân rễ mang nhiều chồi bất định lớn.
Glycyrrhiza glabra: Rễ và thân rễ chất tương đối chắc, đôi khi phân nhánh, mặt ngoài không thô ráp, hầu hết có màu nâu xám, lỗ vỏ nhỏ, không rõ.

Vi phẫu
Lớp bần dày gồm các tế bào hình chữ nhật. Mô mềm vỏ có chứa nhiều hạt tinh bột. Tia ruột có 3 đến 5 hàng tế bào loe rộng thành hình phễu trong vùng libe. Libe hình nón chứa các đám sợi thành dày và tinh thể calci oxalat. Gỗ gồm mạch gỗ to, sợi gỗ và mô mềm gỗ ít hóa gỗ. Trong có tủy nhỏ.

Bột
Màu vàng nhạt đến màu vàng nâu. Soi kính hiển vi thấy các mảnh mô mềm với tế bào có thành mỏng chứa nhiều hạt tinh bột. Hạt tinh bột đứng riêng rẽ, hình trứng hay hình cầu có đường kính 2 µm đến 20 µm. Sợi gỗ màu vàng, có thành dày, thường kèm theo tế bào có tinh thể calci oxalat hình lăng trụ. Mảnh mạch điểm màu vàng, mảnh bần màu nâu đỏ.

Định tính
A. Nhỏ *dung dịch amoniac (TT)* lên bột dược liệu sẽ có màu vàng tươi, thêm *dung dịch acid sulfuric 80 % (TT)* sẽ mất màu vàng tươi.
B. Lấy 0,5 g bột Cam thảo, thêm 50 ml *ethanol 70 % (TT)*, đun nóng trên cách thủy trong 15 min. Lọc nóng qua bông, lấy dịch lọc để làm các phản ứng sau:
Lấy 10 ml dịch lọc vào một chén sứ, cô trên cách thủy đến khô. Thêm vào cặn 1 ml *anhydrid acetic (TT)* và 1 ml *cloroform (TT)*, khuấy kỹ, lọc lấy phần dung dịch trong, cho vào một ống nghiệm khô. Thêm từ từ theo thành ống nghiệm khoảng 1 ml *acid sulfuric (TT)*. Giữa 2 lớp chất lỏng có vòng ngăn cách màu nâu đỏ, lớp dung dịch phía trên có màu vàng nâu sẫm.
Lấy 2 ml đến 3 ml dịch lọc cho vào một ống nghiệm, thêm một ít bột *magnesi (TT)* và 0,5 ml *acid hydrocloric (TT)*, sẽ xuất hiện màu đỏ sẫm.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Ethyl acetat - acid formic - acid acetic băng - nước (15 : 1 : 1 : 2).
Dung dịch thử: Lấy khoảng 0,5 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ether ethylic (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 1 h, gạn bỏ dịch ether. Thêm vào bã 15 ml *methanol (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 1 h, để nguội, lọc lấy dịch chiết. Bốc hơi dịch chiết đến cắn, hòa tan cắn trong 20 ml *nước*. Lắc dung dịch thu được với *n-butanol* 3 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp dịch chiết butanol, rửa 3 lần với *nước*, bỏ nước rửa. Bay hơi dịch chiết butanol trên cách thủy tới cắn, hòa tan cắn trong 5 ml *methanol (TT)* được dung dịch thử.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Lấy 0,5 g bột Cam thảo (mẫu chuẩn) chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan amoni glycyrrhizinat chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 2 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi khai triển xong, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*, sấy bản mỏng ở 105 °C trong 5 min. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang cùng màu và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu và có một vết phát quang cùng màu và cùng giá trị R_f với vết của amoni glycyrrhizinat trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 6,0 % đối với rễ đã cạo lớp bần; không quá 10,0 % đối với rễ không cạo lớp bần (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 2,5 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - dung dịch acid phosphoric 0,05 % (38 : 62)
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,2 g bột dược liệu (qua rây số 355) vào bình nón có nút mài, thêm chính xác 100 ml *ethanol 70 % (TT)*, đậy nút, cân, sau đó siêu âm 30 min, để nguội, cân lại và bổ sung *ethanol 70 % (TT)* để được khối lượng ban đầu. Trộn đều và lọc qua màng lọc 0,45 µm.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan amoni glycyrrhizinat chuẩn trong *ethanol 70 % (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,2 mg/ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 254 nm.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột không được nhỏ hơn 5000 tính theo pic của amoni glycyrrhizinat. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic amoni glycyrrhizinat trong 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, dung dịch thử. Tính hàm lượng acid glycyrrhizic trong dược liệu dựa vào diện tích pic amoni glycyrrhizinat trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ dung dịch chuẩn (khối lượng của acid glycyrrhizic = khối lượng amoni glycyrrhizinat/1,0207).
Dược liệu phải chứa không ít hơn 2,0 % acid glycyrrhizic ($C_{42}H_{62}O_{16}$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Sau khi đào lấy rễ, xếp thành đống để cho hơi lên men làm cho rễ có màu vàng sẫm hơn, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế
Lấy rễ Cam thảo, phun nước cho mềm, thái phiến, phơi hoặc sấy khô.
Chích Cam thảo: Lấy Cam thảo đã thái phiến, đem tẩm mật (cứ 1 kg Cam thảo, dùng 200 g mật, thêm 200 g nước đun sôi), rồi sao vàng thơm.

Bảo quản
Để nơi khô, mát, tránh sâu mọt.

Tính vị, quy kinh
Cam, bình. Vào các kinh tâm, phế, tỳ, vị và thông 12 kinh.

Công năng, chủ trị
Kiện tỳ ích khí, nhuận phế chỉ ho, giải độc, chỉ thống, điều hòa tác dụng các thuốc.
Chích Cam thảo: Bổ tỳ, ích khí, phục mạch. Chủ trị: Tỳ vị hư nhược, mệt mỏi yếu sức, hóa đờm chỉ ho, đánh trống ngực, mạch kết đại (mạch dừng), loạn nhịp tim.
Sinh Cam thảo: Giải độc tả hỏa. Chủ trị: Đau họng, mụn nhọt, thai độc.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 4 g đến 12 g, dạng thuốc sắc hoặc bột.

Kiêng kỵ
Không dùng chung với các vị Đại kích, Nguyên hoa, Hải tảo, Cam toại.

CAM THẢO NAM
Herba et Radix Scopariae
Cam thảo đất, Dã cam thảo, Thổ cam thảo

Toàn cây kể cả rễ dạng tươi hay đã phơi hoặc sấy khô của cây Cam thảo nam (*Scoparia dulcis* L.) họ Hoa mõm chó (Scrophulariaceae).

Mô tả
Phần trên mặt đất cao khoảng 0,4 m đến 0,7 m, mọc thẳng đứng, thân già hóa gỗ ở gốc, phần thân non có nhiều khía dọc. Lá mọc đối hoặc mọc vòng ba, dài 3 cm đến 5 cm, rộng 1,5 cm đến 3,0 cm, phiến nguyên, hẹp dần ở gốc, mép có răng cưa thưa ở nửa cuối, gân lá hình lông chim. Hoa nhỏ, cánh hoa màu trắng, mọc riêng rẽ hay thành từng đôi ở kẽ lá. Cuống quả dài 0,8 cm đến 1,5 cm. Quả nang nhỏ đựng trong đài tồn tại, màu nâu đen. Đài đồng trưởng và quả bên trong có dạng gần như tròn với núm nhụy thò ra ở đỉnh quả, dài 1 mm đến 2 mm. Quả luôn tồn tại ở kẽ lá làm thành điểm đặc sắc của cây. Rễ chính nhỏ, màu nâu đỏ nhạt, với nhiều rễ phụ. Toàn cây có mùi thơm nhẹ, vị đắng sau hơi ngọt.

Vi phẫu
Vi phẫu lá:
Phần gân giữa: Ngoài cùng là biểu bì có cutin răng cưa, kế đến là lớp mô dày, mô mềm gồm các tế bào thành mỏng. Bó libe-gỗ chính có hình cung với libe ở dưới và gỗ gồm một số mạch xếp thành chuỗi ở phía trên.
Phần phiến lá: Phía dưới biểu bì trên là mô mềm giậu; kế đến là mô mềm khuyết và biểu bì dưới. Lông tiết gồm hai loại: Chân đơn bào, đầu 4 đến 8 có khi 10 đến 16 tế bào thường nằm trong phần lõm của phiến lá; loại chân đa bào gồm 2 đến 5 tế bào, đầu đơn bào thường có ở gân lá.
Thân: Thiết diện đa giác hoặc hơi tròn có 4 đến 6 u lồi. Biểu bì có cutin răng cưa và mang nhiều lông tiết hai loại như ở lá. Dưới biểu bì là mô dày tròn; ở chỗ ứng với u lồi, dưới biểu bì còn có thể có đám mô cứng rồi mới đến mô dày. Kế đến là mô mềm vỏ có những khuyết rải rác. Libe cấp 2 gồm các tế bào hình chữ nhật nằm theo hướng tiếp tuyến, thành khá dày, phía ngoài libe có nhiều đám sợi ở vùng trụ bì. Gỗ cấp 2 thành vòng liên tục, bên trong là mô mềm tủy có tế bào chưa hóa gỗ (thành tế bào còn cellulose) hay hóa thành mô cứng riêng lẻ từng tế bào hay tụ thành từng đám tế bào thành khá dày, có nhiều tế bào thấy rõ vách ngăn ngang có lỗ rây lấm tấm.
Rễ: Ngoài cùng là lớp bần khá dày. Kế đến là mô mềm vỏ với những lỗ khuyết khá to xếp đều đặn. Libe cấp 2 xếp thành vòng liên tục với các tế bào nhỏ hơn tế bào mô mềm. Gỗ cấp 2 chiếm tâm với nhiều mạch to hơn tế bào mô mềm gỗ gấp 3 đến 4 lần, mô mềm gỗ với các tia gỗ khá rõ.

Bột
Bột có màu vàng lục, ít xơ, mùi thơm nhẹ, vị hơi ngọt. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì gồm các tế bào thành ngoằn ngoèo, mang lỗ khí kiểu hỗn bào. Lông tiết chân đơn bào, đầu 4, 6 hoặc 8, 10 (có khi đến 16 đến 20) tế bào

có dạng giống hoa mai, chứa chất tiết màu vàng nâu. Lông tiết chân dài gồm 4 đến 5 tế bào, đầu đơn bào chứa chất tiết màu hơi xanh. Mảnh mạch vạch, mạch xoắn, mạch điểm, mạch mạng. Mảnh tế bào mô cứng hoặc tế bào mô cứng riêng lẻ thành dày có ống trao đổi; sợi; mảnh mô mềm; hạt tinh bột; mảnh bần; hạt phấn hoa hình cầu, không có gai, màu vàng nhạt (nếu mẫu dược liệu có hoa).

Định tính

A. Lấy 20 ml dịch lọc còn lại trong mục "Chất chiết được trong dược liệu" đem bốc hơi trên cách thủy đến cắn. Hòa cắn trong 10 ml *nước* nóng, lọc. Dịch lọc đem tiến hành các phản ứng sau:

Nhỏ vài giọt dịch lọc lên giấy lọc, để khô, nhỏ tiếp vài giọt dịch lọc trùng với vết cũ, để khô. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm, có phát quang màu xanh dương. Nhỏ thêm 1 giọt đến 2 giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)* lên vết dịch lọc cũ, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm, có phát huỳnh quang màu vàng tươi.

Lấy 2 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm, thêm vài giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*: Dung dịch có màu vàng tăng lên so với ống chứng không nhỏ dung dịch natri hydroxyd.

Lấy 3 ml dịch lọc, thêm một ít bột *magnesi (TT)* và 1 ml *acid hydrocloric (TT)*. Nhúng ống nghiệm vào *nước* sôi khoảng 10 s, xuất hiện màu đỏ nâu.

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

Bản mỏng: *Silica gel G 60F$_{254}$*.

Dung môi khai triển: *Benzen*.

Dung dịch thử: Lấy 5 g bột dược liệu khô cho vào bình nón dung tích 250 ml, thêm 80 ml *nước*. Đun sôi trong 10 min. Gạn qua bông lấy dịch lọc. Lắc dịch lọc với 10 ml *ethyl acetat (TT)*. Cô trên cách thủy dịch ethyl acetat đến cắn, hòa cắn trong 2 ml *ethyl acetat (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g Cam thảo nam (mẫu chuẩn) cho vào bình nón dung tích 250 ml, thêm 30 ml *nước*. Tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm đến 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí. Phun lên bản mỏng *dung dịch vanilin - sulfuric (TT)*, lắc đều, lọc. Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong khoảng 5 min. Quan sát dưới ánh sáng thường.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết màu tím hay xanh tím, có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Cân chính xác khoảng 5 g bột dược liệu thô cho vào bình nón dung tích 250 ml có nút mài. Thêm chính xác 75 ml *ethanol* 96 % *(TT)*. Đậy nút, lắc đều, cân chính xác đến 0,1 g khối lượng bình và nắp. Để yên khoảng 30 min, thỉnh thoảng lắc. Lắp sinh hàn hồi lưu. Đun cách thủy khoảng 1 h. Để nguội và cân. Điều chỉnh khối lượng bình bằng với khối lượng trước khi đun bằng cách thêm *ethanol* 96 % *(TT)*, lắc đều, lọc. Lấy chính xác 25 ml dịch lọc cho vào chén sứ đã sấy đến khối lượng không đổi ở 100 °C, phần dịch lọc còn lại được dùng để làm phản ứng định tính. Bốc hơi dịch lọc trên bếp cách thủy cho đến cắn. Sấy ở 100 °C trong 1 h. Cân và tính kết quả.

Kết quả được tính theo công thức:

$$X\ \% = \frac{(a-b)\times 30\,000}{c\,(100-h)}$$

Trong đó:

a là khối lượng chén có cắn (g);

b là khối lượng chén không có cắn (g);

c là khối lượng dược liệu đem thử (g);

h là phần trăm độ ẩm.

Dược liệu phải chứa từ 8,0 % đến 20,0 % hàm lượng chất chiết được tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hái vào mùa xuân và mùa hạ, đào cả rễ, rửa sạch, phơi hay sấy khô.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, cắt đoạn, vi sao.

Bảo quản

Nơi khô ráo, thoáng mát.

Tính vị, quy kinh

Cam,vi khổ, hàn. Vào kinh tỳ, vị, phế, can.

Công năng, chủ trị

Bổ tỳ, sinh tân, nhuận phế, thanh nhiệt giải độc, lợi niệu.

Chủ trị: Rong kinh, ban chẩn, phế nhiệt gây ho, viêm họng, tiêu chảy.

Cách dùng, liều lượng

Dùng tươi: Ngày dùng từ 20 g đến 40 g, dạng dịch ép.

Dùng khô: Từ 8 g đến 12 g.

Dạng thuốc hãm hoặc thuốc sắc.

CAU (Hạt)

Semen Arecae catechi

Binh lang

Hạt đã phơi hay sấy khô lấy từ quả chín của cây Cau (*Areca catechu* L.), họ Cau (Arecaceae).

Mô tả

Khối cứng, hình trứng hoặc hình cầu dẹt, cao khoảng 1,5 cm đến 3,5 cm; đường kính khoảng 1,5 cm đến 3,5 cm. Đáy phẳng, ở

giữa lõm, đôi khi có một cụm xơ (cuống noãn). Mặt ngoài màu nâu vàng nhạt hoặc màu nâu đỏ nhạt với những nếp nhăn hình mạng lưới. Cắt ngang thấy vỏ hạt ăn sâu vào nội nhũ tạo thành những nếp màu nâu xen kẽ với màu trắng nhạt. Phôi nhỏ nằm ở đáy hạt. Vị chát và hơi đắng.

Vi phẫu

Lớp ngoài của vỏ hạt gồm nhiều hàng tế bào đá dẹt, hình thon dài, xếp tiếp tuyến, chứa chất màu nâu đỏ; tế bào đá có hình dạng và kích thước khác nhau, thường có những khoảng gian bào. Lớp trong gồm nhiều lớp tế bào mô mềm, chứa chất màu nâu đỏ, rải rác có ít bó libe-gỗ. Ngoại nhũ hẹp và thường ăn sâu vào nội nhũ tạo thành mô xâm nhập. Tế bào nội nhũ, hình nhiều cạnh, lỗ to đặc biệt trên thành tế bào.

Bột

Bột màu nâu đỏ, vị chát, soi kính hiển vi thấy: Tế bào đá của vỏ hạt hình bầu dục, dài, thành hơi dày. Mảnh nội nhũ với những tế bào thành dày, có lỗ đặc sắc. Hạt aloron 5 µm đến 40 µm. Mảnh mạch.

Định tính

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

Bản mỏng: *Silica gel G.*

Dung môi khai triển: *Cloroform - methanol - amoniac* (9 : 1 : 0,2).

Dung dịch thử: Lấy 8 g bột thô dược liệu, thêm 50 ml *cloroform (TT)*, lắc đều, thêm tiếp 4 ml *amoniac (TT)*, lắc siêu âm 10 min. Lọc lấy dịch chiết cloroform. Rửa cắn với 10 ml *cloroform (TT)*. Gộp dịch rửa với dịch chiết cloroform, chuyển vào bình gạn, thêm 5 ml dung dịch *acid hydrocloric 10 % (TT)* và 20 ml nước, lắc kỹ. Gạn bỏ lớp cloroform. Rửa lớp nước bằng 10 ml *cloroform (TT)*, gạn bỏ lớp cloroform. Kiềm hóa lớp nước bằng *amoniac (TT)* đến pH 9 đến 11 (thử bằng giấy quỳ) rồi lắc với *cloroform (TT)* hai lần, mỗi lần 10 ml. Gộp các dịch chiết cloroform, bốc hơi trên cách thủy đến khô. Hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol 96 % (TT)* làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 8 g bột thô hạt Cau (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 15 µl mỗi dung dịch trên, triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun dung dịch *thuốc thử Dragendorff (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C đến 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 2,5 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Mảnh vỏ quả: Không quá 2,0 %.

Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Định lượng

Cân chính xác khoảng 8 g bột thô dược liệu vào bình nón nút mài 250 ml, thêm 80 ml *ether ethylic (TT)* và 4 ml *amoniac đậm đặc (TT)*, lắc trong 10 min. Thêm 10 g *natri sulfat khan (TT)* lắc trong 5 min, để yên. Gạn lấy lớp ether, rửa cắn bằng *ether ethylic (TT)* 3 lần, mỗi lần 10 ml. Gộp các dịch chiết ether vào bình gạn, lắc với 0,5 g bột *talc (TT)* trong 3 min, thêm 2,5 ml *nước*, lắc trong 3 min. Để lắng, gạn lấy lớp ether trong ở phía trên, rửa lớp nước bằng 5 ml *ether ethylic (TT)*. Gộp các dịch chiết ether vào một cốc có mỏ, để bay hơi tự nhiên đến khi còn khoảng 15 ml, chuyển vào bình gạn. Tráng cốc bằng *ether ethylic (TT)* 2 lần, mỗi lần 5 ml. Gộp dịch rửa ether vào bình gạn trên. Thêm chính xác 20 ml *dung dịch acid sulfuric 0,02 N (CĐ)* vào bình gạn, lắc kỹ. Để lắng, gạn lấy lớp acid. Rửa lớp ether 3 lần bằng *nước*, mỗi lần 5 ml. Gộp nước rửa với lớp acid, lọc. Rửa giấy lọc và phễu lọc bằng *nước* 4 lần, mỗi lần 10 ml, tập trung nước rửa vào dịch lọc. Thêm 3 đến 4 giọt *dung dịch đỏ methyl (TT)*, định lượng bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)* đến khi chuyển sang màu vàng.

1 ml *dung dịch acid sulfuric 0,02 N (CĐ)* tương ứng với 0,003104 g arecolin ($C_8H_{13}NO_2$).

Hàm lượng phần trăm alcaloid toàn phần (X) của dược liệu được tính theo công thức sau:

$$X = \frac{(20 - n)31{,}04}{m(100 - a)}$$

Trong đó:

n là thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)* đã dùng để chuẩn độ (ml);

m là khối lượng mẫu thử (g);

a là độ ẩm của dược liệu (%).

Dược liệu phải chứa ít nhất 0,3 % alcaloid tan trong ether tính theo arecolin, tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hái quả chín, bổ lấy hạt. Hạt được cắt lát (binh lang phiến) hay bổ đôi, phơi hoặc sấy khô.

Binh lang sao đen (Tiêu binh lang): Lấy binh lang phiến, sao nhỏ lửa đến khi có màu vàng đen.

Bảo quản

Để nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Tân, khổ, ôn. Vào kinh vị, đại tràng.

Công năng, chủ trị

Binh lang: Sát trùng, tiêu tích, hành khí, thông tiện, lợi thủy. Chủ trị: Trừ sán dây, giun đũa, sán xơ mít, trùng tích, phúc thống, tích trệ, tả lỵ, thủy thũng, cước khí, sốt rét.

Binh lang sao đen: Tiêu thực, đạo trệ. Chủ trị: Ăn vào không tiêu sau tả lỵ nặng.

Cách dùng, liều lượng
Binh lang: Ngày dùng từ 8 g đến 24 g, dạng thuốc sắc. Dùng 3 g đến 10 g trừ sán dây; 30 g đến 60 g trừ sán sơ mít.
Binh lang sao đen: Ngày dùng 3 g đến 10 g.

Kiêng kỵ
Cơ thể hư nhược không nên dùng.

CAU (Vỏ quả)
Pericarpium Arecae catechi
Đại phúc bì, đại phúc mao

Vỏ quả đã bỏ vỏ ngoài (lớp vỏ màu xanh) phơi hay sấy khô của cây Cau (*Areca catechu* L.), họ Cau (*Arecaceae*).

Mô tả
Đại phúc bì: Là vỏ quả cau chưa chín, bỏ vỏ ngoài. Vỏ quả cứng, lõm cong, dài 4 cm đến 7 cm, rộng 2 cm đến 3,5 cm, vỏ dày 0,2 cm đến 0,5 cm. Phần ngoài màu xám, có vân nhăn dọc và vân ngang nhỏ lên. Đỉnh có vết sẹo của vòi nhụy, gốc có vết cuống quả và đài hoa. Vỏ quả trong hình vỏ sò, màu nâu tới nâu sẫm, bóng mịn và cứng, chắc. Thể nhẹ, chất rắn, có thể xé theo chiều dọc. Khi xé dọc có thể thấy sợi vỏ quả giữa. Mùi nhẹ, vị hơi se.
Đại phúc mao: Là vỏ quả cau chín, bóc vỏ quả ngoài rồi làm cho tơi ra. Đôi khi có hình bầu dục hoặc hình lõm cong. Vỏ quả ngoài có thể mất hoặc còn sót lại. Khối sợi vỏ quả giữa, dài 4 cm đến 7 cm, màu trắng ngà hay màu nâu nhạt. Thể nhẹ và xốp, chất mềm dai. Vỏ quả trong hình vỏ sò, màu nâu vàng hoặc màu nâu, mặt trong nhẵn mịn, đôi khi bị gãy dọc. Hơi có mùi, vị nhạt.

Bột
Màu trắng ngà. Sợi vỏ quả giữa tụ thành bó, nhỏ, dài, đường kính 8 µm đến 15 µm, hơi hóa gỗ, các lỗ trao đổi rõ; các tế bào bao quanh bó sợi này chứa bó tinh thể silic, đường kính khoảng 8 µm. Tế bào vỏ trong không đều, hình đa giác, hơi tròn hoặc bầu dục, đường kính 48 µm đến 88 µm, các lỗ trao đổi rõ.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến
Vào mùa đông đến mùa xuân năm sau, hái quả chưa chín, phơi khô sau khi luộc, bổ đôi, tước bỏ vỏ xanh, lấy cùi, thường gọi là đại phúc bì.
Vào cuối mùa xuân đến đầu mùa thu, hái quả chín, phơi hoặc sấy khô sau khi luộc, bóc lấy cùi, đập cho xơ, phơi khô, thường gọi là đại phúc mao.

Bào chế
Đại phúc bì loại bỏ tạp chất, rửa sạch, cắt đoạn, làm khô.
Đại phúc mao loại bỏ tạp chất, rửa sạch, làm khô.

Bảo quản
Để nơi khô.

Tính vị, quy kinh
Tân, vi ôn. Vào các kinh tỳ vị, đại trường, tiểu trường.

Công năng, chủ trị
Hành khí, khoan trung, hành thủy tiêu thũng. Chủ trị: Thấp trở, khí trệ, thượng vị trướng tức, đại tiện không thông, thủy thũng, cước khí phù thũng, tiểu tiện bất lợi.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 5 g đến 10 g, dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ
Bệnh hư không có thấp nhiệt không nên dùng.

CÁNH KIẾN TRẮNG
Benzoinum
An tức hương

Nhựa thơm để khô, lấy ở thân cây Bồ đề [*Styrax tonkinensis* (Pierre) Craib. ex Hardw.], họ Bồ đề (Styracaceae).

Mô tả
Từng cục nhựa nhỏ rời nhau, to nhỏ không đều, hơi dẹt, một số dính lại với nhau thành từng khối. Bên ngoài màu vàng cam, láng bóng như sáp (nhựa do tổn thương tự nhiên); hoặc có hình trụ không đều, mảnh dẹt, bên ngoài có màu trắng xám, hơi vàng (nhựa do vết rạch). Chất giòn, dễ vỡ; mặt vỡ phẳng, màu trắng, để lâu dần dần chuyển thành nâu vàng hoặc nâu đỏ. Đun nóng thì mềm và chảy ra. Mùi thơm vani đặc biệt. Vị hơi cay, khi nhai có cảm giác sạn.

Định tính
A. Đun nóng từ từ 0,25 g dược liệu trong một ống nghiệm khô, có mùi thơm kích ứng bốc ra và nhiều tinh thể hình lăng trụ thăng hoa bám ở thành ống nghiệm.
B. Lấy 0,1 g dược liệu vào ống nghiệm, thêm 5 ml *ethanol 96 % (TT)*, nghiền, lọc. Thêm 0,5 ml *dung dịch sắt (III) clorid trong ethanol (TT)* vào dịch lọc, màu lục sáng được tạo thành sau đó chuyển sang màu lục vàng.

Mất khối lượng do làm khô
Không quá 2,0 %. Cân chính xác khoảng 2 g bột thô, để trong bình hút ẩm chứa *acid sulfuric (TT)*, làm khô đến khối lượng không đổi (Phụ lục 9.6).

Chất không tan trong ethanol
Không quá 2,0 %.
Cân chính xác khoảng 2,5 g bột mịn dược liệu, cho vào bình Soxhlet, thêm *ethanol 96 % (TT)*, chiết đến kiệt các chất tan trong ethanol. Bỏ dịch ethanol, làm khô bã đến khối lượng không đổi ở 100 °C, cân xác định khối lượng của bã.

Tro toàn phần
Không quá 0,50 % (Phụ lục 9.8).

Tro sulfat
Không quá 2,0 %, dùng 1,0 g (Phụ lục 9.9).

Định lượng
Cân chính xác khoảng 1,5 g bột dược liệu (qua rây số 355), cho vào 1 bình nón nút mài, thêm 25 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 M trong ethanol (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 1,5 h. Bốc hơi dịch chiết trên cách thủy đến cắn, hòa cắn trong 50 ml nước nóng. Để nguội, thêm 150 ml nước và 50 ml *dung dịch magnesi sulfat 5 % (TT)*, khuấy đều, để yên 10 min. Lọc, rửa cắn bằng 20 ml *nước*. Gộp dịch lọc và nước rửa, acid hóa bằng *acid hydrocloric (TT)*, sau đó chuyển vào một bình gạn, chiết lần lượt bằng 50, 40, 30 và 30 ml *ether (TT)*. Gộp các dịch chiết ether rồi lại chiết lần lượt bằng 20, 20, 10, 10 và 10 ml *dung dịch natri carbonat 5 % (TT)*, rửa mỗi dịch chiết nước bằng 20 ml *ether (TT)*. Gộp các dịch chiết nước và acid hóa bằng *acid hydrocloric (TT)* rồi chiết lại lần lượt với 30 ml, 20 ml, 10 ml, 10 ml *ether (TT)*. Gộp các dịch chiết ether và chuyển vào 1 bình nón đã cân bì, bốc hơi hết ether bằng một luồng không khí và quay bình để cắn lắng đều trên thành bình. Làm khô bình trong bình hút ẩm có *acid sulfuric (TT)* đến khối lượng không đổi, cân chính xác. Khối lượng của cắn là acid balsamic toàn phần trong mẫu thử. Tính hàm lượng phần trăm acid balsamic toàn phần (đã trừ lượng chất không tan trong ethanol) tính theo dược liệu khô kiệt.
Hàm lượng acid balsamic toàn phần không được ít hơn 30,0 % tính theo các chất chiết được trong ethanol.

Chế biến
Lấy nhựa từ thân cây bị tổn thương hoặc vào mùa hạ và mùa thu, rạch thân cây, thu lấy nhựa chảy ra, phơi âm can đến khô.

Bảo quản
Để nơi khô, mát, trong bao bì kín.

Tính vị, quy kinh
Tân, khổ, bình. Vào các kinh tâm, tỳ.

Công năng, chủ trị
Khai khiếu tỉnh thần, hành khí hoạt huyết, chỉ thống. Chủ trị: Trúng phong đàm quyết, khí uất bạo quyết, trúng ác hôn mê, tâm phúc thống, trẻ em kinh phong, sản hậu huyết vận.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 0,6 g đến 1,5 g, thường dùng dạng hoàn tán.

CÁT CÁNH (Rễ)
Radix Platycodi grandiflori

Rễ để nguyên hoặc đã cạo vỏ ngoài, phơi hoặc sấy khô của cây Cát cánh [*Platycodon grandiflorum* (Jacq.) A. DC.], họ Hoa chuông (Campanulaceae).

Mô tả
Rễ hình trụ thuôn dần về phía dưới hoặc có dạng hình trụ nhỏ và dài, hơi vặn xoắn lại, đôi khi phân nhánh, dài 7 cm đến 20 cm, đường kính 0,7 cm đến 2 cm. Phần đỉnh rễ còn sót lại một đoạn ngắn của thân rễ mang nhiều sẹo nhỏ là vết tích của gốc thân. Mặt ngoài màu vàng nhạt hay vàng nâu nhạt, có nhiều rãnh nhăn nheo theo chiều dọc và những nếp nhăn ngang. Thể chất giòn, mặt bẻ không phẳng. Mặt cắt ngang có phần vỏ màu trắng hoặc hơi vàng, phần gỗ màu trắng ngà hoặc nâu nhạt; tầng phát sinh libe-gỗ thành vòng rõ, màu nâu, nâu nhạt. Không mùi hoặc có mùi đường cháy nhẹ, vị ngọt sau hơi đắng.
Dược liệu thái lát: Các phiến mỏng, hình tròn hoặc không đều, thường có vỏ còn sót lại. Mặt cắt có phần ngoài màu trắng nhạt, tương đối hẹp, hình thành tầng vân vòng màu nâu nhạt. Phần gỗ rộng có nhiều khe nứt. Chất giòn, dễ bẻ gãy, mùi thơm nhẹ, vị ngọt, sau đắng. Khi dùng chích gừng.

Vi phẫu
Ở rễ không cạo vỏ, lớp bần gồm nhiều hàng tế bào. Mô mềm vỏ hẹp gồm những tế bào to nhỏ không đều, xếp lộn xộn, có những khuyết (khe) nằm rải rác. Các ống nhựa tụ thành đám rải rác trong libe, chứa các hạt màu nâu vàng. Libe xếp thành tia, thỉnh thoảng có những vùng đậm lên đều đặn giống như libe kết tầng. Tầng phát sinh libe-gỗ tạo thành vòng liên tục. Mạch gỗ nằm rải rác hay tụ thành đám, xếp thành những dải xuyên tâm nằm trong mô mềm gỗ không hóa gỗ. Trong cùng là mô mềm ruột gồm những tế bào gần tròn.

Bột
Màu vàng xám tới màu nâu xám. Soi kính hiển vi thấy: Các tế bào bần hình đa giác, thành dày, màu nâu nhạt. Mảnh của đám ống nhựa chứa các hạt màu vàng hoặc nâu vàng. Tinh thể inulin hình gần tròn hoặc hình quạt rải rác trong mô mềm hoặc tụ thành đám. Mảnh mạch vạch, mạch mạng.

Định tính
A. Soi lát cắt dược liệu dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm, phần vỏ phát quang sáng trắng hơi vàng, phần lõi không phát quang.
B. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ethanol 70 % (TT)*, đun cách thủy trong 5 min, lọc, cô dịch lọc còn khoảng 5 ml (dung dịch A).
Nhỏ vài giọt dung dịch A lên giấy lọc, nhỏ tiếp một giọt *dung dịch natri hydroxyd 5 % (TT)*, sấy nhẹ cho khô, che nửa vết dung dịch A bằng miếng kim loại mỏng và soi dưới ánh sáng tử ngoại có bước sóng 366 nm trong vài phút, lấy miếng kim loại ra, phần không bị che có phát quang sáng hơn. Tiếp tục chiếu tia tử ngoại, phần bị che sẽ sáng dần lên như phần kia.
Lấy 2 ml dung dịch A pha loãng thành 10 ml bằng *nước*, lắc mạnh trong 15 s, có bọt bền trong 30 min.
C. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml *nước*, đun cách thủy trong 15 min, lọc. Lấy 5 ml dịch lọc, thêm 2 ml *acid*

hydrocloric (TT) và vài tinh thể *resorcin (TT)*, đun cách thủy vài min, xuất hiện tủa màu đỏ sẫm.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - ether (1 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 20 ml hỗn hợp *dung dịch acid sulfuric 7 % trong ethanol - nước* (1 : 3), đun hồi lưu trong cách thủy 3 h, để nguội. Lọc, lắc dịch lọc với *cloroform (TT)* 2 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp các dịch chiết cloroform và rửa 2 lần bằng *nước*, mỗi lần 30 ml, bỏ dịch rửa. Thêm *natri sulfat khan (TT) vào* dịch cloroform để loại nước còn sót lại, lọc. Bay hơi dịch lọc đến khô, hòa tan cắn trong 1 ml *methanol (TT)* được dung dịch chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Cát cánh (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô trong không khí, phun dung dịch *acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*, sấy ở 105 °C đến khi các vết hiện rõ. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng thường hoặc dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 14,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất

Không quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Không được ít hơn 17,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Định lượng

Áp dụng một trong hai phương pháp sau đây:

A. Cân chính xác khoảng 4 g bột dược liệu (qua rây số 355), cho vào dụng cụ Soxhlet, thêm 25 ml *methanol (TT)*, ngâm qua đêm. Thêm 25 ml *ethanol (TT)* nữa rồi chiết trong 6 h. Để yên trong 1 h. Lọc, bốc hơi dịch lọc trên cách thủy còn khoảng 15 ml đến 20 ml. Để nguội, rồi cho dịch chiết methanol vào 50 ml *ether (TT)*, khuấy đều và để lắng. Loại bỏ dung dịch phía trên và hòa tan cắn bằng cách đun nóng trên cách thủy với 20 ml, 10 ml và 5 ml *methanol (TT)*, để nguội và lọc, gộp các dịch lọc methanol, cô trên cách thủy còn 15 ml đến 20 ml, để nguội. Thêm 50 ml *ether (TT)*, xử lý và hòa tan cắn với *methanol (TT)* tương tự như trên, lọc. Gộp tất cả các dung dịch methanol đã thu được vào một cốc đã cân bì. Bốc hơi dịch này trên cách thủy tới cắn, sấy khô ở 105 °C tới khối lượng không đổi, cân. Tính hàm lượng phần trăm của saponin trong dược liệu.

Hàm lượng saponin toàn phần không được ít hơn 5,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

B. Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - nước (25 : 75).

Dung dịch chuẩn: Hòa tan platycodin D chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,5 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 2 g bột dược liệu (qua rây số 180) vào một bình nón nút mài, thêm chính xác 50 ml *methanol 50 % (TT)* và cân. Lắc siêu âm trong 30 min, để nguội và cân lại. Bổ sung *methanol 50 % (TT)* để được khối lượng ban đầu, lắc đều, lọc. Hút chính xác 25 ml dịch lọc, cô trên cách thủy đến cắn, hòa tan cắn trong 20 ml nước bằng cách làm ẩm, lắc dung dịch thu được với *n-butanol bão hòa nước (TT)* 3 lần, mỗi lần 20 ml, gộp các dịch chiết n-butanol, rửa bằng 50 ml *amoniac (TT)*. bỏ dịch amoniac, rửa lại bằng 50 ml *nước bão hòa n-butanol (TT)*, loại bỏ nước rửa và bay hơi dịch chiết n-butanol đến cắn khô. Hòa tan cắn thu được trong 3 ml *methanol (TT)*, trộn dung dịch thu được với 0,5 g *silica gel (TT)* và bốc hơi hỗn hợp trên cách thủy đến khô, chuyển hỗn hợp vào cột (đường kính trong 2 cm, đã nhồi sẵn 10 g *silica gel (TT)* cỡ hạt từ 100 mesh đến 120 mesh) bằng hỗn hợp dung môi gồm *cloroform - methanol* (9 : 1). Rửa giải bằng 50 ml hỗn hợp dung môi gồm *cloroform - methanol* (9 : 1), bỏ dịch rửa giải, rửa giải tiếp bằng hỗn hợp dung môi gồm *cloroform - methanol - nước* (60 : 20 : 1) hai lần, mỗi lần 100 ml. Gộp dịch rửa giải, cô trên cách thủy đến cắn. Dùng *methanol (TT)* để hòa tan và chuyển toàn bộ cắn vào bình định mức 5 ml, thêm *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector tán xạ ánh sáng bay hơi.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký dung dịch chuẩn với và tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột tính theo pic platycodin D phải không dưới 5000.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng platycodin D trong dược liệu dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{57}H_{92}O_{28}$ của platycodin D chuẩn.

Dược liệu phải chứa không dưới 0,10 % platycodin D ($C_{57}H_{92}O_{28}$), tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu đông hoặc mùa xuân. Đào lấy rễ, cắt bỏ đầu rễ và rễ con, rửa sạch, để ráo nước hoặc ủ khoảng 12 h, thái lát mỏng phơi hay sấy khô.

Bảo quản
Để nơi khô, thoáng, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Khổ, tân, hơi ôn. Vào kinh phế.

Công năng, chủ trị
Ôn hóa hàn đàm, trừ mủ, lợi hầu họng. Chủ trị: Ho đờm nhiều, ngực tức, họng đau, tiếng khàn, áp xe phổi, tiêu mủ, mụn nhọt.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 9 g. Dạng thuốc sắc.

CÁT SÂM (Rễ)

Radix Millettiae speciosae
Sâm nam, Sâm gỗ, Sơn liên ngẫu

Rễ củ đã phơi hay sấy khô của cây Cát sâm (*Millettia speciosa* Champ.), họ Đậu (Fabaceae).

Mô tả
Rễ củ hình trụ đều hay hai đầu thuôn nhỏ, được cắt thành đoạn dài 5 cm đến 15 cm, đường kính 1 cm đến 4 cm, có khi bổ dọc thành từng miếng. Mặt ngoài màu vàng nhạt đến vàng nâu, có nhiều vết nhăn dọc và rãnh ngang. Mặt cắt ngang màu trắng ngà, nhiều bột, có những tia ruột như hình nan hoa bánh xe.

Vi phẫu
Lớp bần gồm 4 đến 8 hàng tế bào hình chữ nhật nằm ngang đều đặn. Tầng phát sinh ngoài có một hàng tế bào. Mô cứng gồm 3 đến 4 hàng tế bào thành dày, có chứa tinh thể calci oxalat hình thoi. Mô mềm vỏ gồm những tế bào thành mỏng hình đa giác. Trong mô mềm vỏ có sợi hợp thành từng bó. Libe gồm những tế bào nhỏ đều đặn. Trong libe cũng có bó sợi rải rác. Tầng phát sinh libe-gỗ có một hàng tế bào. Mạch gỗ to, tròn. Xung quanh mạch gỗ có những hàng tế bào mô mềm gỗ vuông vắn xếp đều đặn. Tia ruột có 3 đến 4 hàng tế bào hình chữ nhật xếp theo hướng xuyên tâm. Mô mềm ruột gồm những tế bào hình đa giác.

Bột
Bột màu vàng nhạt. Soi kính hiển vi thấy: Nhiều sợi dài có thành dày. Tinh thể calci oxalat hình thoi, mảnh mô mềm chứa tinh bột, mảnh mạch điểm. Đám tế bào mô cứng màu vàng. Hạt tinh bột hình tròn, hình chuông, hình trứng, có hạt kép đôi, kép ba, rốn hình điểm hay hình chữ V.

Định tính
A. Dưới ánh sáng tử ngoại, bột dược liệu có màu trắng sáng.
B. Lấy 5 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ethanol 90 % (TT)*, đun cách thủy trong 15 min. Lọc lấy dịch lọc để làm các phản ứng sau:
Cho 5 ml dịch chiết vào ống nghiệm, bịt miệng ống, lắc trong 15 s. Cột bọt bền ít nhất trong vòng 10 min.
Lấy 1 ml dịch chiết vào ống nghiệm sạch, cô cạn, hòa tan cặn bằng 1 ml *anhydrid acetic (TT)*, thêm từ từ theo thành ống 1 ml *acid sulfuric (TT)*. Xuất hiện vòng đỏ đậm giữa 2 lớp dung dịch thử.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Tỷ lệ xơ, gỗ không quá 1,0 %.
Tạp chất khác không quá 0,5 %.

Chế biến
Đào lấy rễ củ ở cây trồng được một năm, rửa sạch. Loại nhỏ để nguyên, loại to bổ dọc, phơi hay sấy khô, rễ củ bên ngoài vỏ màu vàng, bên trong trắng có ít xơ, nhiều bột là tốt.

Bào chế
Lấy Cát sâm sạch, khi dùng thái mỏng, để sống hoặc tẩm nước gừng hay mật sao vàng.

Bảo quản
Để nơi khô, tránh ẩm, mốc, mọt, dùng đến đâu bào chế đến đó.

Tính vị, quy kinh
Cam, bình. Vào các kinh phế, tỳ.

Công năng, chủ trị
Sinh tân dịch, chỉ khát, nhuận phế, lợi tiểu. Chủ trị: Tân dịch hao tổn, háo khát, ho do phế nhiệt, đái buốt rắt.
Sao vàng: Bổ tỳ, ích khí, tiêu đờm. Tẩm gừng ích tỳ, tẩm mật bồi dưỡng cơ thể. Chủ trị: Cơ thể suy yếu, nhức đầu, khát nước, sốt về chiều, bí tiểu tiện.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 16 g đến 20 g, dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ
Không dùng chung với Lê lô; đang nôn mửa, ỉa chảy do lạnh, không phải âm hư, phổi ráo, không nên dùng.

CẦN TÂY (Quả)

Fructus Apii graveolens

Quả chín đã phơi hay sấy khô của cây Cần tây (*Apium graveolens* L.), họ Hoa tán (Apiaceae).

Mô tả
Quả nhỏ, màu nâu, hình cầu, đài khoảng 1 mm đến 1,5 mm, rộng khoảng 0,5 mm đến 1 mm, có 6 cánh, mép ngoài mỗi cánh màu vàng nhạt. Thường bị tách làm 2 nửa, hình bầu dục hoặc hình thận. Mùi thơm đặc trưng, vị đắng, hơi cay.

Bột
Bột màu nâu, mùi thơm, vị đắng, hơi cay. Soi dưới kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì gồm những tế bào ngoằn ngoèo thành mỏng. Mảnh mô mềm gồm những tế bào tròn, thành

mỏng. Mảnh nội nhũ gồm các tế bào hình chữ nhật, thành dày, bên trong chứa nội nhũ. Mảnh vỏ quả gồm các tế bào dài thành mỏng. Sợi đài đứng riêng lẻ. Các mảnh mạch thường là mạch điểm. Hạt tinh bột tròn, rốn hạt hình sao rõ, có đường kính 12 µm đến 15 µm, nằm rải rác.

Định tính

A. Cân khoảng 10 g bột dược liệu cho vào bình nón, thêm 30 ml *ethanol 90 % (TT)*, đun sôi trong cách thủy 10 min, lọc nóng. Dùng dịch lọc làm các phản ứng sau:

Lấy 1 ml dịch lọc, thêm một ít bột *magnesi (TT)*. Nhỏ từ từ 3 - 5 giọt *acid hydrocloric (TT)*. Để yên vài phút, dung dịch phải chuyển từ màu vàng sang màu đỏ.

Nhỏ 2 - 3 giọt dịch lọc lên một tờ giấy lọc. Hơ khô rồi để lên miệng lọ *amoniac (TT)* vừa mở nắp đậy, màu vàng của vết dịch chiết phải đậm lên.

Cho vào hai ống nghiệm, mỗi ống 1 ml dịch lọc. Ống 1: Thêm 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, ống 2 giữ nguyên. Đun cả hai ống đến sôi, để nguội, thấy ống 1 xuất hiện tủa vàng, ống 2 trong. Thêm vào mỗi ống 2 ml nước cất. Lắc đều, ống 1 phải trong suốt, ống 2 phải có tủa đục. Acid hóa ống 1 bằng vài giọt *acid hydrocloric (TT)*, ống 1 trở lại tủa đục như ống 2.

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

Bản mỏng: Silica gel F_{254}.

Dung môi khai triển: Toluen - ethyl acetat - acid fomic - methanol (4 : 4 : 0,5 : 1).

Dung dịch thử. Lấy 5 g bột thô dược liệu cho vào bình Soxhlet, thêm 100 ml *ether dầu hỏa (40 °C đến 60 °C) (TT)*, chiết trong 2 h, lấy bã dược liệu để bay hết hơi ether, chiết tiếp như trên bằng 100 ml *methanol (TT)* trong 6 h. Lấy 20 ml dịch chiết methanol, cất thu hồi dung môi đến còn khoảng 2 ml, dùng làm dung dịch chấm sắc ký.

Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan apigenin chuẩn trong *methanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ 0,1 mg/ml.

Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có apigenin chuẩn thì dùng 5 g bột quả Cần tây (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 12 cm đến 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm sau đó phun *dung dịch 2-aminoethyldiphenylborinat 1 % trong methanol*. Sấy bản mỏng ở 105 °C khoảng 2 min, phun tiếp *dung dịch polyethylen glycol 400 (dung dịch PEG 400) 5 % trong methanol*, sấy bản mỏng ở 105 °C trong 5 min. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết có cùng giá trị R_f (khoảng 0,53) và màu sắc tương đương với vết của apigenin chuẩn trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm

Không được quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không được quá 15,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không được quá 5 % (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ vụn nát

Không được quá 6 % (Phụ lục 12.12, dùng rây số 500).

Chất chiết được trong dược liệu

Không được nhỏ hơn 7,0 % tính theo dược liệu khô kiệt. Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10) dùng *ethanol (TT)* làm dung môi.

Chế biến

Quả cần tây thu hái vào tháng 11 hàng năm, đem phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô ráo, thoáng mát.

Công năng, chủ trị

Trị hen suyễn, khó thở, viêm phế quản, viêm màng phổi, trướng bụng, đầy hơi, tiêu hóa kém.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng 5 g đến 9 g, dạng thuốc hãm, sắc.

CẦN TÂY (Toàn cây)

Herba Apii graveolens

Toàn cây đã phơi hay sấy khô hoặc cây tươi của cây Cần tây (*Apium graveolens* L.), họ Hoa tán (Apiaceae).

Mô tả

Dược liệu đã phơi hay sấy khô là những đoạn thân màu xanh nhạt, khô, dai, có nhiều rãnh dọc, dài 4 cm đến 6 cm. Đoạn thân ở ngọn mang lá hay cuống lá, đoạn ở sát gốc có bẹ. Lá màu xanh lục, mỏng, khô quăn, chia 3 thuỳ, mép có răng cưa không đều, dài 1,5 cm đến 3,0 cm. Rễ chùm màu nâu nhạt, có nhiều rễ con, một số rễ con phát triển to hơn. Dược liệu không vị, có mùi thơm đặc trưng.

Vi phẫu

Thân: Biểu bì gồm một hàng tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn. Mô dày gồm những tế bào có thành dày, xếp sít nhau tạo thành từng đám sát dưới biểu bì. Mô mềm vỏ gồm những tế bào hình trứng có thành mỏng, không đều, xếp lộn xộn. Trong mô mềm có ống tiết tinh dầu là những tế bào có thành, tròn đều. Có 7 – 9 bó libe-gỗ. Libe-gỗ hình cung quay mặt lõm vào trong, libe ở ngoài, gỗ ở trong tạo thành những bó to nhỏ khác nhau xếp đều đặn. Tùy vào giai đoạn phát triển mà có thể có hoặc không có mô mềm ruột gồm các tế bào hình trứng to nhỏ không đều.

Gân giữa lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới gồm một hàng tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn. Mô dày gồm những tế bào có thành dày, xếp sít nhau thành đám ở chỗ lồi của gân

chính. Mô mềm gồm những tế bào hình trứng, có thành mỏng, không đều, xếp lộn xộn. Một bó libe-gỗ hình gần vòng cung, quay mặt lõm lên trên. Lớp libe ở dưới dày hơn lớp libe ở trên.
Phiến lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới gồm một hàng tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn. Mô mềm gồm những tế bào hình trứng, có thành mỏng, không đều. Bó libe-gỗ của gân phụ có hình gần vòng cung, quay mặt lõm lên trên.
Rễ: Mặt cắt rễ hình gần tròn. Lớp bần gồm hai hàng tế bào hình chữ nhật xếp sát nhau tạo thành vòng đồng tâm, dãy xuyên tâm. Mô mềm vỏ gồm vài lớp tế bào hình trứng thành mỏng nằm sau lớp bần. Libe phát triển mạnh, chiếm phần lớn rễ. Các mạch gỗ lớn nằm sát nhau. Libe ở ngoài, gỗ ở trong tạo thành đám xếp sít nhau. Tia ruột là những tế bào xếp hàng dọc nằm ngăn cách giữa các bó libe-gỗ.

Bột
Bột màu xanh xám, mùi đặc trưng. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh bần gồm những tế bào hình chữ nhật, có thành dày. Mảnh mô mềm gồm các tế bào hình trứng, thành mỏng. Sợi dài, thường kết thành từng bó. Các mảnh mạch vạch, mạch xoắn. Lỗ khí hình hạt đậu nằm rải rác. Tinh thể calci oxalat hình khối, hình hộp chữ nhật. Hạt tinh bột hình tròn, rốn hạt hình sao rõ, đường kính 8,0 µm đến 12,5 µm, nằm riêng lẻ hay tập trung thành đám trong tế bào mô mềm.

Định tính
A. Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 30 ml *ethanol 90 % (TT)*, đun sôi trong cách thủy 10 min, lọc nóng, được dịch lọc (dung dịch A). Lấy 1 ml dung dịch A, đun sôi, để nguội, được dung dịch trong. Thêm 2 ml *nước cất*, lắc đều, xuất hiện tủa đục.
B. Lấy phần dung dịch A còn lại đem cô tới cắn, thêm khoảng 10 ml *nước* nóng, khuấy đều, lọc nóng, cô dịch lọc trong cách thủy tới cắn, hoà tan cắn trong 10 ml *ethanol 90 % (TT)*. Cho 1 ml dung dịch thu được vào ống nghiệm, thêm một ít bột *magnesi (TT)*, nhỏ 3 giọt đến 5 giọt *acid hydrocloric (TT)*, để yên vài phút, dung dịch sẽ chuyển từ màu vàng sang màu đỏ cam.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* $60F_{254}$.
Dung môi khai triển: *Toluen – ethyl acetat – acid formic* (4 : 4 : 0,5).
Dung dịch thử: Lấy 3 g bột dược liệu, thêm 15 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun sôi trên cách thủy 10 min, lọc nóng. Bốc hơi dịch lọc còn khoảng 2 ml, được dung dịch chấm sắc ký.
Dung dịch chất đối chiếu: Hoà tan apigenin chuẩn trong *methanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ 0,1 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có apigenin chuẩn, lấy 3 g bột Cần tây (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm và 366 nm. Tiếp tục phun *hỗn hợp dung dịch acid boric 10 % - acid oxalic 10 %* (2 : 1). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu, hoặc có vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết apigenin trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 11,0 % đối với dược liệu khô (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 24,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 17,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch vào vụ đông xuân, khi cây sắp ra hoa. Nhổ cả cây, rửa sạch, cắt thành những đoạn dài 4 cm đến 6 cm, phơi hay sấy khô.

Bảo quản
Để nơi khô, thoáng mát, tránh nấm mốc.

Tính vị, quy kinh
Vị ngọt, cay, mùi thơm.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt, chỉ ho, kích thích tiêu hóa, lợi tiểu. Chủ trị: Cao huyết áp, bệnh tiểu đường, tiểu tiện bí, rắt.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 16 g đến 25 g dược liệu khô dưới dạng hãm hoặc sắc; uống 2 đến 3 lần trong ngày.
Dùng tươi: Ngày dùng 500 g. Sau khi nhổ cây, rửa sạch, cắt đoạn dài từ 2 cm đến 3 cm, giã nát, thêm nước đun sôi để nguội, vắt lấy nước để uống.

Kiêng kỵ
Khi dùng trị cao huyết áp, nếu huyết áp đã hạ thì phải dừng thuốc.

CÂU ĐẰNG
Ramulus cum Unco Uncariae

Đoạn thân hoặc cành có gai hình móc câu đã phơi hay sấy khô của cây Câu đằng (*Uncaria* sp.), họ Cà phê (Rubiaceae).

Mô tả
Thân vuông, màu nâu thẫm, được cắt đoạn 2 - 3 cm, đường kính 2 - 5 mm; một đầu thường cắt sát gần móc câu (ở phía trên). Phần lớn mẩu thân có hai móc câu cong xuống hướng vào trong, đối diện nhau; một số mẩu chỉ có một móc ở một bên và phía đối diện là một sẹo ở cao hơn. Các móc câu thường tròn hoặc hơi dẹt, đầu móc nhọn, để tương đối rộng. Chất cứng, dai, ruột màu trắng vàng hoặc có lỗ. Không mùi, vị nhạt.

Vi phẫu
Thân: Biểu bì gồm một hàng tế bào hình chữ nhật thành dày. Mô mềm vỏ có những khuyết gian bào. Libe cấp 2 trong có những tế bào chứa chất nhựa màu xanh sẫm. Tầng sinh libe-gỗ. Gỗ cấp 2 xen lẫn những sợi gỗ, trong mô mềm gỗ có tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Mô mềm ruột là những tế bào hình đa giác kéo dài.

Bột
Bột màu nâu. Soi kính hiển vi thấy: Lông che chở đa bào có 5 - 7 tế bào, đầu tế bào thuôn nhọn, thành dày, trên bề mặt chứa chất màu nâu. Sợi tụ lại từng đám, thành dày. Nhiều đám mô cứng có khoang rộng, ống trao đổi rõ. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai, mảnh mạch vạch, mạch xoắn.

Định tính
Lấy khoảng 5 g bột dược liệu, thấm ẩm bằng *amoniac (TT)*, để yên 30 min, cho thêm 30 ml *ethyl acetat (TT)*, lắc 5 - 10 min, để yên 1 h. Gạn, lọc dịch chiết vào bình gạn có chứa sẵn 5 ml *dung dịch acid sulfuric 5% (TT)*. Lắc đều và tách lấy lớp acid, chiết tiếp phần dung môi một lần nữa. Gộp các dịch acid cho vào các ống nghiệm để làm các phản ứng sau:
Ống 1: Thêm 2 giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, xuất hiện tủa vàng nhạt.
Ống 2: Thêm 2 giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)*, xuất hiện tủa đỏ cam.
Ống 3: Thêm 2 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)*, xuất hiện tủa nâu.
Ống 4: Thêm 2 giọt *dung dịch acid picric(TT)*, xuất hiện tủa vàng.

Độ ẩm
Không quá 12 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất
Đoạn thân có gai dài quá 3 cm: Không quá 10 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến
Lấy các dây Câu đằng bánh tẻ, chặt lấy các đoạn có móc câu theo kích thước quy định, đem phơi nắng hoặc sấy ở 50 °C đến 60 °C đến khô.

Bảo quản
Để nơi khô, mát.

Tính vị, quy kinh
Cam, lương. Vào hai kinh can, tâm bào.

Công năng, chủ trị
Bình can, tức phong, trấn kinh. Chủ trị: Đau đầu, chóng mặt, hoa mắt, ù tai, sốt cao kinh giật.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 12 g đến 16 g, dạng thuốc sắc. Thời gian sắc thuốc không quá 10 min.

CÂU KỶ TỬ
Fructus Lycii

Quả chín phơi hay sấy khô của cây Câu kỷ (*Lycium barbarum* L.), họ Cà (Solanaceae).

Mô tả
Quả hình trứng dài hay trái xoan, hai đầu hơi lõm, dài 6 mm đến 20 mm, đường kính 3 mm đến 10 mm. Mặt ngoài màu đỏ cam, mềm, bóng, thường nhăn nheo. Gốc quả có vết cuống quả màu trắng còn sót lại, đỉnh quả có điểm nhô hơi nhô lên. Quả có nhiều hạt nhỏ hình thận dẹt, hai mặt hơi cong phồng hoặc có một mặt lõm. Hạt màu vàng nâu có nội nhũ, rốn hạt là một điểm lõm nhỏ ở mép hạt. Chất mềm, vị ngọt hơi chua.

Bột
Màu vàng cam. Tế bào biểu bì của vỏ quả ngoài hình đa giác hoặc hình đa giác kéo dài khi nhìn trên bề mặt, thành tế bào mặt ngoài có các vạch cutin xếp song song, thành tế bào trong thẳng hoặc lượn sóng. Tế bào mô mềm của vỏ quả trong gần hình đa giác, thành mỏng, khoang chứa các hạt màu nâu đỏ hoặc đỏ cam. Tế bào đá của vỏ hạt hình đa giác không đều khi nhìn trên bề mặt, thành dày, nhấp nhô, có vạch rõ.

Định tính
A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml *nước*, đun trong cách thủy trong 15 min, lọc lấy dịch lọc. Nhỏ 1 giọt dịch lọc lên giấy lọc, sấy nhẹ cho khô. Soi vết dịch chiết dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Vết dịch chiết phát quang lơ sáng. Nhỏ thêm lên vết dịch chiết 1 giọt *dung dịch natri hydroxyd 2 % (TT)*. Huỳnh quang của vết ngả sang màu lá mạ.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cloroform - ethyl acetat - acid formic (2 : 3 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu cho vào bình nón 50 ml, thêm 20 ml nước, đun trong cách thủy trong 20 min, để nguội, lọc lấy dịch lọc. Lắc dịch lọc với *ethyl acetat (TT)* 3 lần, mỗi lần 5 ml. Gộp chung dịch chiết ethyl acetat, bay hơi đến cắn trên cách thủy. Hòa tan cắn với 1 ml *ethyl acetat (TT)*, được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 0,5 g bột Câu kỷ tử (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 2 g, 80 °C, 5 h).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu
Không dưới 55,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *nước* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa hè và mùa thu khi quả đã chuyển màu đỏ vàng. Sau khi phơi âm can để vỏ ngoài nhăn lại, lấy ra phơi nắng hoặc sấy nhẹ đến khi vỏ ngoài quả khô và cứng, thịt quả mềm. Loại bỏ cuống.

Bào chế
Quả thường dùng sống, hoặc tẩm rượu sao, đem sắc ngay hoặc sấy nhẹ (dưới 50 °C) đến khô giòn, tán bột hoặc phun rượu cho quả trở nên đỏ tươi, khi dùng giã nát.

Bảo quản
Nơi khô, mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Cam, bình. Quy vào các kinh phế, can, thận.

Công năng, chủ trị
Tư bổ can, thận, ích tinh, sáng mắt. Chủ trị: Hư lao tinh suy biểu hiện đau thắt lưng, đầu gối, chóng mặt, ù tai, nội nhiệt gây tiểu đường, huyết hư, mờ mắt.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc, ngâm rượu, hoàn tán.

Kiêng kỵ
Tỳ vị hư yếu, đại tiện sống phân hoặc phân lỏng không nên dùng.

CẨU TÍCH (Thân rễ)

Rhizoma Cibotii

Culi

Thân rễ đã loại bỏ lông và phơi hay sấy khô của cây Cẩu tích [*Cibotium barometz* (L.) J. Sm.], họ Cẩu tích (Dicksoniaceae).

Mô tả
Đoạn thân rễ đã loại bỏ lớp lông màu vàng nâu bên ngoài, mặt ngoài rất gồ ghề, khúc khuỷu, có những chỗ lồi lên thành mấu, màu nâu hoặc nâu hơi đỏ, đường kính 2 cm đến 5 cm, dài 4 cm đến 10 cm, rất cứng, khó cắt, khó bẻ gãy; đôi khi còn sót lại ít lông màu vàng nâu. Dược liệu khi dùng thường đã thái thành phiến mỏng hình dạng thay đổi, mặt cắt ngang nhẵn, màu nâu hồng hay nâu nhạt, có vân.

Vi phẫu
Biểu bì gồm một đến ba hàng tế bào, bên ngoài phủ lớp cutin màu vàng, đôi khi có lông che chở màu vàng còn sót lại; bên trong biểu bì có trên 10 hàng tế bào mô cứng màu vàng nâu, lỗ rõ. Gỗ xếp thành vòng, gồm các quản bào, cả ngoài và trong đều có libe và tế bào hạ bì. Vỏ và ruột gồm các tế bào mô mềm chứa các hạt tinh bột (đã bị hồ hoá đối với dược liệu đã chế biến), đôi khi có chứa chất màu nâu vàng.

Bột
Mảnh biểu bì màu vàng, đôi khi có ít sợi lông màu nâu hoặc vàng còn sót lại. Mảnh mô mềm gồm các tế bào hình nhiều cạnh hơi dài, rải rác có chứa các hạt tinh bột đơn lẻ hay tụ lại thành đám 2 đến 3 hạt (ở dược liệu chưa chế biến) hoặc các khối tinh bột đã bị hồ hoá (ở dược liệu đã qua chế biến). Các hạt tinh bột hình đĩa, hình trứng, đường kính 5 - 49 µm, đôi khi thấy rốn hạt hình vạch. Mạch gỗ hình thang. Các quản bào có mạng hình thang, đường kính 22 - 73 µm. Tế bào đá màu nâu vàng đến nâu đỏ, hình gần chữ nhật, thành dày lỗ trao đổi rõ. Tế bào nội bì màu nâu vàng hình gần vuông, hình chữ nhật hoặc hình đa giác, thành hơi dày và hơi nhăn.

Định tính
A. Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol 90 % (TT)*, đun trên cách thủy 15 min, lọc. Lấy dịch lọc làm các phản ứng sau:
Nhỏ một giọt dịch lọc lên giấy lọc, để khô dung môi và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Phần bên trong của vết có huỳnh quang màu vàng nhạt, rìa ngoài của vết có huỳnh quang màu lơ sáng.
Lấy 2 ml dịch lọc, thêm 3 giọt đến 4 giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, xuất hiện tủa đục màu đỏ gạch. Thêm tiếp 3 giọt đến 4 giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, dung dịch chuyển sang màu nâu đỏ, trong suốt.
Lấy 2 ml dịch lọc, thêm 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, dung dịch có màu xanh rêu.
Lấy 2 ml dịch lọc, cô trên cách thủy tới cắn sền sệt. Thêm vào cắn 20 ml *nước* nóng, khuấy kỹ, để nguội, lọc vào ống nghiệm. Lắc mạnh sẽ có bọt bền.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Toluen - cloroform - ethyl acetat - acid formic (3 : 5 : 6 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 50 ml *methanol (TT)*, siêu âm trong 30 min, lọc. Bay hơi dịch lọc đến khô, hòa tan cắn trong 1 ml *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột Cẩu tích (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra để khô trong không khí. Phun hỗn hợp dung môi gồm *dung dịch sắt (III) clorid 2 % (TT)* và *dung dịch kali fericyanid 1 % (TT)* tỷ lệ 1 : 1 (được chuẩn bị trước khi dùng) đến khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C đến 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 3,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11).
Tỷ lệ lông còn sót lại: Không quá 0,5 %. Lấy chính xác khoảng 50 g dược liệu, dùng kéo và dao sắc loại hết phần lông còn sót lại. Cân và tính kết quả.
Các tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Kim loại nặng
Không quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8, phương pháp 3). Dùng 1 g dược liệu. Sử dụng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị dung dịch đối chiếu.

Chất chiết được trong dược liệu
Không được ít hơn 20,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hái vào mùa thu hoặc mùa đông. Thân rễ tươi được làm sạch lông bên ngoài, cắt thành đoạn dài 4 cm đến 10 cm hay thái phiến, phơi hoặc sấy đến khô.

Bào chế
Rang cát nóng, cho dược liệu đã thái phiến vào, tiếp tục rang cho cháy hết lông còn sót lại. Lấy ra để nguội, rửa sạch, ngâm nước 12 h, đồ kỹ cho mềm, tẩm rượu 12 h rồi sao vàng. Có thể tẩm muối ăn.

Bảo quản
Để nơi khô, mát.

Tính vị, quy kinh
Khổ, cam, ôn. Vào hai kinh can, thận.

Công năng, chủ trị
Bổ can thận, mạnh gân xương, trừ phong thấp. Chủ trị: Phong hàn thấp, tay chân nhức mỏi, đau lưng, đau dây thần kinh tọa, đi tiểu nhiều.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 10 g đến 20 g, dạng thuốc sắc. Thường phối hợp với một số vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Thận hư nhiệt, nước tiểu vàng không nên dùng.

CHÈ DÂY (Lá)
Folium Ampelopsis

Lá đã phơi sấy khô của cây Chè dây [*Ampelopsis cantoniensis* (Hook. et Arn.) Planch.], họ Nho (Vitaceae).

Mô tả
Lá khô thường nhàu nát, khi dàn phẳng có hình trái xoan hoặc hình mũi mác, dài 2,5 cm đến 7,5 cm, phía cuống tù hay hơi tròn, đầu lá nhọn, mép có ít răng cưa. Mặt trên màu lục xám, có những vết trắng loang lổ trông như mốc, mặt dưới màu nhạt hơn. Cuống lá nhẵn, dài 3 mm đến 12 mm. Thể nhẹ, chất giòn, dễ gãy nát, mùi thơm, vị đắng sau hơi ngọt nhẹ.

Vi phẫu
Phần gân lá: Gân giữa của lá có mặt trên lồi nhiều (chiều cao phần lồi có thể bằng độ dày của phiến lá), mặt dưới lồi ít. Biểu bì trên và dưới của phần gân lá là một lớp tế bào nhỏ, đều, xếp liên tục đều đặn, mang lông che chở đơn bào, ngắn. Mô dày gồm các tế bào thành dày, to nhỏ khác nhau, xếp thành vài lớp nằm sát lớp biểu bì. Các bó libe-gỗ gân chính gồm những bó nhỏ xếp rời nhau, có một bó ở chính giữa phía trên quay phần gỗ về tâm, các bó khác tạo thành vòng cung ở phía dưới, có phần gỗ hướng về tâm. Giữa các bó libe-gỗ có một vùng mô mềm ruột gồm những tế bào thành mỏng.
Phần phiến lá: Biểu bì trên và dưới của phiến lá gồm các tế bào nhỏ, xếp liên tục đều đặn thành 1 lớp. Mô giậu gồm 1 lớp tế bào, xếp đứng đều đặn ở sát dưới lớp biểu bì trên. Rải rác trong phiến lá có mạch xoắn, tinh thể calci oxalat hình cầu gai, bó tinh thể calci oxalat hình kim nằm trong khoang màng mỏng.

Bột
Bột màu lục xám, soi kính hiển vi thấy: Mảnh phiến lá, có thể mang các mảnh mạch, mảnh biểu bì chứa lỗ khí, lông che chở đơn bào. Nhiều tinh thể calci oxalat hình kim, rải rác hoặc tập trung thành bó. Các mảnh mạch điểm, mảnh mạch xoắn, tinh thể calci oxalat hình cầu gai, đường kính 30 µm đến 35 µm.

Định tính
A. Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ethanol 90 % (TT)*. Đun trong cách thủy 3 min, lọc, lấy dịch lọc (dung dịch A) cho vào 2 ống nghiệm, mỗi ống 1 ml để làm các phản ứng sau đây:
Ống 1: Thêm 5 giọt *acid hydrocloric (TT)* và một ít bột *magnesi (TT)*, để vài phút, dung dịch dần chuyển từ màu vàng nhạt sang màu đỏ.
Ống 2: Thêm 2 giọt *dung dịch sắt (III) cloríd 5 % (TT)*, dung dịch có màu xanh.
Nhỏ 2 đến 3 giọt dung dịch A lên tờ giấy lọc, để khô, đặt lên miệng lọ *amoniac (TT)* đã mở nút, thấy màu vàng tăng lên rõ rệt.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Toluen - ethyl acetat - acid formic (5 : 6 : 1,5).
Dung dịch thử: Dung dịch A.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan myricetin chuẩn và dihydromyricetin chuẩn riêng biệt trong *methanol (TT)* để được dung dịch có chứa 2 mg/ml. Hoặc lấy 0.5 g bột Chè

dây (mẫu chuẩn) chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 8 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí ở nhiệt độ phòng, phun hỗn hợp thuốc thử gồm *dung dịch acid boric 10 % (TT)* và *acid oxalic 10 % (TT)* (2 : 1) và sấy bản mỏng ở 100 °C đến khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 8,0 % (Phụ lục 9.8, dùng 1 g dược liệu, phương pháp 2).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Kim loại nặng
Không quá 3 phần triệu Pb, 1,0 phần triệu Cd, 0,5 phần triệu Hg, 2,0 phần triệu As (Phụ lục 9.4.11).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Acetonitril - dung dịch acid phosphoric 0,01 M* (25 : 75).
Dung dịch chuẩn: Hòa tan dihydromyricetin chuẩn trong *methanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 2 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,5 g bột dược liệu (qua rây số 355) vào túi giấy lọc, thêm 50 ml *cloroform (TT)*, ngâm trong 12 h, bỏ dịch chiết cloroform. Làm bay hơi hết cloroform trong bã dược liệu bằng cách đặt trên cách thủy. Chuyển túi giấy lọc vào bình Soxhlet, thêm 120 ml *methanol (TT)* vào bình chiết, đun sôi trong cách thủy đến khi 1 ml dịch chiết không có màu khi thêm 1 giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*. Cô dịch chiết methanol đến gần cạn, để nguội, chuyển vào bình định mức 50 ml, thêm *methanol (TT)* đến vạch, lắc đều. Lấy chính xác 2 ml dịch chiết cho chảy qua cột chiết xuất pha rắn được nhồi pha tĩnh C đã hoạt hóa với tốc độ 15 giọt/min. Hứng dịch chiết vào bình định mức 20 ml, rửa giải bằng *methanol 50 % (TT)* với tốc độ 15 giọt/phút, hứng lấy khoảng 17 ml dịch chiết, thêm *methanol 50 % (TT)* vừa đủ 20 ml, lắc đều, lọc qua màng lọc cỡ lỗ lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (Lichrosorb RP 18).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 260 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, dung dịch thử. Dựa vào diện tích (hay chiều cao) pic thu được của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và nồng độ dihydromyricetin ($C_{15}H_{12}O_8$) của dung dịch chuẩn, tính hàm lượng dihydromyricetin ($C_{15}H_{12}O_8$) trong dược liệu. Dược liệu phải chứa ít nhất 18,0 % dihydromyricetin ($C_{15}H_{12}O_8$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hái lá, loại bỏ lá sâu, già úa, phơi khô.

Bảo quản
Để nơi khô ráo, thoáng mát.

Tính vị, quy kinh
Cam, khổ, lương. Vào kinh tỳ, vị .

Công năng, chủ trị
Tiêu viêm chỉ thống, giải độc sinh cơ. Chủ trị: Đau dạ dày, tá tràng; viêm đại tràng; chậm liền sẹo.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 10 g đến 12 g, dạng thuốc sắc hoặc hãm.

CHÈ ĐẮNG (Lá)
Folium Ilexi kaushii

Lá đã phơi hay sấy khô của cây Chè đắng (*Ilex kaushue* S.Y.Hu; Syn. *Ilex kudingcha* C.J. Tseng), họ Trâm bùi (Aquifoliaceae).

Mô tả
Lá hình bầu dục thuôn dài hay hình mác ngược, dài 10 cm đến 22 cm, rộng 4 cm đến 7 cm, cuống ngắn 1 cm đến 1,5 cm. Gân hình lông chim, mỗi bên có khoảng 10 gân đến 14 gân tạo với gân giữa một góc lớn hơn 45°. Mặt trên lá màu xanh thẫm, bóng, mặt dưới lá màu xanh nhạt, đầu lá nhọn, ngắn. Mép lá xẻ răng cưa nhỏ, đầu răng cưa màu đen, cứng như sừng. Vị rất đắng.

Vi phẫu
Gân giữa của lá có mặt trên hơi lõm, mặt dưới lồi. Lớp cutin dày phủ toàn bộ biểu bì trên, biểu bì dưới cả phần gân lá và phần phiến lá. Mô dày gồm 1 đến 2 hàng tế bào nằm sát biểu bì trên và 3 đến 4 hàng tế bào nằm sát biểu bì dưới của gân lá. Cung libe-gỗ lớn nằm ở giữa gân lá, cung libe ở phía dưới cung gỗ, bao trùm hai đầu cung gỗ. Bó sợi tập trung nhiều ở hai đầu cung libe-gỗ, sát với phiến lá, một số bó khác nằm rải rác quanh cung libe (thường có nhiều ở những lá già, ở lá non ít có). Mô mềm gồm các tế bào hình tròn, thành mỏng, kích thước lớn. Mô giậu gồm 2 hàng tế bào hình chữ nhật, xếp thẳng góc và sát với biểu bì trên của phiến lá. Mô khuyết rộng, chiếm 1/2 bề dày của phiến lá. Có rất nhiều tinh thể calci oxalat hình cầu gai nằm rải rác trong mô dày, mô giậu và mô mềm.

Bột
Bột màu xanh lục, vị rất đắng. Soi bột dưới kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì mang tế bào lỗ khí. Mảnh mô mềm. Sợi xếp thành bó hoặc riêng lẻ, thành rất dày, khoang rất hẹp,

phía ngoài gồ ghề. Rất nhiều tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Mảnh mạch mạng, mạch xoắn, mạch thang.

Định tính

A. Lấy 3,0 g bột dược liệu (qua rây số 250), thêm 50 ml *ethanol 80 % (TT)*, đun trên cách thủy trong 30 min. Lọc, cô dịch lọc trên cách thủy còn khoảng 6 ml (dịch A), cho vào 3 ống nghiệm, mỗi ống nghiệm 1 ml để làm các phản ứng sau:

Ống 1: Thêm một ít bột *magnesi (TT)* và 3 giọt đến 4 giọt *acid hydrocloric (TT)*, đun nóng trên cách thủy, dung dịch xuất hiện màu hồng.

Ống 2: Thêm 2 giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, xuất hiện tủa màu đỏ nâu.

Ống 3: Thêm 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, dung dịch chuyển màu xanh đen.

B. Cho vào ống nghiệm 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (TT)*, thêm 5 giọt dịch A. Lắc mạnh trong 15 s, xuất hiện nhiều bọt bền vững.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: n-Butanol - ethanol - amoniac (7 : 2 : 5).

Dung dịch thử: Lấy 2 ml dịch A, bốc hơi dung môi trên cách thủy. Hòa cắn trong 0,5 ml *methanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 3,0 g bột lá Chè đắng (mẫu chuẩn) và tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm đến 12 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*. Sấy bản mỏng ở 100 °C cho đến khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có 6 vết màu đỏ nâu, cùng màu và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 2 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất

Không quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 5 g bột dược liệu (qua rây số 250), cho vào bình Soxhlet, thêm 100 ml *ether dầu hỏa (40 °C đến 60 °C) (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy đến khi dịch chiết không màu và loại bỏ dịch chiết ether dầu hỏa. Tiếp tục chiết với 100 ml *methanol (TT)* đến khi dịch chiết không màu. Cất thu hồi dung môi methanol còn khoảng 20 ml. Để nguội, lọc, tráng giấy lọc bằng 10 ml *methanol (TT)*. Gộp dịch lọc và dịch rửa, bốc hơi trên cách thủy còn khoảng 10 ml. Để nguội, rót từ từ dịch chiết methanol vào cốc đã có sẵn 50 ml *ether (TT)* có nắp, lắc đều, đậy nắp và để cốc vào tủ lạnh qua đêm. Gạn lấy tủa, tủa được để ngoài không khí cho bay hết hơi ether. Hòa tan tủa trong 10 ml *methanol (TT)*, đun nóng trên cách thủy nếu không tan hết. Để nguội, lọc, tráng giấy lọc bằng 10 ml *methanol (TT)*. Gộp dịch lọc và dịch rửa, bốc hơi trên cách thủy còn khoảng 10 ml. Để nguội, rót từ từ vào một cốc đã cân bì chứa sẵn *50 ml ether (TT)*, để lạnh qua đêm. Gạn lấy tủa. Sấy cốc cùng tủa thu được (saponin toàn phần) ở 60 °C đến khối lượng không đổi, cân. Tính hàm lượng phần trăm của saponin trong dược liệu.

Hàm lượng saponin toàn phần không được ít hơn 5,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Hàng năm, có thể thu hái lá từ 2 đến 3 lần. Hái những lá già và lá trưởng thành, phơi trong bóng râm, chỗ thoáng gió hoặc sấy ở 50 °C đến 60 °C đến khô.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh nấm mốc.

Tính vị, quy kinh

Vị đắng, ngọt. Tính mát. Vào kinh tâm, tỳ, thận.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt tư hóa (giải thử, giải nhiệt, tiêu viêm) bình can hạ áp. Chủ trị: Cảm nắng sốt cao, các chứng do thử nhiệt như: viêm họng, lỵ, viêm dạ dày cấp tính; đau đầu hoa mắt. Còn dùng trị bệnh tăng huyết áp, cholesterol máu cao; trừ lỵ do thấp nhiệt.

Cách dùng, liều lượng

Dùng dưới dạng hãm, hoặc sắc. Ngày dùng 8 g đến 10 g.

Kiêng kỵ

Vì vị thuốc rất đắng nên không nên dùng liều quá cao và thời gian dài sẽ ảnh hưởng đến tiêu hóa.

CHÈ VÀNG (Lá)

Folium Jasmini subtriplinervis

Dây vàng

Lá đã phơi hay sấy khô của cây Vàng (*Jasminum subtriplinerve* Blume), họ Nhài (Oleaceae).

Mô tả

Lá hình bầu dục - mũi mác, đầu nhọn, phía cuống tù hay hơi tròn, dài 4 cm đến 7,5 cm, rộng 2 cm đến 4,5 cm, mép nguyên, trên có 3 gân rõ rệt. Cuống lá nhẵn, dài 0,3 cm đến 1,2 cm.

Vi phẫu

Phần gân lá: Mặt trên tương đối phẳng, mặt dưới lồi nhiều. Biểu bì là một hàng tế bào nhỏ xếp tương đối đều đặn, thành ngoài hóa cutin. Mô dày gồm vài lớp tế bào thành dày nằm sát lớp biểu bì trên và dưới. Libe-gỗ gân chính gồm cung libe ở ngoài bao lấy cung gỗ ở trong.

Phần phiến lá: Biểu bì trên và dưới giống như phần gân lá. Dưới biểu bì trên là mô giậu gồm 2 đến 3 lớp tế bào xếp dọc. Phía dưới mô giậu là mô mềm khuyết.

Bột
Màu lục, vị đắng hơi chát. Soi kính hiển vi thấy: Những mảnh phiến lá có thể thấy các lớp tế bào mô giậu. Mảnh biểu bì tế bào đa giác tương đối đều, có thể mang lỗ khí.

Định tính
A. Lấy 5 g bột thô dược liệu, thêm 50 ml *ethanol 90 % (TT)*. Lắc đều rồi để yên qua đêm. Lọc rồi cô cách thủy còn khoảng 20 ml, lấy 3 ml dịch lọc đã cô, thêm 3 giọt *acid hydrocloric (TT)*, thêm một ít bột *kẽm (TT)*, dung dịch sủi bọt và có màu đỏ.
B. Lấy 2 g đến 3 g bột thô dược liệu, thêm 20 ml nước, đun sôi, lọc. Lấy 1 ml đến 2 ml dịch lọc đã để nguội, thêm 1 đến 2 giọt *gelatin 2 % (TT)*, xuất hiện vẩn trắng đục. Tiếp tục lấy 1 ml đến 2 ml dịch lọc trên, thêm 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)*, xuất hiện màu xanh tím.

Độ ẩm
Không quá 11,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 3 h).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 15,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hái quanh năm, hái lá tươi về rửa sạch, phơi hay sấy khô.

Bảo quản
Để nơi khô, mát, trong bao bì kín.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt, lợi thấp, hoạt huyết điều kinh, tiêu viêm. Chủ trị: Kinh nguyệt không đều, kinh bế, phụ nữ sau sinh sốt cao, viêm hạch bạch huyết, viêm tử cung, viêm tuyến sữa, nhũ ung, phong thấp gây đau nhức xương, ghẻ lở, chốc đầu, hoàng đản.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 20 g đến 30 g dược liệu khô, dùng tươi giã nát đắp tại chỗ hoặc sắc lấy nước tắm với lượng thích hợp.

CHỈ THỰC
Fructus Aurantii immaturus

Quả non được bổ đôi hay để nguyên đã phơi hay sấy khô của cây Cam chua (*Citrus aurantium* L.) hoặc cây Cam ngọt [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck], họ Cam (Rutaceae).

Mô tả
Dược liệu hình bán cầu, một số có hình cầu, đường kính 0,5 cm đến 2,5 cm. Vỏ ngoài màu lục đen hoặc màu lục nâu thẫm với những nếp nhăn và những điểm lỗ hình hạt, có vết cuống quả hoặc vết sẹo của vòi nhụy. Trên mặt cắt, vỏ quả giữa hơi phồng lên, màu trắng vàng hoặc nâu vàng, dày 0,3 cm đến 1,2 cm, có 1 đến 2 hàng túi tinh dầu ở phần ngoài. Vỏ quả trong và múi quả màu nâu. Chất cứng. Mùi thơm mát, vị đắng, hơi chua.

Bột
Bột màu vàng nhạt hoặc vàng nâu, tế bào vỏ quả giữa hơi tròn hoặc không đều, phần lớn thành dày lên không đều, có dạng chuỗi ngọc. Nhìn trên bề mặt, tế bào biểu bì của vỏ quả ngoài hình đa giác, gần vuông hoặc chữ nhật, lỗ khí hơi tròn, đường kính 18 µm đến 26 µm, có 5 đến 9 tế bào kèm. Tinh thể calci oxalat có trong tế bào vỏ quả và tế bào múi, có nhiều trong tế bào sát với biểu bì, hình thoi, hình đa giác hoặc hình hai nón, đường kính 2 µm đến 24 µm. Tế bào mô mềm chứa tinh thể hesperidin màu vàng hoặc không màu, có dạng hình cầu hoặc hình khối vô định hình, một số có gợn vân xuyên tâm. Nhiều mảnh vụn túi dầu, tế bào tiết mảnh và cong. Mạch lưới, mạch xoắn, quản bào.

Định tính
A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 25 ml *methanol (TT)*, đun hồi lưu cách thủy trong 30 min, lọc lấy dịch lọc (dung dịch A) để làm các phản ứng sau:
Lấy 5 ml dung dịch A, thêm một ít bột *magnesi (TT)* và 0,5 ml *acid hydrocloric (TT)*, xuất hiện màu đỏ cam đến đỏ tía.
Lấy 3 ml dung dịch A, thêm vài giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, xuất hiện màu nâu.
Lấy 3 ml dung dịch A, thêm vài giọt *dung dịch natri hydroxyd 1 % (TT)*, màu vàng tăng lên, đôi khi kèm theo một ít tủa.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (định tính synephrine) (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Ethyl acetat - methanol - amoniac (9 : 1 : 0,1).
Dung dịch thử: Lấy 5 g bột dược liệu, làm ẩm vừa đủ bằng *amoniac (TT)*, thêm 30 ml *ethyl acetat (TT)*, đun hồi lưu cách thủy trong 15 min. Lọc, lắc dịch lọc ethyl acetat với *dung dịch acid hydrocloric 1 % (TT)* 2 lần, mỗi lần 10 ml. Gộp các dịch acid, kiềm hóa bằng *amoniac (TT)* đến pH 10, lắc với *ethyl acetat (TT)* 2 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp các dịch chiết ethyl acetat, cô đến cắn và hòa cắn trong 1 ml *methanol (TT)* được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan synephrine chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 0,3 %.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, phun *thuốc thử ninhydrin 0,5 % trong ethanol*, sấy ở 105 °C trong 10 min đến 15 min. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết có cùng màu sắc (đỏ tía) và cùng giá trị R_f với vết synephrine của dung dịch đối chiếu.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển:
Hệ 1: *Ethyl acetat - methanol - nước* (100 : 17 : 13).

Hệ 2: *Toluen - ethyl acetat - acid formic - nước* (20 : 10 : 1 : 1).
Dung dịch thử: Dung dịch A lấy ở phần định tính bằng phản ứng hóa học.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch hesperidin chuẩn trong *methanol (TT)* (1 mg/ml), hòa tan bằng phương pháp đun hồi lưu.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký với hệ dung môi 1, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí. Tiếp tục triển khai sắc ký với hệ dung môi 2. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí, phun lên bản mỏng *dung dịch nhôm clorid 1 % (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại tại bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết có cùng màu sắc và cùng giá trị R_f với vết hesperidin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 15,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không quá 7,0 % (Phụ lục 9.8).

Định lượng
Cân chính xác khoảng 0,5 g bột dược liệu (qua rây có kích thước 1,25 mm), cho vào bình Soxhlet, thêm 100 ml *ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (TT)*, đun hồi lưu cách thủy trong 1 h và loại bỏ dịch ether. Chuyển bã dược liệu đã được làm bay hơi hết ether dầu hỏa sang 1 bình nón 250 ml và chiết tiếp bằng cách đun hồi lưu trên cách thủy với *methanol (TT)* trong 30 min 3 lần, mỗi lần 50 ml. Gộp và bốc hơi dịch chiết trên cách thủy cho đến cắn. Thêm vào cắn 5 ml *nước*, khuấy và để yên 10 min. lọc qua phễu lọc xốp, tiếp tục rửa cắn bằng *nước* 4 lần, mỗi lần 5 ml và loại bỏ nước rửa. Hòa tan cắn trên phễu bằng những lượng nhỏ *dung dịch natri hydroxyd 0,2 % trong ethanol 70 % (TT)* cho đến khi dịch lọc không còn màu vàng. Gộp các dịch lọc và chỉnh đến thể tích vừa đủ 100 ml bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,2 % trong ethanol 70 % (TT)* (dung dịch A). Lắc kỹ, lấy chính xác 2 ml dung dịch A, pha loãng thành 25,0 ml bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,2 % trong ethanol 70 % (TT)*. Lắc đều. Sau 1 h kể từ khi bắt đầu hòa tan cắn, đo độ hấp thụ ở bước sóng (361 ± 1) nm. Tính hàm lượng hesperidin ($C_{28}H_{34}O_{15}$) theo A (1 %, 1 cm), lấy 160 là giá trị A (1 %, 1 cm) của hesperidin ở 361 nm.
Hàm lượng hesperidin không được thấp hơn 5,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch vào tháng 5 đến tháng 6. Nhặt những quả tự rụng, loại bỏ tạp chất, bổ đôi theo chiều ngang những quả có đường kính trên 1 cm, quả nhỏ để nguyên phơi hoặc sấy khô ở nhiệt độ thấp.

Bào chế
Chỉ thực: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái lát dày và phơi khô. Lát thái không đều hay tròn dài 2,5 cm, rộng 1,2 cm, đường kính 0,3 cm đến 1,5 cm. Vỏ ngoài lát thái có màu lục đen hay nâu thẫm, vỏ giữa có màu trắng hơi vàng hay nâu hơi vàng, có 1 đến 2 hàng túi tinh dầu ở phần ngoài, vỏ trong và tép màu nâu.
Chỉ thực sao cám: Cho cám vào chảo, đun đến khi bốc khói, cho chỉ thực đã thái lát vào, sao đến khi bề mặt thuốc chuyển sang màu vàng hay thẫm đều lấy ra loại bỏ cám và để nguội. Dùng 1 kg cám cho 10 kg dược liệu.

Tính vị, quy kinh
Khổ, tân, toan, hàn. Quy vào các kinh tỳ, vị.

Công năng, chủ trị
Phá khí tiêu tích, hóa đờm tiêu bĩ. Chủ trị: Thực tích, thực nhiệt tích ở đại tràng gây táo bón, đàm trọc ứ trệ ở ngực gây đau trong ngực, ăn không tiêu, bụng đầy trướng.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, phối hợp trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ
Phụ nữ có thai, tỳ vị hư hàn mà không đầy tích thì không nên dùng.

CHỈ XÁC
Fructus Aurantii

Quả chưa chín đã bổ đôi, phơi hay sấy khô của cây Cam chua (*Citrus aurantium* L.), họ Cam (Rutaceae) hoặc cây Cam ngọt [*Citrus sinensis* (L.) Osbeck], họ Cam (Rutaceae).

Mô tả
Chỉ xác có hình bán cầu, đường kính 3 cm đến 5 cm, vỏ quả ngoài màu nâu hoặc nâu thẫm, ở đỉnh có những điểm túi tinh dầu dạng hạt trũng xuống, thấy rõ có vết vòi nhụy còn lại hoặc vết sẹo của cuống quả. Mặt cắt lớp vỏ quả giữa màu trắng vàng, nhẵn, hơi nhô lên, dày 0,4 cm đến 1,3 cm, có 1 đến 2 hàng túi tinh dầu ở phần ngoài vỏ quả ngoài. Chất cứng, rắn, khó bẻ gẫy. Ruột quả có từ 7 đến 12 múi, một số ít quả có tới 15 đến 16 múi. Múi khô, nhăn nheo, có màu từ nâu đến nâu thẫm, trong có hạt. Mùi thơm, vị đắng, hơi chua.

Bột
Bột màu trắng hoặc vàng nâu, tế bào vỏ quả giữa hơi tròn hoặc không đều, đa số thành tế bào dày không đều và có dạng chuỗi hạt. Nhìn trên bề mặt tế bào biểu bì vỏ quả ngoài hình đa giác, hình hơi vuông hoặc hình chữ nhật. Lỗ khí hơi tròn, đường kính 16 µm đến 34 µm, có 5 đến 9 tế bào kèm. Mô múi cam màu vàng nhạt hoặc không màu, dạng màng, tế bào biểu bì hẹp và dài, bị co lại, tế bào vỏ quả và túi dịch sắp xếp lộn xộn. Tinh thể calci oxalat có

trong tế bào vỏ quả và tế bào múi, có nhiều trong tế bào sát với biểu bì, hình thoi, hình đa giác hoặc hình hai nón, đường kính 3 µm đến 30 µm. Mạch mạng, mạch xoắn và các quản bào nhỏ.

Định tính

A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 25 ml *methanol (TT)*, đun hồi lưu cách thủy trong 10 min, lọc lấy dịch chiết (dịch chiết A) và làm các phản ứng sau:

Lấy 5 ml dịch chiết A, thêm một ít bột *magnesi (TT)* và 0,5 ml *acid hydrocloric (TT)*, xuất hiện màu đỏ đến đỏ tía.

Lấy 3 ml dịch chiết A, thêm vài giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, xuất hiện màu nâu.

Lấy 3 ml dịch chiết A, thêm vài giọt *dung dịch natri hydroxyd 1 %*, xuất hiện màu vàng đến vàng cam, đôi khi có kèm theo một ít tủa.

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Toluen - methanol (9 : 1).

Dung dịch thử: Dịch chiết A lấy ở phần định tính A.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan hesperidin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml bằng phương pháp đun hồi lưu. Nếu không có hesperidin, lấy 1 g Chỉ xác (mẫu chuẩn) chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí, phun lên bản mỏng *dung dịch nhôm clorid 1 % (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại tại bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu và giá trị R_f với vết hesperidin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu hoặc có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f so với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu được chuẩn bị từ dược liệu chỉ xác.

Định lượng

Cân chính xác khoảng 0,5 g bột dược liệu (qua rây có kích thước mắt rây 1,25 mm), cho vào bình Soxhlet, thêm 100 ml *ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (TT)*, đun hồi lưu cách thủy trong 1 h và loại bỏ dịch ether. Sau đó chuyển dược liệu sang bình nón dung tích 250 ml và chiết tiếp bằng cách đun hồi lưu trên cách thủy với *methanol (TT)* trong 30 min 3 lần, mỗi lần 50 ml. Gộp các dịch chiết và loại dung môi cho đến cắn. Thêm vào cắn 5 ml *nước*, khuấy và để yên 10 min, lọc qua phễu lọc xốp, tiếp tục rửa cắn bằng nước 4 lần, mỗi lần 5 ml và loại bỏ nước rửa. Hòa tan cắn trên phễu bằng những lượng nhỏ *dung dịch natri hydroxyd 0,2 % trong ethanol 70 % (TT)* cho đến khi dịch lọc không còn màu vàng. Gộp các dịch lọc và chỉnh đến thể tích 100 ml trong bình định mức (dung dịch A). Lắc kỹ, lấy chính xác 2 ml dung dịch A, pha loãng thành 25,0 ml bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,2 % trong ethanol 70 % (TT)*. Lắc đều, sau 1 h kể từ khi hòa tan cắn đo độ hấp thụ ở bước sóng (361 ± 1) nm. Tính hàm lượng hesperidin ($C_{28}H_{34}O_{15}$), lấy 160 là giá trị A (1 %, 1 cm) của hesperidin ở bước sóng 361 nm.

Hàm lượng hesperidin trong vỏ quả không được thấp hơn 4,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không quá 7,0 % (Phụ lục 9.8).

Chế biến

Thu hoạch vào tháng 7 đến 8, lúc trời khô ráo, hái các quả xanh, bổ ngang làm đôi, phơi hoặc sấy nhẹ ở 40 °C đến 50 °C cho tới khô.

Bào chế

Chỉ xác phiến: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, nạo bỏ ruột, hột, thái lát ngang, phơi hoặc sấy khô. Lát thái hình dải hay hình cung không đều, dài 5 cm rộng đến 1,3 cm. Quan sát lát ngang bề ngoài màu nâu đến nâu thẫm, giữa có màu nâu hơi vàng hoặc trắng, có 1 lớp đến 2 lớp túi tinh dầu ở phía ngoài vỏ, đôi khi thấy tép màu nâu hay tía đỏ, sợi cứng, mùi thơm, vị đắng, hơi chua.

Chỉ xác sao cám: Cho cám vào chảo, đun đến khi bốc khói cho Chỉ xác phiến vào sao đến khi có màu vàng thẫm lấy ra, sàng bỏ cám, để nguội. Dùng 1 kg cám cho 10 kg Chỉ xác. Các phiến hình dải hay hình vòng cung không đều, hơi thẫm màu, đôi khi có vết cháy, mùi thơm nhẹ.

Bảo quản

Để nơi khô, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Khổ, tân, lương. Vào các kinh tỳ, vị

Công năng, chủ trị

Phá khí hóa đờm tiêu tích (Hòa hoãn hơn Chỉ thực). Chủ trị: Ngực sườn trướng đau do khí trệ, khó tiêu do đờm trệ.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, dạng thuốc sắc. Phối hợp trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ

Tỳ vị hư hàn không có tích trệ, phụ nữ có thai không nên dùng.

CHIÊU LIÊU (Vỏ thân)

Cortex Terminaliaen nigrovenulosae

Chiêu liêu nghệ

Vỏ thân phơi hay sấy khô của cây Chiêu liêu (*Terminalia nigrovenulosa* Pierre ex. Laness.), họ Bàng (Combretaceae).

Mô tả

Dược liệu là những mảnh vỏ thân dài 40 cm đến 50 cm, rộng 5 cm đến 10 cm hay hơn, dày khoảng 0,8 cm đến 1,5 cm.

Mặt ngoài có lớp bần màu trắng đến vàng nhạt, xù xì, tương đối mỏng so với vỏ. Mặt trong khá nhẵn, toàn bộ có màu đỏ sậm, mặt bẻ lởm chởm. Thể chất nặng và chắc. Mùi nhẹ, vị hơi chát.

Vi phẫu

Lớp bần dày, cấu tạo bởi những tế bào hình chữ nhật có thành dày xếp đồng tâm và xuyên tâm, có chỗ nứt rách và bong ra. Tầng sinh bần-lục bì gồm một lớp tế bào hình chữ nhật xếp khá đều đặn. Mô mềm vỏ tế bào hình chữ nhật, thành mỏng, có nhiều đám tế bào mô cứng, tinh bột và tinh thể calci oxalat. Tế bào mô cứng thường họp thành từng đám hình chữ nhật hay hình nhiều cạnh, có thành rất dày, lỗ trao đổi rõ. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai có kích thước thay đổi. Libe cấp 2 khá dày cấu tạo bởi những tế bào có thành mỏng. Sợi libe xếp thành đám chia libe thành nhiều tầng (libe kết tầng). Xen kẽ những tầng libe là những tầng tế bào chứa đầy tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Nhiều tia tủy ngăn cách các tầng thành những ô nhỏ.

Bột

Bột màu đỏ hồng, mùi nhẹ, vị hơi chát. Soi dưới kính hiển vi thấy: Mảnh bần gồm tế bào hình chữ nhật, có thành dày xếp khá đều đặn. Mảnh mô mềm gồm tế bào hình nhiều cạnh hay hình chữ nhật, chứa nhiều tinh bột và tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Tinh thể calci oxalat có rất nhiều, kích thước thay đổi từ 10 µm đến 40 µm. Mảnh mô mềm chứa chất màu (đỏ cam, đỏ nâu...). Khối có màu (vàng cam, đỏ cam, đỏ nâu...). Nhiều tế bào mô cứng hình chữ nhật hay hình nhiều cạnh, màu vàng nhạt, vách rất dày, lỗ trao đổi rõ, thường chụm thành đám. Sợi nằm riêng rẽ hay họp thành bó. Rất nhiều hạt tinh bột có hình dạng biến thiên, rốn hạt hình vạch hay hình sao, kích thước từ 2 µm đến 5 µm đôi khi đến 10 µm.

Định tính

A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 30 ml *nước*, đun trong cách thủy sôi 15 min. Lọc qua 1 lớp đến 2 lớp giấy lọc nếu cần (dung dịch A).

Phản ứng 1: Cho vào 2 ống nghiệm, mỗi ống 2 ml dung dịch A.

Ống 1: Thêm 1 giọt đến 2 giọt *thuốc thử gelatin-natri clorid (TT)*, xuất hiện tủa trắng đục.

Ống 2: Thêm 1 giọt đến 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 1,3 % (TT)*, dung dịch có màu xanh rêu.

Phản ứng 2: Cho vào 2 ống nghiệm, mỗi ống 2 ml dung dịch A.

Ống 1: Thêm 3 giọt *thuốc thử Stiasny (TT)*, đun nóng trong cách thủy 10 min, xuất hiện tủa vón màu đỏ gạch.

Ống 2: Thêm 1 giọt đến 2 giọt *nước brom (TT)*, xuất hiện tủa ngà.

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

Bản mỏng: Silica gel 60 GF_{254}.

Dung môi khai triển: Cloroform - ethyl acetat - acid formic (5 : 4 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu cho vào bình nón dung tích 250 ml, thêm 20 ml hỗn hợp dung môi khai triển, siêu âm 30 min, lọc. Lấy dịch lọc, bay hơi trên cách thủy đến cắn. Hòa cắn trong 2 ml hỗn hợp dung môi khai triển.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột Chiêu liêu (mẫu chuẩn). Tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký xong, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun lên bản mỏng *dung dịch vanilin 2 % trong acid sulfuric*. Sấy bản mỏng ở 110 °C cho đến khi xuất hiện vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g 100 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 14,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Không dưới 25,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến

Vào mùa thu, lấy phần vỏ ở những cây to, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Để trong bao bì kín, để nơi khô ráo.

Tính vị, quy kinh

Khổ, hàn, có độc.

Công năng, chủ trị

Phá huyết, hành huyết, thông kinh lạc, trục phong đờm. Chủ trị: Tiêu chảy, kiết lỵ.

Cách dùng

Ngày dùng từ 20 g đến 40 g dạng cao lỏng hay từ 50 g đến 100 g dạng cồn thuốc (1:5). Có thể dùng dạng viên hay sirô.

Kiêng kỵ

Phụ nữ có thai không nên dùng.

CỎ CỨT LỢN

Herba Agerati conyzoides

Cỏ hôi, Hoa ngũ sắc

Phần trên mặt đất còn tươi hoặc đã phơi hoặc sấy đã phơi hoặc sấy khô của cây Cỏ cứt lợn (*Ageratum conyzoides* L.), họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả

Thân hình trụ, phân cành nhiều, dài 20 cm đến 40 cm, đường kính 2 mm đến 4 mm. Mặt ngoài thân màu vàng nhạt đến vàng nâu hoặc có màu tím, có lông mềm, màu trắng. Lá mọc đối, hình trứng hoặc tam giác, đầu nhọn, dài 2 cm đến 6 cm, rộng 0,5 cm đến 5 cm, mép có răng tròn, mặt dưới màu xám nhạt, có 3 gân tỏa từ gốc lá, mặt trên sẫm hơn; hai mặt lá đều có lông mịn, lá có mùi thơm đặc biệt. Cụm hoa hình đầu xếp thành ngù ở ngọn thân hoặc đầu cành, cuống cụm hoa có lông mềm; tổng bao hình đấu gồm những lá bắc xếp thành hai dãy; đầu nhỏ chứa hoa hình ống bé và đều nhau; tràng ngắn có 5 thùy tam giác, hoa màu tím nhạt hoặc trắng ngà; hoa có 5 nhị. Quả bế, màu đen, có 5 sống dọc.

Vi phẫu

Lá: Gân lá lồi về 2 phía, lồi nhiều về phía dưới. Biểu bì gồm tế bào hình tròn, mang lông che chở đa bào. Sát lớp biểu bì là hàng tế bào mô dày tròn; mô mềm hẹp. Bó libe-gỗ nằm chính giữa, xếp vòng cung uốn theo gân lá (lồi nhiều về phía dưới). Tế bào libe nhỏ, xếp xung quanh gỗ. Mạch gỗ đều xếp thành hàng. Biểu bì phiến lá mang nhiều lỗ khí; hàng tế bào mô giậu không rõ.

Thân: Biểu bì gồm 1 đến 2 hàng tế bào hình bầu dục nằm ngang, xếp sít nhau mang lông che chở đa bào. Dưới lớp biểu bì là 2 đến 3 hàng tế bào mô dày. Mô mềm vỏ hẹp. Rải rác sau mô mềm vỏ là đám tế bào mô cứng. Libe hẹp ở ngoài, gỗ ở trong. Bó gỗ xếp thành vòng tròn, những chỗ lồi bên trong ứng với đám mô cứng ở bên ngoài. Mạch gỗ to nằm rải rác, tập trung nhiều ở những chỗ lồi. Mô mềm gỗ hình chữ nhật, xếp thành hàng. Tầng phat sinh libe-gỗ uốn lượn thành vòng tròn. Tế bào mô mềm ruột to, tròn, thành mỏng.

Bột

Bột màu lục vàng, mùi thơm, vị hơi cay. Soi bột dược liệu dưới kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì lá gồm các tế bào thành mỏng chứa nhiều lỗ khí. Lông che chở đa bào. Mảnh mô mềm gồm các tế bào hình đa giác, thành mỏng. Mảnh mạch vạch, mạch xoắn. Hạt phấn hoa hình cầu gai, đường kính từ 15 µm đến 25 µm, màu vàng nhạt. Mảnh nhụy hoa có đầu tròn, kết lớp lên nhau. Mảnh cánh hoa cấu tạo bởi những tế bào thành mỏng, bề mặt sần sùi, có chất tế bào. Sợi đứng riêng lẻ hoặc tập trung thành bó. Các bó sợi có mấu lồi nhọn.

Định tính

A. Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 30 ml *ethanol 90 % (TT)*, đun sôi hồi lưu trên cách thủy 30 min, lọc. Lấy 1 ml dịch lọc cho vào bát sứ, để bay hơi tự nhiên đến cắn, nhỏ lên cắn 1 giọt *acid sulfuric (TT)*, sẽ thấy các chỗ khác nhau có màu xanh, vàng cam. Các màu này chuyển dần sang nâu rồi nâu xỉn.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Toluen - ethyl acetat (93 : 7).

Dung dịch thử: Lấy 1,0 g bột dược liệu, thêm 10 ml *n-hexan (TT)*, lắc trên máy lắc trong 30 min, lọc. Dùng dịch lọc để chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1,0 g bột cây Hoa ngũ sắc (mẫu chuẩn) tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, phun lên bản mỏng *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*, sấy ở 120 °C đến khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13) đối với dược liệu khô. Dùng 10 g bột thô dược liệu.

Tro toàn phần

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 8 % (Phụ lục 12.12).

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7).

Dùng 50 g dược liệu đã cắt nhỏ. Cất kéo hơi nước với 300 ml *nước* trong 3 h, tốc độ cất 2 - 3 ml/min, dùng 0,2 - 0,3 ml *xylen (TT)*.

Dược liệu phải chứa ít nhất 0,3 % tinh dầu, tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hái quanh năm, tốt nhất là vào tháng 9, khi cây vừa ra hoa, lúc trời khô ráo, cắt lấy phần trên mặt đất, rửa sạch, dùng tươi hoặc phơi trong bóng râm hay sấy ở 30 °C đến 40 °C đến khô, cắt thành đoạn dài 3 cm đến 5 cm, khi dùng sao vàng.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi thoáng mát, tránh ẩm, sâu mọt.

Tính vị, quy kinh

Vị hơi đắng, mùi thơm. Tính bình. Vào kinh phế, tâm.

Công năng, chủ trị

Chỉ huyết, tiêu viêm. Chủ trị băng huyết, rong huyết, đa kinh, chảy máu cam, chảy máu chân răng, viêm mũi, viêm xoang mũi dị ứng.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng 10 - 30 g dược liệu khô hoặc 30 - 50 g dược liệu tươi.

Dùng tươi: Thêm ít muối, giã nát, vắt lấy nước cốt, uống khi bị xuất huyết, hoặc băng kinh, băng huyết; hoặc giã lá

tươi, vắt lấy dịch, nhỏ vào lỗ mũi khi viêm xoang. Ngoài ra còn dùng dưới dạng thuốc sắc uống. Hiện nay, hoa ngũ sắc còn được điều chế dạng thuốc xịt, trị viêm xoang mũi dị ứng hoặc viêm mũi mạn tính. Dùng ngoài, cây tươi nấu nước gội đầu, tắm ghẻ.

CỎ MẦN TRẦU

Herba Eleusinis indicae

Toàn cây mang hoa đã rửa sạch, phơi hay sấy khô của cây Cỏ mần trầu [*Eleusine indica* (L.) Gaertn.], họ Lúa (Poaceae).

Mô tả

Dược liệu được cắt thành đoạn dài 4 cm đến 6 cm, màu lục vàng nhạt, mùi thơm nhẹ; bao gồm đoạn trục mang cụm hoa, đoạn lá, thân, đốt thân mang lá, cụm thân và lá, cụm gốc thân và rễ.

Cụm hoa gié xếp 2 dãy so le thành 5 đến 7 gié, dài 7 cm đến 9 cm đính ở đỉnh trục phát hoa ở ngọn thân, thường có 1 gié đính ở mức thấp hơn. Các gié ở ngọn, gié già hơn ở gốc. Trục phát hoa hình trụ hơi dẹp, nhẵn bóng, có nhiều sọc dọc nổi lên. Gié dài 4 mm, có 3 đến 5 hoa. Hoa ở gốc già hơn. Gié có 2 dĩnh, đính dưới nhỏ hơn dĩnh trên. Dĩnh trên hình mũi mác, thuôn mềm, đầu nhọn, dài 2,5 mm đến 3 mm, rộng khoảng 0,5 mm, màu trong, có lườn, có 4 đến 7 gân màu xanh, mặt lưng có răng cưa nhọn. Dĩnh dưới tương tự, dài 1,5 mm đến 2,0 mm, rộng 0,1 mm đến 1,5 mm, có 1 gân màu xanh, mặt lưng có răng cưa nhọn dài hơn dĩnh trên. Hoa dài 3 mm đến 4 mm có 2 trấu. Trấu dưới hình mũi mác, trong, thuôn nhọn, có 2 đến 4 gân, dài 2,5 mm đến 3,0 mm, rộng 0,5 mm đến 0,75 mm, mặt lưng có răng cưa nhọn. Trấu trên giống trấu dưới, dài 1,5 mm đến 2,0 mm, rộng 0,2 mm đến 0,4 mm, có 1 gân.

Quả hình trứng hoặc bầu dục, màu xanh bóng hoặc đen dài 1,2 mm đến 1,5 mm.

Đoạn thân nhẵn bóng, hơi dẹt, có nhiều sọc dọc nhỏ lên. Có đoạn mang đốt, tại mỗi đốt chia thành 2 đến 5 nhánh nhỏ xếp so le, mỗi nhánh có bẹ lá ôm phía ngoài, đôi khi có mang rễ phụ nhỏ.

Cụm gốc thân mang rễ chùm: Gồm 3 đến trên 10 gốc thân nhỏ mang rễ chùm xếp sít nhau. Phần gốc mang các rễ chùm nhỏ màu nâu vàng, đường kính khoảng 0,1 mm đến 0,5 mm.

Vi phẫu

Rễ: Cắt ngang rễ qua vùng lông hút cho thấy rễ có tiết diện tròn, cấu tạo đối xứng qua trục, gồm hai vùng: vùng vỏ và trung trụ.

Vùng vỏ: Chiếm khoảng 1/2 đường kính vi phẫu rễ. Tầng lông hút cấu tạo bởi một lớp tế bào có vách mỏng bằng cellulose, mọc dài ra thành lông hút. Tầng suberoid gồm 2 đến 4 lớp tế bào hình đa giác vách tẩm suberin, sắp xếp lộn xộn, kích thước không đều nhau, tế bào các lớp phía trong có kích thước nhỏ hơn, khoảng 1/3 đến 1/4 kích thước các tế bào ở lớp ngoài. Mô mềm vỏ gồm những tế bào có vách mỏng bằng cellulose, chia thành hai vùng: mô mềm vỏ ngoài có cấu tạo bởi những tế bào hình đa giác gần tròn, sắp xếp lộn xộn chứa những khuyết lớn; mô mềm vỏ trong có cấu tạo bởi những tế bào hình chữ nhật sắp xếp thành dãy xuyên tâm và vòng đồng tâm, để hở những khe nhỏ ở góc tế bào, 1 đến 2 lớp tế bào mô mềm vỏ sát lớp nội bì kích thước nhỏ hơn. Nội bì hình chữ U gồm 1 lớp tế bào hình chữ nhật xếp khít nhau, kích thước bằng các tế bào mô mềm vỏ trong cùng.

Trung trụ: Bó dẫn gồm libe xếp xen kẽ với gỗ trên một vòng theo hướng xuyên tâm, số lượng nhiều (18 đến 22 bó). Quanh tủy còn rải rác 5 đến 7 mạch gỗ cấp I hình đa giác gần tròn, kích thước lớn hơn hẳn gỗ cấp II. Lớp mô mềm tủy hẹp, một phần hóa mô cứng để lại một khối hình sao ở giữa rễ gồm các tế bào mô mềm với vách cellulose.

Thân: Vi phẫu hình bầu dục không đối xứng. Từ ngoài vào trong gồm: Biểu bì gồm 1 lớp tế bào hình chữ nhật, kích thước rất nhỏ, lớp cutin khá dày. Mô mềm vỏ cấu tạo bởi 3 đến 4 lớp tế bào hình đa giác gần tròn, vách cellulose. Trong vùng mô mềm vỏ rải rác có các cụm mô cứng. Vòng mô cứng gồm 5 đến 7 lớp tế bào hình đa giác vách dày, kích thước nhỏ. Nhiều bó libe-gỗ xếp lộn xộn từ vòng mô cứng vào trong, càng vào trong kích thước các bó càng lớn. Mỗi bó gồm một cụm nhỏ libe có tế bào hình đa giác, vách hơi uốn lượn, 1 đến 3 mạch hậu mộc to, hình tròn hoặc bầu dục; 1 đến 2 mạch tiền mộc hình tròn nằm trong vùng mô mềm vách cellulose, một số bó có mạch tiền mộc bị hủy để lại một khuyết. Bao bên ngoài mỗi bó dẫn là 1 đến 2 lớp tế bào mô cứng hình đa giác. Mô mềm tủy gồm các tế bào hình đa giác gần tròn, kích thước không đều, sắp xếp chừa các khe nhỏ. Tủy bị hủy tạo khuyết.

Lá:

Gân giữa: Biểu bì trên gồm các tế bào hình chữ nhật, kích thước khá đều nhau; biểu bì dưới hóa mô cứng, tế bào hình chữ nhật nhỏ hơn biểu bì trên, sát biểu bì dưới là cụm mô cứng gồm 2 đến 4 lớp tế bào rất nhỏ hình đa giác, khoang hẹp. Mô mềm gồm nhiều lớp tế bào hình đa giác gần tròn, kích thước rất lớn. Các bó dẫn kích thước khác nhau xếp thành hàng dọc theo biểu bì dưới, có một bó lớn ở chính giữa gân. Mỗi bó gồm gỗ ở trên, libe ở dưới; tế bào libe hình đa giác, thành uốn lượn; gỗ có mạch hậu mộc to, hình tròn, 1 đến 2 mạch tiền mộc trong vùng mô mềm vách cellulose. Bao bên ngoài bó libe-gỗ là 2 vòng mô, vòng mô cứng bên trong gồm 1 đến 2 lớp tế bào hình đa giác, vòng mô mềm bên ngoài gồm 1 lớp tế bào hình đa giác to; bên ngoài vòng này có 1 đến 2 lớp tế bào mô mềm hình thuôn dài, kích thước không đều.

Phiến lá: Biểu bì trên lồi nhiều ở các vị trí có bó libe-gỗ, lõm ở các vị trí tế bào bọt. Tế bào biểu bì trên và biểu bì dưới hình chữ nhật hóa mô cứng, tế bào biểu bì dưới lớn hơn biểu bì trên, lỗ khí rải rác ở cả hai biểu bì. Trên lớp biểu bì trên có các tế bào bọt, hình đa giác hoặc gần tròn kích thước lớn. Mô cứng tạo thành cụm phía trên và dưới bó libe-gỗ, gồm các tế bào hình đa giác, kích thước nhỏ. Nhiều bó dẫn kích thước không đều xếp xen kẽ với các vị trí tế bào bọt. Cấu tạo bó dẫn giống như bó dẫn ở gân giữa. Mô mềm gồm các tế bào hình đa giác xen giữa các các bó dẫn.

Bột
Bột màu vàng xanh, không mùi, khô tơi, có nhiều sợi. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì gồm các tế bào hình chữ nhật, thành uốn lượn, mang lỗ khí; mảnh mô mềm gồm các tế bào hình đa giác hoặc hình chữ nhật, thành mỏng; mảnh mạch xoắn, mạch mạng, mạch vòng; sợi có 2 loại: loại thành dày khoang rộng và loại thành dày khoang hẹp, ống trao đổi rõ; khối nhựa màu nâu đỏ.

Định tính
A. Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ether (TT)*. Ngâm 30 min, thỉnh thoảng lắc, lọc. Lấy 10 ml dịch lọc cho vào chén sứ, bốc hơi đến cắn. Hòa tan cắn với 0,5 ml *anhydrid acetic (TT)*, thêm 0,5 ml *cloroform (TT)*. Chuyển dung dịch vào một ống nghiệm nhỏ, khô. Dùng pipet thêm cẩn thận 1 - 2 ml *acid sulfuric (TT)* theo thành ống nghiệm để nghiêng cho acid chảy xuống đáy ống nghiệm. Nơi tiếp xúc giữa hai lớp dung dịch có màu đỏ nâu, lớp dung dịch phía trên dần dần chuyển thành màu xanh lục.
B. Lấy 5 g bột dược liệu cho vào bình nón nút mài, thêm 50 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy trong 30 min, lọc, được dịch lọc A.
Lấy 5 ml dịch lọc A cho vào chén sứ, bốc hơi còn khoảng 2 ml và gạn dịch ethanol vào 1 ống nghiệm nhỏ. Thêm vào dung dịch một ít bột *magnesi (TT)* và 1 đến 2 giọt *acid hydrocloric (TT)*, dung dịch có màu hồng đến đỏ.
Lấy 5 ml dịch lọc A cho vào ống nghiệm. Thêm 2 ml *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)* và đun trên cách thủy 10 min, dung dịch có màu hồng tới đỏ.
Lấy 2 ml dịch lọc A, thêm vào vài giọt *dung dịch sắt (III) clorid 1 % (TT)*, xuất hiện màu xanh đen.
C. Đun sôi 2 g dược liệu đã cắt nhỏ với 50 ml *nước* trong 10 min, lọc. Lấy 3 ml dịch lọc, thêm 0,5 ml *dung dịch Fehling A (TT)* và 0,5 ml *dung dịch Fehling B (TT)*. Đun cách thủy 5 min, có kết tủa đỏ gạch dưới đáy ống nghiệm.
D. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol (7 : 3).
Dung dịch thử: Lấy 5 ml dịch lọc A, bốc hơi trên cách thủy còn khoảng 1 ml, được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 5 g bột Cỏ mần trầu (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin 1% trong acid sulfuric (TT)*, sấy bản mỏng ở 120 °C đến khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại tại bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không được quá 10,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không được quá 9,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không được quá 3,0 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 4,5 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hái quanh năm, tốt nhất là cuối mùa xuân. Nhổ lấy cả cây, rửa sạch đất cát, phơi khô se, cắt đoạn 4 cm đến 6 cm. Có thể dùng tươi hoặc phơi khô để dùng trong năm.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô, tránh nấm mốc, sâu mọt.

Tính vị, quy kinh
Vị ngọt, tính mát. Vào kinh can, tâm, bàng quang.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt, phát hãn, hạ sốt, giải độc mát gan, lợi tiểu. Chủ trị: Sốt cao, sốt do cảm nắng, đau đầu, viêm gan hoàng đản, sốt rét, cao huyết áp, mụn nhọt lở ngứa, tiểu tiện vàng, đỏ, bí, dắt.

Cách dùng, liều lượng
Ngày 80 g đến 120 g (cây tươi); 16 g đến 20 g (khô). Dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ
Không có thực nhiệt không dùng.

CỎ NGỌT (Lá)
Folium Steviae rebaudianae

Lá thu hái ở những cây sắp ra hoa phơi hay sấy khô của cây Cỏ ngọt [*Stevia rebaudiana* (Bertoni) Hemsley], họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả
Lá hình trái xoan hẹp hay hình trứng ngược, màu xanh lục vàng, dài từ 2,5 cm đến 6,0 cm, rộng 1,0 cm đến 1,8 cm. Hai mặt đều có lông mịn, mép lá khía răng cưa. Mặt trên lá có 3 gân nổi rõ cùng xuất phát từ cuống lá; gân phụ phân nhánh. Vị rất ngọt.

Vi phẫu
Phần gân lá: Gân phía dưới lồi, phía trên gần phẳng hơi lõm xuống. Biểu bì trên và dưới là một hàng tế bào nhỏ, hình trứng, xếp liên tục, đều đặn, mang lông che chở đa bào cấu tạo bởi 4 tế đến 6 tế bào xếp thẳng hàng, đầu lông nhọn. Mô dày cấu tạo bởi 2 lớp đến 3 lớp tế bào hình tròn, có thành dày ở góc, xếp sát dưới biểu bì. Mô mềm là những tế bào hình đa giác hay tròn, thành mỏng, có kích thước không đều. Ở giữa gân thường có các số lẻ bó libe-gỗ hình tròn, có thể là 1, 3, 5 bó có cấu tạo tương tự nhau. Bó libe-gỗ ở giữa thường có kích thước lớn nhất, libe bao

quanh bó gỗ, gỗ cấu tạo bởi các mạch gỗ lớn, xếp thành hàng, tập trung thành bó. Mô mềm cấu tạo bởi các tế bào hình tròn, có thành mỏng.
Phần phiến lá: Biểu bì trên và dưới là một hàng tế bào hình chữ nhật, to hơn so với biểu bì ở gân lá, mang lông che chở đa bào tương tự phần gân lá. Mô giậu cấu tạo bởi 2 hàng tế bào hình chữ nhật, xếp sít nhau và thẳng góc với biểu bì trên. Trong phiến lá có thể có một vài bó libe-gỗ nhỏ của gân phụ. Mô khuyết là những tế bào to nhỏ không đều nhau, có thành mỏng.

Bột
Bột có màu vàng lục, vị ngọt. Nhìn dưới kính hiển vi thấy: Mảnh bần cấu tạo bởi những tế bào hình chữ nhật hay đa giác, xếp thành 1 lớp đến 2 lớp tế bào. Lông che chở đa bào, một dãy, cấu tạo bởi 6 tế bào đến 8 tế bào hoặc nhiều hơn, các tế bào ngắn, gần như hình vuông có 4 góc hình cung, đặc biệt ở gốc lông, tế bào đầu lông có thể nhọn hoặc tù. Đôi khi thấy lông tiết đa bào hình chùy cấu tạo bởi 2 tế bào đến 3 tế bào. Mảnh mô mềm hình trứng hay chữ nhật, thành mỏng. Mảnh biểu bì mang lỗ khí, đôi khi có lông che chở. Thường thấy nhiều mảnh mạch mạng, mạch xoắn, mạch điểm. Sợi tập trung thành bó hay đứng riêng lẻ, tế bào sợi có kích thước ngắn, nhỏ, có thành dày, khoang rộng, sợi có thể mang những gai nhỏ, rất nhọn. Mô cứng cấu tạo bởi các tế bào thành dày hóa gỗ, có khoang rộng. Hạt phấn hoa to, hình cầu gai, mảnh cánh hoa cấu tạo bởi các tế bào thành mỏng, có bề mặt sần sùi.

Định tính
A. Dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm, bột dược liệu có huỳnh quang màu lục vàng.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: n-Butanol - acid acetic - nước (30 : 10 : 10).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột thô dược liệu, thêm 20 ml *methanol (TT)*, lắc kỹ và đun sôi 2 min trên cách thủy. Lọc, được dung dịch để chấm sắc ký.
Dung dịch chất đối chiếu: Dung dịch steviosid 0,25 % trong *methanol (TT).*
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Lấy 1 g bột thô lá Cỏ ngọt (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong methanol (TT)* vừa mới pha. Sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi xuất hiện vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có ít nhất 4 vết, trong đó vết chính có cùng màu sắc và giá trị R_f với vết steviosid trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu. Hoặc các vết trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13 % (Phụ lục 9.6, 2 g, 100 °C, 4 h).

Tạp chất (Phụ lục 12.11).
Tỷ lệ cành mang lá: Không quá 10 %.
Tạp chất khác: Không quá 1 %.

Tro toàn phần
Không quá 8,5 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 18,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Khi cây sắp ra hoa, cắt cành ở khoảng cách trên mặt đất 10 cm đến 20 cm, hái lấy lá, loại bỏ lá già úa, đem phơi nắng nhẹ hoặc sấy ở 30 °C đến 40 °C đến khô.

Bảo quản
Để nơi khô mát, tránh sâu mọt.

Tính vị, quy kinh
Vị ngọt, tính mát, vào kinh phế tỳ thận.

Công năng, chủ trị
Trừ tiêu khát, lợi tiểu, hạ huyết áp dùng trong các trường hợp đái tháo đường, đái tháo nhạt, bí tiểu tiện, huyết áp cao.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 8 g đến 12 g, hãm hoặc sắc uống.

CỎ NHỌ NỒI
Herba Ecliptae
Cỏ mực

Toàn bộ phần trên mặt đất đã phơi hay sấy khô của cây Cỏ nhọ nồi *(Eclipta prostrata L.)*, họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả
Thân hình trụ, có khía dọc, dài khoảng 30 cm đến 50 cm, đường kính 2 mm đến 5 mm. Mặt ngoài thân màu nâu tím nhạt và mang lông cứng, trắng. Lá nguyên, mọc đối, hình mũi mác, màu xám đen và nhăn nheo, dài 2,5 cm đến 3 cm, rộng 1 cm đến 2,5 cm. Hai mặt đều có lông cứng ngắn, màu trắng. Mép phiến lá có răng cưa, to và nông. Gốc phiến lá men xuống nên trông như không có cuống lá. Cụm hoa hình đầu, màu trắng, đường kính 4 mm đến 8 mm, mọc ở kẽ lá hay ngọn cành. Đầu mang 2 loại hoa: hoa cái hình lưỡi nhỏ ở ngoài, hoa lưỡng tính hình ống ở trong, có khi các hoa đã rụng chỉ còn lại tổng bao lá bắc và trục cụm hoa. Quả đóng hình trái xoan hơi dẹt, đầu cụt, màu đen. Dài 3 mm, rộng 1 mm đến 1,5 mm.

Vi phẫu
Lá: Biểu bì trên và dưới đều có lỗ khí và lông che chở đa bào thường bị gãy. Ở phần gân giữa biểu bì dưới thường có 2 đến 3 hàng tế bào mô dày, có 3 đến 7 bó libe-gỗ xếp thành hình cung. Phần phiến lá có 1 hàng mô mềm giậu chiếm 1/3 bề dầy của phiến lá.

Thân: Biểu bì có lông che chở đa bào thường bị gãy. Dưới biểu bì là vòng mô dày gồm 2 đến 3 dãy tế bào. Bên trong là mô mềm vỏ, trong đó có những khuyết lớn phân bố rải rác. Trụ giữa gồm nhiều đám libe-gỗ xếp rời nhau, trên các đám mô dẫn thường có cung mô cứng.

Bột

Bột màu lục xám, lông che chở gồm 3 tế bào, bề mặt sần sùi. Mảnh biểu bì gồm tế bào thành ngoằn ngoèo có lỗ khí. Mảnh mạch xoắn. Mảnh cánh hoa với tế bào hình chữ nhật, thành hơi nhăn nheo. Hạt phấn hoa màu vàng, hình cầu, đường kính 28 µm đến 30 µm, có 3 lỗ rãnh, có gai to và dài 4 µm đến 5 µm. Đầu nhụy gồm các tế bào mọc lồi lên.

Định tính

A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 5 ml *ether ethylic (TT)*, ngâm 10 min, thỉnh thoảng lắc, lọc. Lấy 1 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm, thêm 10 giọt *anhydrid acetic (TT)* thêm từ từ 15 giọt *acid sulfuric (TT)* theo thành ống nghiệm. Nơi tiếp giáp giữa 2 lớp chất lỏng có màu nâu đỏ, đồng thời lớp ether chuyển sang màu xanh da trời.

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

Bản mỏng: Silica gel F_{254}.

Dung môi khai triển: n-Hexan - ethyl acetat - acid formic (10 : 7 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 1,0 g bột dược liệu cho vào bình nón 50 ml, thêm 10 ml *methanol (TT)*, siêu âm trong 30 min, lọc, dùng dịch lọc làm dung dịch thử.

Dung dịch chất đối chiếu: Cân và hoà tan wedelolacton chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có chứa khoảng 0,1 mg/ml.

Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có wedelolacton chuẩn, lấy 1,0 g bột Cỏ nhọ nồi (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 3 µl dung dịch thử, 1,5 µl dung dịch chất đối chiếu hoặc 3 µl dung dịch dược liệu đối chiếu.

Dùng bình khai triển có hai máng chứa dung môi, chuẩn bị dung môi khai triển ngay trước khi dùng. Cho dung môi khai triển vào một máng và đặt bản mỏng vào máng còn lại. Đậy nắp bình và để yên 15 min. Nghiêng bình cẩn thận đủ để dung môi chuyển từ máng chứa dung môi sang máng chứa bản mỏng và để dung môi triển khai. Sau khi triển khai được 8 cm, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 2 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 18,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 3,0 % (Phụ lục 9.7).

Tỷ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 0,315 mm: Không quá 8,0 % (Phụ lục 12.12).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 15,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 50 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch cây đang ra hoa, bỏ gốc, rễ, rửa sạch, phơi khô.

Bảo quản

Để nơi khô.

Tính vị, quy kinh

Cam, toan, hàn. Vào hai kinh can, thận.

Công năng, chủ trị

Lương huyết, chỉ huyết, bổ can thận. Chủ trị: Can, thận âm hư, các chứng huyết nhiệt, chứng ho ra máu, nôn ra máu, đại tiện và tiểu tiện ra máu, chảy máu cam, chảy máu dưới da, băng huyết, rong huyết.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 12 g đến 20 g, dạng thuốc sắc hoặc viên. Thường phối hợp với một số vị thuốc khác.

Có thể dùng ngoài, dược liệu tươi, lượng thích hợp.

Kiêng kỵ

Tỳ vị hư hàn, ỉa chảy phân sống không nên dùng.

CỎ TRANH (Thân rễ)

Rhizoma Imperatae cylindricae

Bạch mao căn

Dược liệu là thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Cỏ tranh (*Imperata cylindrica* P. Beauv), Họ Lúa (Poaceae).

Mô tả

Thân rễ hình trụ, dài 30 cm đến 40 cm, đường kính 0,2 cm đến 0,4 cm. Mặt ngoài trắng ngà hay vàng nhạt, có nhiều nếp nhăn dọc và nhiều đốt, mỗi đốt dài 1 cm đến 3,5 cm, trên các đốt còn sót lại vết tích của lá vảy và của rễ con. Dược liệu dai, dễ bẻ gãy ở đốt, mặt bẻ có sợi. Mặt cắt ngang gần hình tròn, mặt ngoài lồi lõm không đều, ở giữa thường rách nứt. Dưới ánh sáng đèn tử ngoại 366 nm, phần tủy có phát quang màu xanh lơ, phần vỏ phát quang màu vàng nhạt. Dược liệu không mùi, không vị, sau hơi ngọt.

Vi phẫu

Biểu bì gồm một lớp tế bào dẹt đặn. Mô cứng gồm 2 tế bào đến 4 tế bào hình đa giác, màng dày và xếp sát biểu bì. Mô mềm vỏ được cấu tạo bởi các tế bào tròn to. Giữa mô mềm vỏ có các bó libe-gỗ nhỏ là vết tích của phần rễ

con. Vòng nội bì gồm 1 lớp tế bào xếp đều đặn có thành phía trong rất dày, thành 2 bên và phía ngoài mỏng. Trụ bì hóa mô cứng thành vòng liên tục. Các bó libe-gỗ tập trung ngay sát lớp trụ bì và rải rác trong phần mô mềm tủy. Mỗi bó libe-gỗ gồm 1 bao mô cứng ở xung quanh, 1 đám libe, 1 hay 2 mạch gỗ to nằm trong mô mềm gỗ, bên trong còn có thể có những tế bào nhuộm màu hồng vì còn chất cellulose. Ở những phần thân già giữa mô mềm tủy thường có khuyết to, khuyết này nhỏ và mất dần khi gần đốt.

Bột

Bột dược liệu màu trắng ngà.

Biểu bì gồm những tế bào hình chữ nhật, vách nhăn nheo, xếp thành dãy dọc. Có 2 dạng sợi: có loại khoang rộng và có vách ngang; có loại thành rất dày, khoang hẹp tạo thành bó hay riêng lẻ. Nhiều loại mạch: mạch vạch, mạch chấm, mạch xoắn. Mảnh mô mềm gồm những tế bào thành mỏng.

Định tính

A. Lấy 2 g bột dược liệu cho vào bình nón nút mài 50 ml, thêm 20 ml *cloroform (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy trong 20 min, thỉnh thoảng lắc, để nguội, lọc. Lấy 1 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm, thêm 1 ml *anhydrid acetic (TT)*, lắc đều. Để nghiêng ống nghiệm, thêm nhẹ nhàng 0,5 ml *acid sulfuric (TT)* theo thành ống. Mặt ngăn cách giữa 2 lớp xuất hiện vòng màu nâu đỏ, lớp dung dịch phía trên có màu xanh bẩn và dần dần chuyển sang màu xanh xám.

B. Lấy 2 g bột dược liệu cho vào bình nón nút mài 50 ml, thêm 15 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy trong 10 min, lọc. Dịch lọc được chia ra các ống nghiệm và làm các phản ứng định tính sau:

Lấy 2 ml dịch lọc, thêm vài giọt *dung dịch sắt (III) clorid 1 % (TT)*, xuất hiện màu xanh đen.

Lấy 2 ml dịch lọc, thêm vài giọt *dung dịch chì acetat 1 % (TT)*, cho tủa màu vàng.

Lấy 2 ml dịch lọc, thêm vài giọt *dung dịch natri hydroxyd 5 % (TT)*, xuất hiện tủa vàng.

C. Đun sôi 2 g dược liệu với 10 ml *nước* trong 10 min, lọc. Lấy 3 ml dịch lọc, thêm 1 *ml thuốc thử Fehling A (TT)*, 1 ml *thuốc thử Fehling B (TT)*, đun cách thủy trong 10 min sẽ thấy tủa màu đỏ gạch.

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

Bản mỏng: Silica gel F_{254}

Dung môi khai triển: *Toluen - ethyl acetat* (8 : 2).

Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun sôi 10 min, để nguội, lọc và bốc hơi dịch lọc tới khô. Hòa tan cắn trong 5 ml *cloroform (TT)*, lọc, được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột Cỏ tranh (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng rồi phun *dung dịch vanilin - acid sulfuric (TT)*. Sấy bản mỏng ở 110 °C cho đến khi các vết hiện màu. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không quá 3,0 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu

Không dưới 13,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *nước* làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu hoặc mùa xuân, lúc trời khô ráo, đào lấy thân rễ dưới đất (không dùng rễ nổi trên mặt đất), rửa sạch, tuốt bỏ sạch bẹ, bỏ hết rễ con, đem phơi.

Bào chế

Bạch mao căn: Rửa sạch, tẩm nước cho hơi mềm rồi cắt thành đoạn phơi khô, sàng bỏ chất vụn.

Mao căn thán: Lấy những đoạn Bạch mao căn, cho vào nồi sao lửa mạnh tới màu nâu đen, nhưng phải tồn tính, phun nước trong, lấy ra phơi khô.

Bảo quản

Để nơi khô ráo.

Tính vị, quy kinh

Cam, hàn. Vào kinh phế, vị, bàng quang.

Công năng, chủ trị

Lương huyết, cầm huyết, thanh nhiệt, lợi tiểu. Chủ trị: Thổ huyết, nục huyết, tiểu tiện ra máu, chảy máu cam do huyết nhiệt, nhiệt bệnh khát nước bứt rứt, hoàng đản, thủy thũng do viêm thận cấp tính. Tiểu khó, ít, buốt.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 30 g, dạng thuốc sắc. Dùng tươi từ 30 g đến 60 g.

Kiêng kỵ

Người hư hỏa, không thực nhiệt, kiêng dùng.

Phụ nữ có thai, dùng thận trọng.

CỎ XƯỚC (Rễ)

Radix Achyranthis asperae

Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Cỏ xước (*Achyranthes aspera* L.), họ Rau giền (Amaranthaceae).

Mô tả

Rễ nhỏ cong queo, bé dần từ cổ rễ tới chóp rễ, dài 10 cm đến 15 cm, đường kính 0,2 cm đến 0,5 cm. Mặt ngoài màu nâu nhạt, nhẵn, đôi khi hợi nhăn, có các vết sẹo của rễ con hoặc lẫn cả rễ con. Mặt cắt ngang màu nâu nhạt hơn một chút, có các vân tròn xếp tương đối đều đặn, đó là các vòng libe-gỗ.

Vi phẫu
Lớp bần gồm 3 đến 4 lớp tế bào hình chữ nhật, sần sùi, có chỗ bị bong ra. Mô mềm vỏ tương đối hẹp, khoảng 4 đến 5 hàng tế bào xếp lộn xộn. Thường có 3 đến 4 vòng libe-gỗ: Các vòng ngoài xếp liên tục, còn 1 đến 2 vòng trong cùng thường bị tia ruột chia thành các bó riêng lẻ đứng gần nhau, trong mỗi vòng libe và gỗ thì các libe xếp ngoài, gỗ ở phía trong. Mô mềm ruột tế bào tròn có thành mỏng. Phân cách giữa libe và gỗ là tầng phát sinh libe-gỗ không rõ.

Bột
Màu trắng xám, vị nhạt. Soi kính hiển vi thấy: Mạch gỗ thường nhỏ và hẹp, chủ yếu là mạch điểm. Sợi gồm những tế bào dài hẹp, xếp thành từng bó hoặc có khi dài ra đứng riêng lẻ, hầu hết các sợi đều trong suốt, thành mỏng. Mảnh bần màu sẫm hơi vàng, các tế bào không rõ rệt, tập hợp thành từng đám nhỏ. Mảnh mô mềm, tinh thể calci oxalat nhỏ, hình khối. Hạt tinh bột nhỏ, hình tròn.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Kim loại nặng
Không quá 20 phần triệu. Tiến hành như sau:
Dung dịch thử: Lấy 1,5 g bột dược liệu vào chén bằng sứ hoặc thạch anh, có nắp đậy. Đốt dần dần để than hóa hoàn toàn. Để nguội, thêm 1 ml hỗn hợp gồm 1 thể tích *acid nitric (TT)* và 3 thể tích *acid hydrocloric (TT)*, bốc hơi tới khô trên cách thủy. Làm ẩm cắn bằng 3 giọt *acid hydrocloric (TT)*, thêm 10 ml nước nóng và làm ẩm trong 2 min. Sau đó thêm 1 giọt *dung dịch phenolphtalein (TT)*, thêm từng giọt *amoniac (TT)* cho đến khi dung dịch xuất hiện màu đỏ nhạt, thêm 2 ml *acid acetic loãng (TT)*, lọc nếu cần, rửa phễu và cắn bằng 10 ml *nước*. Chuyển dịch lọc và dịch rửa vào ống Nessler, thêm *nước* vừa đủ 50 ml.
Dung dịch đối chiếu: Bốc hơi trên cách thủy đến khô 1 ml hỗn hợp (pha trước khi dùng) gồm 1 thể tích *acid nitric (TT)* và 3 thể tích *acid hydrocloric (TT)*. Sau đó tiến hành như chỉ dẫn với dung dịch thử, sau đó thêm 3,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 50 ml.
Cách tiến hành: Thêm 1 giọt *dung dịch natri sulfid (TT_1)* vào dung dịch thử và dung dịch đối chiếu, lắc mạnh, để yên 5 min. So sánh màu của 2 ống nghiệm bằng cách nhìn dọc ống hoặc quan sát trên nền trắng. Dung dịch thử không được đậm màu hơn dung dịch đối chiếu.

Chế biến
Đào rễ về, giũ sạch đất, cát, phơi hay sấy khô.

Bảo quản
Để nơi khô, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Khổ, toan, bình. Vào hai kinh can, thận.

Công năng, chủ trị
Hoạt huyết khứ ứ, bổ can thận mạnh gân xương. Chủ trị: Phong thấp, đau lưng, đau nhức xương khớp, chân tay co quắp, kinh nguyệt không đều, bế kinh đau bụng, bí tiểu tiện, đái rắt buốt.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 15 g. Dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ
Phụ nữ có thai, ia lỏng, người đi tinh không dùng.

CÓC MẦN
Herba Centipedae minimae
Cỏ the

Toàn cây đã rửa sạch phơi hay sấy khô của cây Cóc mẫn [*Centipeda minima* (L.) A. Br. et Aschers.], họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả
Thân mảnh, nhỏ, mềm, phân nhánh nhỏ, màu xanh nhạt hoặc nâu xám dài 5 - 20 cm. Trên thân, có lá nhỏ không cuống, mọc so le, mép có 1 đến 3 răng cưa nhỏ ở mỗi bên mép. Gân chính nổi rõ ở mặt dưới lá. Có nhiều rễ nhỏ, màu vàng nâu. Cụm hoa hình đầu, màu vàng nhạt, mọc ở ngọn, ở kẽ lá, đối diện với lá.

Vi phẫu
Thân: Ngoài cùng là lớp biểu bì gồm các tế bào hình chữ nhật, thành khá dày, dài 20 µm đến 30 µm, rộng 20 µm đến 25 µm, xếp đều đặn, mang lông tiết đa bào và lỗ khí; lớp cutin mỏng bên ngoài biểu bì thường có răng cưa mịn. Mô mềm vỏ gồm các tế bào hình cầu, thành mỏng, đường kính 75 µm đến 125 µm; các khuyết to cùng với các túi tiết tinh dầu nằm rải rác trong mô mềm. Các bó libe-gỗ gồm 7 đến 8 bó xếp thành vòng tròn; mô mềm ruột là những tế bào hình cầu xếp cạnh nhau, còn có những khoảng gian bào nhỏ ở các vách tiếp xúc.
Lá: Phần gân chính gồm có: biểu bì trên gồm 1 lớp tế bào hình chữ nhật có các lỗ khí rải rác. Mô mềm dưới lớp biểu bì gồm những tế bào hình cầu, thành mỏng. Bó libe-gỗ hình trứng: gỗ với những mạch gỗ nhỏ ở phía trên, libe ở phía dưới. Biểu bì mặt dưới lá có nhiều lỗ khí và đôi khi có lông tiết đa bào.
Phần phiến lá: Mô mềm giậu gồm 2 đến 3 lớp tế bào hình chữ nhật hay hình nhiều cạnh, nằm dưới lớp biểu bì. Mô mềm khuyết gồm 2 đến 3 lớp tế bào hình bầu dục hay hình bầu dục dài, có những khuyết nhỏ. Giữa 2 lớp mô mềm là dấu vết các bó libe-gỗ.

Bột
Bột có màu xanh lục nhạt, xanh xám hoặc nâu xám, mùi hắc, vị đắng hơi tê. Quan sát dưới kính hiển vi thấy: mảnh biểu bì gồm những tế bào thành mỏng ngoằn ngoèo có nhiều lỗ khí, đường kính lỗ khí khoảng 25 µm có 4 tế bào đến 6 tế bào phụ, hình dạng không cố định. Lông che chở

đa bào ở hoa (quả) dài 175 µm đến 200 µm thường bị gãy vụn; lông tiết đầu đa bào đường kính 40 µm đến 44 µm. Hạt phấn hoa hình cầu, màu vàng nâu, đường kính khoảng 20 µm, có 3 lỗ nảy mầm, mặt ngoài có nhiều gai sần. Mảnh mạch xoắn, mạch mạng, mạch điểm. Chất tiết màu vàng nâu, nâu vàng, đỏ nâu.

Định tính

A. Cân khoảng 10 g bột thô dược liệu, cho vào bình nón có nút mài, thể tích 100 ml. Thêm 50 ml *ethanol 80 % (TT)*. Đun trên cách thủy sôi 10 min. Gạn, lọc dịch chiết. Thu hồi dung môi dưới áp suất giảm. Thêm vào cắn 5 ml *nước cất*, loại tạp bằng cách lắc với *ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (TT)* 3 lần, mỗi lần 5 ml, loại bỏ lớp ether dầu hỏa, và làm bay hết dung môi trên cách thủy sôi. Lấy dịch chiết nước còn lại, làm các phản ứng sau:

Lấy 1 ml dịch chiết trên, thêm 1 ml *dung dịch vanilin 1 % trong ethanol (TT)*, thêm vài giọt *acid sulfuric (TT)*, xuất hiện màu tím hoa cà.

Lấy lượng dịch chiết còn lại ở trên, thêm 10 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*, đun cách thủy sôi 30 min. Để nguội rồi lắc với *cloroform (TT)* 3 lần, mỗi lần 5 ml. Lấy 5 ml dịch chiết cloroform vào ống nghiệm, cô trên cách thủy đến cạn, thêm 2 ml *anhydrid acetic (TT)*, thêm 2 giọt đến 3 giọt *acid sulfuric (TT)*, xuất hiện màu đỏ tía.

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

Bản mỏng: *Silica gel G.*

Dung môi khai triển: *n-Butanol - ethyl acetat - nước* (4 : 1 : 5).

Dung dịch thử: Hòa cắn thu được ở phần Định lượng trong 5 ml *methanol (TT)* được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 10 g Cóc mẫn (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl dung mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí ở nhiệt độ phòng, phun hỗn hợp thuốc thử gồm dung dịch *vanilin 1 % trong ethanol 96 % (TT)*. Sấy bản mỏng ở nhiệt độ 105 °C đến khi các vết hiện rõ. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

Tro toàn phần

Không quá 14,8 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 2,8 % (Phụ lục 9.7).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 10 g bột dược liệu (qua rây số 355), loại tạp bằng *ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (TT)* trong bình Soxhlet, tãi mỏng bã dược liệu để bay hơi hết dung môi. Tiếp tục chiết saponin bằng *ethanol 80 % (TT)* trong bình Soxhlet trong 1 h. Thu hồi ethanol trong dịch chiết dưới áp suất giảm tới dạng cao đặc. Hòa tan cao bằng 5 ml nước cất. Lắc kỹ với *n-butanol (TT)* 5 lần, mỗi lần 5 ml. Gộp các dịch butanol, cất thu hồi dung môi n-butanol. Sấy cắn ở nhiệt độ dưới 70 °C tới khối lượng không đổi. Cân cắn.

Hàm lượng chất tan trong butanol không ít hơn 3,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hái vào khoảng tháng 1 đến tháng 3, chủ yếu là cây mọc hoang. Sau khi nhổ lấy cả cây, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Trước khi dùng, rửa sạch, phơi khô, cắt nhỏ. Vị sao.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô ráo.

Tính vị, quy kinh

Tân, ôn. Vào kinh phế.

Công năng, chủ trị

Khu phong thắng thấp, tán hàn thông khiếu, tiêu sưng. Chủ trị: Cảm, tắc mũi trĩ mũi, đau họng, ho gà, hen hàn, chấn thương.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 8 g đến 12 g, dạng thuốc sắc.

CÓC TINH THẢO

Flos Eriocauli

Cỏ dùi trống

Cụm hoa và cuống cụm hoa phơi hoặc sấy nhẹ đến khô của cây Cỏ dùi trống (*Eriocaulon sexangulare* L. hoặc *Eriocaulon buergerianum* Koern.), họ Cỏ dùi trống (Eriocaulaceae).

Mô tả

Cụm hoa hình đầu, tròn dẹt, đường kính 4 mm đến 5 mm (khoảng 6 mm đối với *Eriocaulon sexangulare* L.). Lá bắc dày đặc, xếp thành nhiều lớp ở đế hoa, màu lục vàng nhạt, bóng láng, có nhiều lông tơ ở mép trên. Mặt trên của cụm hoa đầu có màu trắng xám. Sau khi cọ sát vào cụm hoa thấy nhiều bao phấn màu đen và nhiều quả nhỏ chưa chín màu vàng lục. Cuống cụm hoa mảnh, dài ngắn khác nhau, đường kính ít khi nhỏ hơn 1 mm, màu vàng lục nhạt, bề mặt có nhiều gờ xoắn. Chất mềm khó bẻ gãy. Không mùi, vị nhạt.

Bột

Màu lục vàng. Soi kính hiển vi thấy: Các lông nhỏ có bề mặt lấm tấm. Lông che chở to, dài, có 2 tế bào đến 4 tế bào. Các mảnh tế bào biểu bì của cuống cụm hoa dài và dẹt. Các mảnh tế bào biểu bì mang lỗ khí có tế bào kèm hình chữ nhật. Tế bào vỏ quả hình gần đa giác khi nhìn trên bề mặt, thành có những nếp lồi dày lên hình chuỗi hạt. Hạt phấn hình gần cầu, có khoang hẹp.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Toluen - aceton* (10 : 0,6).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu vào bình nón, thêm 30 ml *ethanol 96 % (TT)*, lắc siêu âm 30 min, lọc. Bốc hơi dịch lọc đến khô, hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol 96 % (TT)* dùng làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Cốc tinh thảo (mẫu chuẩn), tiến hành chiết tương tự như ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang cùng giá trị R_f và màu sắc với vết đạt được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Chế biến
Thu hoạch vào mùa thu, lấy cụm hoa và cuống cụm hoa, phơi hay sấy nhẹ (50 °C đến 60 °C) đến khô.

Bảo quản
Để nơi khô.

Tính vị, quy kinh
Tân, cam, bình. Vào các kinh can, vị.

Công năng, chủ trị
Sơ tán phong nhiệt, minh mục, thoái ế. Chủ trị: Phong nhiệt mắt đỏ, sợ chói mắt, đau mắt có màng, phong nhiệt đầu thống, đau răng.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 9 g đến 12 g, dạng thuốc sắc.

CỐI XAY
Herba Abutili indici
Ma bàn thảo, giằng xay

Phần trên mặt đất đã phơi hay sấy khô của cây Cối xay (*Abutilon indicum* (L.) Sweet), họ Bông (Malvaceae).

Mô tả
Dược liệu gồm các đoạn thân, cành, lá, hoa, quả. Tất cả các bộ phận đều có lông. Thân lớn đường kính khoảng 1,2 cm, được cắt vát dài 1 cm đến 1,5 cm. Thân nhỏ và cành thường được cắt thành đoạn dài 3 cm đến 4 cm. Vỏ thân có vân nhăn nheo dạng lưới, màu nâu xám nhạt hay lục xám, vỏ cành thường nhẵn. Lá khô bị nhăn nheo, nhàu nát, mặt trên màu lục sẫm, mặt dưới nhạt hơn, nếu ngâm nước rồi rải trên một mặt phẳng sẽ thấy lá mỏng mềm, hình tim, đầu nhọn, dài rộng khoảng 5 cm đến 10 cm. Hoa màu vàng, có cuống, mọc đơn độc ở nách lá. Quả hình cầu cụt đầu giống thớt cối xay, đường kính 1,5 cm đến 2 cm, có khoảng 20 phân quả, mỗi phân quả có một vỏ nhọn như gai, có lông dày, chứa 3 hạt màu đen nhạt, hình thận.

Vi phẫu
Vi phẫu lá: Biểu bì trên và dưới đều có lông che chở hình tỏa tròn. Phiến lá toàn bộ là mô mềm khuyết, dưới lớp biểu bì của gân lá có mô dày, ở giữa gân lá là bó libe-gỗ. Trong phần mô mềm có túi chứa chất nhày.
Vi phẫu thân: Biểu bì có nhiều lông che chở hình tỏa tròn, ngoài ra còn có ít lông che chở đa bào một dãy; rải rác có lông tiết chân đa bào một dãy, đầu đơn bào. Trong mô mềm, có rải rác các tế bào chứa chất nhày. Bó libe-gỗ cấp 2 xếp thành vòng liên tục. Trong cùng là mô mềm ruột.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Chế biến
Thu hoạch vào mùa hạ, đem về, giũ sạch bụi, cắt thành những đoạn theo kích thước quy định, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản
Để nơi khô, tránh mốc.

Tính vị, quy kinh
Cam, bình. Vào các kinh tâm, đởm.

Công năng, chủ trị
Giải biểu nhiệt, hoạt huyết, lợi tiểu. Chủ trị: Cảm mạo phong nhiệt, sốt cao, đau đầu, tai ù, điếc, sốt vàng da, tiểu tiện vàng đỏ, đái rắt, đái buốt, phù thũng, lở ngứa, dị ứng.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 8 g đến 12 g, dạng thuốc sắc.

CÔN BỐ
Laminariae Thallus

Toàn cây phơi hoặc sấy khô của cây Tảo dẹt (*Laminaria japonica* Aresch.) hoặc *Eckolonia kurome* Okam, họ Côn bố (Laminariaceae).

Mô tả
Laminaria japonica : Thường cuộn bết lại với nhau thành bó, thành khối. Dược liệu có màu lục nhạt, màu nâu ánh lục hoặc màu nâu đen, bên ngoài có lớp bột màu trắng. Phần gốc có dạng sợi hình trụ, mang nhiều sợi nhỏ, màu nâu đen. Sau khi ngâm trong nước, trương nở thành dải, dài 50 cm đến 150 cm, rộng 10 cm đến 40 cm, dày lên ở phần giữa, mỏng hơn và uốn lượn ở mép. Chất hơi dai. Mùi tanh của rong biển, vị mặn.
Eckolonia kurome: Thường cuộn, xoắn lại thành khối tròn không đều. Dược liệu có màu đen. Sau khi ngâm trong nước, trương nở thành dạng lá, dài và rộng từ 16 cm đến 26 cm, dày 1,6 mm; hai mặt có gân dạng chân vịt, thùy

dẹt mỏng, mép có răng cưa hoặc nguyên. Chất xốp và trơn mượt.

Định tính
A. Khi ngâm trong nước sẽ trương nở, dày lên, mặt ngoài nhẵn, có dịch nhớt là chất nhày trong suốt. Khi cuốn bằng các ngón tay, không cuộn thành nhiều lớp được (đối với *L. japonica*) hoặc có thể cuộn lại được (đối với *E. kurome*).
B. Ngâm khoảng 10 g dược liệu đã cắt thành mảnh nhỏ trong 200 ml *nước* trong vài giờ, lọc và cô dịch lọc đến còn khoảng 100 ml. Lấy 2 ml đến 3 ml dịch thu được, thêm 1 giọt *acid nitric (TT)* và vài giọt *dung dịch bạc nitrat 2 % (TT)*, một tủa keo màu vàng được tạo thành, tủa này khó tan trong *amoniac (TT)* và không tan trong *acid nitric (TT)*.

Định lượng
Cân chính xác khoảng 10 g dược liệu đã cắt thành mảnh nhỏ, cho vào chén nung, sấy ở nhiệt độ 100 °C trong 10 min, nung ở 400 °C đến 500 °C trong 40 min. Để nguội và chuyển cắn nung vào một cốc có mỏ, thêm 100 ml *nước*, đun sôi khoảng 5 min và lọc. Làm như vậy đối với cắn thêm 2 lần nữa, mỗi lần 100 ml *nước*, gộp các dịch lọc, rửa cắn 3 lần, mỗi lần bằng một ít nước nóng. Gộp dịch rửa và dịch lọc, cô đến còn khoảng 80 ml. Để nguội, chuyển dịch thu được vào bình định mức 100 ml và pha loãng bằng *nước* đến vạch. Lấy chính xác 5 ml dịch thu được cho vào bình thủy tinh có nắp, thêm 50 ml *nước* và 2 giọt *dung dịch đỏ methyl (TT)*, thêm từng giọt *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)* đến khi màu đỏ được tạo thành. Thêm 5 ml *dung dịch brom vừa mới pha (TT)*, đun sôi, thêm 5 ml *dung dịch natri format 20 %* dọc theo thành bình đựng, đun sôi trong 10 min đến 15 min. Rửa thành bình bằng *nước* nóng, để nguội, thêm 5 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)* và 5 ml *dung dịch kali iodid 15 % (TT)*, chuẩn độ ngay bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)* tới khi dung dịch chuyển màu vàng nhạt, thêm 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)*, tiếp tục chuẩn độ cho đến khi hết màu xanh.
1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (TT)* tương đương với 0,2115 mg I.
Chế phẩm phải chứa không ít hơn 0,35 % I (đối với *L. japonica*) và không ít hơn 0,20 % I (đối với *E. kurome*), tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa hè và mùa thu, vớt lấy toàn cây, phơi hoặc sấy khô. Trước khi dùng, loại bỏ tạp chất, rửa sạch, để ráo nước, cắt thành sợi rộng, phơi khô.

Bảo quản
Nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh
Vị mặn, tính hàn. Vào kinh can, vị, thận.

Công năng, chủ trị
Nhuyễn kiên, hành thủy. Chủ trị: Bướu cổ, tràng nhạc, sán khí, phù thũng.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 6 g đến 12 g dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

CỐT KHÍ (Rễ)
Radix Polygoni cuspidati

Rễ củ phơi hay sấy khô của cây Cốt khí (*Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.), họ Rau răm (Polygonaceae).

Mô tả
Rễ (quen gọi là củ) hình trụ cong queo, vỏ sần sùi, nhăn nheo, màu nâu xám, có các đốt lồi lên chia củ thành từng gióng. Những rễ củ to được cắt thành lát mỏng 1 cm đến 2 cm, phơi khô. Mặt cắt ngang thấy phần vỏ mỏng, phần gỗ dày. Thể chất rắn, có mùi nhẹ, vị hơi se, đắng.

Vi phẫu
Lớp bần có 5 đến 7 hàng tế bào hình chữ nhật, dẹt, xếp thành dãy xuyên tâm. Lớp ngoài thường bong ra. Mô mềm gồm những tế bào hình tròn, hình trứng. Libe cấp 2 bị những tia tủy rộng cắt ngang thành từng đám. Gỗ cấp 2 xếp thành vòng liên tục ở bên ngoài. Tia tủy rộng, mỗi tia có 7 đến 12 dãy tế bào xếp xuyên tâm. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai hay dạng hạt cát nằm rải rác khắp mô mềm vỏ và mô mềm tủy.

Bột
Màu vàng sẫm. Soi kính hiển vi thấy: mảnh bần màu vàng nâu, có tế bào hình chữ nhật, thành dày, xếp đều đặn. Mảnh mô mềm có chứa tinh thể calci oxalat hình cầu gai, đường kính 38 µm đến 40 µm. Hạt tinh bột có kích thước 6 µm đến 7 µm, rốn hạt mờ.

Định tính
A. Lấy khoảng 2 g bột dược liệu cho vào bình nón, thêm 10 ml *ethanol (TT)*, đun sôi trên cách thủy 10 min, lọc, cô dịch lọc đến cắn. Hòa tan cắn trong 5 ml *nước*. Lắc dung dịch thu được với 10 ml *ethyl acetat (TT)*, nhỏ vài giọt dung dịch ethyl acetat lên giấy lọc, hơ nhẹ cho giấy lọc khô rồi nhỏ tiếp 1 giọt đến 2 giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, để khô, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại 366 nm thấy phát quang màu xanh.
B. Vi thăng hoa: Trải bột dược liệu thành lớp mỏng ở đáy chén sứ, đốt nhẹ trên đèn cồn để loại nước. Sau đó đậy lên chén sứ một miếng lam kính, bên trên có miếng bông đã thấm nước, tiếp tục đun nóng trong khoảng 5 min đến 10 min. Lấy lam kính ra để nguội, soi kính hiển vi thấy: tinh thể hình kim màu vàng. Sau khi nhỏ *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)* lên lam kính, sẽ có màu đỏ.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cloroform - ethyl acetat (11 : 1).
Dung dịch thử: Đun hồi lưu 5 g bột dược liệu với 20 ml *ethanol 96 % (TT)* trong 10 min. Lọc. Dịch lọc được cô đến cắn rồi hòa cắn trong 2 ml *cloroform (TT)*, lọc. Lấy dịch lọc để chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 5 g bột Cốt khí (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi khai triển, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí hay sấy nhẹ cho bay hết dung môi. Sau đó hơ nhẹ bản mỏng trên hơi *amoniac đậm đặc (TT)*. Trên sắc ký đồ, các vết của dung dịch thử phải có màu sắc và giá trị R_f tương tự như các vết của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C - 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric
Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 11,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Đào lấy rễ củ, cắt bỏ rễ con, rửa sạch, cắt đoạn hay đem thái mỏng, phơi hay sấy khô. Trước khi dùng sao vàng.

Bảo quản
Để nơi khô, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Vị khổ, vi hàn. Vào các kinh can, đởm, phế.

Công năng, chủ trị
Trừ thấp, chỉ ho, hóa đờm. Chủ trị: Xương khớp đau nhức, hoàng đản, phế nhiệt gây ho, ho nhiều đờm, mụn nhọt lở loét.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 9 g đến 15 g, dạng thuốc sắc. Dùng ngoài, lượng thích hợp, sắc lấy nước để bôi, rửa hoặc chế thành cao, bôi.

CỐT TOÁI BỔ (Thân rễ)
Rhizoma Drynariae

Thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Cốt toái bổ còn gọi là Tắc kè đá [*Drynaria fortunei* (Kunze ex Mett.) J.Sm., hoặc *Drynaria bonii* H. Christ], họ Dương xỉ (Polypodiaceae).

Mô tả
Với loài *Drynaria fortunei*, dược liệu là đoạn thân rễ dẹt, cong queo, phần nhiều phân nhánh, dài 5 cm đến 15 cm, rộng 1 cm đến 2 cm, dày khoảng 3 mm, phủ dày đặc lông dạng vảy màu nâu đến nâu tối. Đốt hết lông, dược liệu màu nâu tối. Mặt trên và hai bên thân có các vết sẹo tròn của gốc lá lồi hoặc lõm, ít khi còn rễ hình sợi. Chất cứng, mặt cắt ngang có màu nâu, có những đốm vàng xếp thành một vòng. Vị nhạt và hơi se.

Với loài *Drynaria bonii*, đoạn thân rễ tương đối thẳng, ít phân nhánh, dài 5 cm đến 17 cm, rộng 0,6 cm đến 1 cm. Lông dạng vảy màu vàng nâu dễ rụng, để lộ thân rễ màu vàng nâu hoặc nâu nhạt. Chất dai. Mặt cắt màu vàng.

Vi phẫu ***(D. fortunei)***
Biểu bì có 1 đến 2 hàng tế bào, có phủ một lớp cutin, màu vàng nâu. Mô mềm gồm những tế bào hình tròn hay bầu dục tương đối đều đặn, có màng nhăn nheo lượn sóng. Nhiều trụ giữa, nằm rải rác trong mô mềm. Mỗi trụ giữa gồm có trụ bì bao bọc, bên trong là libe và gỗ.

Bột ***(D. fortunei)***
Màu nâu, dưới ánh sáng tử ngoại 366 nm có ánh hơi vàng nâu. Soi kính hiển vi thấy: Những mảnh biểu bì vàng sẫm, mảnh mô mềm mỏng hơn, gồm những tế bào hình đa giác không đều. Mạch gỗ hình thang, tương đối ít. Rải rác có các hạt tinh bột nhỏ hình đĩa hoặc hình trứng

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Cyclohexan - ethyl acetat - acid formic* (8,5 : 1,5 : 0,5).
Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 20 ml *methanol (TT)*, siêu âm 3 lần, mỗi lần 15 min ở 40 °C. Lọc, bốc hơi dịch lọc trên cách thủy tới khô, hòa tan cắn trong 1 ml *methanol (TT)*, được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,5 g bột Cốt toái bổ (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 4 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký xong, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun dung dịch *vanilin 2 % trong acid sulfuric (TT)*. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết phát quang cùng màu và cùng giá trị R_f với vết phát quang trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.
Tỷ lệ thân rễ non: Không quá 10,0 %.

Tro toàn phần
Không quá 8,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 20,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *nước* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch quanh năm, lấy thân rễ, bỏ tạp chất, cắt bỏ rễ con và phần lá còn sót lại, rửa sạch, chọn lấy các thân rễ to đạt yêu cầu, cắt thành từng mảnh, từng đoạn theo kích

thước quy định rồi phơi hoặc sấy khô, có thể đốt nhẹ cho cháy lông.

Bào chế
Rửa sạch dược liệu khô, cạo sạch lông, thái mỏng phơi khô. Có khi tẩm mật hoặc tẩm rượu sao qua. Có thể lấy cát sao khô rồi cho Cốt toái bổ đã làm sạch vào, sao đến khi có màu vàng xám, phồng lên, lấy ra, loại bỏ cát, để nguội đập cho sạch lông.

Bảo quản
Để nơi khô, mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Khổ, ôn. Vào kinh can, thận.

Công năng, chủ trị
Bổ thận, làm liền xương, chỉ thống. Chủ trị: Thận hư, thắt lưng đau, tai ù, tai điếc, răng lung lay, đau do sang chấn, bong gân, gãy xương. Còn dùng ngoài điều trị hói, lang ben.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các loại thuốc khác. Dùng ngoài, lượng thích hợp.

Kiêng kỵ
Âm hư, huyết hư không có huyết ứ không nên dùng.

CƠM CHÁY (Hoa)
Flos Sambuci javanicae

Hoa phơi hay sấy khô của cây Cơm cháy (*Sambucus javanica* Blume), họ Cơm cháy (Sambucaceae).

Mô tả
Hoa khô màu từ vàng nhạt đến vàng nâu, mùi hắc đặc biệt, đường kính 1,5 mm đến 2,5 mm. Năm tràng hoa hình bánh xe, đầu nhọn. Bộ nhị gồm 5 nhị xếp xen kẽ cánh hoa. Bao phấn 2 ô, nứt dọc, hướng ngoài. Bộ nhụy cấu tạo bởi 3 lá noãn chia bầu thành 3 ô, mỗi ô mang 1 noãn. Một số hoa không sinh sản biến thành thể tuyến hình chén, đường kính 1 mm đến 2 mm.

Soi bột
Bột màu vàng nâu, mùi hắc đặc biệt, không vị. Mảnh mô mềm cánh hoa gồm các tế bào hình đa giác, xếp đều đặn, mảnh mô mang lỗ khí, lông tiết đa bào. Hạt phấn màu vàng, hình tròn, có 3 lỗ nảy mầm, lớp vỏ ngoài sù sì, đứng riêng lẻ hay tụ lại thành đám. Mảnh mạch xoắn, mạch điểm.

Định tính
Lấy 10 g bột dược liệu vào túi giấy lọc, cho vào bình Soxhlet, chiết bằng *ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (TT)* đến khi dịch chiết không còn màu xanh. Lấy bã ra để bay hơi hết ether dầu hoả. Cho bã vào bình nón, thêm 30 ml *ethanol 90 % (TT)*, đun cách thủy 15 min, lọc nóng. Lấy dịch chiết làm các phản ứng:

Nhỏ 1 giọt dịch chiết lên tờ giấy lọc, để khô rồi hơ lên miệng lọ có chứa *amoniac (TT)*, màu vàng của vết dịch chiết sẽ tăng lên.
Cho 2 ml dịch chiết vào ống nghiệm, nhỏ 2 đến 3 giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)* vào ống nghiệm thấy xuất hiện kết tủa màu vàng, tiếp tục thêm 1 ml *nước cất*, tủa sẽ tan.
Cho 2 ml dịch chiết vào ống nghiệm, thêm một ít bột *magnesi (TT)* và 3 đến 4 giọt *acid hydrocloric (TT)* rồi đun trong cách thủy, dung dịch xuất hiện màu hồng.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 25,0 % tính theo dược liệu khô kiệt. Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *nước* làm dung môi.

Chế biến
Hoa được thu hái ngay sau khi nở, đem phơi khô hoặc sấy khô ở nhiệt độ 50 °C đến 60 °C. Khi dùng cần vi sao.

Bảo quản
Trong bao bì kín. Để nơi khô ráo, tránh sâu mọt.

Tính vị, quy kinh
Vị đắng, tính ấm, hơi có độc. Vào kinh can, thận.

Công năng, chủ trị
Tiêu phù lợi tiểu, trừ hàn thấp. Chủ trị thấp thũng (phù do trung tiêu, tương tự hội chứng thận hư), phong hàn thấp tí.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 10 g đến 12 g, dưới dạng thuốc hãm hoặc sắc.

Kiêng kỵ
Những người tỳ vị hư hàn, phân sống nát, không nên dùng.

CƠM CHÁY (Lá)
Folium Sambuci javanicae

Lá chét phơi hay sấy khô của cây Cơm cháy (*Sambucus javanica* Blume), họ Cơm cháy (Sambucaceae).

Mô tả
Lá khô nhăn nheo, có mùi đặc biệt, dài 9 cm đến 10 cm, rộng 3 cm đến 4 cm, hình trứng nhọn, mép lá xẻ răng cưa, mặt trên màu lục sẫm, mặt dưới màu lục nhạt. Gân lá hình lông chim, có 9 đến 12 đôi gân phụ, nổi rõ ở mặt dưới.

Vi phẫu

Gân lá: Gân lá lồi lên ở cả mặt trên và mặt dưới. Biểu bì trên gồm một hàng tế bào kích thước tương đối đều nhau, xếp đều đặn, mang lông che chở đơn bào. Mô dày gồm các tế bào có thành dày ở góc, xếp đều đặn ở dưới lớp biểu bì. Mô mềm gồm những tế bào thành mỏng, hình đa giác, kích thước không đều, xếp sít nhau. Giữa gân lá có ba đám libe-gỗ xếp thành hình vòng cung. Đám ở giữa lớn hơn đám ở hai bên. Libe gồm nhiều lớp tế bào nhỏ xếp thành cung ôm lấy gỗ. Biểu bì dưới gồm một hàng tế bào xếp đều đặn, ít hoặc không mang lông che chở.

Phiến lá: Biểu bì trên gồm một hàng tế bào kích thước tương đối đều nhau, xếp đều đặn, mang lông che chở đơn bào. Mô giậu gồm hai hàng tế bào hình chữ nhật xếp vuông góc với biểu bì trên. Biểu bì dưới gồm một hàng tế bào xếp đều đặn, ít hoặc không mang lông che chở.

Bột

Bột lá màu xanh xám, mùi đặc biệt, không vị. Lông che chở đơn bào có đầu tù, bề mặt nhẵn. Mảnh mô mềm phiến lá gồm những tế bào thành mỏng, mang lỗ khí và mạch xoắn. Mảnh mạch xoắn. Lỗ khí có 3 tế bào đến 4 tế bào phụ.

Định tính

Lấy 3 g bột dược liệu, loại chất màu bằng cách đun hồi lưu trên cách thủy ở nhiệt độ 80 °C với *ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (TT)* 2 lần, mỗi lần 30 ml. Lấy bã ra để bay hơi hết ether dầu hỏa. Cho bã vào bình nón, thêm 10 ml *ethanol 90 % (TT)*, đun cách thủy 15 min, lọc nóng. Lấy dịch chiết làm các phản ứng:

Nhỏ 1 giọt dịch chiết lên tờ giấy lọc, để khô rồi hơ lên miệng lọ có chứa *amoniac (TT)*, màu vàng sẽ tăng lên.

Cho 2 ml dịch chiết vào ống nghiệm, thêm một ít bột *magnesi (TT)* và 3 giọt đến 4 giọt *acid hydrocloric (TT)* rồi đun trong cách thủy khoảng 1 min, dung dịch xuất hiện màu hồng.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Thu hái lá vào khoảng tháng 5 đến 6, lúc cây chưa ra hoa, phơi hoặc sấy nhẹ đến khô.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, cắt đoạn, phơi hay sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô ráo, thường xuyên phơi lại, tránh mốc.

Tính vị, quy kinh

Khổ, ôn, tiểu độc. Vào các kinh thận, bàng quang, đại tràng.

Công năng, chủ trị

Lợi niệu, tiêu ung, tiêu thũng, nhuận tràng, chỉ thống. Chủ trị: Viêm thận, phù thũng, sang chấn đụng dập, gãy xương, ngã tổn thương, nhuận tràng, lở ngứa, eczema.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 10 g đến 60 g, dạng thuốc sắc hoặc dùng tươi giã nát đắp tại chỗ lượng thích hợp hoặc sắc tắm hoặc bôi tại chỗ.

Kiêng kỵ

Không dùng liều cao kéo dài và khí người hư nhược.

Không dùng cho phụ nữ có thai và cho con bú.

CỦ CHÓC (Thân rễ)

Rhizoma Typhonii trilobati

Bán hạ nam, Chóc chuột

Thân rễ già được chế biến thành phiến khô của cây Chóc chuột *Typhonium trilobatum* (L.)Schott, họ Ráy (Araceae).

Mô tả

Phiến có hình tròn, hình trứng, hình bầu dục dài, đường kính thường là 0,5 cm đến 3 cm, ít khi đến 4 cm; dày 0,1 cm đến 0,3 cm; màu trắng đục, trắng ngà hay vàng nhạt. Xung quanh phiến còn ít vỏ mỏng và vết tích sẹo của rễ con. Thể chất chắc, khô cứng, giòn, dễ bẻ gãy. Vị nhạt, gây tê lưỡi, ngứa.

Vi phẫu

Lớp bần gồm nhiều lớp tế bào hình chữ nhật, dài 50 µm đến 80 µm, rộng 10 µm đến 15 µm. Lớp ngoài thường bị bong tróc ra (ở thân rễ chưa chế biến). Mô mềm gồm những tế bào hình cầu, đa giác, thành mỏng, vách méo mó, đường kính 50 µm đến 120 µm. Trong mô mềm có các tế bào chứa nhiều hạt tinh bột, các bó tinh thể calci oxalat hình kim, các tế bào chứa chất nhày. Các bó libe-gỗ nằm rải rác trong mô mềm, các bó phía trong thường lớn hơn phía ngoài, thành của các mạch gỗ ít hóa gỗ.

Bột

Màu trắng ngà hay nâu nhạt. Vị nhạt, gây tê lưỡi. Soi kính hiển vi thấy: Nhiều hạt tinh bột tròn, hình chuông, hình bầu dục, hình nhiều cạnh, đứng riêng lẻ hay kép đôi, kép ba, ít khi kép 4 hoặc kép 5 đường kính từ 5 µm đến 25 µm, rốn hình vạch hơi cong. Tinh thể calci oxalat hình kim riêng lẻ hay hợp thành bó, dài 35 µm đến 40 µm. Mảnh mạch vòng, mạch xoắn đường kính 15 µm đến 18 µm. Chất tiết màu vàng nâu, nâu đen.

Định tính

A. Cân 3 g bột thô dược liệu trong bình nón nút mài, thấm ẩm bằng 3 ml *dung dịch amoniac 10 % (TT)*, để 30 min. Thêm 8 ml *cloroform (TT)*, ngâm trong 4 h (thỉnh thoảng lắc nhẹ). Gạn, lọc lấy dịch cloroform. Cô cách thủy đến cắn. Hòa tan cắn trong 5 ml *dung dịch acid sulfuric 10 %*

(TT). Dùng dung dịch này chia vào 3 ống nghiệm để làm các phản ứng sau:
Ống 1: Thêm 2 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)*, xuất hiện tủa nâu đỏ.
Ống 2: Thêm 2 giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, xuất hiện tủa trắng.
Ống 3: Thêm 2 giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)*, xuất hiện tủa vàng cam.
B. Cân 5 g bột thô dược liệu, nghiền với 10 ml nước nóng. Thêm 30 ml *ethanol 75 % (TT)*, ngâm 12 h. Lọc lấy dịch. Cô trên cách thủy đến khi còn khoảng 3 ml.
Lấy 0,5 ml dịch chiết trên vào ống nghiệm, thêm 5 giọt *thuốc thử ninhydrin 0,1 % trong aceton (TT)*, đun sôi nhẹ trong khoảng 2 min. Dịch thử dần chuyển màu sang tím hồng, xanh tím.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *n-Butanol - acid acetic - nước* (4 : 1 : 5).
Dung dịch thử: Lấy khoảng 10 g bột thô dược liệu cho vào bình nón nút mài, thấm ẩm bằng 3 ml *dung dịch amoniac 10 % (TT)*, để 30 min. Thêm 30 ml *cloroform (TT)*, ngâm trong 4 h (thỉnh thoảng lắc nhẹ). Gạn, lọc lấy dịch cloroform. Cô cách thủy đến khi còn khoảng 1 ml, dùng làm dịch chấm sắc ký.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 10 g bột Củ chóc (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin 1 % trong ethanol 96 % (TT)*. Sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết tương tự về màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 5 h).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ vụn nát
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.12).

Chế biến
Thu hoạch rễ củ vào tháng 8 hoặc tháng 9, khi cây lụi. Đào lấy rễ củ, rửa sạch, cắt bỏ rễ con. Đồ thành đống, ủ khoảng 7 đến 10 ngày đến khi vỏ ngoài mềm nát, chà sát cho tróc hết lớp vỏ ngoài. Đồ bằng hơi nước đến khi củ chín đều (không còn nhân trắng đục). Thái phiến dày 0,2 cm đến 0,3 cm. Phơi (hoặc sấy) đến khi khô kiệt.

Bào chế
Công thức:

Bán hạ nam phiến	1000 g
Phèn chua (bột)	100 g
Gừng tươi	100 g
Nước vo gạo vừa đủ.	

Tiến hành: Lấy 1 kg gạo, vo lấy 3 L dịch nước. Ngâm phiến bán hạ trong 2 ngày, mỗi ngày thay nước một lần. Gạn bỏ dịch ngâm, rửa nhẹ bằng nước sạch đến khi hết nước đục trắng.
Hòa tan phèn chua trong 3 L nước sạch. Ngâm bán hạ tiếp trong 2 ngày đêm đến khi không còn "nhân trắng đục". Vớt ra, rửa sạch, phơi khô.
Gừng tươi, giã nát, thêm 100 ml nước sạch, nghiền kỹ, ép lấy dịch. Làm 2 lần như vậy. Trộn đều dịch gừng, tẩm vào bán hạ ở trên, ủ 2 h đến 3 h, thỉnh thoảng đảo cho dịch nước gừng thấm đều.
Sao đến khi phiến bán hạ chuyển sang màu vàng đậm.
Tiêu chuẩn bán hạ chế: Phiến tròn hoặc mảnh vụn, kích thước không nhỏ hơn 0,2 cm. Thể chất khô giòn, màu vàng đậm đến nâu, cạnh phiến cháy. Mùi thơm đặc trưng của gừng. Vị cay nhẹ, không ngứa.
Định tính: Lấy 5 g bột thô dược liệu đã chế, nghiền với 10 ml *nước* nóng. Thêm 30 ml *ethanol 75 % (TT)*, ngâm 12 h. Lọc lấy dịch. Cô trên cách thủy đến khi còn khoảng 3 ml.
Cho 0,5 ml dịch chiết trên vào ống nghiệm, thêm 5 giọt *dung dịch ninhydrin 0,1 % trong aceton (TT)*, đun sôi nhẹ trong khoảng 2 min. Dung dịch trong ống nghiệm không chuyển màu.

Bảo quản
Để nơi khô ráo.

Tính, vị, quy kinh
Cay, ôn. Vào kinh tỳ, vị, phế.

Công năng, chủ trị
Hóa đàm táo thấp, giáng nghịch chỉ nôn, giáng khí chỉ ho.
Chủ trị: Nôn, buồn nôn, đầy chướng bụng; ho đờm nhiều; trừ thấp trệ ở người béo bệu.

Cách dùng, liều lượng
Dạng thuốc sắc phối hợp với vị thuốc khác.
Ngày dùng từ 4 g đến 12 g.
Dùng cho phụ nữ có thai phải phối hợp với Hoàng cầm, Bạch truật.

Kiêng kỵ
Phản Ô đầu. Không phối hợp với Phụ tử.
Không nên dùng cho người âm hư, ho khan, khạc máu. Thận trọng khi dùng cho người mang thai.

CỦ MÀI (Củ)

Tuber Dioscoreae persimilis

Hoài sơn

Rễ củ đã chế biến, phơi hay sấy khô của cây Củ mài, còn gọi là Hoài sơn (*Dioscorea persimilis* Prain et Burkill), họ Củ nâu (Dioscoreaceae).

Mô tả
Rễ củ phình to có nhiều hình dạng, thường có hình trụ, thẳng hay cong, dài từ 5 cm trở lên, có thể dài tới 1 m,

đường kính 1 cm đến 3 cm, có thể tới 10 cm, mặt ngoài màu vàng nâu, nhẵn, chắt chắc, vết bẻ có nhiều bột màu trắng ngà, không có xơ.
Dược liệu có thể được thái thành những lát mỏng, mặt ngoài màu trắng hoặc vàng nhạt, thể chất giòn, dễ vỡ, vết bẻ màu trắng, nhiều tinh bột.

Bột
Nhiều hạt tinh bột hình trứng hay hình chuông, dài 10 µm đến 60 µm, rộng khoảng 15 µm đến 50 µm, có vân đồng tâm, rốn lệch tâm, hình chấm hay hình vạch. Tinh thể calci oxalat hình kim dài 35 µm đến 240 µm. Mảnh mô mềm gồm các tế bào thành mỏng, chứa tinh bột. Mảnh mạch mạng.

Định tính
A. Dưới ánh sáng tử ngoại ở 366nm bột dược liệu phát quang màu trắng sáng.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel $60GF_{254}$.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol (9 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 5 ml hỗn hợp *cloroform - methanol* (4 : 1), đun sôi dưới ống sinh hàn hồi lưu khoảng 10 min. Để nguội, lọc, cô dịch lọc đến cắn, hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)* làm dung dịch chấm sắc ký.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,5 g bột Củ mài (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 15 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, phun dung dịch *vanilin (TT)* 1 % trong hỗn hợp *acid phosphoric - methanol* (1 : 1). Sấy bản mỏng ở 120 °C đến khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường hoặc dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 14,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 4,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Tạp chất: Không quá 0,5 %.
Dược liệu có màu vàng và đỏ: Không được có.

Chất chiết được trong dược liệu
Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10).
Chất chiết được trong nước: Không ít hơn 5,0 % tính theo dược liệu khô kiệt. Dùng *nước* làm dung môi.
Chất chiết được trong ethanol: Không ít hơn 4,0 % tính theo dược liệu khô kiệt. Dùng *ethanol 70 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Đào lấy dược liệu, rửa sạch, gọt vỏ, ngâm nước phèn chua 2 % khoảng 2 h đến 4 h. Vớt ra rửa sạch, cho vào lò sấy lưu huỳnh đến khi củ mềm. Phơi hay sấy cho se. Tiếp tục sấy lưu huỳnh 24 h. Phơi hay sấy ở nhiệt độ 50 °C đến 60 °C đến khô.

Bào chế
Dược liệu thái lát: Dược liệu đã loại bỏ tạp chất, phân loại lớn nhỏ, rửa sạch, ngâm tới khi mềm thấu (độ 1 h - 2 h), ủ một đêm, thái lát, phơi khô, dùng sống hoặc có thể sao qua.
Dược liệu sao cám: Rải cám vào nồi, sao đến khi bốc khói, cho dược liệu đã thái lát vào, sao đến khi có màu vàng nhạt, rây bỏ cám, để nguội, cứ 100 kg dược liệu, cần dùng 10 kg cám.

Bảo quản
Để nơi khô, mát, tránh sâu, mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Cam, bình. Vào các kinh tỳ vị, phế, thận.

Công năng, chủ trị
Bổ tỳ, dưỡng vị, chỉ tả, sinh tân, ích phế, bổ thận, sáp tinh.
Chủ trị: Kém ăn, tiêu chảy lâu ngày, phế hư, ho suyễn, di tinh, đới hạ, tiêu khát.
Dược liệu sao cám: Tăng tác dụng kiện tỳ vị.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 12 g đến 30 g, dạng thuốc sắc hay thuốc bột.

Kiêng kỵ
Có thực tà thấp nhiệt thì không dùng.

CỦ SÚNG
Radix Nymphaeae stellatae
Khiếm thực nam

Rễ phụ phát triển thành củ xung quanh rễ cái, đã được phơi hay sấy khô của cây Súng (*Nymphaea stellata Willd.*), họ Súng (Nymphaeaceae).

Mô tả
Củ hình trứng, dài 0,7 cm đến 1 cm, đường kính 0,6 cm đến 0,9 cm. Một đầu lõm sâu, đầu kia có 3 vết lõm nhỏ, hẹp và nông. Mặt ngoài màu vàng ngà, trong trắng ngà hoặc trắng xám, chắt cứng giòn, củ nhiều chất bột, vị hơi ngọt.

Bột
Màu trắng hơi xám. Soi kính hiển vi thấy: nhiều hạt tinh bột hình tròn, hình trứng hoặc hình chuông, dài 4 µm đến 32 µm, rộng 4 µm đến 30 µm. Hạt tinh bột đơn hoặc kép đôi, kép ba, có khi thấy rốn hình vạch hơi cong hoặc phân nhánh. Mảnh mô mềm có tế bào chứa nhiều hạt tinh bột. Mảnh mạch vạch ít gặp.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - toluen (90 : 10 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu cho vào bình nón 50 ml, thêm 5 ml *ethanol (TT)*, ngâm trong 30 min, thỉnh thoảng lắc, lọc lấy dịch lọc. Dịch lọc đem bốc hơi trên cách thủy còn khoảng 1 ml, được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 1 g bột Củ súng (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 15 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch acid sulfuric 20 % (TT)*. Sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tỷ lệ vụn nát (Phụ lục 12.12)
Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 30,0 %.

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Tỷ lệ củ biến màu: Không quá 1,0 %.
Tạp chất khác: Không quá 0,5 %.

Chế biến
Thu hái quanh năm. Nhổ lấy rễ củ con, rửa sạch vỏ ngoài, phơi hoặc sấy khô, loại có thịt trắng ngà là tốt.

Bào chế
Loại bỏ tạp chất, sao vàng, tán nhỏ.

Bảo quản
Để nơi khô, trong bao bì kín, tránh mọt. Thường xuyên phơi sấy lại.

Tính vị, quy kinh
Vị cam, sáp, bình. Vào các kinh tỳ, thận.

Công năng, chủ trị
Kiện tỳ, trừ thấp, bổ thận, bổ dưỡng, cố sáp. Chủ trị: Thận hư gây di tinh, mộng tinh, hoạt tinh, bạch đới, bạch trọc, đái són, viêm thận, bàng quang, đau lưng mỏi gối, tỳ hư gây tiết tả.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 10 g đến 30 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các loại thuốc khác.

Kiêng kỵ
Đại tiện táo bón, tiểu tiện bí không nên dùng.

CÚC GAI (Quả)
Fructus Silybi

Quả chín đã phơi, sấy khô của cây Cúc gai (*Silybum marianum* (L.) Gaertn.), họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả
Quả hình trứng thon dài, hơi cong, hơi dẹt, dài 5 mm đến 7 mm, rộng 2 mm đến 3 mm, dày khoảng 1,5 mm. Mặt ngoài màu nâu xám hoặc nâu sẫm, có các gân dọc nhỏ. Đỉnh quả tròn tù, hơi rộng với một vòng tròn hình nhẫn màu vàng nhạt ở đầu, giữa vòng tròn có một phần nhọn của vòi nhụy còn sót lại. Đáy hơi hẹp. Chất cứng chắc. Hai lá mầm, màu trắng hơi vàng, có dầu, mùi nhẹ, vị không rõ.

Bột
Bột màu nâu xám. Tế bào vỏ quả ngoài có hình đa giác dài, một số chứa chất màu. Tế bào vỏ quả giữa hình trụ hoặc hình elip có những nếp nhăn hình mạng lưới. Tinh thể calci oxalat hình lăng trụ và hình cầu gai. Tế bào đá của vỏ quả trong hình thoi, xếp thành tầng không rõ ràng. Tế bào lá mầm chứa những bó tinh thể và những giọt dầu nhỏ. Bó sợi.

Định tính
A. Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 30 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun sôi hồi lưu 30 min, lọc. Dùng dịch lọc để làm các phản ứng sau:
Lấy 2 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm, thêm ít bột *magnesi (TT)*, 4 đến 5 giọt *dung dịch acid hydrocloric (TT)*, đun nóng, dung dịch có màu hồng.
Lấy 2 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm, thêm 2 đến 3 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % trong ethanol (TT)*, có màu tím đen.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Toluen - ethyl acetat - acid formic* (5 : 4 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 1,0 g bột mịn dược liệu, thêm 20 ml *ether dầu hỏa (40 °C đến 60 °C) (TT)*, đun sôi hồi lưu trên cách thủy 30 min, để nguội, lọc. Bỏ dịch chiết ether dầu hỏa. Đuổi hết hơi ether dầu hỏa trong bã dược liệu bằng cách đun nóng nhẹ trên cách thủy. Thêm vào bã dược liệu 20 ml *ethyl acetat (TT)*, đun sôi hồi lưu trên cách thủy 30 min, để nguội, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 2 ml *ethanol (TT)* được dung dịch thử.
Dung dịch chuẩn: Lấy 1,0 g bột mịn quả Cúc gai (mẫu chuẩn) tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, phun lên bản mỏng *dung dịch nhôm clorid 5 % trong ethanol (TT)*, sấy ở 120 °C trong 5 min. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết phát quang trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
C.Trong phần Định lượng, sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các pic có thời gian lưu tương đối là khoảng 0,68 (sillychristin); 0,73 (silydianin); 1,00 (silybin A); 1,05 (silybin B); 1,09 (dehydrosilybin); 1,24 (isosilybin A); 1,30 (isosilybin B).

Độ ẩm
Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C; 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 2 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động:
Dung môi A: Nước - methanol - acid phosphoric (80 : 20 : 0,5)
Dung môi B: Nước - methanol - acid phosphoric (20 : 80 : 0,5)
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 5 g bột dược liệu (qua rây số 355) vào túi giấy lọc rồi đặt vào bình chiết Soxhlet 250 ml, thêm 150 ml *n-hexan (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy trong 4 h, để nguội, loại bỏ lớp n-hexan, để bay hơi hoàn toàn dung môi ra khỏi bã dược liệu. Chuyển bã dược liệu và túi giấy lọc đựng bã dược liệu sang bình chiết Soxhlet 250 ml có chứa 100 ml *ethyl acetat (TT)* (có thể điều chỉnh thể tích ethyl acetat cho phù hợp). Đun hồi lưu trên cách thủy trong 8 h. Chuyển toàn bộ dịch chiết vào bát thủy tinh, cô trên cách thủy đến cạn. Dùng *methanol (TT)* để hòa tan và chuyển toàn bộ cắn vào bình định mức 20 ml, thêm *methanol (TT)* đến vạch, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 mm.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng silybin chuẩn và hòa tan trong *methanol (TT)* rồi pha loãng với *methanol (TT)* để được các dung dịch chuẩn có nồng độ đã biết khoảng 1,25 mg/ml; 0,25 mg/ml; 0,05 mg/ml và 0,01 mg/ml, lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 288 nm.
Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.
Thể tích tiêm: 5 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi sau:

Thời gian (min)	Dung môi A (% tt/tt)	Dung môi B (% tt/tt)
0 - 10	85	15
10 - 35	85 → 55	15 → 45
35 - 75	55	45
75 - 76	55 → 85	45 → 15
76 - 80	85	15

Tiêm dung dịch chuẩn có nồng độ 0,25 mg/ml. Độ phân giải giữa 2 pic silybin A và silybin B phải không nhỏ hơn 1,0.
Tiêm riêng biệt các dung dịch chuẩn, ghi diện tích các pic silybin A, silybin B. Xây dựng đường hồi quy biểu diễn sự phụ thuộc của tổng diện tích pic silybin A và silybin B theo nồng độ của silybin chuẩn.
Tiêm dung dịch thử. Ghi sắc ký đồ. Xác định các pic sillychristin, silydianin, silybin A, silybin B, dehydrosilybin, isosilybin A, isosilybin B bằng cách so sánh với sắc ký đồ của dung dịch chuẩn silybin và tính thời gian lưu tương đối của các pic so với pic silybin A. Thời gian lưu tương đối là khoảng 0,68 (với sillychristin); 0,73 (với silydianin); 1,00 (với silybin A); 1,05 (với silybin B); 1,09 (với dehydrosilybin); 1,24 (với isosilybin A); 1,30 (với isosilybin B).
Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, đường hồi quy thu được từ các dung dịch silybin chuẩn, tính hàm lượng (phần trăm) của từng thành phần trong dung dịch thử theo silybin ($C_{25}H_{22}O_{10}$) bằng công thức sau:

$$X = \frac{2C}{w}$$

Trong đó:
C là nồng độ (mg/ml) của từng thành phần trong dung dịch thử tính được từ phương trình hồi quy;
w là khối lượng cân của mẫu thử đã trừ độ ẩm (g).
Hàm lượng phần trăm (theo khối lượng) silymarin bằng tổng hàm lượng phần trăm của từng thành phần.
Dược liệu phải chứa không dưới 0,4 % (theo khối lượng) silymarin tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa thu, hái lấy quả chín, phơi khô, đập nhẹ, loại bỏ tạp chất, phơi hoặc sấy khô ở 50 °C đến 60 °C.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô ráo thoáng mát, tránh ẩm, sâu mọt, nấm mốc.

Tính vị, quy kinh
Vị đắng, tính hàn. Vào kinh can, đởm, phế

Công năng, chủ trị
Thanh trừ thấp nhiệt. Chủ trị: Chứng thấp nhiệt (viêm gan, viêm túi mật, bệnh đau gan, vàng da), chứng phế nhiệt (ho suyễn lâu ngày, có bội nhiễm).

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 4 g đến 6 g, dưới dạng thuốc sắc, hoặc phối hợp với các vị thuốc khác.

CÚC HOA VÀNG (Cụm hoa)
Flos Chrysanthemi indici
Cam cúc, Kim cúc

Cụm hoa (quen gọi là hoa) đã chế biến và phơi hay sấy khô của cây Cúc hoa vàng (*Chrysanthemum indicum* L.), họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả
Cụm hoa hình đầu, màu vàng hơi nâu, đôi khi còn dính cuống; đường kính 0,5 cm đến 1,2 cm. Tổng bao gồm 4 đến 5 hàng lá bắc, mặt ngoài màu xanh hơi xám hoặc nâu nhạt, ở giữa hai bên mép rất nhạt và khô xác. Có 2 loại hoa: Hoa hình lưỡi nhỏ một vòng, đơn tính, không đều ở phía ngoài; nhiều hoa hình ống, đều, mẫu năm, lưỡng tính ở phía trong. Chất nhẹ, mùi thơm, vị đắng.

Bột
Bột hoa màu vàng, mùi thơm. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh cánh hoa màu vàng gồm các tế bào thành mỏng nhăn nheo. Mảnh lá bắc gồm các tế bào dài thành mỏng và tế bào dài thành dày, có ống trao đổi rõ. Hạt phấn hoa hình cầu gai, màu vàng. Lông che chở bị gãy vụn. Mảnh núm nhụy gồm các tế bào đầu tròn, kết lớp lên nhau, ở đầu núm tế bào dài nhô ra.

Định tính
A. Lấy 3 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun sôi hồi lưu khoảng 30 min, lọc, được dịch lọc A. Lấy 2 ml dịch lọc A, thêm một ít bột *magnesi (TT)* và 3 giọt đến 4 giọt *acid hydrocloric (TT)*, đun nóng, xuất hiện màu đỏ.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Ethyl acetat - acid formic - nước (8 : 1 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 10 ml dịch lọc A, bốc hơi tới cắn, hòa tan cắn trong 20 ml *nước* nóng, lọc, dịch lọc được lắc 2 lần với *ethyl acetat (TT)*, mỗi lần 10 ml, tập trung dịch chiết ethyl acetat, cô trên cách thủy tới cắn, hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)* được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 3 g bột Cúc hoa vàng (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, hiện màu bằng hơi *amoniac (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết (6 vết, trong đó có 4 vết màu vàng nâu và 2 vết màu vàng xanh) có cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel $60F_{254}$.
Dung môi khai triển: Ethyl acetat - 2-butanol - nước - acid formic (25 : 3 : 1 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 20 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm trong 10 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)* được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Cúc hoa vàng (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi khai triển, lấy bản mỏng ra khỏi bình sắc ký, để bay hơi hết dung môi ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch sắt (III) clorid 5 % trong ethanol (TT)* đến khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).
Dùng 10 g dược liệu đã cắt nhỏ để thử.

Tro toàn phần
Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.8).

Tỷ lệ vụn nát
Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 2,0 % (Phụ lục 12.12).

Kim loại nặng
Không quá 10 phần triệu Pb; 0,5 phần triệu Cd, 0,5 phần triệu Hg; 1 phần triệu As (Phụ lục 9.4.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không được ít hơn 30,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 50 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hái vào mùa thu đông, lúc trời khô ráo hái hoa, đem xông lưu huỳnh, nén chặt khoảng một đêm tới khi thấy nước chảy ra có màu đen thì đem phơi nắng hoặc sấy ở 40 °C đến 50 °C đến khô.

Bảo quản
Để nơi khô, định kỳ xông lưu huỳnh.

Tính vị, quy kinh
Vị ngọt hơi đắng, tính mát. Vào các kinh phế, thận, can.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt, giải độc, tán phong, minh mục. Chủ trị: Các chứng hoa mắt, chóng mặt, nhức đầu, đau mắt đỏ, chảy nhiều nước mắt, huyết áp cao, đinh độc mụn nhọt, sưng đau.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 8 g đến 12 g đến 30 g, dạng thuốc sắc hay thuốc bột.

Kiêng kỵ
Tỳ vị hư hàn ỉa chảy không nên dùng.

DẠ CẨM
Herba Hedyotidis capitellatae
Cây loét mồm

Phần trên mặt đất phơi hay sấy khô của cây Dạ cẩm (*Hedyotis capitellata* Wall. ex G. Don), họ Cà phê (Rubiaceae).

Mô tả
Thân, cành non có hình 4 cạnh, đa phần thân tròn, phình lên ở các đốt. Lá đơn nguyên, mọc đối, hình bầu dục hoặc hình trứng, tròn hay nhọn ở gốc, đầu nhọn, dài 5 cm đến 15 cm, rộng 3 cm đến 5 cm, mặt trên xanh sẫm bóng, mặt dưới nhạt; cuống ngắn; gân lá nổi rõ ở mặt dưới lá. Lá kèm chia 4 đến 5 thùy hình kim. Cụm hoa là một xim phân đôi, mọc ở kẽ lá hoặc đầu cành, gồm những tán tròn mang hoa màu trắng hoặc trắng vàng. Đài 4 thùy hình ngọn giáo nhọn, nhẵn. Tràng hợp hình ống, 4 cánh hình ngọn giáo, hơi có lông ở mặt ngoài, ống tràng có lông ở họng, nhị 4,

Bột
Bột hoa màu vàng, mùi thơm. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh cánh hoa màu vàng gồm các tế bào thành mỏng nhăn nheo. Mảnh lá bắc gồm các tế bào dài thành mỏng và tế bào dài thành dày, có ống trao đổi rõ. Hạt phấn hoa hình cầu gai, màu vàng. Lông che chở bị gãy vụn. Mảnh núm nhụy gồm các tế bào đầu tròn, kết lớp lên nhau, ở đầu núm tế bào dài nhô ra.

Định tính
A. Lấy 3 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun sôi hồi lưu khoảng 30 min, lọc, được dịch lọc A. Lấy 2 ml dịch lọc A, thêm một ít bột *magnesi (TT)* và 3 giọt đến 4 giọt *acid hydrocloric (TT)*, đun nóng, xuất hiện màu đỏ.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Ethyl acetat - acid formic - nước (8 : 1 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 10 ml dịch lọc A, bốc hơi tới cắn, hòa tan cắn trong 20 ml *nước* nóng, lọc, dịch lọc được lắc 2 lần với *ethyl acetat (TT)*, mỗi lần 10 ml, tập trung dịch chiết ethyl acetat, cô trên cách thủy tới cắn, hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)* được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 3 g bột Cúc hoa vàng (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, hiện màu bằng hơi *amoniac (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết (6 vết, trong đó có 4 vết màu vàng nâu và 2 vết màu vàng xanh) có cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel $60F_{254}$.
Dung môi khai triển: Ethyl acetat - 2-butanol - nước - acid formic (25 : 3 : 1 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 20 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm trong 10 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)* được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Cúc hoa vàng (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi khai triển, lấy bản mỏng ra khỏi bình sắc ký, để bay hơi hết dung môi ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch sắt (III) clorid 5 % trong ethanol (TT)* đến khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).
Dùng 10 g dược liệu đã cắt nhỏ để thử.

Tro toàn phần
Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.8).

Tỷ lệ vụn nát
Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 2,0 % (Phụ lục 12.12).

Kim loại nặng
Không quá 10 phần triệu Pb; 0,5 phần triệu Cd, 0,5 phần triệu Hg; 1 phần triệu As (Phụ lục 9.4.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không được ít hơn 30,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 50 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hái vào mùa thu đông, lúc trời khô ráo hái hoa, đem xông lưu huỳnh, nén chặt khoảng một đêm tới khi thấy nước chảy ra có màu đen thì đem phơi nắng hoặc sấy ở 40 °C đến 50 °C đến khô.

Bảo quản
Để nơi khô, định kỳ xông lưu huỳnh.

Tính vị, quy kinh
Vị ngọt hơi đắng, tính mát. Vào các kinh phế, thận, can.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt, giải độc, tán phong, minh mục. Chủ trị: Các chứng hoa mắt, chóng mặt, nhức đầu, đau mắt đỏ, chảy nhiều nước mắt, huyết áp cao, đinh độc mụn nhọt, sưng đau.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 8 g đến 12 g đến 30 g, dạng thuốc sắc hay thuốc bột.

Kiêng kỵ
Tỳ vị hư hàn ỉa chảy không nên dùng.

DẠ CẨM
Herba Hedyotidis capitellatae
Cây lưỡi mèo

Phần trên mặt đất phơi hay sấy khô của cây Dạ cẩm (*Hedyotis capitellata* Wall. ex G. Don), họ Cà phê (Rubiaceae).

Mô tả
Thân, cành non có hình 4 cạnh, đa phần thân tròn, phình lên ở các đốt. Lá đơn nguyên, mọc đối, hình bầu dục hoặc hình trứng, tròn hay nhọn ở gốc, đầu nhọn, dài 5 cm đến 15 cm, rộng 3 cm đến 5 cm, mặt trên xanh sẫm bóng, mặt dưới nhạt; cuống ngắn; gân lá nổi rõ ở mặt dưới lá. Lá kèm chia 4 đến 5 thùy hình kim. Cụm hoa là một xim phân đôi, mọc ở kẽ lá hoặc đầu cành, gồm những tán tròn mang hoa màu trắng hoặc trắng vàng. Đài 4 thùy hình ngọn giáo nhọn, nhẵn. Tràng hợp hình ống, 4 cánh hình ngọn giáo, hơi có lông ở mặt ngoài, ống tràng có lông ở họng, nhị 4,

chỉ nhị ngắn, bao phấn dài, vượt ra ngoài ống tràng, bầu dưới 2 ô, có lông. Quả nang chứa nhiều hạt rất nhỏ. Toàn cây có lông mịn.

Vi phẫu

Lá: Biểu bì trên và dưới là một lớp tế bào nhỏ, tương đối đều nhau, mang lông che chở đa bào.

Phần gân lá có mô dày gồm những tế bào thành dày xếp đều đặn dưới lớp tế bào biểu bì ở phía lõm và phía lồi của gân chính. Mô mềm gồm những tế bào hình tròn hay hình đa giác xếp lộn xộn, kích thước không đều nhau, thành mỏng. Bó libe-gỗ hình cung nằm ở giữa gân lá, cung libe ở ngoài ôm lấy gỗ ở trong.

Phiến lá: Sau lớp biểu bì trên là 2 hàng tế bào mô giậu xếp vuông góc với biểu bì trên. Mô khuyết.

Thân: Ngoài cùng là lớp biểu bì có lông che chở đa bào. Mô dày gồm 2 đến 3 lớp tế bào thành dày xếp sát lớp biểu bì (ở thân già thì ngoài cùng là lớp bần, không có mô dày). Mô mềm vỏ gồm các tế bào hình đa giác, thành mỏng xếp lộn xộn. Các bó libe xếp sát nhau thành vòng liên tục, tầng phát sinh libe-gỗ, mô mềm gỗ tạo thành vòng. Tế bào mô mềm ruột to, tròn.

Bột

Màu xanh lục, soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì là những tế bào hình chữ nhật tương đối đều nhau, có đính lông che chở đa bào. Mảnh mô mềm gồm những tế bào đa giác thành mỏng. Bó sợi dài. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Mảnh mạch mạng, mạch xoắn.

Định tính

Lấy 10 g bột dược liệu, thấm ẩm dược liệu bằng *amoniac (TT)*, để yên 45 min. Cho vào bình Soxhlet, thêm 50 ml *cloroform (TT)*, chiết trong 3 h. Lấy dịch chiết cất thu hồi dung môi, hòa tan cắn trong *dung dịch acid sulfuric 5 % (TT)* (2 lần, mỗi lần 5 ml). Lấy phần dịch acid vào bình gạn, chiết với *ether (TT)* 3 lần, mỗi lần 5 ml, bỏ dịch chiết ether lấy phần dịch acid đặt trên cách thủy để đuổi hết hơi ether, kiềm hóa dịch chiết acid bằng *amoniac (TT)* đến pH 10 rồi chiết với *cloroform (TT)* 3 lần, mỗi lần 5 ml. Gộp các dịch chiết cloroform, bay hơi dung môi tới cắn, hòa cắn trong 5 ml *dung dịch acid sulfuric 5 % (TT)*, lọc, cho dịch lọc vào 4 ống nghiệm để làm các phản ứng sau đây:

Ống 1: Thêm 2 giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, xuất hiện tủa vàng nhạt.

Ống 2: Thêm 2 giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)*, xuất hiện tủa đỏ cam.

Ống 3: Thêm 2 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)*, xuất hiện tủa nâu.

Ống 4: Thêm 2 giọt *dung dịch acid picric 10 % (TT)*, xuất hiện tủa vàng.

Độ ẩm

Không quá 11,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Thu hoạch quanh năm, lấy phần trên mặt đất của cây, phần nhiều là lá và ngọn, rửa sạch, loại tạp chất, chặt thành đoạn 5 cm đến 6 cm, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô ráo.

Tính vị, quy kinh

Cam, vi khổ, bình. Vào hai kinh tỳ, vị.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt giải độc, chỉ thống tiêu viêm, lợi tiểu. Chủ trị: Các bệnh viêm loét dạ dày, lở miệng lưỡi, viêm họng, lở loét ngoài da.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 20 g đến 40 g lá khô, chia làm 2 lần, dạng thuốc sắc hoặc hãm, thuốc cao, thuốc bột hoặc cốm, uống vào lúc đau và trước khi ăn.

Làm chóng lên da non: Lá tươi giã với muối, đắp nơi đau.

DÀNH DÀNH (Quả)

Fructus Gardeniae

Chi tử

Quả chín phơi hay sấy khô của cây Dành dành (*Gardenia jasminoides* Ellis), họ Cà phê (Rubiaceae).

Mô tả

Quả hình thoi hoặc hình trứng hẹp, dài 2 cm đến 4,5 cm, đường kính 1 cm đến 2 cm, màu vàng cam đến đỏ nâu, có khi nâu xám đến đỏ xám, hơi bóng, có 5 đến 8 đường gờ chạy dọc quả, giữa 2 gờ là rãnh rõ rệt. Đỉnh quả lõm có 5 đến 8 lá đài tồn tại, thường bị gãy cụt. Gốc quả hẹp, có vết cuống quả. Vỏ quả mỏng, giòn, hơi bóng. Vỏ quả giữa màu vàng đục, dày hơn. Vỏ quả trong màu vàng ngà, bóng, rất mỏng, có 2 đến 3 vách ngăn giả. Hạt nhỏ, màu vàng cam, nâu đỏ hoặc nâu đen nhạt, mặt vỏ hạt có rất nhiều hạt mịn. Mùi nhẹ. Vị hơi chua và đắng.

Vi phẫu

Vỏ quả ngoài gồm một lớp tế bào, vỏ quả giữa gồm nhiều lớp tế bào hình chữ nhật và trái xoan, không đều, rải rác có bó libe-gỗ và tế bào mô cứng. Vỏ quả trong gồm 2 đến 3 lớp tế bào mô cứng màu vàng nhạt, thành dày. Vỏ hạt gồm 2 lớp tế bào, lớp ngoài thành dày, lớp trong thành mỏng. Tế bào nội nhũ hình nhiều cạnh, trong có chứa giọt dầu và hạt tinh bột.

Bột

Màu vàng nâu hay màu nâu đỏ.

Đám sợi, đám mô cứng gồm 2 loại tế bào, một loại tế bào nhỏ hình chữ nhật dài, khoang hẹp, ống trao đổi không rõ

(thường thấy ở vỏ quả); một loại tế bào hình đa giác lớn hơn, khoang rộng, thành tương đối dày, trong khoang chứa chất màu vàng nâu. Mô mềm vỏ quả gồm những tế bào hình đa giác, thành mỏng. Mảnh nội nhũ gồm những tế bào hình đa giác tương đối đều đặn, chứa đầy chất dự trữ. Tế bào đá ở vỏ quả hình chữ nhật, đường kính khoảng 10 µm, có khi dài tới 110 µm xếp chéo hình thể khảm, có tế bào hình tròn hay đa giác, đường kính 17 µm đến 31 µm, thành dày, khoang chứa những tinh thể calci oxalat hình lăng trụ đường kính 8 µm. Tế bào đá vỏ hạt màu vàng hoặc nâu nhạt, hình đa giác dài, hình chữ nhật hay hình không đều, đường kính 60 µm đến 112 µm, dài tới 230 µm, có thành dày, có lỗ rộng và một khoang màu đỏ nâu. Cụm tinh thể calci oxalat đường kính 19 µm đến 34 µm.

Định tính

A. Lấy 0,2 g bột dược liệu, thêm 5 ml *nước*, đun trong cách thủy 3 min, lọc, bốc hơi 5 giọt dịch lọc đến khô trên đĩa sứ, nhỏ 1 giọt *acid sulfuric (TT)* lên cặn, màu lục xanh lơ xuất hiện, nhanh chóng chuyển sang màu nâu rồi nâu tía.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - aceton - acid formic - nước (5 : 5 : 1 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml *methanol 50 % (TT)*, siêu âm khoảng 40 min, lọc. Dịch lọc được dùng làm dung dịch chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch jasminoidin (geniposid) trong *ethanol 96 % (TT)* có nồng độ 4 mg/ml. Nếu không có jasminoidin (geniposid) thì dùng 1 g bột Dành dành (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun hỗn hợp *ethanol - acid sulfuric* (10 : 5). Sấy bản mỏng ở 100 °C trong 10 min. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 8,5 % (Phụ lục 9.6, 2 g, 100 °C đến 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tỷ lệ hạt non, lép, vỡ không quá 2,0 %.

Tỷ lệ nhân đen không quá 0,5 %.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - nước (15 : 85), điều chỉnh tỷ lệ nếu cần thiết.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,2 g bột dược liệu (qua rây số 250) vào bình nón nút mài, thêm chính xác 50 ml *methanol (TT)*, đậy nút bình và cân xác định khối lượng. Lắc siêu âm trong 1 h, để nguội và cân lại, bổ sung *methanol (TT)* để được khối lượng ban đầu, lắc đều và ly tâm. Lọc dịch ly tâm qua màng lọc 0,45 µm.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan geniposid chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,1 mg/ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 240 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, tính toán số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột tính trên pic geniposid phải không được dưới 8000. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic geniposid trong 6 lần tiêm lặp lại không được quá 2,0 %.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. Dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{17}H_{24}O_{10}$ của geniposid chuẩn, tính hàm lượng geniposid trong dược liệu.

Dược liệu phải chứa không ít hơn 3,0 % geniposid ($C_{17}H_{24}O_{10}$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch vào tháng 9 đến 11, hái lấy quả chín chuyển màu vàng đỏ, ngắt bỏ cuống quả và loại tạp, đồ hoặc luộc đến khi hạt hơi phồng lên, lấy ra bỏ vỏ lấy hạt đem phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Chi tử sao vàng: Lấy dược liệu khô, sao lửa nhỏ đến màu nâu vàng, lấy ra để nguội.

Chi tử sao xém (Tiêu chi tử): Lấy dược liệu khô, dùng lửa vừa sao đến khi mặt ngoài dược liệu vàng xém, mặt bẻ màu thẫm là được, lấy ra để nguội. Khi sao xém dược liệu dễ cháy, có thể phun một ít nước, lấy ra phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô ráo, thoáng, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Khổ, hàn. Vào các kinh tâm, phế, tam tiêu.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt trừ phiền, lợi tiểu, lương huyết chỉ huyết. Chủ trị: Sốt cao, tâm phiền, hoàng đản tiểu đỏ, đi tiểu ra máu, nôn ra máu, chảy máu cam, mắt đỏ sưng đau. Dùng ngoài trị sưng đau do sang chấn.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 9 g, dạng thuốc sắc.

Dùng ngoài: Lấy chi tử sống với lượng thích hợp, bôi, đắp chỗ đau.

Kiêng kỵ

Người suy nhược, tỳ vị hư hàn, tiêu hóa kém, ỉa chảy không nên dùng.

DÂM DƯƠNG HOẮC
Herba Epimedii

Phần trên mặt đất đã phơi hay sấy khô của các loài Dâm dương hoắc lá hình tim (*Epimedium brevicornum* Maxim.), Dâm dương hoắc lá mác [*Epimedium sagittatum* (Sieb. et Zucc.) Maxim.], Dâm dương hoắc lông mềm (*Epimedium pubescens* Maxim.), Dâm dương hoắc Triều Tiên (*Epimedium koreanum* Nakai) hoặc Vu Sơn Dâm dương hoắc (*Epimedium wushanense* T.S Ying), họ Hoàng liên gai (Berberidaceae).

Mô tả
Dâm dương hoắc lá hình tim: Thân hình trụ tròn nhỏ, dài chừng 20 cm, mặt ngoài màu lục hơi vàng hoặc màu vàng nhạt, sáng bóng. Lá kép mọc đối hai lần ba lá chét. Lá chét hình trứng, dài 3 cm đến 8 cm, rộng 2 cm đến 6 cm, đầu lá hơi nhọn. Lá chét tận cùng có đáy hình tim, hai lá chét bên nhỏ hơn, hình tim lệch, tai phía ngoài to hơn, mép có răng cưa nhỏ như gai, màu vàng, mặt trên màu lục hơi vàng, mặt dưới màu lục hơi xám, có 7 đến 9 gân nổi lên, các gân nhỏ dạng mắt lưới nhìn rõ, cuống nhỏ. Phiến lá dai gần như da, không mùi, vị hơi đắng.
Dâm dương hoắc lá mác: Lá kép xẻ ba, lá chét hình trứng hẹp, hình mác, dài 4 cm đến 12 cm, rộng 2,5 cm đến 5 cm, đầu nhọn, các lá chét bên có đáy xiên chếch rõ, phía ngoài đầu giống mũi tên. Mặt dưới lá phủ lông ngắn, thô, thưa, mặt trên hầu như không có lông. Phiến lá dai như da.
Dâm dương hoắc lông mềm: Mặt dưới phiến lá và cuống lá phủ nhiều lông mềm (lông nhung).
Dâm dương hoắc Triều Tiên: Lá chét tương đối to, dài 4 cm đến 10 cm, rộng 3 cm đến 7 cm, đầu nhọn kéo dài ra, phiến lá mỏng hơn.
Vu Sơn Dâm dương hoắc: Lá kép xẻ ba, phiến lá chét hình mác hoặc hình mác hẹp, dài 9 cm đến 23 cm, rộng 1,8 cm đến 4,5 cm đầu nhỏ dần hoặc nhỏ kéo dài ra, mép có răng cưa nhỏ, gốc lá xẻ lệch, thùy phía trong nhỏ, hình tròn, thùy phía ngoài rộng, hình tam giác, đầu nhọn. Mặt dưới lá phủ lông như bông hoặc nhẵn không có lông. Lá dai gần như da, mùi nhẹ, vị hơi đắng.

Định tính
A. Định tính các loài Dâm dương hoắc (không áp dụng với Vu sơn dâm dương hoắc).
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel H.
Dung môi khai triển: Ethyl acetat - butanol - acid formic - nước (10 : 1 : 1 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ethanol 95 % (TT)*, ngâm nóng trong 30 min, lọc, cô bốc hơi dịch lọc tới khô. Hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol 96 % (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan icariin trong *ethanol 95 % (TT)* để được dung dịch có nồng độ 0,1 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký xong, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí rồi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết phát quang cùng màu (màu đỏ thẫm) và giá trị R_f với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Phun *dung dịch nhôm clorid 10 % trong ethanol (TT)*, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 366 nm, vết màu đỏ thẫm sẽ chuyển sang màu da cam.
B. Định tính Vu sơn Dâm dương hoắc
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - nước (3 : 1 : 0,1).
Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ethanol 95 % (TT)*, ngâm nóng trong 30 min, lọc, cô dịch lọc trên cách thủy tới cạn. Hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol 95 % (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Dùng dung dịch chuẩn ở phần Định lượng.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có epimedin C chuẩn thì dùng 0,5 g bột Vu sơn Dâm dương hoắc (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, phun *dung dịch nhôm clorid 1 % trong ethanol (TT)*, sấy ở 105 °C trong 5 min, soi dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết phát quang cùng màu (vàng lục) và giá trị R_f với vết epimedin C trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu hoặc có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất
Không quá 3,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không quá 8,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu
Không dưới 15,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt .
Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10).
Dùng *ethanol 50 % (TT)* làm dung môi.

Định lượng flavon toàn phần (không áp dụng với Vu sơn dâm dương hoắc)
Phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại khả kiến (Phụ lục 4.1).
Dung dịch thử: Lấy chính xác 0,5 ml dung dịch thử thu được ở phần định lượng icariin vào bình định mức 50 ml, thêm *methanol (TT)* tới vạch, trộn đều.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan icariin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch chuẩn có nồng độ chính xác khoảng 10 µg/ml.
Đo độ hấp thụ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn tại bước sóng 270 nm, tính hàm lượng flavon toàn phần.
Hàm lượng flavon toàn phần không được ít hơn 5,0 % tính theo icariin ($C_{33}H_{40}O_{15}$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Định lượng icariin (không áp dụng với Vu sơn dâm dương hoắc)

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - nước (30 : 70).
Dung dịch thử : Cân chính xác khoảng 0,2 g bột dược liệu (qua rây số 355) vào một bình nón nút mài, thêm chính xác 50 ml *ethanol 50 % (TT)*, cân. Lắc siêu âm trong 1 h, để nguội, cân lại và bổ sung khối lượng mất đi bằng *ethanol 50 % (TT)*, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm được dung dịch thử.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan icariin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch chuẩn có nồng độ chính xác khoảng 0,1 mg/ml.
Điều kiện sắc ký :
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 270 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, tính số đĩa lý thuyết của cột dựa vào diện tích pic icariin. Số đĩa lý thuyết của cột không được ít hơn 1500.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn, dung dịch thử. Tính hàm lượng của icariin trong dược liệu dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{33}H_{40}O_{15}$ trong icariin chuẩn.
Dược liệu phải chứa không dưới 0,5 % icariin ($C_{33}H_{40}O_{15}$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Định lượng epimedin C (đối với Vu sơn dâm dương hoắc)
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: *Acetonitril (TT).*
Pha động B: *Nước.*
Dung dịch thử : Cân chính xác khoảng 0,2 g bột dược liệu (qua rây số 355) vào một bình nón nút mài, thêm chính xác 50 ml *ethanol 70 % (TT)*, cân. Lắc siêu âm trong 30 min, để nguội, cân lại. Bổ sung *ethanol 70 % (TT)* để được khối lượng ban đầu, lắc đều, lọc được dung dịch thử.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan epimedin C chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch chuẩn có nồng độ chính xác khoảng 0,1 mg/ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 270 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 5	30	70
5 - 30	30 → 27	70 → 73

Tiêm dung dịch chuẩn. Tiến hành sắc ký và tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột tính trên pic epimedin C phải không dưới 2000.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng của epimedin C trong dược liệu dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{39}H_{50}O_{17}$ trong epimedin C chuẩn.
Dược liệu phải chứa không dưới 1,0 % epimedin C ($C_{39}H_{50}O_{17}$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hái lá vào mùa hạ, mùa thu khi cây mọc xum xuê, loại bỏ tạp chất, phơi ngoài trời hoặc phơi khô trong bóng râm.
Dâm dương hoắc thái sợi: Lấy dược liệu khô, loại bỏ tạp chất, phun nước cho hơi mềm, thái thành sợi nhỏ, phơi khô.
Dâm dương hoắc chích mỡ dê: Dùng lửa văn (lửa nhỏ), cho Dâm dương hoắc thái sợi vào sao, đồng thời vảy mỡ dê đến khi các sợi sáng bóng đều, lấy ra để nguội, cứ 100 kg Dâm dương hoắc dùng 20 kg mỡ dê.

Bảo quản
Để nơi khô thoáng, tránh vụn nát, mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Tân, ôn. Qui vào các kinh can, thận.

Công năng, chủ trị
Bổ thận dương, cường cân cốt, trừ phong thấp. Chủ trị: Liệt dương, hoạt tinh, yếu chân tay, phong thấp đau tê bại, co rút cơ.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 9 g. Dạng thuốc sắc. Thường phối hợp với các thuốc khác.

Kiêng kỵ
Cương dương, mộng tinh, sung huyết não, mất ngủ không nên dùng.

DÂU (Cành)
Ramulus Mori albae
Tang chi

Cành non đã phơi hay sấy khô của cây Dâu tằm (*Morus alba* L.), họ Dâu tằm (Moraceae).

Mô tả
Cành hình trụ dài, đôi khi có nhánh, dài ngắn không đều nhau, đường kính 0,5 cm đến 1,5 cm. Mặt ngoài màu vàng xám hoặc vàng nâu, có nhiều lỗ vỏ màu nâu nhạt và các nếp vân dọc nhỏ, có những vết sẹo cuống lá gần hình bán nguyệt màu trắng xám và những chồi nách nhỏ màu nâu vàng. Chất cứng, dai, chắc, khó bẻ gãy, mặt gãy có xơ, màu trắng ngà. Lát cắt dày 0,2 cm đến 0,5 cm, thấy phân rõ 3 phần: Phần vỏ hơi mỏng, phần giữa là gỗ trắng ngà, phần tâm có tủy nhỏ và mềm màu trắng hoặc vàng nhạt, có hình tia. Hơi có mùi, vị nhạt.

Vi phẫu
Lớp bần gồm một hoặc vài hàng tế bào đều đặn, gần như hình chữ nhật, đôi khi có lỗ vỏ. Mô mềm vỏ tương đối mỏng, có khoảng 6 đến 8 hàng tế bào đa giác dẹt có chứa các tinh thể calci oxalat hình khối. Các đám sợi hoặc mô cứng chỗ dày chỗ mỏng bao bọc gần như liên tục xung quanh vòng libe. Vòng libe liên tục. Tầng phát sinh libe-gỗ. Gỗ xếp thành một vòng liên tục, mạch gỗ to, càng vào trong càng nhỏ dần. Mô mềm gỗ cấu tạo bởi những tế bào nhỏ, xếp đều đặn. Mô mềm ruột gồm các tế bào gần tròn, to, thành mỏng.

Bột
Màu vàng xám nhạt, mùi nhẹ, vị nhạt. Soi kính hiển vi thấy: Rất nhiều sợi màu vàng nhạt hoặc không màu, đơn lẻ hay tập trung thành bó, thành dày 5 µm đến 15 µm, khoang hẹp. Tế bào mô cứng màu vàng nhạt, hình gần tròn hoặc hình chữ nhật, đường kính 15 µm đến 40 µm, thành dày 5 µm đến 20 µm, khoang hẹp. Các tế bào mô mềm tụ họp thành đám hoặc rải rác. Tinh thể calci oxalat hình khối dài 5 µm đến 12 µm. Các mảnh mạch mạng, mạch điểm. Các tế bào bần màu vàng đậm, rải rác hay tập trung thành đám. Rải rác có các hạt tinh bột.

Định tính
A. Lấy 3 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ethanol 90 % (TT)*, đun sôi, lọc. Dịch lọc có màu xanh lá cây. Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 giọt *dung dịch sắt (III) clorid (TT)*, xuất hiện tủa màu nâu xám.
B. Lấy 5 g bột dược liệu, trộn đều với 3 ml *amoniac (TT)*, thêm 30 ml *cloroform (TT)*, lắc. Để yên trong 5 h, lọc. Dịch lọc cho vào bình gạn, thêm 5 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*, lắc, để yên cho dung dịch tách thành 2 lớp, gạn lấy 1 ml dịch chiết acid, thêm 1 giọt *dung dịch acid picric (TT)*, xuất hiện tủa vàng nhạt.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 3,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch vào cuối mùa xuân, đầu mùa hạ, chọn các cành dâu non có kích thước quy định, bỏ hết lá, phơi hoặc sấy khô hoặc thái vát lúc còn tươi, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế
Nếu còn nguyên cành dài, bỏ tạp chất, rửa sạch, tẩm nước, ủ mềm, cắt lát dày 0,2 cm đến 0,5 cm, phơi nắng cho khô.
Tang chi sao: Lấy dược liệu đã thái lát, sao lửa nhỏ đến khi hơi vàng, lấy ra để nguội.

Bảo quản
Để nơi khô, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Vị khổ, bình. Vào kinh can.

Công năng, chủ trị
Trừ phong thấp, thông lợi khớp. Chủ trị: Đau nhức cơ khớp, chân tay co duỗi khó khăn.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 9 g đến 15 g, dạng thuốc sắc.

DÂU (Lá)
Folium Mori albae
Tang diệp

Lá phơi hay sấy khô của cây Dâu tằm (*Morus alba* L.), họ Dâu tằm (Moraceae).

Mô tả
Lá nhăn nheo, dễ gãy vụn. Lá nguyên hình trứng, hình trứng rộng, dài 8 cm đến 15 cm, rộng 7 cm đến 13 cm, có cuống; đầu lá nhọn, gốc lá cụt, tròn hay hình tim, mép có răng cưa, đôi khi chia thùy không đều. Mặt trên lá có màu lục vàng hoặc nâu vàng nhạt, đôi khi có nốt nhỏ nhô lên. Mặt dưới lá có màu nhạt, nổi rõ các gân lớn chạy từ cuống lá và nhiều gân nhỏ hình mạng lưới, có lông tơ mịn rải rác trên gân lá. Chất giòn. Hơi có mùi, vị nhạt, hơi chát, đắng.

Vi phẫu
Biểu bì trên gồm các tế bào khá lớn, có lông chứa nang thạch, đơn bào hoặc đa bào. Biểu bì dưới tế bào nhỏ hơn, có ít lông chứa nang thạch, nhưng nhiều lỗ khí hơn. Trong gân chính, dưới biểu bì có 2 đám mô dày, đám dưới dày và rộng hơn. Mô mềm chứa tinh thể calci oxalat hình cầu gai hay hình phiến. Giữa gân lá có 1 hoặc 2 bó libe-gỗ, xung quanh libe có sợi. Phiến lá gồm 1 hàng tế bào mô giậu, chứa diệp lục, mô khuyết gồm các tế bào hình tròn hay nhiều cạnh, chứa tinh thể calci oxalat.

Bột
Màu lục vàng hay nâu vàng. Soi kính hiển vi thấy: Biểu bì trên có những tế bào phình to chứa nang thạch đường kính 47 µm đến 77 µm. Lỗ khí ở biểu bì dưới thuộc kiểu hỗn bào, được bao quanh bởi 4 tế bào đến 6 tế bào không đều. Lông che chở đơn bào, dài 50 µm đến 230 µm. Cụm tinh thể calci oxalat đường kính 5 µm đến 16 µm; thường gặp dạng tinh thể calci oxalat hình lăng trụ.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Dùng lớp trên của hỗn hợp dung môi gồm *toluen - ethyl acetat - acid formic* (5 : 2 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu vào bình nón, thêm 30 ml *ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C) (TT)*, đun hồi lưu trong 30 min, loại bỏ lớp ether dầu hỏa, lấy bã bay hơi hết dung môi đến khô, thêm 30 ml *ethanol 96 % (TT)*, lắc siêu âm trong 20 min, lọc và bốc hơi dịch lọc đến khô. Hòa tan cắn trong 10 ml nước nóng, đun trên cách thủy 60 °C, khuấy kỹ để hòa tan, lọc và bốc hơi dịch

lọc tới khô, hòa cắn trong 1 ml *methanol (TT)* được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột lá Dâu (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký trong bình được bão hòa trước 10 min bằng pha động đến khi dung môi đi được khoảng 8 cm, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6, 3 g, 105 °C, 5 h).

Tro không tan trong acid
Không quá 4,5 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất
Không quá 0,5 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 5,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Sau khi mới có sương (vào mùa thu), thu hái lá bánh tẻ, loại bỏ lá vàng úa và tạp chất, rửa sạch, phơi trong bóng râm hoặc sấy nhẹ đến khô.

Bào chế
Dược liệu khô, loại bỏ tạp chất, vò nát, bỏ cuống lá, rây bỏ vụn nhỏ.

Bảo quản
Để nơi khô, tránh mốc.

Tính vị, quy kinh
Cam, khổ, hàn. Vào các kinh phế, can.

Công năng, chủ trị
Sơ tán phong nhiệt, thanh can, minh mục. Chủ trị: Cảm mạo phong nhiệt, phế nhiệt ho ráo, chóng mặt, nhức đầu hoa mắt, mắt sây sẩm, đau mắt đỏ.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 5 g đến 12 g. Dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ
Bệnh hư hàn thì không nên dùng.

DÂU (Quả)
Fructus Mori albae
Tang thầm

Quả kép chín đỏ, phơi khô của cây Dâu tằm (*Morus alba* L.), họ Dâu tằm (Moraceae).

Mô tả
Quả kép hình trụ do nhiều quả bế tạo thành, dài 1 cm đến 2 cm, đường kính 5 mm đến 8 mm, màu nâu vàng nhạt đến đỏ nâu nhạt hoặc tím thẫm, cuống quả ngắn. Quả bế hình trứng, hơi dẹt, dài 2 mm, rộng 1 mm, có bao hoa nạc xẻ 4. Vị hơi chua và ngọt.

Bột
Màu đỏ tía. Tế bào đá của vỏ quả tụ thành đám, màu vàng nhạt, hình đa giác không đều, thành tế bào dày, lồi lõm, khúc khuỷu, có lỗ trao đổi rõ. Tế bào vỏ quả trong chứa các tinh thể calci oxalat hình lăng trụ. Tế bào mô mềm chứa các khối chất màu đỏ tía hoặc đỏ nâu. Lông che chở đơn bào thường bị gãy, dài từ 12 µm đến 45 µm, dẹt ở phần chân tế bào. Tế bào biểu bì của vỏ quả màu nâu vàng, hình gần vuông hoặc hình đa giác khi nhìn trên bề mặt, thành lồi lên dạng hạt.

Độ ẩm
Không quá 18,0 % (Phụ lục 9.6, 2 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 15,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 85 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Tháng 4 đến 6, quả chín có màu đỏ, hái về, rửa sạch, phơi khô hoặc sau khi đồ qua rồi phơi khô.

Bảo quản
Để nơi khô, thoáng gió, phòng mọt.

Tính vị, quy kinh
Cam, toan, ôn. Vào các kinh tâm, can, thận.

Công năng, chủ trị
Bổ huyết, tư âm, sinh tân, nhuận táo. Chủ trị: Chóng mặt, ù tai, tim đập nhanh, mất ngủ, râu, tóc sớm bạc, tân dịch thương tổn, miệng khát, nội nhiệt tiêu khát (đái tháo), táo bón.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 9 g đến 15 g. Dạng thuốc sắc hay ngâm rượu.

DÂU (Vỏ rễ)
Cortex Mori albae radicis
Tang bạch bì, Vỏ rễ dâu

Vỏ rễ đã cạo lớp bần, phơi hay sấy khô của cây Dâu tằm (*Morus alba* L.), họ Dâu tằm (Moraceae).

Mô tả
Mảnh vỏ rễ hình ống, hình máng hai mép cuốn lại hoặc mảnh dẹt phẳng, hoặc quăn queo, dài rộng khác khau, dày

1 mm đến 4 mm; mặt ngoài màu trắng hoặc vàng nhạt, tương đối nhẵn, đôi chỗ còn sót lại mảnh bần màu vàng hoặc màu vàng nâu; mặt trong màu vàng nhạt hay vàng xám, có nếp nhăn dọc nhỏ. Chất nhẹ và dai, có sợi chắc, khó bẻ ngang, nhưng dễ tước dọc thành dải nhỏ. Mùi nhẹ, vị hơi ngọt.

Vi phẫu
Mặt cắt ngang gồm: Libe rộng, có 2 đến 4 hàng tế bào. Ống nhựa mủ rải rác; sợi rải rác ở dạng đơn lẻ hoặc tụ lại thành bó, thành không hóa gỗ hoặc hơi hóa gỗ. Tế bào mô mềm chứa hạt tinh bột, một số có chứa tinh thể calci oxalat hình lăng trụ. Các đám mô cứng lẫn với các tế bào đá rải rác trong vỏ rễ già, đa số các tế bào này có chứa tinh thể calci oxalat hình lăng trụ.

Bột
Màu vàng xám nhạt, mùi thơm nhẹ. Soi kính hiển vi thấy: Nhiều sợi, đa phần bị gãy, đường kính 13 µm đến 26 µm, thành dày, không hóa gỗ hoặc hơi hóa gỗ. Tinh thể calci oxalat hình khối, đường kính 11 µm đến 32 µm. Tế bào mô cứng hình gần tròn, hình chữ nhật hoặc không đều, đường kính 22 µm đến 52 µm, thành dày hoặc rất dày, có ống và lỗ trao đổi rõ, một số có chứa tinh thể calci oxalat hình khối. Nhiều hạt tinh bột, hình gần tròn, đường kính 4 µm đến 16 µm nằm rải rác hoặc tập trung thành đám. Mảnh bần còn sót lại màu vàng, có các tế bào hình đa giác.

Định tính
A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 20 ml *n-hexan (TT)*, đun hồi lưu 15 min trên cách thủy, lọc. Bốc hơi dịch lọc đến khô, hòa tan cắn trong 10 ml *cloroform (TT)*. Lấy 0,5 ml dung dịch thu được vào ống nghiệm, thêm 0,5 ml *anhydrid acetic (TT)*, thêm từ từ 0,5 ml *acid sulfuric (TT)* để có 2 lớp dịch, màu nâu đỏ xuất hiện giữa 2 lớp.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel 60F$_{254}$.
Dung môi khai triển: Acid acetic.
Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 20 ml *dung dịch natri carbonat bão hòa (TT)*, siêu âm khoảng 20 min, lọc. Điều chỉnh pH của dịch lọc đến pH 1 - 2 bằng *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*. Để yên trong 30 min và lọc. Lắc dịch lọc thu được với *ethyl acetat (TT)* hai lần, mỗi lần 10 ml. Gộp dịch chiết ethyl acetat và bay hơi đến cắn khô. Hòa tan cắn trong 1 ml *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột vỏ rễ Dâu (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới sáng tử ngoại bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có hai vết có huỳnh quang cùng màu sắc và giá trị R_f với hai vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến
Thu hoạch vào cuối mùa thu, khi lá rụng, đến đầu mùa xuân, trước khi cây này mầm, đào lấy rễ dưới đất, cạo bỏ hết lớp vỏ ngoài thô màu nâu vàng, rửa sạch, bổ dọc, bóc lấy vỏ rễ màu trắng ngà, phơi hay sấy khô.

Bào chế
Tang bạch bì sợi: Lấy vỏ rễ khô, rửa sạch, ủ hơi mềm, tước sợi, phơi hoặc sấy khô.
Mật tang bạch bì (Chế mật): Lấy tang bạch bì sợi cho vào mật ong đã cạnh, trộn đều, ủ cho ngấm, rồi sao nhỏ lửa cho đến khi có màu vàng và sờ không dính tay, lấy ra để nguội. Cứ 10 kg vỏ rễ dâu, dùng 2 kg mật ong đã cạnh.

Bảo quản
Để nơi khô thoáng, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Cam, hàn. Vào kinh phế.

Công năng, chủ trị
Thanh phế, bình suyễn, lợi thủy tiêu thũng. Chủ trị: Phế nhiệt ho suyễn, thủy thũng đầy trướng, tiểu tiện ít; cơ và da mặt, mắt phù thũng.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 đến 12 g. Dạng thuốc sắc.

DÂY ĐAU XƯƠNG (Thân)
Caulis Tinosporae sinensis

Thân đã thái phiến phơi hay sấy khô của cây Dây đau xương [*Tinospora sinensis* (Lour.) Merr.], họ Tiết dê (Menispermaceae).

Mô tả
Thân đã thái thành phiến, khô, dày mỏng không đều, thường dày 0,3 cm đến 0,5 cm, đường kính 0,5 cm đến 2 cm. Mặt ngoài màu nâu xám hoặc xanh xám. Lớp bần mỏng, khi khô nhăn nheo dễ bong. Mặt ngoài nhiều lỗ vỏ nổi rõ. Mặt cắt ngang màu trắng ngà hoặc vàng nhạt. Mô mềm vỏ mỏng. Phần gỗ rộng, xoè ra thành hình nan hoa bánh xe, tia ruột rõ. Phần ruột ở giữa tròn nhỏ.

Vi phẫu
Thân cây già có lớp bần không dày lắm, có lỗ vỏ nổi rõ. Mô mềm vỏ ít phát triển, thỉnh thoảng có những tế bào to chứa chất nhựa. Trong mô mềm vỏ thân cây non có những đám sợi, ở thân cây già có những đám mô cứng, nhỏ, kèm theo nhiều tinh thể calci oxalat hình chữ nhật hoặc hình quả trám. Phía ngoài khối libe-gỗ có một vòng mô cứng

ở thân non, vòng này liên tục, ở thân già thì chia thành các cung úp lên từng bó libe-gỗ. Libe-gỗ xếp thành từng bó riêng biệt ngăn cách bởi tia ruột. Trước bó libe-gỗ, sau cung mô cứng có một đám tế bào thành mỏng. Libe cấu tạo bằng những tế bào thành mỏng xếp thành từng dãy xuyên tâm. Tầng phát sinh libe-gỗ uốn lượn qua các bó libe-gỗ. Gỗ cấp 2 có mạch gỗ to nằm rải rác trong mô mềm gỗ. Tia ruột rộng ở thân già, hẹp ở thân non, tế bào dài theo hướng xuyên tâm. Xen kẽ trong mô mềm ruột có những đám mô cứng nhỏ và tế bào mang tinh thể calci oxalat. Nhiều hạt tinh bột còn lại trên vi phẫu.

Bột

Màu xám, vị hơi đắng, hạt tinh bột có nhiều dạng thường hình trứng. Tinh thể calci oxalat hình khối, hình cầu gai. Tế bào mô cứng nhiều hình dạng, thành dày, có ống trao đổi rõ. Mảnh mạch điểm, mạch mạng.

Định tính

Lấy 3 g bột dược liệu, cho vào bình có nút mài dung tích 50 ml đến 100 ml, thêm 1 ml *dung dịch amoniac 10 % (TT)*, trộn đều. Thêm 25 ml *cloroform (TT)* và lắc nhẹ trong 10 min, để yên 1 h. Lọc dịch chiết qua giấy lọc gấp nếp vào một bình gạn rồi lắc với 5 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*. Lấy phần dịch acid chia vào 3 ống nghiệm:

Ống 1: Thêm 2 giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, xuất hiện tủa trắng đục.

Ống 2: Thêm 2 giọt đến 3 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)*, xuất hiện tủa đỏ nâu.

Ống 3: Thêm 2 giọt đến 3 giọt *dung dịch acid picric 1 % (TT)*, xuất hiện tủa màu vàng.

Độ ẩm

Không quá 14,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tỷ lệ đen thối: Không quá 0,5 %.

Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Tỉ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.12).

Chế biến

Thu hái quanh năm, cắt lấy phần thân già, phân loại to nhỏ, thái lát mỏng, phơi hay sấy khô.

Bảo quản

Nơi khô, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Khổ, lương. Quy vào kinh can.

Công năng, chủ trị

Khu phong trừ thấp, thư cân hoạt lạc. Chủ trị: Phong thấp tê bại, đau nhức cơ khớp.

Dùng ngoài chữa đụng dập, sang chấn, rắn cắn.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 12 g đến 20 g, dạng thuốc sắc hay ngâm rượu để uống hay dùng ngoài.

DÂY THÌA CANH

Caulis et folium Gymnemae sylvestris

Cành và lá phơi hay sấy khô của cây Dây thìa canh [*Gymnema sylvestre* (Retz.) R. Br. ex Schult.], họ Thiên lý (Asclepiadaceae).

Mô tả

Dược liệu chưa cắt đoạn có dạng dây leo, dài tới 6 m, đường kính tới 3 mm. Thường cắt đoạn dài 1,5 cm đến 3 cm. Khi khô có màu xanh lục. Lá có phiến bầu dục hoặc xoan ngược thon dài 6 cm đến 7 cm, rộng 2,5 cm đến 5 cm, đầu nhọn có mũi, gân phụ 4 đến 6 cặp, rõ ở mặt dưới, nhăn lúc khô; cuống dài 5 cm đến 8 cm.

Vi phẫu

Lá:

Phần gân lá: Hơi lồi ở mặt trên, từ dưới lên trên bao gồm: biểu bì dưới, gồm một lớp tế bào hình tròn, đôi lúc có lông che chở đa bào; sát với biểu bì là 3 lớp đến 5 lớp mô dày dưới, có thành dày; bó libe-gỗ gồm có các mạch gỗ phía trong, cung libe ở ngoài bao quanh tủy ở giữa gân chính; mô mềm gồm các tế bào hình trứng thành mỏng, rải rác trong gân lá có tinh thể calci oxalat hình cầu gai; mô dày trên gồm 3 đến 4 lớp tế bào có cấu tạo tương tự như mô dày dưới; biểu bì trên gồm một lớp tế bào hình chữ nhật.

Phần phiến lá: Biểu bì trên và dưới gồm một lớp tế bào hình chữ nhật, xếp đều đặn, có mang lông che chở đa bào. Mô dậu cấu tạo bởi 2 đến 3 hàng tế bào hình chữ nhật xếp vuông góc biểu bì trên, chiếm một phần năm bề dày phiến lá. Mô khuyết nằm ở phần thịt lá, cấu tạo bởi những tế bào tròn xếp lộn xộn, để hở những khuyết nhỏ. Tiếp giáp giữa mô khuyết và mô giậu là các bó libe-gỗ của gân phụ và các mạch.

Thân: Mặt cắt thân hình tròn, từ ngoài vào trong bao gồm: lớp bần, gồm 2 đến 3 hàng tế bào hình chữ nhật xếp thành hàng đồng tâm, có nhiều lỗ vỏ lớn. Ở thân non là lớp biểu bì gồm 1 lớp tế bào hình chữ nhật, xếp đều đặn thành hàng, có nhiều lông che chở đa bào; mô mềm vỏ gồm nhiều lớp tế bào hình trứng, thành mỏng; các bó sợi liền nhau hoặc tạo thành đám; libe-gỗ gồm có libe quanh tủy, bao xung quanh mạch gỗ phía trong; gỗ cấp hai xếp thành vòng tròn để hở các tia ruột rất nhỏ; trong cùng là lớp mô mềm ruột.

Bột

Màu xanh, mùi thơm nhẹ. Soi dưới kính hiển vi thấy: Lông che chở đa bào, mảnh mô mềm, mảnh biểu bì mang lỗ khí; tế bào lỗ khí; mảnh bần gồm các tế bào thành mỏng, tinh thể calci oxalat hình cầu gai, mạch xoắn, mạch vạch, mạch đồng tiền, sợi và bó sợi.

Định tính

A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 5 ml *nước*, đun sôi nhẹ, lọc nóng. Dịch lọc cho vào ống nghiệm to, thêm 10 ml

nước. Lắc mạnh trong vòng 2 min theo chiều dọc của ống nghiệm. Xuất hiện cột bọt cao khoảng 4 cm, bền trong 15 min.
B. Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun nóng khoảng 80 °C trong 10 min, lọc nóng. Bốc hơi dịch lọc tới cắn. Thêm 1 ml *cloroform (TT)*, lắc cho tan cắn. Thêm 1 ml *acid sulfuric (TT)*, lắc đều. Xuất hiện màu đỏ.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 3 h).

Tro toàn phần
Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không dưới 25,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *nước* làm dung môi.

Chế biến
Thu hái quanh năm, phơi hoặc sấy khô, thái đoạn 1,5 cm đến 3 cm, khi dùng sao vàng.

Bảo quản
Để nơi khô, tránh ẩm.

Tính vị, quy kinh
Vị đắng, tính hàn. Vào kinh phế, tỳ, thận.

Công năng, chủ trị
Lợi tiểu, nhuận tràng, hạ đường huyết. Chủ trị: Tiểu tiện bí dắt, tiểu vàng đỏ, tiểu đường, táo bón do nhiệt.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 10 g đến 12 g, dưới dạng thuốc sắc.

DIÊN HỒ SÁCH (Rễ củ)
Tuber Corydalis
Huyền hồ sách, Nguyên hồ

Rễ củ phơi hay sấy khô của cây Diên hồ sách [*Corydalis yanhusuo* (Y. H. Chou & Chun C. Hsu) W. T. Wang], họ Cải cần (Fumariaceae).

Mô tả
Rễ củ hình cầu dẹt không đều, đường kính 0,5 cm đến 1,5 cm. Mặt ngoài màu vàng hay vàng nâu, có vân nhăn hình mạng lưới không đều. Đỉnh có vết sẹo, thân hơi lõm, đáy thường lồi lên. Chất cứng, giòn. Mặt cắt ngang màu vàng, cứng như sừng, sáng bóng như sáp. Mùi nhẹ, vị đắng.

Bột
Màu lục vàng, hạt tinh bột đã hồ hóa thành từng khối màu vàng nhạt hoặc không màu. Mô cứng của nội bì màu vàng lục gồm các tế bào hình nhiều cạnh, gần vuông hoặc bầu dục, thuôn dài, thành tế bào hơi lượn sóng, hóa gỗ, có các lỗ nhỏ dày đặc. Tế bào đá màu vàng nhạt, hình gần tròn hay thuôn dài, đường kính tới 60 µm, thành tương đối dày có các lỗ nhỏ dày đặc. Mạch xoắn đường kính 16 µm đến 32 µm.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*, dùng dung dịch *natri hydroxyd (TT)* 1 % để tráng bản mỏng.
Dung môi khai triển: *n-Hexan - cloroform - methanol* (7,5 : 4 : 1).
Dung dịch thử: Cho 1 g bột dược liệu vào một bình cầu, thêm 50 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 1 h. Để nguội, lọc, bốc hơi dịch lọc đến khô trên cách thủy. Hòa tan cắn trong 10 ml *nước*, kiềm hóa bằng *amoniac đậm đặc (TT)*, chiết bằng *ether (TT)* 3 lần, mỗi lần 10 ml. Gộp các dịch chiết ether, bốc hơi đến cắn khô trên cách thủy. Hòa tan cắn trong 1 ml *methanol (TT)* được dung dịch thử.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan tetrahydropalmatin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có tetrahydropalmatin có thể dùng 1 g bột Diên hồ sách (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí. Phun *thuốc thử Dragendorff (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu sắc và giá trị R_f với vết tetrahydropalmatin trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu hoặc phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 15 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất
Không quá 0,5 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không quá 4,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu
Không dưới 13,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 50 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch vào đầu mùa hạ khi cây khô héo. Đào lấy rễ, loại bỏ rễ con, thân và lá, rửa sạch, luộc đến khi cắt ngang không còn lõi màu trắng và phơi hoặc sấy nhẹ đến khô.

Bào chế
Diên hồ sách sống: Lấy diên hồ sách đã chế biến, loại bỏ tạp chất, rửa sạch, để khô, thái lát dày hoặc đập vụn trước khi dùng.
Thố Diên hồ sách (chế dấm): Cho dấm vào diên hồ sách sạch đã thái lát hoặc đập vụn, trộn đều, ủ cho thấm đều dấm, cho vào chảo, sao nhỏ lửa đến khô. Hoặc luộc với dấm: Lấy diên hồ sách đã chế biến, thêm dấm, đun nhỏ lửa cho đến khi dấm thấm hết vào thuốc, để nguội, thái phiến dày, phơi hoặc sấy nhẹ đến khô, hoặc khi dùng giã nát. Dùng 2 L dấm cho 10 kg dược liệu.

Bảo quản
Nơi khô ráo, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Tân, khổ, ôn. Vào các kinh Can, phế, tỳ.

Công năng, chủ trị
Hoạt huyết, hành khí, chỉ thống. Chủ trị: Đau ngực, sườn, thượng vị, vô kinh, bế kinh, ứ huyết sau khi sinh, sưng đau do sang chấn.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 9 g hoặc uống mỗi lần từ 1,5 g đến 3 g dạng bột. Thường phối hợp với các dạng thuốc khác.

Kiêng kỵ
Không dùng cho phụ nữ có thai, người huyết hư, phụ nữ rối loạn kinh nguyệt.

DIỆP CÁ

Herba Houttuyniae cordatae
Ngư tinh thảo

Bộ phận trên mặt đất còn tươi hay đã phơi hay sấy khô của cây Diếp cá (*Houttuynia cordata* Thunb.), họ Lá giấp (Saururaceae).

Mô tả
Thân hình trụ tròn hay dẹt, cong, dài 20 cm đến 35 cm, đường kính 2 mm đến 3 mm. Mặt ngoài màu vàng nâu nhạt, có vân dọc nhỏ và có mấu rõ. Các mấu ở gốc thân còn vết tích của rễ. Chất giòn, dễ gãy. Lá mọc so le, hình tim, đầu lá nhọn, phiến lá gấp cuộn lại, nhàu nát, cuống dính ở gốc lá dài chừng 2 cm đến 3 cm, gốc cuống rộng thành bẹ mỏng. Mặt trên lá màu lục, vàng sẫm đến nâu sẫm, mặt dưới màu lục xám đến nâu xám. Cụm hoa là một bông dài 1 cm đến 3 cm, ở đầu cành, màu nâu vàng nhạt, cuống dài 3 cm. Mùi tanh cá. Vị hơi chát, se.

Vi phẫu
Biểu bì trên và dưới của lá gồm 1 lớp tế bào hình chữ nhật, xếp đều đặn, mang lông tiết đầu đơn bào, chân đa bào và lông che chở đa bào có xen lẫn tế bào tiết màu vàng ở mặt trên gân lá. Ở mặt dưới phiến lá có lỗ khí. Hạ bì trên từ phiến lá chạy qua gân giữa gồm một lớp tế bào to, thành mỏng. Hạ bì dưới tế bào bé hơn, bị ngăn cách bởi một số tế bào mô mềm ở giữa gân lá. Mô mềm gồm các tế bào thành mỏng và ít khuyết nhỏ. Bó libe-gỗ ở giữa gân lá gồm có bó gỗ ở trên, bó libe ở dưới. Mô mềm phiến lá có những khuyết nhỏ và bó libe-gỗ nhỏ.

Bột
Màu lục vàng, vị hơi mặn, hơi cay, mùi tanh.
Mảnh biểu bì trên và biểu bì dưới gồm các tế bào hình nhiều cạnh, thành hơi dày, mang tế bào tiết. Biểu bì dưới có lỗ khí, tế bào tiết tròn, chứa tinh dầu màu vàng nhạt hay vàng nâu, bề mặt có vân, xung quanh có 5 đến 6 tế bào xếp tỏa ra. Lỗ khí có 4 đến 5 tế bào kèm nhỏ hơn. Lông che chở đa bào và tế bào tiết. Hạt tinh bột hình trứng, có khi tròn hay hình chuông dài 40 µm, rộng khoảng 36 µm. Mảnh thân gồm các tế bào hình chữ nhật thành mỏng và tế bào tiết. Mảnh mạch xoắn.

Định tính
A. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại (366 nm), thân và bột lá phát quang màu nâu hung.
B. Cho 1 g bột dược liệu vào ống nghiệm, dùng dũa thủy tinh ấn chặt xuống, thêm vài giọt *dung dịch fuchsin đã khử màu* để làm ướt bột ở phía trên, để yên một lúc. Nhìn qua ống nghiệm thấy bột ướt có màu hồng hoặc màu tím đỏ.
C. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ethanol (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 10 min, lọc. Lấy 2 ml dịch lọc, thêm ít bột *magnesi (TT)* và 3 giọt *acid hydrocloric (TT)*, đun nóng trên cách thủy, sẽ xuất hiện màu đỏ.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % đối với dược liệu khô (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần
Không quá 14,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Thân rễ và tạp chất khác không quá 2,0 % (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ vụn nát
Qua rây có kích thước mắt rây 3,15 mm: Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.12).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 11,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Định lượng
Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Dược liệu phải chứa ít nhất 0,08 % tinh dầu tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Có thể thu hái lá quanh năm, nhưng tốt nhất là thu hái lá vào mùa hạ, khi cây xanh tốt có nhiều cụm qua. Lúc trời khô ráo cắt lấy phần trên mặt đất, loại bỏ gốc rễ, phơi hoặc sấy khô nhẹ.

Bào chế
Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, cắt đoạn, phơi khô.

Bảo quản
Nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh
Vị cay, chua, mùi tanh, tính mát. Vào kinh phế.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt giải độc, bài nùng, tiêu sưng. Chủ trị: Phế ung, phế nhiệt, thực nhiệt lỵ, nhiệt lâm, mụn nhọt, đau mắt, trĩ, kinh nguyệt không đều.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 15 g đến 25 g dược liệu khô, sắc nhanh; hoặc từ 30 g đến 50 g dược liệu tươi sắc hoặc giã vắt lấy nước uống.
Dùng ngoài lượng thích hợp, giã nát đắp tại chỗ hoặc sắc lấy nước để xông hoặc rửa vết thương.

DIỆP HẠ CHÂU

Herba Phyllanthi urinariae

Chó đẻ răng cưa

Toàn cây tươi hoặc đã phơi sấy khô của cây Chó đẻ răng cưa (*Phyllanthus urinaria* L.), họ Thầu dầu (Euphorbiaceae).

Mô tả
Cây cao khoảng 30 cm, thân gần như nhẵn, mang nhiều cành nhỏ màu hơi tía. Lá mọc so le xếp thanh hai dãy sít nhau trông như lá kép lông chim. Phiến lá thuôn bầu dục hay trái xoan ngược, dài 5 mm đến 15 mm, đầu nhọn hay hơi tù, màu xanh sẫm ở mặt trên, xanh nhạt ở mặt dưới, không cuống hay có cuống rất ngắn. Hoa màu trắng mọc ở dưới lá, đơn tính, hoa đực hoa cái cùng gốc, hoa đực ở đầu cành, hoa cái ở dưới. Hoa không có cuống hoặc có cuống rất ngắn. Quả nang hình cầu, đường kính có thể tới 2 mm, sần sùi, nằm sát dưới lá. Quả có sáu hạt. Hạt hình tam giác màu nâu nhạt, lưng hạt có vân ngang.

Vi phẫu
Thân: Vi phẫu có thiết diện tròn, có 2 đến 3 góc lồi không đều nhau. Biểu bì gồm 1 lớp tế bào hình chữ nhật, dẹt, nằm ngang không đều nhau. Mô mềm vỏ gồm những tế bào hình tròn hay hình bầu dục xếp ngang, không đều, xếp chừa những khe nhỏ, có chứa ít tinh bột. Một vài tinh thể calci oxalat hình khối trong mô mềm tủy.
Gân lá: Gân giữa mặt dưới lồi nhiều, mặt trên hơi lồi. Không có mô mềm giậu như *P. amarus*. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai rất nhiều, tập trung ở vùng mô mềm ngay dưới sợi.
Phiến lá: Biểu bì trên là những tế bào hình chữ nhật dẹt. Lỗ khí kiểu song bào. Lông che chở đa bào (2 tế bào), ngắn, vách dày ở sát mép lá.

Bột
Bột màu xanh, có vị hơi đắng. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì gồm những tế bào thành mỏng hình chữ nhật. Lông che chở đa bào. Mảnh mô mềm gồm những tế bào đa giác thành mỏng. Một vài đám tế bào mô mềm đang phân hóa thành mô dày (thành hơi dày lên ở góc). Bó sợi dài. Mảnh mạch chấm và mạch xoắn. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai.

Định tính
A. Lấy 5 g dược liệu, tán nhỏ, thêm 50 ml *ethanol 90 % (TT)*, lắc đều rồi đun hồi lưu trong cách thủy 30 min. Lọc, cô dịch lọc trong cách thủy còn 10 ml, để nguội, chuyển vào 2 ống nghiệm mỗi ống 2 ml để làm các phản ứng sau đây:
Ống 1: Thêm 4 giọt đến 5 giọt *acid hydrocloric (TT)*, thêm tiếp một ít bột *magnesi (TT)*, xuất hiện màu đỏ.
Ống 2: Thêm 3 giọt đến 4 giọt *dung dịch sắt (III) cloríd 9 % (TT)*, xuất hiện màu xanh tím.
B. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 5 ml *nước*, đun sôi, lọc. Lấy 2 ml đến 3 ml dịch lọc đã để nguội, thêm 1 giọt đến 2 giọt *dung dịch gelatin 2 % (TT)*, xuất hiện tủa bông.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Cloroform - ethyl acetat (9 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 4 g bột dược liệu vào bình nón nút mài, thêm 25 ml *cloroform (TT)*, lắc siêu âm 15 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)* được dung dịch chấm sắc ký.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 4 g bột Diệp hạ châu (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*, sấy bản mỏng ở 120 °C đến khi hiện rõ vết. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng thường hoặc dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 366 nm. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % đối với dược liệu khô (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 4 h).

Tỷ lệ vụn nát
Qua rây có kích thước mắt rây 3,15 mm: Không quá 8,0 % (Phụ lục 12.12).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 7,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hái quanh năm nhưng tốt nhất là vào vụ hè thu, đem về rửa sạch dùng tươi. Có thể cắt từng đoạn phơi khô; hoặc rửa sạch cả cây, phơi gần khô rồi bó lại, phơi âm can tiếp đến khô, khi dùng loại bỏ tạp chất, rửa qua nước, cắt đoạn 5 cm đến 6 cm phơi khô. Có thể lấy lá ép lại thành bánh.

Bảo quản
Để nơi khô, tránh ẩm, mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Cam, khổ, lương. Vào các kinh can, phế.

Công năng, chủ trị
Tiêu độc, sát trùng, tiêu viêm, tán ứ, thông huyết. Chủ trị: Viêm họng, mụn nhọt, viêm da thần kinh, chàm, sản hậu ứ huyết đau bụng.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 8 g đến 20 g dược liệu khô, dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ
Phụ nữ có thai không dùng.

DIỆP HẠ CHÂU ĐẮNG

Herba Phyllanthi amari

Chó đẻ răng cưa thân xanh

Toàn cây tươi hoặc đã phơi hay sấy khô của cây Diệp hạ châu đắng (*Phyllanthus amarus* Schum. et Thonn.), họ Thầu dầu (Euphorbiaceae).

Mô tả
Cây cao 40 cm đến 80 cm, thân tròn, bóng, màu xanh, phân nhánh đều, nhiều. Lá mọc so le xếp thành 2 dãy sít nhau trông như lá kép hình lông chim. Phiến lá hình bầu dục, dài từ 5 mm đến 10 mm, rộng 3 mm đến 6 mm, màu xanh sẫm ở mặt trên, màu xanh nhạt ở mặt dưới. Hoa đực và hoa cái mọc thành cụm. Hoa đực có cuống ngắn 1 mm đến 2 mm, đài 5, có tuyến mật, nhị 3, chỉ nhị dính nhau. Hoa cái có cuống dài hơn hoa đực. Quả nang, nhẵn, hình cầu, đường kính 1,8 mm đến 2 mm, có đài tồn tại. Chứa 6 hạt hình tam giác, đường kính 1 mm, hạt có sọc dọc ở lưng.

Vi phẫu
Thân: Vi phẫu có thiết diện tròn, không có góc lồi. Từ ngoài vào trong gồm lớp cutin mỏng có răng cưa, đôi khi tạo thành những u lồi nhỏ. Biểu bì gồm 1 lớp tế bào hình chữ nhật nằm ngang không đều nhau. Mô dày gồm 1 đến 2 lớp tế bào hình tròn hay hình bầu dục. Mô mềm vỏ gồm những tế bào hình tròn hay hình bầu dục không đều, xếp chừa những khe nhỏ, có chứa ít tinh bột và tinh thể calci oxalat hình khối. Trụ bì gồm 3 đến 5 lớp tế bào, hóa mô cứng thành những cụm rời nhau, mỗi cụm gồm tế bào mô cứng và sợi. Libe và gỗ xếp thành vòng liên tục. Mô mềm tủy gồm những tế bào hình đa giác gần như tròn, xếp chừa những khe nhỏ, có rất ít tinh bột, không có tinh thể calci oxalat.
Gân lá: Gân giữa mặt dưới lồi rõ, mặt trên gần như phẳng, biểu bì trên là một lớp tế bào hình chữ nhật và gần đều nhau, lớp cutin mỏng có răng cưa rất nhỏ. Mô dày tròn ít rõ. Dưới mô dày có một lớp tế bào mô giậu. Mô mềm gồm những tế bào hình tròn, xếp chừa những khe nhỏ. Libe và gỗ cấu tạo cấp 1 xếp thành hình cung, gỗ ở trên, libe ở dưới. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai trong mô mềm ngay dưới libe.
Phiến lá: Biểu bì trên là những tế bào hình bầu dục không đều nhau, lớp cutin mỏng, có răng cưa rất nông. Tế bào biểu bì dưới có hình chữ nhật nằm ngang hơi dẹt hơn tế bào biểu bì trên. Lỗ khí có nhiều ở biểu bì dưới và ít hơn ở biểu bì trên, lỗ khí kiểu hỗn bào hay dị bào, ít song bào với 2 tế bào bạn không đều nhau. Chỉ số lỗ khí $X \geq 20$. Mô mềm giậu là một lớp tế bào, chiếm gần nửa chiều dày phiến lá. Mô mềm khuyết gồm những tế bào không đều, vách uốn lượn nhiều, xếp chừa những khuyết to. Một vài tinh thể calci oxalat hình lăng trụ trong mô mềm giậu.

Bột
Bột màu xanh, vị rất đắng. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì mang lỗ khí, bó sợi dài, mảnh mô mềm tế bào đa giác, thành mỏng, mảnh mạch vạch, mạch xoắn.

Định tính
A. Lấy 5 g dược liệu, tán nhỏ, thêm 50 ml *ethanol 90 % (TT)*, lắc đều rồi đun hồi lưu trong cách thủy 30 min. Lọc, cô cách thủy còn 10 ml, để nguội, chuyển vào 2 ống nghiệm mỗi ống 2 ml để làm các phản ứng sau đây:
Ống 1: Thêm 4 giọt đến 5 giọt *acid hydrocloric (TT)*, rồi thêm tiếp một ít bột *magnesi (TT)*, xuất hiện màu đỏ.
Ống 2: Thêm 3 giọt đến 4 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 9 % (TT)*, xuất hiện màu xanh tím.
B. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 5 ml nước, đun sôi trong vài phút rồi lọc. Lấy 2 ml dịch lọc đã nguội thêm 2 giọt đến 3 giọt *dung dịch gelatin 1 % (TT)*, xuất hiện tủa bông trắng.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: n-Hexan - ethyl acetat (2 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 4 g bột dược liệu vào bình nón nút mài, thêm 25 ml *cloroform (TT)*, lắc siêu âm 15 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)* được dung dịch chấm sắc ký.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan phyllanthin chuẩn trong *ethanol (TT)* để được dung dịch đối chiếu có nồng độ khoảng 2 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Lấy 4 g bột Diệp hạ châu đắng (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*, sấy bản mỏng ở 120 °C đến khi hiện rõ vết. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng thường hoặc dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 366 nm. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng giá trị R_f và màu sắc với vết của phyllanthin trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu và có các vết cùng màu sắc, giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % đối với dược liệu khô (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 20,0 % (Phụ lục 9.8).

Tỷ lệ vụn nát
Qua rây có kích thước mắt rây 3,15 mm: Không quá 8,0 % (Phụ lục 12.12).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 7,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Methanol (TT).
Pha động B: Dung dịch acid phosphoric 0,1 %.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan phyllanthin chuẩn trong *methanol 90 % (TT)* để được dung dịch chuẩn có nồng độ chính xác khoảng 30 µg/ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 2 g bột dược liệu (qua rây số 355) vào bình nón nút mài có dung tích 100 ml, thêm chính xác 20,0 ml *methanol 90 % (TT)*, đậy nắp, cân xác định khối lượng. Lắc siêu âm trong 30 min, để nguội, cân lại và bổ sung khối lượng mất đi bằng *methanol 90 % (TT)*, lắc đều, lọc qua giấy lọc, bỏ 5 ml dịch lọc đầu. Hút chính xác 1,0 ml dịch lọc sau vào bình định mức 25 ml, thêm *methanol 90 % (TT)* đến vạch, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.
Tốc độ dòng: 1,3 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi sau đây (có thể điều chỉnh tỷ lệ nếu cần):

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 – 25	65	35
25 – 26	65 → 80	35 → 20
26 – 34	80	20
34 – 35	80 → 65	20 → 35
35 – 45	65	35

Tiêm riêng biệt dung dịch chuẩn, dung dịch thử. Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{24}H_{34}O_6$ của phyllanthin chuẩn, tính hàm lượng của phyllanthin ($C_{24}H_{34}O_6$) trong dược liệu.
Dược liệu phải chứa ít nhất 0,5 % phyllanthin ($C_{24}H_{34}O_6$), tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hái quanh năm nhưng tốt nhất vào vụ hè thu. Thu hái về rửa sạch, dùng tươi hoặc cắt đoạn phơi khô, hoặc lấy lá ép thành bánh.

Bảo quản
Để nơi khô mát, tránh ẩm, mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Vị khổ, lương. Vào kinh phế, thận.

Công năng, chủ trị
Tiêu độc, sát trùng, tán ứ, thông huyết, lợi tiểu. Chủ trị: Viêm gan, vàng da, sốt, đau mắt, tiểu tiện bí, rắt, tắc sữa, kinh bế, hoặc mụn nhọt, lở ngứa ngoài da. Rắn cắn.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 8 g đến 16 g, sắc uống.
Dùng ngoài: Lấy cây tươi giã nát, đắp vào chỗ lở loét hoặc vết thương do côn trùng cắn. Lượng thích hợp.

DỪA CẠN (Lá)
Folium Catharanthi rosei

Lá phơi hay sấy khô của cây Dừa cạn [*Catharanthus roseus* (L.) G. Don], họ Trúc đào (Apocynaceae).

Mô tả
Lá nguyên hình bầu dục hẹp, màu lục xám hay lục nhạt, đầu hơi nhọn, gốc lá thuôn hẹp. Phiến lá dài 3,5 cm đến 5 cm, rộng 1,5 cm đến 3 cm. Gân hình lông chim, lồi ở mặt dưới lá. Cuống dài 0,3 cm đến 0,7 cm. Mùi hắc, vị đắng.

Vi phẫu
Biểu bì trên và dưới gồm 1 lớp tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn, mang 2 loại lông che chở: Lông che chở đa bào dài gồm 2 tế bào đến 5 tế bào (thường là 2), tế bào chân ngắn, tế bào đầu dài nhọn và loại lông che chở đơn bào ngắn.
Phần gân chính: Dưới lớp tế bào biểu bì trên là đám mô dày góc. Mô mềm gồm những tế bào thành mỏng, kích thước không đều, giữa các tế bào mô mềm để hở những khoảng gian bào hình ba cạnh. Bó libe-gỗ chồng kép hình cung xếp giữa gân lá gồm những đám libe tế bào nhỏ, xếp thành 2 cung bao bọc lấy cung gỗ. Mạch gỗ xếp đều đặn.
Phần phiến lá gồm một hàng tế bào mô dậu xếp đều đặn và mô mềm khuyết tế bào nhỏ thành mỏng, xếp không đều.

Bột
Mảnh biểu bì mang lỗ khí và lông che chở đa bào, đôi khi đơn bào. Lỗ khí có ba tế bào phụ hình dạng thay đổi, thường có một tế bào nhỏ hơn 2 tế bào kia. Mảnh gân lá gồm tế bào thành mỏng, hình chữ nhật. Rải rác có lông che chở 2 đến 5 tế bào, bề mặt lấm tấm. Mảnh mô mềm dậu, mô mềm khuyết. Mảnh mạch vạch, mạch mạng.

Định tính
Lấy 3 g bột dược liệu cho vào một bình nón, thấm ẩm đều với 2 ml *amoniac đậm đặc (TT)*. Thêm 30 ml *cloroform (TT)*, để yên 30 min, thỉnh thoảng lắc đều. Lọc, dịch lọc cho vào bình gạn, lắc với 5 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* trong 2 đến 5 min. Để lắng, gạn lấy phần dung dịch acid cho vào 4 ống nghiệm, mỗi ống 0,5 ml để làm các phản ứng sau:

Ống 1: Thêm 2 giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, xuất hiện tủa trắng.
Ống 2: Thêm 2 giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)*, xuất hiện tủa đỏ cam.
Ống 3: Thêm 2 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)*, xuất hiện tủa nâu.
Ống 4: Thêm 2 giọt *dung dịch acid picric(TT)*, xuất hiện tủa vàng.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 3,0 % (Phụ lục 9.8).

Tỷ lệ vụn nát
Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 4,0 % (Phụ lục 12.12).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Tạp chất vô cơ: Không quá 0,5 %.
Bộ phận khác của cây: Không quá 3,0 %.
Tỷ lệ lá màu đen cháy: Không quá 1,0 %.

Định lượng
Cân chính xác khoảng 15 g bột dược liệu (qua rây số 355), cho vào bình nón 250 ml có nút mài, thấm ẩm đều với 5 ml *amoniac (TT)*. Thêm chính xác 150 ml *cloroform (TT)*, lắc mạnh, để qua đêm. Lọc. Lấy chính xác 100 ml dịch lọc tương ứng với 10 g bột dược liệu, chiết với *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* 4 lần, mỗi lần 10 ml. Gộp các dịch chiết acid rồi kiềm hóa bằng *amoniac (TT)* đến pH 10, lắc với *cloroform (TT)* 4 lần (3 lần đầu mỗi lần dùng 15 ml, lần thứ 4 dùng 10 ml). Sau đó cho thêm *amoniac (TT)* đến pH 11 đến 12 rồi lắc tiếp với *cloroform (TT)* 4 lần như trên. Gộp các dịch chiết cloroform, loại nước bằng *natri sulfat khan (TT)*, rửa dịch lọc và natri sulfat bằng 10 ml *cloroform (TT)*, gộp dịch rửa và dịch chiết cloroform, cất thu hồi bớt dung môi rồi chuyển vào một bình đã xác định khối lượng. Bốc hơi dung môi cho tới khô. Làm khô trong bình hút ẩm chứa silica gel đến khối lượng không đổi và cân. Tính lượng alcaloid toàn phần có trong dược liệu.
Dược liệu phải chứa không ít hơn 0,7 % alcaloid toàn phần tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hái lá trước khi cây có hoa, phơi hoặc sấy nhẹ đến khô.

Bảo quản
Để nơi khô, mát, tránh mốc.

Tính vị, quy kinh
Vị hàn, lương, có độc. Vào các kinh tâm, can.

Công năng, chủ trị
Hoạt huyết, tiêu thũng giải độc, an thần hạ áp. Chủ trị: Tăng huyết áp, tiểu đường, kinh nguyệt không đều, lỵ, bí tiểu.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 8 g đến 16 g, dạng thuốc sắc.

DỪA CẠN (Rễ)
Radix Catharanthi rosei

Rễ phơi hay sấy khô của cây Dừa cạn [*Catharanthus roseus* (L.) G. Don], họ Trúc đào (Apocynaceae).

Mô tả
Rễ cong queo hoặc thẳng, dài 10 cm đến 20 cm, đường kính 1 cm đến 2 cm, phía trên có đoạn gốc thân dài 3 cm đến 5 cm, phía dưới có nhiều rễ con nhỏ. Mặt ngoài hơi nhẵn, có màu nâu vàng, đoạn thân màu xám có vết sẹo của cành con. Rễ cứng khó bẻ, mặt bẻ lởm chởm. Mặt cắt ngang có màu trắng ngà, không mùi, vị đắng.

Vi phẫu
Mặt cắt ngang có hình tròn. Ngoài cùng là lớp bần rất dày, cấu tạo bởi nhiều hàng tế bào hình chữ nhật. Mô mềm vỏ gồm các tế bào thành mỏng, xếp đồng tâm, các tế bào thường bị dồn ép lại. Libe gồm các bó xếp liền nhau tạo thành vòng bao quanh gỗ. Tầng phát sinh libe-gỗ gồm một lớp tế bào. Phần gỗ có nhiều mạch gỗ xếp thành hàng sát nhau.

Bột
Bột có màu vàng nhạt, không mùi, vị đắng. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh bần, sợi đứng riêng lẻ hay xếp thành bó, mảnh mô mềm có chứa tinh bột, mảnh mạch điểm. Các hạt tinh bột đơn hoặc kép đôi, kép ba, đường kính 0,01 mm đến 0,015 mm.

Định tính
A. Lấy 5 g bột dược liệu cho vào bình nón nút mài, làm ẩm bột dược liệu bằng *amoniac đậm đặc (TT)* trong 30 min, thêm 25 ml *cloroform (TT)*, lắc kỹ trong 30 min, lọc vào bình gạn, chiết 3 lần bằng *dung dịch acid hydrocloric 2 % (TT)*, mỗi lần 5 ml. Lấy dịch chiết acid (dung dịch A) để làm phản ứng sau:
Lấy 4 ml dung dịch A cho vào 4 ống nghiệm, mỗi ống 1 ml.
Ống 1: Thêm 2 giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, xuất hiện tủa vàng nhạt.
Ống 2: Thêm 2 giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)*, xuất hiện tủa đỏ cam.
Ống 3: Thêm 2 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)*, xuất hiện tủa nâu nhạt.
Ống 4: Thêm 2 giọt *dung dịch acid picric (TT)*, xuất hiện tủa vàng.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol (19 : 1).
Dung dịch thử: Chuyển dung dịch A còn lại ở trên vào bình gạn, kiềm hóa bằng *amoniac đậm đặc (TT)* tới pH 9 đến 10, lắc với *cloroform (TT)* 2 lần, mỗi lần 5 ml. Gộp các dịch chiết cloroform, cô trên cách thủy tới còn khoảng 5 ml dùng làm dung dịch thử.

Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan ajmalicin chuẩn trong hỗn hợp dung môi *cloroform - methanol* (1 : 1) để được dung dịch có nồng độ 0,5 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có chất chuẩn thì dùng 5 g bột rễ Dừa cạn (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, phun *thuốc thử Dragendorff (TT)*. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng giá trị R_f và màu sắc với vết ajmalicin trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 2 g, 100 °C đến 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng
Cân chính xác khoảng 5 g bột dược liệu (qua rây số 1000) cho vào bình Soxhlet, thêm 300 ml *methanol (TT)*, chiết liên tục 5 h đến 6 h ở nhiệt độ 70 °C đến 80 °C cho kiệt alcaloid (Phụ lục 12.3, dùng thuốc thử Dragendorff), cất thu hồi methanol dưới áp suất giảm tới cắn, hòa tan cắn với *dung dịch acid sulfuric 2 % (TT)* 6 lần, lần đầu 50 ml, 5 lần sau mỗi lần 20 ml. Gộp các dịch chiết acid, lắc với *cloroform (TT)* 3 lần, mỗi lần 30 ml. Bỏ dịch cloroform. Kiềm hóa phần dịch chiết acid bằng *amoniac (TT)* tới pH 10, chiết lấy alcaloid toàn phần bằng cách lắc với *cloroform (TT)* 6 lần, mỗi lần 30 ml. Gộp các dịch chiết cloroform và lọc qua phễu lọc có *natri sulfat khan (TT)*, rửa natri sulfat bằng 5 ml *cloroform (TT)*, gộp dịch lọc và dịch rửa, cất thu hồi cloroform tới cắn, sấy cắn ở 105 °C trong 1 h. Hòa tan cắn trong hỗn hợp dung môi gồm 10 ml *cloroform khan (TT)* và 10 ml *acid acetic khan (TT)*. Thêm 1 giọt đến 2 giọt *dung dịch tím tinh thể (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,01 N (CĐ)* đến khi dung dịch có màu xanh lam hết ánh tím.
1 ml *dung dịch acid percloric 0,01 N (CĐ)* tương ứng với 3,5242 mg alcaloid toàn phần tính theo ajmalicin.
Hàm lượng alcaloid toàn phần trong dược liệu được tính theo công thức:

$$X\ (\%) = \frac{V \times 3{,}5242 \times k \times 10}{a(100\text{-}b)}$$

Trong đó:
V là thể tích *dung dịch acid percloric 0,01 N (CĐ)* (ml);
k là hệ số điều chỉnh của dung dịch chuẩn độ;
a là lượng bột dược liệu đem định lượng (g);
b là độ ẩm của dược liệu (%);
Dược liệu phải chứa ít nhất 0,7 % alcaloid toàn phần tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu lấy rễ, rửa sạch đất cát, phơi hoặc sấy ở 50 °C tới khô.

Bảo quản
Để nơi khô ráo, thoáng mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Vị khổ, lương, có độc. Vào các kinh can, tâm, thận.

Công năng, chủ trị
Hoạt huyết, hạ huyết áp, giải độc, an thần. Chủ trị: Tăng huyết áp, bệnh bạch cầu, làm nguyên liệu chiết xuất một số alcaloid trị một số bệnh ung thư.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 8 g đến 12 g. Dạng thuốc sắc hoặc hãm.

Kiêng kỵ
Có thai không dùng.

ĐẠI (Hoa)
Flos Plumeriae rubrae
Bông sứ, Hoa sứ trắng

Hoa đã phơi hoặc sấy nhẹ đến khô của cây Đại [*Plumeria rubra* L. var. *acutifolia* (Aiton) Woodson], họ Trúc đào (Apocynaceae).

Mô tả
Hoa dài 4 cm đến 5 cm, 5 cánh mỏng màu trắng ở phía ngoài và vàng chanh ở dưới, phía trong. Khi khô chuyển thành màu nâu đất, rất nhẹ, quăn queo, đôi khi cánh hoa xoắn lại. Mùi thơm nhẹ.

Bột
Bột màu nâu, mùi thơm, vị hơi ngọt. Soi kính hiển vi thấy: Hạt phấn hình cầu, đường kính khoảng 25 µm, màu vàng nhạt, có 3 lỗ nảy mầm rõ. Mảnh biểu bì cánh hoa gồm những tế bào thành mỏng hình xoắn. Phần ống hoa có lông che chở một tế bào, mặt lông có nhiều nốt lấm tấm. Mảnh biểu bì đài hoa gồm các tế bào hình nhiều cạnh, thành mỏng, rải rác có các bó mạch xoắn.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Ether dầu hỏa - ethyl acetat - acid formic* (7,5 : 2,5 : 0,1).
Dung dịch thử: Lấy phần bã của 5 g bột dược liệu sau khi chiết với *ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C) (TT)*, hoặc *n-hexan (TT)* (bã ở phần B mục Định lượng) đã được làm khô, tẩm với 5 ml *dung dịch amoniac 25 % (TT)*, đậy kín và để yên trong 30 min. Chiết với *cloroform (TT)* trong bình Soxhlet trong 2 h kể từ khi sôi dung môi. Cô thu hồi

dung môi đến cắn khô. Hòa cắn với 10 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*, lọc, kiềm hóa dịch lọc bằng *dung dịch amoniac 10 % (TT)* đến pH 10 đến 11. Chiết với 25 ml *cloroform (TT)*. Gạn và lọc dịch chiết cloroform qua *natri sulfat khan (TT)*. Cô thu hồi dung môi đến còn lại cắn khô. Hòa cắn với 1 ml *cloroform (TT)*.

Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan ajmalin chuẩn trong *cloroform (TT)* để được dung dịch có nồng độ 0,1 mg/ml.

Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có ajmalin, dùng phần bã của 5 g hoa Đại (mẫu chuẩn) sau khi đã chiết bằng *ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C)* hoặc *n - hexan (TT)* như phần B của mục Định lượng, tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí, phun *thuốc thử Dragendorff (TT)*. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu và giá trị R_f với vết ajmalin của dung dịch chất đối chiếu hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 4 h).

Tạp chất

Tỷ lệ hoa màu đen: Không quá 0,5 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không quá 7,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 1,5 % (Phụ lục 9.7).

Định lượng

A. Alcaloid toàn phần: Cân chính xác khoảng 5 g bột dược liệu (qua rây số 355), song song tiến hành xác định độ ẩm. Tẩm bột dược liệu với 5 ml *dung dịch amoniac 25 % (TT)*, đậy kín và để yên trong 30 min, chiết với *cloroform (TT)* bằng bình Soxhlet trong 2 h kể từ khi sôi dung môi. Cô thu hồi dung môi đến cắn khô. Hòa cắn với 10 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*, lọc. Tráng rửa bình và giấy lọc bằng 10 ml *dung dịch acid sulfuric 1 % (TT)*. Tiếp tục rửa bằng 5 ml *nước*. Gộp dịch lọc và dịch rửa lại, kiềm hóa bằng *dung dịch amoniac 10 % (TT)* đến pH 10 đến 11. Chiết bằng *cloroform (TT)*, lần lượt với 25 ml, 20 ml, 15 ml, 10 ml. Gạn và lọc dịch chiết cloroform qua *natri sulfat khan (TT)* vào một bình đã cân để xác định khối lượng và làm khô đến khối lượng không đổi, rửa giấy lọc và natri sulfat khan bằng 10 ml *cloroform (TT)*. Gộp dịch chiết và dịch rửa, cô thu hồi dung môi đến cắn. Sấy khô cắn ở 80 °C đến khối lượng không đổi, cân. Tính lượng alcaloid toàn phần chiết được theo công thức:

$$X\,(\%) = \frac{a \times 10000}{b \times (100\text{-}c)}$$

Trong đó:

a là cắn chiết được (g);

b là khối lượng mẫu thử (g);

c là độ ẩm của dược liệu.

Lượng alcaloid toàn phần trong dược liệu phải đạt từ 0,08 % đến 0,13 % tính theo dược liệu khô kiệt.

B. Chất chiết được bằng n-hexan hoặc ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C): Cân chính xác khoảng 5 g bột dược liệu (qua rây số 355), song song tiến hành xác định độ ẩm. Chiết với *n-hexan (TT)* hoặc *ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C) (TT)* trong bình Soxhlet trong 2 h kể từ khi dung môi sôi. Lọc dịch chiết vào một bình đã biết trước khối lượng và được làm khô trong bình hút ẩm đến khối lượng không đổi. Cô thu hồi dung môi đến cắn. Sấy cắn ở 50 °C đến khô rồi giữ ở bình hút ẩm đến khối lượng không đổi. Cân, tính lượng chất chiết được theo công thức ở mục A, phần Định lượng. Lượng chất chiết được không ít hơn 5,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch vào tháng 5 đến tháng 8, hái hoa nở, đem phơi hoặc sấy ở 40 °C đến 50 °C đến khô.

Bảo quản

Để nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh

Khổ, bình. Vào các kinh phế.

Công năng, chủ trị

Nhuận tràng, hóa đờm chỉ ho, hạ huyết áp. Chủ trị: Táo bón, đi lỵ có mũi máu, sốt, ho, phổi yếu có đờm, huyết áp cao, phù thũng, bí tiểu tiện.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 4 g đến 12 g, dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ

Người bệnh suy nhược toàn thân, ỉa chảy, phụ nữ mang thai kiêng dùng.

ĐẠI HOÀNG (Thân rễ)

Rhizoma Rhei

Thân rễ đã cạo bỏ vỏ phơi hay sấy khô của các loài Đại hoàng (*Rheum palmatum* L., *Rheum officinale* Baill.), hoặc giống lai của hai loài trên, họ Rau răm (Polygonaceae).

Mô tả

Dược liệu là thân rễ hình trụ, hình nón, dạng cầu hay méo mó không đều, dài 3 cm đến 17 cm, đường kính 3 cm đến 10 cm hay những phiến mỏng, bề rộng có thể tới 10 cm hay hơn. Thân rễ có mặt ngoài màu nâu vàng hay nâu đỏ, đôi khi có những đám đen nhạt. Vết bẻ màu đỏ cam, có hạt lốn nhốn. Dạng phiến có màu vàng nâu có thể có những sọc đen, mềm, sờ hơi dính tay. Mùi đặc trưng, vị đắng và chát.

Vi phẫu

Mô mềm vỏ hẹp, libe ít phát triển, tầng sinh libe-gỗ có 3 đến 5 hàng tế bào, phía trong là phần gỗ xếp tỏa tròn. Phần ruột rộng có cấu tạo cấp ba được hình thành nhờ những tầng phát sinh phụ xuất hiện dưới dạng vòng tròn nhỏ sinh ra libe ở giữa và gỗ ở xung quanh. Các đám libe-gỗ cấp ba này có các tia ruột tỏa ra giống như những hình sao rất đặc biệt. Mô mềm có chứa tinh bột và tinh thể calci oxalat hình cầu gai.

Bột

Bột màu vàng nâu, mùi đặc trưng, vị đắng, chát. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh tế bào chứa chất màu vàng, tế bào mô mềm hình nhiều cạnh chứa hạt tinh bột, mảnh mạch mạng. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai từ 50 µm đến 200 µm. Hạt tinh bột đơn hay kép hình đĩa hay đa giác, có rốn hình sao. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm bột có huỳnh quang màu nâu.

Định tính

A. Đun sôi 0,1 g bột dược liệu với 5 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* trong 2 min. Để nguội, lắc kỹ hỗn hợp với 10 ml *ether ethylic (TT)*. Tách riêng lớp ether vào một bình gạn và lắc với 5 ml *dung dịch amoniac 10 % (TT)*. Lớp dung dịch amoniac sẽ có màu đỏ tím.

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

Bản mỏng: Silica gel G

Dung môi khai triển: Toluen - ethylacetat - methanol - acid formic - nước (30 : 10 : 2 : 0,5 : 5) (lắc kỹ, để tách lớp, lấy lớp trên).

Dung dịch thử: Lấy 1,0 g bột dược liệu, thêm 50 ml *methanol (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy trong 2 h, lọc, cô trên cách thủy đến cạn. Thêm vào cắn 20 ml *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)* và 20 ml *cloroform (TT)*, đun hồi lưu trong cách thủy trong 2 h, để nguội. Chuyển dịch thu được vào bình gạn, gạn lấy lớp cloroform. Lớp nước còn lại lắc với *cloroform (TT)* thêm 2 lần nữa, mỗi lần 20 ml. Gộp các dịch chiết cloroform ở trên, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn thu được trong 5 ml *ethanol (TT)* được dung dịch chấm sắc ký.

Dung dịch chất đối chiếu: Hoà tan emodin chuẩn trong *ethanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 0,3 mg/ml.

Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có emodin chuẩn, lấy 1,0 g bột Đại hoàng (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl dung dịch chất đối chiếu, 10 µl dung dịch thử và 10 µl dung dịch dược liệu đối chiếu. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết huỳnh quang màu vàng, có cùng giá trị R_f với vết emodin trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu; hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu. Các vết huỳnh quang vàng chuyển thành màu hồng khi hơ trong hơi amoniac.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 6 h).

Tro toàn phần

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Isopropyl ether - 1-butanol - methanol (27 : 6 : 6).

Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu vào bình nón, thêm 10 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun hồi lưu 10 min, để nguội, lọc lấy dịch lọc.

Cách tiến hành: Chấm lên bản mỏng 10 µl dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Không được có vết phát huỳnh quang màu tím xanh ở khoảng R_f = 0,3 đến 0,6. Có thể có vết màu lơ nhạt.

Kim loại nặng

Không quá 10 phần triệu.

Dung dịch thử: Lấy 3,0 g bột dược liệu cho vào một chén bằng sứ hoặc thạch anh, có nắp đậy. Đốt từ từ để than hóa hoàn toàn. Để nguội, thêm 1 ml hỗn hợp (pha trước khi dùng) gồm *acid nitric (TT)* và *acid hydrocloric (TT)* (1 : 3), bốc hơi tới khô trên cách thủy. Làm ẩm cắn bằng 3 giọt *acid hydrocloric (TT)*, thêm 10 ml *nước* nóng và làm ẩm trong 2 min. Sau đó, thêm 1 giọt *dung dịch phenolphtalein (TT)*, thêm từng giọt *amoniac đậm đặc (TT)* cho đến khi dung dịch xuất hiện màu đỏ nhạt, thêm 2 ml *acid acetic loãng (TT)*, lọc (nếu cần), rửa phễu và cắn bằng 10 ml *nước*. Chuyển dịch lọc và dịch rửa vào ống thử Nessler, thêm *nước* vừa đủ 50 ml.

Dung dịch đối chiếu: Bốc hơi đến khô trên cách thủy 1 ml hỗn hợp (pha trước khi dùng) gồm 1 thể tích *acid nitric (TT)* và 3 thể tích *acid hydrocloric (TT)*. Tiếp tục tiến hành như chỉ dẫn với dung dịch thử, sau đó thêm 3,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 50 ml.

Cách tiến hành: Thêm 1 giọt *dung dịch natri sulfid (TT_1)* vào dung dịch thử và dung dịch đối chiếu, lắc mạnh, để yên 5 min. So sánh màu của 2 ống nghiệm bằng cách nhìn dọc ống hoặc quan sát trên nền trắng. Dung dịch thử không được đậm màu hơn dung dịch đối chiếu.

Arsen

Không quá 5 phần triệu.

Lấy 0,4 g bột dược liệu vào một chén bằng sứ hoặc thạch anh có nắp đậy, thêm 10 ml dung dịch *magnesi nitrat hexahydrat (TT)* 2 % trong *ethanol 96 % (TT)*, đốt cho hết ethanol, nung nóng từ từ cho đến khi than hóa, nếu chưa than hóa hoàn toàn thì làm ẩm cắn bằng một lượng nhỏ *acid nitric (TT)*, tiếp tục nung tương tự như trên cho

đến khi than hóa hoàn toàn. Để nguội, thêm 3 ml *acid hydrocloric (TT)*, hòa tan cắn bằng cách đun nóng trên cách thủy. Lấy dung dịch này tiếp tục tiến hành thử theo phương pháp A, Phụ lục 9.4.2, dùng 2 ml *dung dịch arsen mẫu 1 phần triệu As (TT)*.

Chất chiết được trong dược liệu

Không được ít hơn 30,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 50 % (TT)* làm dung môi.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Methanol - dung dịch acid phosphoric 0,1 % (TT)* (85 : 15).

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,15 g bột dược liệu (qua rây số 250) vào bình nón nút mài 100 ml, thêm chính xác 25 ml *methanol (TT)*, đậy kín, cân. Đun sôi hồi lưu trong cách thủy 1 h, để nguội, cân và bổ sung lượng dung môi (nếu cần) để được khối lượng ban đầu, trộn đều, lọc. Lấy chính xác 5 ml dịch lọc, bốc hơi trên cách thủy đến cạn. Thêm vào cắn 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 8 % (TT)*, lắc siêu âm trong 2 min, thêm 20 ml *cloroform (TT)*, đun sôi hồi lưu trong 1 h, để nguội, chuyển vào bình gạn. Tráng rửa bình nón bằng 10 ml *cloroform (TT)*, gộp dịch rửa cloroform vào bình gạn trên. Gạn lấy lớp cloroform. Chiết lớp acid còn lại với *cloroform (TT)* thêm 3 lần nữa, mỗi lần 10 ml. Gộp các dịch chiết cloroform ở trên, cô trên cách thủy đến cạn. Cắn được hoà tan trong *methanol (TT)* và chuyển vào bình định mức 10 ml, thêm *methanol (TT)* đến vạch, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác từng chất chuẩn là aloe-emodin, rhein, emodin, chrysophanol và physcion, hòa tan trong *methanol (TT)* để được 5 dung dịch chuẩn có nồng độ 80 µg/ml mỗi chất aloe-emodin, rhein, emodin, chrysophanol và dung dịch chuẩn physcion có nồng độ 40 µg/ml. Hút chính xác 2 ml mỗi dung dịch chuẩn trên, trộn đều, được dung dịch chuẩn hỗn hợp có nồng độ chính xác khoảng16 µg/ml mỗi chất aloe-emodin, rhein, emodin, chrysophanol và 8 µg/ml physcion.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) hoặc cột tương đương.

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành: Tiêm riêng biệt dung dịch chuẩn, dung dịch thử, ghi lại sắc ký đồ. Thứ tự rửa giải các chất lần lượt là aloe-emodin, rhein, emodin, chrysophanol, và physcion. Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của các chuẩn, tính hàm lượng của aloe-emodin, rhein, emodin, chrysophanol, và physcion trong dược liệu.

Tổng hàm lượng aloe-emodin ($C_{15}H_{10}O_5$), rhein ($C_{15}H_8O_6$), emodin ($C_{15}H_{10}O_5$), chrysophanol ($C_{15}H_{10}O_4$), và physcion ($C_{16}H_{12}O_5$) không được ít hơn 1,5 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch vào cuối mùa thu, khi lá khô héo hoặc mùa xuân năm sau, trước khi cây này mầm. Đào lấy thân rễ, loại bỏ rễ tua nhỏ, cạo vỏ ngoài, thái lát hoặc cắt đoạn, xuyên dây thành chuỗi, phơi khô.

Bào chế

Đại hoàng: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái lát dày, phơi âm can nơi thoáng mát.

Tửu Đại hoàng (Đại hoàng tẩm rượu): Lấy Đại hoàng phiến, dùng rượu phun ẩm đều, ủ qua, cho vào nồi đun nhỏ lửa, sao hơi se, lấy ra, phơi chỗ mát cho khô. Cứ 100 kg Đại hoàng phiến, dùng 10 L rượu.

Thục đại hoàng: Cắt Đại hoàng thành miếng nhỏ, trộn đều rượu cho vào thùng đậy kín, đặt vào nồi nước nấu cách thủy cho chín lấy ra phơi khô. Cứ 100 kg Đại hoàng cần 30 L rượu.

Đại hoàng thán: Cho phiến Đại hoàng vào nồi, sao to lửa đến khi mặt ngoài màu đen xém, bên trong màu nâu sẫm, nhưng vẫn còn hương vị Đại hoàng.

Bảo quản

Để nơi khô, thoáng, tránh ẩm, mốc, mọt, biến màu.

Tính vị, quy kinh

Khổ, hàn. Vào các kinh tỳ, vị, đại tràng, can, tâm bào.

Công năng, chủ trị

Thanh trường thông tiện, tả hỏa giải độc, trục ứ thông kinh. Chủ trị: Táo bón do thực nhiệt, đau bụng, hoàng đản, bế kinh, chấn thương tụ máu, chảy máu cam, nhọt độc sưng đau.

Tửu đại hoàng: Thanh thượng tiêu. Chủ trị: Thượng tiêu nhiệt độc mắt đỏ, họng sưng, lợi răng sưng đau.

Thục đại hoàng: Tả hỏa giải độc. Chủ trị: Mụn nhọt, hỏa độc.

Đại hoàng thán: Lương huyết, chỉ huyết. Chủ trị: Huyết nhiệt, chứng xuất huyết có ứ (do tụ máu).

Cách dùng, liều lượng

Nhuận tràng, tẩy, xổ: Ngày dùng từ 3 g đến 12 g.

Dùng tả hạ không nên sắc lâu.

Dùng ngoài: Lượng thích hợp, tán bột trộn dấm để bôi, đắp nơi đau.

Kiêng kỵ

Không có uất nhiệt tích đọng thì không nên dùng.

Phụ nữ có thai không được dùng.

ĐẠI HỒI (Quả)

Fructus Illicii veri

Quả chín đã phơi hay sấy nhẹ đến khô của cây Hồi (*Illicium verum* Hook.f.), họ Hồi (Illiciaceae).

Mô tả

Quả phức, thường gồm 8 đại, đôi khi nhiều đại hơn, màu nâu đỏ đến nâu sẫm, xếp thành hình sao xung quanh một

trụ trung tâm. Mỗi đại hình lòng thuyền, dài 1 cm đến 2 cm, rộng 0,5 cm, cao 0,7 cm đến 1 cm. Bờ trên gần như thẳng, nhẵn, có một đường nứt thành 2 mảnh để lộ ra một hạt. Bờ dưới hơi tròn và sần sùi. Hai mặt bên nhăn nheo, tận cùng bởi một chỏm tù, ở một góc có khoảng nhẵn hơn (nơi đính giữa các đại). Mặt trong màu nhạt hơn và nhẵn bóng. Cuống quả nhỏ và cong, đính vào trụ quả. Hạt hình trái xoan, màu vàng nâu, nhẵn bóng. Quả có mùi thơm dễ chịu, vị ngọt.

Vi phẫu

Vỏ quả ngoài gồm các tế bào biểu bì dẹt, phủ bởi một lớp cutin lồi lên, có lỗ khí. Vỏ quả giữa gồm những tổ chức rời ra ở vùng ngoài và sít nhau ở vùng trong, có các tế bào rất nhỏ, thành hơi dày, có những chỗ màu nâu, có nhiều bó libe-gỗ và nhiều tế bào tiết tinh dầu rải rác. Vỏ quả trong gồm một dãy tế bào có hình dạng khác nhau tùy theo nơi quan sát. Trong phần bao bọc khoang quả có các tế bào hình chữ nhật, thành tương đối mỏng và xếp thành hình dậu. Trong phần tương ứng với đường nứt: Các tế bào nhỏ hơn, thành rất dày và có các ống trao đổi, về phía trong được tăng cường bởi một khối tế bào mô cứng hình nhiều cạnh, thành rất dày. Tế bào biểu bì ở vách ngoài và vách bên của hạt đều dày, ở vách trong tương đối mỏng. Hạt có nội nhũ.

Bột

Tế bào vỏ quả ngoài có thành hơi dày, có vân ngoằn ngoèo và lỗ khí. Tế bào mô cứng của vỏ quả giữa hình thoi (nhìn bên) hay nhiều cạnh (nhìn trước mặt), thành rất dày, có ống trao đổi rõ. Tế bào mô cứng của vỏ quả trong hình chữ nhật thành hơi dày. Tế bào mô cứng của vỏ hạt (lớp ngoài) hình chữ nhật, thành rất dày. Tế bào mô cứng của vỏ hạt (lớp trong) có tinh thể calci oxalat hình lăng trụ. Thể cứng của cuống quả to và phân nhánh, thành dày và có ống trao đổi nhỏ có vân rõ. Tế bào nội nhũ thành mỏng, trong có hạt aleuron. Ngoài ra, còn có sợi dài, mảnh mạch xoắn.

Định tính

A. Lấy 0,5 g bột dược liệu, cho vào một ống nghiệm. Đun sôi trong 2 min với 5 ml *ethanol 90 % (TT)*. Để nguội, lọc, lấy 1 ml dịch lọc, thêm 10 ml *nước*, dung dịch sẽ có tủa trắng.

B. Lấy 0,1 g bột dược liệu, thêm 4 ml *dung dịch kali hydroxyd 5 % (TT)*. Đun sôi trong 2 min, thêm 10 ml *nước*, dung dịch sẽ có màu đỏ nâu.

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

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Ether dầu hỏa - ether* (95 : 5).

Dung dịch thử: Lấy khoảng 1 g bột dược liệu, cho vào bình nón có nút mài dung tích 60 ml. Thêm 10 ml *cloroform (TT)*, ngâm lạnh trong 4 h, lọc.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch tinh dầu Hồi (mẫu chuẩn) 0,1 % (tt/tt) trong *cloroform (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*. Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 5 min. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có 4 vết, trong đó vết số 3 lớn nhất có cùng giá trị R_f (khoảng 0,5) và cùng màu sắc (đỏ sau chuyển sang tím) với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13). Dùng 10 g dược liệu đã cắt nhỏ.

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Dùng 20 g bột dược liệu thô, thêm 150 ml *nước*, cất trong 3 h. Hàm lượng tinh dầu không ít hơn 7,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, đông. Hái lấy quả từ màu lục chuyển thành vàng, nhúng qua trong nước sôi, sấy nhẹ cho khô hoặc phơi trong bóng râm khoảng 5 đến 6 ngày cho khô.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, tránh bay tinh dầu.

Tính vị, quy kinh

Tân, cam, ôn. Vào các kinh can, thận, tỳ vị.

Công năng, chủ trị

Ôn dương, tán hàn, kiện tỳ, tiêu thực, lý khí, chỉ thống. Chủ trị: Đau bụng, sôi bụng, nôn mửa, ỉa chảy, đau nhức cơ khớp do lạnh.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 6 g dạng thuốc sắc, ngâm rượu dùng xoa bóp.

Kiêng kỵ

Âm hư hỏa vượng không dùng.

ĐẠI PHỦ BÌNH

Herba Pistiae

Bèo cái

Cả cây bỏ rễ đã phơi hay sấy khô của cây Bèo cái (*Pistia stratiotes* L.), họ Ráy (Araceae).

Mô tả

Toàn cây đã bỏ rễ, lá mọc quanh gốc thành hình hoa thị, nhăn nheo, thường mọc thành cụm. Phiến lá hình trứng ngược, rộng từ 2 cm đến 8 cm, màu lục nhạt, mặt dưới có lông mịn. Chất mềm dễ vỡ vụn. Mùi thơm nhẹ, vị hơi mặn, cay.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 20,0 % (Phụ lục 9.7). Nung đến khối lượng không đổi.

Kim loại nặng
Không được quá 30 phần triệu (Phụ lục 9.4.8, phương pháp 3). Lấy 1 g dược liệu để thử. Dùng 30 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu dung dịch đối chiếu.

Chế biến
Thường thu hái vào mùa hè, vớt lấy cả cây, để ráo nước, loại bỏ rễ và tạp chất, phơi khô. Có thể sao vàng hoặc đồ chín rồi phơi khô và tán bột.

Bào chế
Rửa sạch, loại bỏ rễ và tạp chất, thái nhỏ phơi khô. Có thể phơi khô, sao vàng hoặc đồ chín, phơi khô, tán bột.

Bảo quản
Để nơi khô, mát.

Tính vị, quy kinh
Tân, hàn. Vào hai kinh phế, thận.

Công năng, chủ trị
Phát hãn khu phong, hành thủy tiêu phù. Chủ trị: Ngoại cảm, mày đay (phong chẩn, ẩn chẩn), đơn độc, phù thũng.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 8 g dược liệu khô, dạng thuốc sắc. Dùng ngoài: Giã nát với ít muối để đắp hoặc sắc nước đặc, xông rửa.

Kiêng kỵ
Không phải thực nhiệt, thực tà, người ra mồ hôi nhiều, thể hư không nên dùng. Có thai, cẩm dùng.

ĐẠI TÁO (Quả)
Fructus Ziziphi jujubae

Quả chín đã phơi hay sấy khô của cây Đại táo [*Ziziphus jujuba* Mill. *var. inermis* (Bge.) Rehd.], họ Táo ta (Rhamnaceae).

Mô tả
Quả hình bầu dục hoặc hình trứng, dài 2 cm đến 3,5 cm, đường kính 1,5 cm đến 2,5 cm, gốc quả lõm, có cuống quả ngắn. Vỏ quả ngoài mỏng, nhăn nheo, màu hồng tối, hơi sáng bóng. Vỏ quả giữa mềm, xốp, ngọt và có dầu, màu vàng nâu hay nâu nhạt. Vỏ quả trong là một hạch cứng rắn, hình thoi dài, hai đầu nhọn, có 2 ô, chứa các hạt nhỏ hình trứng. Mùi thơm đặc biệt, vị ngọt.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Toluen - ethyl acetat - acid acetic băng (14 : 4 : 0,5).
Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu (lấy thịt quả, sấy khô và nghiền thành bột) vào bình nón, thêm 10 ml *ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C) (TT)*, ngâm trong 10 min và lắc siêu âm 10 min, lọc, loại bỏ dịch ether dầu hỏa, để khô cắn trong không khí. Thêm 20 ml *ether (TT)*, ngâm trong 1 h và lắc siêu âm 15 min, lọc. Cô dịch lọc đến còn khoảng 2 ml dùng làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g Đại táo (mẫu chuẩn), tiến hành chiết tương tự như đối với dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*, sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần
Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.8).

Chế biến
Mùa thu, hái quả chín, rửa sạch, phơi khô.

Bào chế
Lấy quả đại táo khô, loại hết tạp chất, rửa sạch, phơi khô, bỏ hạt trước khi dùng.

Bảo quản
Để nơi khô mát, tránh mọt.

Tính vị, quy kinh
Cam, ôn. Vào các kinh tỳ, vị.

Công năng, chủ trị
Bổ trung, ích khí, dưỡng huyết, an thần. Chủ trị: Tỳ hư kém ăn, kém sức, phân lỏng, hysteria.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 15 g.

ĐẠM TRÚC DIỆP
Herba Lophatheri
Cỏ lá tre

Toàn cây đã cắt bỏ rễ con phơi hay sấy khô của cây Đạm trúc diệp (*Lophatherum gracile* Brongn.) họ Lúa (Poaceae).

Mô tả
Thân dài 25 cm đến 75 cm, hình trụ, có đốt, mặt ngoài màu lục vàng, rỗng ở giữa. Bẹ lá mở tách ra. Phiến lá nguyên hình mác, dài 5 cm đến 20 cm, rộng 1 cm đến 3,5 cm, đôi khi bị nhàu và cuộn lại, mặt trên của lá màu lục nhạt hoặc màu lục vàng, các gân chính song song, gân nhỏ nằm ngang thành hình mạng lưới, với các mắt lưới hình chữ nhật, mặt dưới rõ hơn. Thể nhẹ, mềm dẻo. Mùi nhẹ, vị nhạt.

Vi phẫu
Lá: Biểu bì trên và dưới có từng quãng tế bào to chứa nước xen lẫn với từng quãng tế bào biểu bì nhỏ, có lỗ khí và lông che chở đơn bào ngắn, đầu nhọn. Mô mềm gồm những tế bào hình nhiều cạnh có thành mỏng. Nhiều bó libe-gỗ xếp rời nhau theo hình vòng cung gần biểu bì dưới. Mỗi bó libe-gỗ gồm có vòng nội bì bao bọc xung quanh, libe ở giữa có vòng mô cứng bao bọc, gỗ nằm sát libe có 3 mạch gỗ to xếp thành hình chữ V, đặt trong mô mềm gỗ. Xen kẽ với các bó libe-gỗ này có nhiều bó libe-gỗ nhỏ hơn. Nhiều đám mô cứng rời nhau, nằm sát biểu bì trên và dưới ở phiến và gân lá. Ở biểu bì dưới đám mô cứng ứng với bó libe-gỗ nhỏ, có khi nối liền một số bó libe-gỗ ở giữa với biểu bì dưới.

Bột
Màu vàng lục. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì trên và dưới gồm các tế bào hình chữ nhật hay gần vuông, thành lượn sóng, mang lông che chở và lỗ khí. Biểu bì dưới có tế bào thành lượn sóng nhiều và nhiều lỗ khí hơn biểu bì trên. Lỗ khí hình thoi ngắn, khe lỗ khí hai đầu phình to, giữa thắt lại hình quả tạ. Lông che chở gồm hai loại: lông đơn bào dài, đầu thuôn nhọn, gốc hẹp và nhô lên, ít gặp; lông đơn bào ngắn, đầu thuôn nhỏ, gốc phình to, có nhiều trên các đường gân. Sợi dài, đầu thuôn nhọn, có loại thành hơi dày khoang rộng; có loại thành dày, khoang hẹp. Sợi mô cứng hình thoi, thành dày (ít gặp). Tế bào hình chữ nhật, thành dày. Mảnh mạch mạng, mạch xoắn.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel F_{254}.
Dung môi khai triển: Ethyl acetat - acid formic - nước (5 : 0,8 : 0,2).
Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 30 ml *ethanol 70 % (TT)*, siêu âm 10 min, ly tâm 3000 r/min trong 5 min. Lấy lớp dung dịch ở phía trên, bay hơi trên cách thủy đến cắn. Hòa tan cắn trong 20 ml *nước*, chuyển dung dịch vào bình gạn, lắc với *ethyl acetat (TT)* 3 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp các dịch chiết ethyl acetat, bay hơi trên cách thủy đến khô. Hòa tan cắn trong 2 ml *ethanol 70 % (TT)* hoặc pha loãng đến nồng độ thích hợp dùng làm dung dịch thử.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan một lượng isoorientin chuẩn trong *ethanol 70 % (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 1 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có isoorientin thì dùng 2 g bột Đạm trúc diệp (mẫu chuẩn) chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 4 µl dung dịch thử và 1,5 µl dung dịch chất đối chiếu hoặc 4 µl dung dịch dược liệu đối chiếu. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, phun *dung dịch nhôm clorid 1 % trong ethanol* trong 30 s, sấy bản mỏng ở 105 °C cho đến khi các vết hiện rõ (khoảng 2 min). Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng giá trị R_f và màu sắc với vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu, hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không được quá 11,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không được quá 5,5 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu (Phụ lục 12.10).
Chất chiết được trong ethanol (Phương pháp chiết nóng): Không ít hơn 8,0 % tính theo dược liệu khô kiệt, dùng *ethanol 70 % (TT)* làm dung môi.
Chất chiết được trong nước (Phương pháp chiết lạnh): Không ít hơn 10,0 % tính theo dược liệu khô kiệt, dùng *nước* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa hè khi cây chưa nở hoa, cắt lấy phần trên mặt đất, rửa sạch. Loại bỏ tạp chất và rễ, cắt khúc, sàng sạch bụi bám, phơi hay sấy khô.

Bảo quản
Để nơi khô.

Tính vị, quy kinh
Cam, đạm, hàn. Vào các kinh tâm, phế, tiểu trường.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt, trừ phiền, lợi tiểu. Chủ trị: Nhiệt bệnh, khát nước, tâm nóng bứt rứt, lở miệng, lưỡi, tiểu tiện đỏ, rít, đái rắt.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 9 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các loại thuốc khác.

Kiêng kỵ
Phụ nữ có thai không nên dùng.

ĐAN SÂM (Rễ và Thân rễ)
Radix et Rhizoma Salviae miltiorrhizae

Rễ và thân rễ phơi hoặc sấy khô của cây Đan sâm *(Salvia miltiorrhiza* Bunge), họ Bạc hà (Lamiaceae).

Mô tả
Thân rễ ngắn, cứng chắc, đôi khi còn sót lại gốc của thân ở đỉnh. Rễ hình trụ dài, hơi cong, có khi phân nhánh và

có rễ con, dài 10 cm đến 20 cm, đường kính 0,3 cm đến 1 cm. Mặt ngoài màu đỏ nâu hoặc đỏ nâu tối, thô ráp, có vân nhăn dọc. Vỏ rễ già có màu nâu tía, thường bong ra. Chất cứng và giòn, mặt bẻ gãy không chắc có vết nứt, hoặc hơi phẳng và đặc, phần vỏ màu đỏ nâu và phần gỗ màu vàng xám hoặc màu nâu tía với bó mạch màu trắng vàng, xếp theo hướng xuyên tâm. Mùi nhẹ, vị hơi đắng và se.
Dược liệu từ cây trồng tương đối mập chắc, đường kính 0,5 cm đến 1,5 cm. Mặt ngoài màu nâu đỏ, có nếp nhăn dọc, phần vỏ bám chặt vào gỗ không dễ bóc ra. Chất chắc, mặt bẻ gãy tương đối phẳng, hơi có dạng chất sừng.

Vi phẫu
Rễ: Lớp bần gồm 4 - 8 hàng tế bào, thành dày có chứa chất màu nâu, bị bẹp; đôi khi thấy lớp mô che chở ngoài cùng. Mô mềm vỏ dày cấu tạo bởi tế bào hình tròn hay bầu dục, thành mỏng, xếp đều đặn theo hướng tiếp tuyến có chứa các hạt màu nâu đỏ. Libe cấp 2 gồm những tế bào nhỏ, thành mỏng, xếp đều đặn và liên tục thành vòng tròn và tập trung dày hơn ở những chỗ tương ứng với các nhánh gỗ. Tầng phát sinh libe-gỗ thành vòng liên tục. Mạch gỗ bị hóa gỗ, dạng hình thoi và mạch lưới nằm gần tầng phát sinh libe-gỗ và thưa dần khi gần vào phần giữa của của gỗ. Sợi gỗ tụ thành bó, rải rác theo hướng xuyên tâm. Tủy ở phần giữa của rễ.

Bột
Màu đỏ nâu. Soi kính hiển vi thấy: Các tế bào bần hình đa giác hoặc gần chữ nhật khi nhìn trên bề mặt, có chứa các khối màu nâu vàng, đường kính từ 12 µm đến 151 µm. Tế bào mô mềm vỏ hình gần vuông hoặc hình đa giác, có chứa các khối màu nâu đỏ. Sợi gỗ thường tụ thành bó, hình thoi dài có vân dọc hoặc chéo, đường kính từ 11 µm đến 60 µm, có màu vàng sặc sỡ nếu quan sát dưới kính hiển vi phân cực. Nhiều mạch lưới và mạch viền, đường kính từ 3 µm đến 120 µm.

Định tính
A. Lấy 3 g bột dược liệu, thêm 5 ml *ethanol (TT)*, đun sôi, lọc. Dịch lọc có màu đỏ vàng. Lấy 1 ml dung dịch thu được, thêm 1 giọt *thuốc thử Nessler (TT)*, xuất hiện tủa màu nâu đất.
B. Đun sôi 5 g bột dược liệu với 50 ml *nước* trong 15 min, để nguội, lọc. Cô dịch lọc trong cách thủy tới khô. Hòa cặn trong 5 ml *ethanol (TT)*, lọc, lấy dịch lọc làm các phép thử sau:
Nhỏ vài giọt dịch lọc lên tờ giấy lọc, để khô và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm, thấy có huỳnh quang lục - xanh lơ.
Lấy 0,5 ml dịch lọc, thêm 1 giọt đến 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, sẽ có màu lục bẩn.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C) - ethyl acetat (4 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 5 ml *ether (TT)*, lắc kỹ, để yên 1 h, lọc. Bốc hơi dịch lọc trên cách thủy đến cắn, hòa tan cắn trong 1 ml *ethyl acetat (TT)* dùng làm dung dịch thử.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Lấy 1 g bột Đan sâm (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan một lượng tanshinon IIA chuẩn trong *ethyl acetat (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ 2 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu và có một vết màu đỏ đậm có cùng màu sắc và giá trị R_f với vết của tanshinon IIA trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu.
D. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cloroform - ethyl acetat - toluen - acid formic - methanol (3 : 4 : 2 : 2 : 0,5).
Dung dịch thử: Lấy 0,2 g bột dược liệu, thêm 25 ml *methanol 75 % (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 1 h. Lọc, bốc hơi dịch lọc trên cách thủy đến còn 1 ml, dùng làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan một lượng acid salvianolic B chuẩn trong *methanol 75 % (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ 2 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với vết của acid salvianolic B trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 3,0 % (Phụ lục 9.7).

Kim loại nặng
Không được quá 30 phần triệu (Phụ lục 9.4.8, phương pháp 3).
Dùng 1 g bột dược liệu và 3 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Chất chiết được trong dược liệu (Phụ lục 12.10).
Chất chiết được trong ethanol (Phương pháp chiết nóng): Không ít hơn 15,0 % tính theo dược liệu khô kiệt, dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.
Chất chiết được trong nước (Phương pháp chiết lạnh): Không ít hơn 35,0 % tính theo dược liệu khô kiệt, dùng *nước* làm dung môi.

Định lượng

Định lượng tanshinon II_A

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Methanol - nước (75 : 25).

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,3 g bột dược liệu (qua rây số 355) vào bình nón có nút mài, thêm chính xác 50 ml *methanol (TT)*, đậy nút, cân, sau đó đun hồi lưu trên cách thủy 1 h, để nguội, cân lại và bổ sung *methanol (TT)* để được khối lượng ban đầu. Trộn đều và lọc qua màng lọc 0,45 µm.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan tanshinon II_A chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng16 µg/ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4 mm) nhồi pha tĩnh C (5 µm).

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

Thể tích tiêm: 10 µl.

Tốc độ dòng: 1,0 - 1,5 ml/min.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký dung dịch chuẩn. Tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột không được nhỏ hơn 2000 tính theo pic của tanshinon II_A.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử. Tính hàm lượng tanshinon II_A trong dược liệu dựa vào diện tích pic tanshinon II_A trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{19}H_{18}O_3$ trong tanshinon II_A chuẩn.

Dược liệu phải chứa không ít hơn 0,2 % tanshinon II_A ($C_{19}H_{18}O_3$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Định lượng acid salvianolic B

Pha động: Methanol - acetonitril - acid formic - nước (30 : 10 : 1 : 59).

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,2 g bột dược liệu (qua rây số 355) vào bình nón có nút mài, thêm chính xác 50 ml *methanol 75 % (TT)*, đậy nút, cân, đun hồi lưu trên cách thủy 1 h, để nguội, cân lại và bổ sung *methanol 75 % (TT)* để được khối lượng ban đầu. Trộn đều và lọc qua màng lọc 0,45 µm.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan acid salvianolic B chuẩn trong *methanol 75 % (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,14 mg/ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4 mm) nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 286 nm.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột không được nhỏ hơn 2000 tính theo pic của acid salvianolic B.

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử. Tính hàm lượng acid salvianolic B trong dược liệu dựa vào diện tích pic acid salvianolic B trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{36}H_{30}O_{16}$ trong acid salvianolic B chuẩn.

Dược liệu phải chứa không ít hơn 3,0 % acid salvianolic B ($C_{36}H_{30}O_{16}$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Mùa xuân hay mùa thu, đào lấy rễ và thân rễ, rửa sạch, cắt bỏ rễ con và thân còn sót lại, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Đan sâm khô, loại bỏ tạp chất và thân sót lại, rửa sạch, ủ mềm, thái lát dày, phơi khô để dùng.

Tẩu đan sâm (Chế rượu): Lấy đan sâm đã thái phiến, thêm rượu, trộn đều, đậy kín, để 1 h cho ngấm hết rượu, đem sao nhỏ lửa đến khô, lấy ra, để nguội. Cứ 10 kg Đan sâm dùng 1 L rượu.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Khổ, vi hàn. Vào các kinh tâm, can.

Công năng, chủ trị

Hoạt huyết, thông kinh, giảm đau, thanh tâm lương huyết.

Chủ trị: Kinh nguyệt không đều, kinh nguyệt bế tắc, hành kinh đau bụng, huyết tích hòn cục, đau thắt ngực; mất ngủ, tâm phiền.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 15 g, dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ

Không dùng chung với Lê lô.

ĐẢNG SÂM (Rễ)

Radix Codonopsis

Đảng sâm bắc

Rễ phơi hoặc sấy khô của cây Đảng sâm [*Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf., *Codonopsis pilosula* (Franch.) Nannf. var. *modesta* (Nannf.) L. T. Shen hoặc *Codonopsis tangshen* Oliv.], họ Hoa chuông (Campanulaceae).

Mô tả

Codonopsis pilosula: Rễ hình trụ tròn hơi cong, thon dần về phía đuôi, thường phân nhánh, dài 10 cm đến 35 cm, đường kính 0,4 cm đến 2 cm. Mặt ngoài có màu nâu hơi vàng đến màu nâu hơi xám, đầu trên to, có nhiều nốt sẹo của thân có mặt trên lõm xuống hình tròn lồi lên; có nhiều vân ngang dày đặc, càng xuống dưới càng thưa dần, đôi khi xuống tới 1/2 chiều dài của rễ; rễ Đảng sâm trồng có ít hoặc không có vân ngang. Toàn rễ có nhiều nếp nhăn dọc và rải rác có lỗ vỏ; các vết sẹo của rễ nhánh thường có chất dẻo quánh màu nâu sẫm. Chất hơi chắc và dai, mặt bẻ hơi phẳng, có khe nứt hoặc tia xuyên tâm, phần vỏ khá dày có màu vàng nhạt đến hơi nâu, phần lõi có gỗ màu trắng ngà. Mùi thơm, vị ngọt nhẹ.

Codonopsis pilosula (Franch.) Nannf. var. *modesta* (Nannf.) L. T. Shen: Rễ dài từ 6 cm đến 32 cm, đường

kính từ 0,6 - 2,5 cm, mặt ngoài có màu màu nâu vàng đến vàng xám, có vân ngang dạng hạt dày đặc ở khoảng 1/2 rễ từ trên xuống. Mặt gẫy nhiều khe nứt, phần vỏ màu trắng xám tới nâu nhạt.

Codonopsis tangshen Oliv.: Rễ dài từ 10 cm đến 45 cm, đường kính 0,5 cm đến 1,8 cm, mặt ngoài màu nâu vàng đến nâu xám có nếp nhăn dọc. Chất hơi xốp và dẻo, mặt gẫy ít khe nứt.

Dược liệu thái phiến: Các lát dày hình gần tròn. Bên ngoài màu nâu xám tới nâu vàng, đôi khi có các nốt sẹo thân lồi lên ở các lát cắt từ rễ chính. Bề mặt phiến màu vàng nhạt hoặc nâu nhạt ở phần vỏ và màu vàng nhạt ở phần gỗ; có khe nứt hoặc tia xuyên tâm. Mùi thơm đặc trưng, vị ngọt.

Vi phẫu

Codonopsis pilosula: Lớp bần gồm 3 - 10 hàng tế bào hình chữ nhật xếp thành hàng đồng tâm dãy xuyên tâm; các tế bào đá ở ngoài lớp bần. Mô mềm vỏ cấu tạo từ những tế bào thành mỏng hình đa giác xếp lộn xộn, lớp ngoài bị ép dẹp. Libe phát triển xếp thành dải dài chiếm phần lớn lát cắt, trong libe có nhiều ống tiết nằm rải rác. Tầng phát sinh libe-gỗ tạo thành vòng liên tục. Gỗ phát triển tạo thành các bó sắp xếp theo hướng xuyên tâm gồm các mạch gỗ hình tròn kích thước không đều nhau. Xen giữa các bó libe-gỗ là những tia ruột.

Codonopsis pilosula (Franch.) Nannf. var. *modesta* (Nannf.) L. T. Shen: Các tế bào đá xếp thành vòng liên tục bên ngoài lớp bần, gồm 2 - 5 hàng tế bào. Các đám ống tiết sắp xếp thành theo hướng xuyên tâm từ phía trong libe ra phần ngoài thành dải cong, đôi khi xếp theo hướng tiếp tuyến tạo thành vòng không liên tục.

Codonopsis tangshen Oliv.: Tế bào đá ở lớp ngoài cùng của bần, đơn lẻ hoặc tụ thành đám, sắp xếp thành vòng không liên tục. Đám ống tiết sắp xếp lộn xộn.

Bột

Màu vàng nhạt, mùi thơm, vị hơi ngọt. Soi dưới kính hiển vi thấy: Các hạt tinh bột đơn lẻ hình tròn hay hình trứng. Nhiều tế bào thành dày khoang rộng, màu vàng nhạt, hình dạng khác nhau, có ống trao đổi rõ. Mảnh mô mang ống tiết chứa chất tiết màu nâu vàng dạng giọt hoặc giọt dầu. Nhiều mảnh mạch mạng, mạch chấm. Tinh thể inulin hình quạt, có vân. Tế bào bần hình gần chữ nhật, hình đa giác khi nhìn trên bề mặt.

Định tính

A. Lấy 5 g bột dược liệu (qua rây số 355), thêm 20 ml *ethanol 70 % (TT)*, đun cách thủy trong 15 min.

Lọc lấy dịch trong để làm các phép thử sau:

Cho 5 ml dịch chiết vào ống nghiệm, bịt miệng ống, lắc trong 15 s. Cột bọt bền trong ít nhất 10 min.

Lấy 1 ml dịch chiết vào ống nghiệm sạch, cô trên cách thủy đến cạn, hòa tan cắn bằng 1 ml *cloroform (TT)*. Thêm 1 ml *anhydrid acetic (TT)*, thêm từ từ theo thành ống 1 ml *acid sulfuric (TT)*. Xuất hiện vòng tím đậm giữa 2 lớp dung dịch thử.

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

Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.

Dung môi khai triển: *n-Butanol - acid acetic - nước* (7 : 1 : 0,5).

Dung dịch thử: Lấy 2,5 g bột dược liệu, thêm 50 ml *methanol (TT)*, siêu âm 1 h, lọc. Lấy 25 ml dịch lọc, cất thu hồi dung môi đến cắn khô. Hòa tan cắn trong 3 ml *nước* và chuyển toàn bộ dung dịch vào cột (đường kính trong 1,5 cm, dài 10 cm, được nhồi nhựa marcroporous D101). Rửa giải bằng 50 ml *nước*, bỏ nước rửa, tiếp tục rửa giải bằng 50 ml *ethanol 50 % (TT)*. Thu dịch rửa giải ethanol, bay hơi tới khô. Hòa tan cắn thu được trong 1 ml *methanol (TT)* được dịch chấm sắc ký.

Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan lobetyolin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 0,5 mg/ml.

Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có lobetyolin chuẩn, lấy 2,5 g bột Đảng sâm (mẫu chuẩn) chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*, sấy ở nhiệt độ 100 °C trong 5 min đến 10 min. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu sắc và giá trị R_f với vết lobetyolin trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu hoặc có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 2,5 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất

Không quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Không được dưới 55,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 45 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, đào lấy rễ, rửa sạch, phơi khô.

Dược liệu thái phiến: Lấy dược liệu chưa thái lát, ủ mềm, thái phiến dày, phơi khô.

Bảo quản

Để nơi khô ráo, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam bình, vào kinh tỳ, phế.

Công năng, chủ trị

Bổ trung ích khí, kiện tỳ ích phế. Chủ trị: Tỳ phế hư nhược, thở dồn, tim đập mạnh, ăn yếu, phân lỏng, ho suyễn, hư tính, nội nhiệt, tiêu khát (đái tháo đường).

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 9 đến 30 g, dạng thuốc sắc, thuốc hoàn hay bột.

Kiêng kỵ
Không dùng chung với Lê lô.

ĐẢNG SÂM VIỆT NAM (Rễ)

Radix Codonopsis javanicae
Phòng đảng sâm

Rễ phơi hoặc sấy khô của cây Đảng sâm Việt Nam [*Codonopsis javanica* (Blume.) Hook.f.], họ Hoa chuông (Campanulaceae).

Mô tả
Rễ nạc hình trụ có khi phân nhánh, đường kính 0,3 cm đến 1,5 cm, dài 6 cm đến 15 cm. Đầu trên phát triển to, có nhiều sẹo của thân. Mặt ngoài màu nâu đến nâu vàng. Mặt cắt dọc có màu trắng ngà đến vàng nhạt, lõi gỗ ở giữa phân nhánh, nhô lên tạo thành 2 rãnh dọc (quan sát rõ ở đầu trên của rễ). Thể chất chắc, dễ bẻ, vết bẻ không phẳng, không mịn. Mùi thơm, vị ngọt nhẹ.
Dược liệu thái phiến: Phiến dày 2 mm đến 3 mm hoặc đoạn dài 2 cm đến 3 cm màu vàng nhạt. Mùi thơm, vị ngọt nhẹ.

Vi phẫu
Lớp bần gồm 4 đến 5 hàng tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn thành hàng đồng tâm và dãy xuyên tâm, có nhiều chỗ bị nứt rách. Mô mềm vỏ cấu tạo bởi các tế bào nhiều cạnh, hơi dài dẹt. Tế bào libe nhỏ xếp sít nhau. Mạch gỗ xếp thành hàng tạo thành hệ thống hình nan quạt tỏa ra từ tâm. Tia ruột có các tế bào thành mỏng.

Bột
Màu vàng nâu, mùi thơm, vị ngọt nhẹ. Mảnh mô mềm, khối inulin có nhiều hình dạng, hạt tinh bột đơn lẻ có rốn phân nhánh, mảnh mạch điểm, tinh thể calci oxalat hình khối.

Định tính
A. Lấy 5 g bột dược liệu (qua rây số 355), thêm 20 ml *ethanol 70 % (TT)*, đun hồi lưu trong cách thủy 15 min, lọc. Lấy 1 ml dịch lọc vào ống nghiệm sạch, cô trên cách thủy đến cạn, hòa tan cắn bằng 1 ml *cloroform (TT)*. Thêm 1 ml *anhydrid acetic (TT)*, thêm từ từ theo thành ống 1 ml *acid sulfuric (TT)*. Xuất hiện vòng tím đậm giữa 2 lớp dung dịch.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: *Cloroform - methanol - nước* (65 : 35 : 10), lắc kỹ lấy lớp dưới.
Dung dịch thử: Lấy 5 g bột dược liệu (qua rây số 355), chiết với *ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (TT)* trong bình Soxhlet 1 h, lấy bã dược liệu cho bay hết hơi ether dầu hỏa, thêm 50 ml *methanol (TT)* rồi chiết trong bình Soxhlet 1 h. Lấy dịch chiết methanol cô trên cách thủy đến cắn, thêm 30 ml *nước cất* để hòa tan cắn. Lắc kỹ dung dịch này với *n-butanol bão hòa nước (TT)* 3 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp dịch n-butanol, rửa 3 lần bằng *nước cất*, mỗi lần 30 ml. Lấy dịch butanol cất thu hồi dung môi được cắn. Hòa tan cắn bằng 2 ml *methanol (TT)* được dịch chấm sắc ký.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan lobetyolin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 1 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có lobetyolin chuẩn. Lấy 5 g bột Đảng sâm Việt Nam (mẫu chuẩn) chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol 96 % (TT)*, sấy ở 105 °C trong 10 min. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng thường hoặc dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với vết của lobetyolin trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu hoặc có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6, 1,0 g, 105 °, 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Tạp chất vô cơ: Không quá 1 %.
Tỷ lệ các bộ phận khác của cây: Không quá 3 %.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,00 g dược liệu và thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 35,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *nước* làm dung môi.

Chế biến
Mùa thu đông, đào lấy rễ củ, rửa sạch, phơi hoặc sấy nhẹ đến khô.

Bào chế
Đảng sâm phiến: Loại bỏ tạp chất, thái lát, phơi khô.
Đảng sâm chưng hoặc hấp: Lấy đảng sâm phiến rửa sạch, ủ mềm, hấp ở áp suất hơi nước là 0,5 kg/cm^2 trong 30 min hoặc chưng 2 h (Phụ lục 12.20). Lấy ra để nguội, phơi hoặc sấy ở nhiệt độ 60 °C đến 70 °C đến khi sờ không dính tay.

Bảo quản
Để nơi khô ráo, trong bao bì kín, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Cam, bình (hơi ôn). Vào kinh phế, tỳ.

Công năng, chủ trị
Bổ tỳ, ích khí, sinh tân chỉ khát. Chủ trị: Tỳ vị suy kém, phế khí hư nhược, kém ăn, đại tiện lỏng, mệt mỏi, khát nước, ốm lâu ngày cơ thể suy nhược, khí huyết hư.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 20 g đến 40 g, dạng thuốc sắc, thuốc hoàn, bột, ngâm rượu. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

ĐẢNG SÂM VIỆT NAM CHẾ
Radix Codonopsis javanicae praeparata

Phiến thuốc đã được chế biến bằng phương pháp chưng hoặc hấp, đã phơi hay sấy khô của rễ cây Đảng sâm Việt Nam [*Codonopsis javanica* (Blume.) Hook.f.], họ Hoa chuông (Campanulaceae).

Mô tả
Phiến dày 2 mm đến 3 mm, hoặc đoạn dài 2 cm đến 3 cm, màu nâu đen, mùi thơm, vị ngọt.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - nước (65 : 35 : 10), lắc kỹ lấy lớp dưới.
Dung dịch thử: Lấy 5 g phiến thuốc đã được nghiền nhỏ, chiết với *ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (TT)* trong bình Soxhlet 1 h, lấy bã dược liệu cho bay hết hơi ether dầu hỏa, thêm 50 ml *methanol (TT)* rồi chiết trong bình Soxhlet 1 h. Lấy dịch chiết methanol cô trên cách thủy đến cắn, thêm 30 ml *nước cất* để hòa tan cắn. Lắc kỹ dung dịch này với *n-butanol bão hòa nước (TT)* 3 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp dịch n-butanol, rửa 3 lần bằng *nước cất*, mỗi lần 30 ml. Lấy dịch butanol cất thu hồi dung môi được cắn. Hòa tan cắn bằng 2 ml *methanol (TT)* được dịch chấm sắc ký.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan lobetyolin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 1 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có lobetyolin chuẩn, lấy 5 g bột Đảng sâm Việt Nam (mẫu chuẩn) chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 13 cm, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol 96 % (TT)*, sấy ở 105 °C trong 10 min. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng thường hoặc dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với vết của lobetyolin trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu hoặc có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.
B. Cho 0,5 g dược liệu đã cắt nhỏ vào bình nón 50 ml, thêm 20 ml *nước* nóng, đun trên cách thủy trong 15 min. Lọc lấy 5 ml dịch lọc, thêm 1 ml *thuốc thử Fehling A (TT)* và 1 ml *thuốc thử Fehling B (TT)*, đun trong cách thủy 30 s, xuất hiện tủa màu đỏ gạch.

Độ ẩm
Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 75 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không được có.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1,00 g dược liệu và thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 35,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10), dùng *nước* làm dung môi và 2 g dược liệu đã nghiền nhỏ.

Bảo quản
Để nơi khô ráo, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Vị ngọt, tính bình (hơi ôn). Vào kinh phế, tỳ.

Công năng, chủ trị
Bổ tỳ, ích khí, sinh tân chỉ khát. Chủ trị: Tỳ vị suy kém, phế khí hư nhược, kém ăn, đại tiện lỏng, mệt mỏi, khát nước, ốm lâu ngày cơ thể suy nhược, khí huyết hư.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 20 g đến 30 g, dạng thuốc sắc, viên hoàn, bột, ngâm rượu. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.
Phù hợp với trẻ em kém ăn, người lớn có thể trạng suy nhược.

ĐÀO (Hạt)
Semen Pruni
Đào nhân

Hạt lấy ở quả chín của cây Đào [*Prunus persica* (L.) Batsch] hoặc cây Sơn đào [*Prunus persica* Batsch var. *davidiana* Maximowicz], họ Hoa hồng (Rosaceae), được bỏ hạch cứng và phơi hoặc sấy khô.
Có thể dùng:
Hạt lấy ở quả chín của cây Cherry gồm: *Prunus humilis* Beg. hoặc *Prunus* Thunb. hoặc *Prunus pedunculata* Maxim., họ Hoa hồng (Rosaceae), được bỏ hạch cứng và phơi hoặc sấy khô.

Mô tả

Nhân hạt Đào: Hạt hình trứng dẹt, dài 1,2 cm đến 1,8 cm, rộng 0,8 cm đến 1,2 cm, dày 0,2 cm đến 0,4 cm. Mặt ngoài có màu nâu vàng đến nâu đỏ, có những nốt sần nhỏ nhô lên. Một đầu nhọn, một đầu tròn, phần giữa phình to, hơi lệch, bờ cạnh tương đối mỏng. Đầu nhọn có rốn hình tuyến ngắn. Đầu tròn có màu hơi thẫm, hợp điểm không rõ, từ hợp điểm tỏa ra nhiều bó mạch dọc. Vỏ hạt mỏng, hai lá mầm màu trắng, nhiều chất dầu. Mùi thơm nhẹ, vị béo, hơi đắng.

Nhân hạt Sơn đào: Hạt hình trứng, dài 0,9 cm, rộng 0,7 cm, dày 0,5 cm.

Nhân hạt Cherry:

Hạt hình trứng, dài 0,5 - 0,8 cm, rộng 0,3 - 0,5 cm. Mặt ngoài có màu trắng ngà đến nâu nhạt, một đầu nhọn, một đầu tù. Đầu nhọn có rốn dạng vạch. Đầu tròn có màu hơi thẫm, hợp điểm có màu sẫm, từ hợp điểm tỏa ra nhiều bó mạch dọc. Vỏ hạt mỏng, hai lá mầm màu trắng đục, nhiều chất dầu. Mùi thơm nhẹ, vị béo, hơi đắng.

Bột

Nhân hạt Đào: Tế bào đá màu vàng hoặc nâu vàng, nhìn bên có hình vỏ ốc, hình mũ sắt, hình cung hoặc hình bầu dục, cao 54 µm đến 153 µm, phần đáy rộng chừng 180 µm, thành tế bào một bên tương đối dày, có vân sọc dày đặc hơn phía bên kia, nhìn bề mặt hình trứng, hình hơi tròn, hình lục giác, hình đa giác hoặc gần vuông, ở thành tế bào đáy có lỗ lớn, mật độ tương đối dày.

Nhân hạt Sơn đào: Tế bào đá màu vàng nhạt, vàng cam hoặc cam đỏ, nhìn phía ngoài có hình vỏ ốc, hình dài hoặc hình bầu dục, cao 81 µm đến 279 µm, rộng khoảng 128 µm đến 198 µm, nhìn phía bề mặt có hình hơi tròn, hình lục giác, đa giác dài hoặc hơi vuông, thành dày, thành tế bào đáy dày, không đều, có lỗ nhỏ.

Định tính

Nhân hạt Đào và Sơn đào

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

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Ethyl acetat - methanol - nước* (20 : 5 : 4).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml *methanol (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 10 min, để nguội, lọc.

Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan amygdalin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 2 mg/ml.

Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có chất đối chiếu, lấy 1 g nhân hạt Đào hoặc Sơn đào (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm, lấy bản mỏng ra để khô trong không khí, phun *dung dịch thymol* [Hòa tan 1,5 g *thymol dùng để pha dung dịch phun bản mỏng (TT)* trong 100 ml *methanol (TT)*, thêm 5,7 ml *acid sulfuric (TT)*, trộn đều]. Sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi các vết hiện rõ. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu hoặc phải có vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với vết của amygdalin trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu.

Nhân hạt Cherry

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

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: Lấy lớp dưới của hỗn hợp dung môi *Cloroform - ethyl acetat - methanol - nước* (3 : 8 : 5 : 2), để yên ở nhiệt độ dưới 10 °C.

Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 10 ml *methanol (TT)*, siêu âm 15 min, để nguội, lọc. Bay hơi dịch lọc tới khô. Hòa tan cắn trong 2 ml *methanol (TT)*.

Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan amygdalin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 4 mg/ml.

Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có amygdalin chuẩn, lấy 2 g nhân hạt Cherry (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô trong không khí, phun *dung dịch acid phosphomolybdic 5 % trong acid sulfuric* [hòa tan 2 g *acid phosphomolybdic (TT)* trong 20 ml *nước*, thêm từ từ 30 ml *acid sulfuric (TT)*, trộn đều]. Sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi các vết hiện rõ. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu hoặc phải có vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với vết của amygdalin trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu.

Độ ẩm

Nhân hạt Đào và Sơn đào: Không quá 8,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 6 h).

Nhân hạt Cherry: Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất

Không được có các hạt vỡ, vỏ hạt hay các tạp chất khác (Phụ lục 12.11).

Không bị ôi

Nghiền vài hạt dược liệu với nước nóng, không được ngửi thấy mùi ôi của dầu.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Acetonitril - nước* (12 : 88).

Dung dịch chuẩn: Hòa tan amygdalin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 20 µg/ml.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,2 g bột dược liệu đối với nhân hạt Cherry, 0,4 g bột dược liệu đối với nhân hạt Đào hoặc Sơn đào (qua rây có cỡ mắt rây 0,850 mm) vào một bình nón nút mài, thêm chính xác 20 ml *methanol (TT)*, đậy nút và cân. Đun hồi lưu trong 1 h, để nguội và cân lại. Bổ sung khối lượng mất đi bằng

methanol (TT), lắc đều, lọc. Hút chính xác 1 ml dịch lọc vào bình định mức 10 ml, thêm *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch chuẩn, tiến hành sắc ký và tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột tính trên pic amygdalin phải không dưới 5000.
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng amygdalin trong dược liệu dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{20}H_{27}NO_{11}$ của amygdalin chuẩn.
Nhân hạt Đào và Sơn đào phải chứa không ít hơn 1,2 % amygdalin ($C_{20}H_{27}NO_{11}$), tính theo dược liệu khô kiệt.
Nhân cây Cherry phải chứa không ít hơn 2,0 % amygdalin ($C_{20}H_{27}NO_{11}$), tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch quả chín vào mùa hè hoặc mùa thu, loại bỏ phần thịt, xay vỡ hạch lấy hạt bên trong, phơi hoặc sấy khô.
Đào nhân: Loại bỏ tạp chất, khi dùng giã nát.
Đàn đào nhân: Lấy đào nhân sạch, loại bỏ tạp chất, cho vào nước sôi, đun đến khi vỏ lụa nhăn lại thì vớt ra ngâm vào nước ấm, chà sát cho tách riêng vỏ ngoài, phơi khô, khi dùng giã nát.
Đào nhân sao: Đào nhân rửa sạch, để ráo nước, cho vào chảo, đun nhỏ lửa, đảo đều đến khi có màu vàng. Khi dùng giã nát.

Bảo quản
Để nơi khô, mát, trong lọ đậy kín, có lót chất hút ẩm, tránh sâu mọt.

Tính vị, quy kinh
Khổ, cam, bình. Vào các kinh tâm, can.

Công năng, chủ trị
Hoạt huyết, khứ ứ, nhuận tràng. Chủ trị: Vô kinh, mất kinh, trưng hà, sưng đau do sang chấn, táo bón.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 4,5 g đến 9 g. Dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ
Có thai không nên dùng.

ĐĂNG TÂM THẢO
Medulla Junci effusi
Cỏ bấc đèn

Ruột thân đã phơi hoặc sấy khô của Cỏ bấc đèn (*Juncus effusus* L.), họ Bấc (Juncaceae).

Mô tả
Ruột thân hình trụ tròn nhỏ, đường kính 0,1 cm đến 0,3 cm, dài tới 90 cm. Mặt ngoài màu trắng hoặc vàng nhạt, có vân dọc nhỏ. Thể nhẹ, xốp, hơi có tính đàn hồi, dễ đứt, mặt đứt màu trắng. Không mùi vị.

Bột
Màu gần trắng. Soi kính hiển vi thấy: Tế bào mô mềm hình sao, liên kết với nhau dạng nhánh tạo thành các khoang chứa không khí hình tam giác hoặc tứ giác. Các nhánh có 4 đến 8 tế bào, dài 5 µm đến 15 µm, rộng 5 µm đến 12 µm, thành hơi dày, lỗ nhỏ, thành tiếp nối giữa các tế bào mỏng, đôi khi có dạng hạt.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cyclohexan - ethyl acetat (10 : 7).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml *methanol (TT)*, đun hồi lưu, để nguội, lọc, bốc hơi dịch lọc tới khô, rửa cắn bằng 2 ml *ether (TT)*, bỏ dịch ether, hòa tan cắn trong 1 ml *methanol (TT)* dùng làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g Đăng tâm thảo (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí. Phun dung dịch *acid phosphomolybdic 5 % trong ethanol (TT)*, sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 11,0 % (Phụ lục 9.6, 0,5 g, 85 °C, 4 h).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 5,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Dùng 5 g dược liệu. Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 50 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa hạ đến mùa thu, cắt lấy thân, phơi khô, lấy riêng lõi, vuốt thẳng, buộc thành bó nhỏ.

Bào chế
Đăng tâm thảo: Trừ bỏ tạp chất, cắt đoạn.
Đăng tâm thán: Lấy Đăng tâm thảo sạch, cho vào nồi đất, bịt kín, đốt âm i thật kỹ, để nguội, lấy ra.

Bảo quản
Để nơi khô.

Tính vị, quy kinh
Cam, đạm, vi hàn. Vào kinh tâm, phế, tiểu trường.

Công năng, chủ trị
Thanh tâm hỏa, lợi tiểu tiện. Chủ trị: Tâm phiền mất ngủ, lở miệng, lưỡi, tiểu tiện ít, đau.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 1 g đến 3 g, dạng thuốc sắc hoặc thuốc bột.

Kiêng kỵ
Người thể hư, trúng hàn, tiểu tiện không kìm được không nên dùng.

ĐẬU ĐEN (Hạt)
Semen Vignae cylindricae

Hạt đã phơi khô của cây Đậu đen [*Vigna cylindrica* (L.) Skeels], họ Đậu (Fabaceae).

Mô tả
Hạt hình thận, vỏ màu đen bóng có chiều dài 6 mm đến 9 mm, chiều ngang từ 5 mm đến 7 mm, chiều dẹt 3,5 mm đến 6 mm. Rốn hạt màu sáng trắng. Trọng lượng hạt từ 106 mg đến 115 mg. Hạt dễ vỡ thành 2 mảnh lá mầm. Đầu của 2 mảnh hạt có chứa 2 lá chồi, 1 trụ mầm.

Bột
Mảnh mô mềm chứa các hạt tinh bột, thành tế bào màu đen. Hạt tinh bột hình thận dài 15 µm đến 30 µm, rộng 10 µm đến 18 µm, rốn một vạch hay phân nhánh, có vân tăng trưởng mờ. Mảnh vỏ gồm các tế bào nhỏ màu đen. Rải rác có các mảnh mạch nhỏ.

Định tính
Lấy khoảng 1 g dược liệu, thêm 10 ml *nước*, đun sôi cách thủy trong 10 min. Để nguội, lọc. Lấy 5 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm. Thêm 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)*, dung dịch chuyển sang màu đỏ. Tiếp tục thêm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, dung dịch chuyển sang màu xanh đen.

Protein toàn phần
Cân chính xác 0,2 g bột dược liệu đã xác định độ ẩm cho vào bình Kjeldahl rồi tiến hành theo phương pháp Định lượng nitrogen trong hợp chất hữu cơ (Phụ lục 10.9, phương pháp 1) nhưng dùng *dung dịch acid sulfuric 0,1 N (CĐ)* để cho vào bình hứng và dùng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* để chuẩn độ acid sulfuric thừa trong dung dịch cất được.
Song song tiến hành làm mẫu trắng.
Hàm lượng protein toàn phần được xác định theo công thức:

$$X\ (\%) = \frac{(a - b) \times 0{,}0014 \times 5{,}07}{m \times (100 - d)} \times 100 \times 100$$

Trong đó:
a là thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* dùng để chuẩn độ mẫu trắng (ml);
b là thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* dùng để chuẩn độ mẫu thử (ml);
m là khối lượng mẫu thử tính bằng g;
d là độ ẩm của mẫu thử (%);
0,0014 là hệ số tinh chuyển lượng nitrogen tương ứng 1 ml *dung dịch acid sulfuric 0,1 N*;
5,07 là hệ số chuyển đổi nitrogen ra protein.
Dược liệu phải có hàm lượng protein không ít hơn 25,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Độ ẩm
Không quá 10 % (Phụ lục 9.6, 1g, 105 °C, 5 h).

Kích thước hạt
Toàn bộ hạt đậu đen qua rây số 7000 (đường kính lỗ mắt rây 7 mm). Số lượng hạt đậu đen qua rây 5000 không vượt quá 25 % (đường kính lỗ mắt rây 5 mm). Tất cả các hạt đậu đen không qua rây số 4000 (đường kính lỗ mắt rây 4 mm).

Tro toàn phần
Không quá 4,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 0,15 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất
Không quá 0,1 % (Phụ lục 12.11).

Độ sượng
Cân 50 g dược liệu cho vào cốc có dung tích 250 ml, đổ ngập nước, đun sôi cách thủy trong 60 min. Lấy 100 hạt bất kỳ rồi bóp trên 2 đầu ngón tay, đếm số hạt không bóp được. Độ sượng (là phần trăm hạt không bóp được) không được vượt quá 8 % (hạt/hạt).

Xác định độ nhiễm côn trùng
Cân khoảng 65 g dược liệu cho lên mặt sàng, nhúng cả sàng vào dung dịch chứa 10 g *kali iodid (TT)* và 5 g *iod (TT)* vừa đủ trong 500 ml nước. Tiếp đó nhúng cả sàng vào *dung dịch kali hydroxyd 0,5 % (TT)*. Lấy dược liệu ra khỏi sàng và rửa bằng nước lạnh trong 20 s. Không được thấy vết đen hoặc lỗ đen trên bề mặt hạt (không được nhiễm côn trùng).

Chế biến
Thu hoạch vào tháng 6 hoặc tháng 7, chọn những quả già vỏ đã ngả màu đen, đem phơi khô và đập tách lấy riêng hạt. Tiếp tục phơi khô hạt đến độ ẩm qui định.

Bào chế
Đạm đậu sị: Lấy đậu đen vo sạch, ngâm nước 1 đêm. Để cho ráo nước, đồ chín. Trải đều trên nong nia hoặc trên chiếc chiếu sạch, đợi ráo lấy lá chuối khô sạch ủ kín 3 ngày, khi thấy lên meo vàng đem phơi khô ráo, tưới nước cho đủ ẩm, cho vào thùng ủ kín bằng lá dâu. Khi lên meo vàng thì lấy ra phơi 1 h lại tưới nước và ủ như trên. Làm như vậy cho đủ 5 đến 7 lần.
Cuối cùng đem chưng rồi phơi khô và cho vào bình đậy kín để dùng trong các bài thuốc.

Bảo quản
Đóng trong thùng kín, để nơi khô mát tránh mốc mọt, côn trùng.

Tính vị, quy kinh
Cam, bình. Qui vào kinh thận.

Công năng, chủ trị
Trừ phong, thanh thấp nhiệt, lương huyết, giải độc, lợi tiểu tiện, tư âm, dùng bổ thận, sáng mắt, trừ phù thũng do nhiệt độc, giải độc.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 20 g đến 40 g, có thể hơn.
Dùng để chế Đạm đậu sị và làm phụ liệu.

Kiêng kỵ
Tỳ vị hư hàn mà không nhiệt độc không dùng. Ghét Long đởm, kỵ Hậu phác.

ĐẬU VÁN TRẮNG (Hạt)
Semen Lablab
Bạch biển đậu

Hạt già phơi hay sấy khô của cây Đậu ván trắng [*Lablab purpureus* (L.) Sweet], họ Đậu (Fabaceae).

Mô tả
Hạt hình bầu dục hoặc hình trứng, dẹt, dài 8 mm đến 13 mm, rộng 6 mm đến 9 mm, dày 4 mm. Vỏ ngoài màu trắng ngà, hoặc màu vàng, đôi khi có chấm đen, hơi nhẵn bóng, ở mép có một vòng màu trắng là mống chiếm 1/3 đến 1/2 chiều dài hạt. Chất cứng chắc, vỏ mỏng giòn, có 2 lá mầm to màu trắng ngà. Mùi nhẹ, vị nhạt, khi nhai có mùi tanh của đậu.

Vi phẫu
Biểu bì gồm một lớp tế bào xếp đều đặn (giống mô dậu) và 2 lớp ở rốn hạt có hình hơi cong, tế bào nâng của 1 lớp hình quả tạ, có 3 đến 5 hàng tế bào nâng ở rốn hạt. Mô mềm gồm 10 hàng tế bào nằm dưới hàng tế bào nâng, lớp trong của nó bị tiêu đi. Các tế bào lá mầm chứa nhiều tinh bột. Ở phía ngoài lớp tế bào biểu bì (giống mô dậu) ở rốn hạt có mống, ở phía trong có các đám quản bào, thành dày có hình mạng với các mô hình sao ở hai bên, khoảng giữa các tế bào hình sao có những khoang chứa chất màu nâu.

Bột
Màu trắng ngà, miết lên tay thấy hơi nhờn, vị bùi, để lâu có mùi tanh gây buồn nôn. Nhiều hạt tinh bột kích thước lớn, hình trứng hay trái xoan, có rốn rách ở giữa. Mảnh mô mềm của lá mầm chứa nhiều hạt tinh bột. Mảnh vỏ hạt gồm các tế bào dài dẹt. Mảnh rễ mầm gồm các tế bào hình chữ nhật hoặc hơi tròn, nhỏ, đều đặn.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất
Tỷ lệ hạt non, lép không quá 3,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến
Thu hoạch vào mùa thu, đông, hái các quả chín phơi khô lấy hạt, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế
Bạch biển đậu sống: Loại bỏ tạp chất xay vỡ hoặc giã dập khi dùng.
Bạch biển đậu sao: Lấy Bạch biển đậu sạch cho vào chảo sao nhỏ lửa (lửa văn) cho đến khi bề mặt có màu vàng nhạt, thỉnh thoảng có đốm đen, xay vỡ hoặc giã dập khi dùng.

Bảo quản
Nơi khô ráo, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Cam, vi ôn. Quy vào các kinh tỳ, vị.

Công năng, chủ trị
Kiện tỳ hòa trung, giải thử hóa thấp, giải độc rượu. Chủ trị: Tỳ vị hư nhược, kém ăn, đại tiện lỏng, bạch đới, nôn mửa, tiết tả, say rượu.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 9 g đến 15 g, thường phối hợp với các vị thuốc khác.

ĐẬU XANH (Hạt)
Semen Vignae radiatae

Hạt đã phơi khô của cây Đậu xanh *Vignaradiata* var. *radiata* (L.) R.Wilczek, họ Đậu (Fabaceae).

Mô tả
Hạt hình trụ màu xanh lục sáng có chiều dài 4 mm đến 6 mm, đường kính 3,5 mm đến 4,5 mm. Rốn hạt chạy dọc theo chiều dài hạt có màu sáng trắng. Trọng lượng hạt từ 61 mg đến 65 mg. Hạt dễ vỡ thành 2 mảnh lá mầm. Một đầu 2 mảnh hạt có chứa 2 lá chồi, 1 trụ mầm.

Bột
Hạt tinh bột hình trứng dài 15 µm đến 32 µm, rộng 10 µm đến 15 µm. Các mảnh ngắn hình chữ nhật sáng màu. Mảnh vỏ cấu tạo từ các tế bào nhỏ màu xanh lục.

Protein toàn phần
Cân chính xác 0,2 g bột dược liệu đã tán bột và xác định độ ẩm. Cho vào bình Kjeldahl rồi tiến hành theo phương pháp Định lượng nitrogen trong hợp chất hữu cơ (Phụ lục 10.9, phương pháp 1) nhưng dùng *dung dịch acid sulfuric 0,1 N (CĐ)* để cho vào bình hứng và dùng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* để chuẩn độ acid sulfuric thừa trong dung dịch cất được.
Song song tiến hành làm mẫu trắng.
Hàm lượng protein toàn phần được xác định theo công thức:

$$X\,(\%) = \frac{(a - b) \times 0{,}0014 \times 5{,}07}{m \times (100 - d)} \times 100 \times 100$$

Trong đó:
a là thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* dùng để chuẩn độ mẫu trắng (ml);
b là thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* dùng để chuẩn độ mẫu thử (ml);
d là độ ẩm của mẫu thử (%);
m là khối lượng mẫu thử tính bằng g;
0,0014 là hệ số tính chuyển lượng nitrogen tương ứng 1 ml *dung dịch acid sulfuric 0,1 N*;
5,07 là hệ số chuyển đổi nitrogen ra protein.
Dược liệu phải có hàm lượng protein toàn phần không ít hơn 23,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Độ ẩm
Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 3,6 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 0,26 % (Phụ lục 9.7).

Kích thước hạt
Toàn bộ đậu xanh qua rây số 5000 (đường kính lỗ mắt rây 5 mm) và số lượng đậu xanh qua rây số 4000 không được vượt quá 3 % (đường kính lỗ mắt rây 4 mm).

Tạp chất
Không quá 0,1 % (Phụ lục 12.11).

Độ sượng
Lấy 50 g đậu xanh cho vào cốc dung tích 250 ml đổ ngập nước, đậy nắp, đun sôi cách thủy trong 60 min. Lấy 100 hạt bất kỳ bóp trên 2 đầu ngón tay. Đếm số hạt không bóp được. Độ sượng (là phần trăm hạt không bóp được) không vượt quá 17 % (hạt/hạt).

Xác định độ nhiễm côn trùng
Cân khoảng 30 g dược liệu, cho lên mặt sàng và nhúng cả sàng vào dung dịch chứa 10 g *kali iodid (TT)* và 5 g *iod (TT)* trong vừa đủ 500 ml nước. Tiếp đó nhúng cả sàng vào *dung dịch kali hydroxyd* 0,5 % *(TT)*. Lấy hạt ra khỏi sàng và rửa mẫu bằng nước lạnh trong 20 s. Không được thấy vết đen hoặc lỗ đen trên bề mặt hạt (không được nhiễm côn trùng).

Chế biến
Thu hoạch vào tháng 5 hoặc tháng 6, chọn những quả đậu xanh già vỏ đã ngả màu đen hoàn toàn. Đem phơi khô và đập tách lấy riêng hạt đậu xanh. Tiếp tục phơi khô đến độ ẩm quy định.

Bảo quản
Đóng trong thùng kín để nơi khô thoáng mát tránh mốc mọt, sâu bọ, côn trùng.

Tính vị, quy kinh
Cam, hàn. Quy vào kinh vị, đại tràng, tâm, vị.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt trừ thử, chỉ khát, lợi niệu, giải các loại độc. Chủ trị: Tả lỵ, phù thũng, ngộ độc các chất và thuốc, thử nhiệt và khát nước.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 12 g đến 20 g, có thể hơn. Dùng riêng hoặc trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ
Không thực nhiệt thì không dùng. Không dùng chung với Phi tử (Hạt hẹ).

ĐỊA CỐT BÌ
Cortex Radicis Lycii

Vỏ rễ phơi hay sấy khô của cây Câu kỷ (*Lycium chinense* Mill.) hay cây Ninh hạ câu kỷ (*Lycium barbarum* L.), họ Cà (Solanaceae).

Mô tả
Dược liệu là những mảnh vỏ cuộn tròn hình ống nhỏ hoặc hình máng, dài 3 cm đến 10 cm, rộng 0,5 cm đến 1,5 cm, dày 1 mm đến 3 mm. Mặt ngoài màu vàng xám đến vàng nâu, xù xì, với những đường vân nứt dọc, không đều, dễ bóc; mặt trong màu vàng nhạt đến vàng xám, tương đối nhẵn, có vân dọc nhỏ. Chất nhẹ và giòn, dễ bẻ gãy, mặt gãy không phẳng, lớp ngoài màu vàng nâu, lớp trong màu trắng xám. Mùi nhẹ, vị hơi ngọt sau đắng.

Vi phẫu
Lớp bần có 4 đến 10 hàng tế bào hoặc hơn. Tế bào mô mềm vỏ chứa tinh thể calci oxalat dạng cát thường tụ thành đám với nhiều hạt tinh bột. Đa số các bó tia libe phân cách bởi 1 hàng tế bào rộng; sợi đơn độc và rải rác, hoặc có 2 hay nhiều sợi họp thành đám.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Toluen - aceton - acid formic (10 : 1 : 0,1).
Dung dịch thử: Lấy 1,5 g bột dược liệu, thêm 15 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm 30 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 1 ml *methanol (TT)* làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 1,5 g bột Đại cốt bì (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản ra để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Tro toàn phần
Không quá 11,0 % (Phụ lục 9.8).

Độ ẩm
Không quá 11,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tỷ lệ vụn nát
Mảnh dưới 1,5 cm: Không quá 2,0 % (Phụ lục 12.12).

Chế biến
Thu hoạch vào đầu xuân và cuối thu, đào lấy rễ, rửa sạch, bóc lấy vỏ, phơi hoặc sấy khô, hoặc rửa sạch rễ, cắt thành từng đoạn 6 cm đến 12 cm, dùng dao rạch đến gỗ, cho vào đồ, vỏ rễ bong ra, lấy vỏ đem phơi hoặc sấy khô.

Bào chế
Loại bỏ tạp chất và lõi gỗ còn sót lại, rửa sạch, phơi khô, cắt đoạn.

Bảo quản
Để nơi khô.

Tính vị, quy kinh
Cam, hàn. Vào các kinh phế, can, thận.

Công năng, chủ trị
Lương huyết, trừ cốt chưng, thanh phế, giáng hỏa. Chủ trị: Âm hư, sốt về chiều, cốt chưng, đạo hãn, phế nhiệt, ho khạc máu, nội nhiệt tiêu khát.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 12 g. Dạng thuốc sắc.

ĐỊA DU (Rễ)
Radix Sanguisorbae

Rễ phơi hoặc sấy khô của cây Địa du *(Sanguisorba officinalis* L.*)* hay cây Địa du lá dài [*Sanguisorba officinalis* L. var. *longifolia* (Bert.) Yu et Li], họ Hoa hồng (Rosaceae).

Mô tả
Rễ hình thoi hoặc hình trụ không đều, hơi cong queo hoặc vặn, dài 5 cm đến 25 cm, đường kính 0,5 cm đến 2 cm, mặt ngoài màu nâu tro, màu nâu hoặc tía thẫm, thô, có nếp nhăn dọc, có vân nứt ngang và vết rễ con. Chất cứng. Mặt bẻ tương đối phẳng, vỏ có nhiều sợi dạng bông, từ màu trắng vàng đến màu nâu vàng, gỗ màu vàng hoặc nâu vàng, tia gỗ xếp thành hàng xuyên tâm. Lát cắt hình tròn hay hình bầu dục không đều, dầy 0,2 cm đến 0,5 cm, mặt cắt màu đỏ tía hoặc nâu. Không mùi, vị hơi đắng, săn.

Vi phẫu
Lớp bần gồm nhiều hàng tế bào dài xếp theo hướng tiếp tuyến, thường màu vàng nâu. Mô mềm vỏ rộng, tế bào mô mềm tương đối đều, gần tròn hoặc bầu dục. Trong mô mềm có các khoảng gian bào lớn. Tia ruột nhiều, hẹp, thường có một dãy tế bào. Tầng phát sinh libe-gỗ thấy rõ. Rải rác trong mô mềm gỗ có những mạch gỗ to và những đám sợi mô cứng. Trong tế bào mô mềm có hạt tinh bột và tinh thể calci oxalat to, hình cầu gai.

Bột
Màu xám, vị hơi đắng. Soi kính hiển vi thấy: Nhiều hạt tinh bột hình tròn hoặc hình bầu dục, đơn, kép đôi, ít khi kép ba hoặc kép bốn. Mảnh mô mềm có chứa hạt tinh bột, đôi khi thấy cả tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Mảnh mạch, mảnh bần màu vàng, tế bào có chiều dài gấp hai đến ba lần chiều rộng. Tinh thể calci oxalat đứng riêng lẻ.

Định tính
A. Lấy 2 g dược liệu thêm 20 ml *ethanol (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy khoảng 10 min, lọc. Điều chỉnh pH dịch lọc đến pH 8 đến 9 bằng *dung dịch amoniac loãng (TT)*, lọc. Phần kết tủa để riêng (tủa 1). Lấy dịch lọc, bốc hơi đến khô. Hòa tan cặn trong 10 ml *nước*, lọc. Lấy 5 ml dịch lọc đem bốc hơi đến khô, thêm 1 ml *anhydrid acetic (TT)* và 2 giọt *acid sulfuric (TT)* xuất hiện màu tím đỏ để lâu sẽ biến thành màu nâu.
B. Lấy một ít tủa 1, thêm 2 ml *nước* và 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)* sẽ có màu lam sẫm đen.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Rễ màu nâu, đen: Không quá 10,0 %.
Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Tro toàn phần
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.8).

Định lượng
Cân chính xác khoảng 10 g bột dược liệu (qua rây số 355), tiến hành phương pháp định lượng taninoid (Phụ lục 12.6). Hàm lượng taninoid trong dược liệu không được dưới 10,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Mùa xuân, khi cây sắp nảy chồi, hoặc mùa thu sau khi cây khô, đào lấy rễ, loại bỏ rễ con, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô, hoặc thái phiến rồi phơi khô.

Bào chế
Địa du phiến: Rửa sạch rễ Địa du, loại bỏ tạp chất, thân cây còn sót lại, ủ mềm, thái lát dày, phơi hoặc sấy khô để dùng.
Địa du thán sao: Lấy Địa du đã thái lát, sao lửa to đến khi mặt ngoài có màu đen sém và bên trong có màu vàng hay màu nâu. Lấy ra để nguội.

Bảo quản
Để nơi khô, thoáng, trong bao bì kín, tránh sâu, mọt.

Tính vị, quy kinh
Khổ, toan, sáp, vi hàn. Vào các kinh can, đại trường.

Công năng, chủ trị
Lương huyết chỉ huyết, giải độc, liễm nhọt. Chủ trị: Đại tiểu tiện ra máu, trĩ ra máu, lỵ ra máu, băng huyết, rong huyết, bỏng nước, bỏng lửa, mụn nhọt thũng độc.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 9 g đến 15 g. Dạng thuốc sắc.
Dùng ngoài: Lượng thích hợp, tán bột đắp nơi bị đau.

ĐỊA HOÀNG (Rễ)

Radix Rehmanniae glutinosae
Sinh địa

Rễ củ đã phơi sấy khô của cây Địa hoàng [*Rehmannia glutinosa* (Gaertn.) Libosch.], họ Hoa mõm chó (Scrophulariaceae).

Mô tả
Tiên địa hoàng (Địa hoàng tươi): Hình thoi hoặc dài dài 8 cm đến 24 cm, đường kính 2 cm đến 9 cm. Vỏ ngoài mỏng, mặt ngoài màu vàng đỏ nhạt, có vết nhăn dài, cong và có vết tích của mầm. Lỗ vỏ dài nằm ngang, có các vết sẹo không đều. Chất thịt, dễ bẻ, trong vỏ rải rác có các chấm dầu màu trắng vàng hoặc đỏ cam, phần gỗ màu trắng vàng với các dãy mạch xếp theo kiểu xuyên tâm. Mùi thơm nhẹ, vị hơi ngọt đắng.
Sinh địa (Địa hoàng khô): Dược liệu là những khối hình dạng không đều, hoặc hình thuôn, khoảng giữa phình to, hai đầu hơi nhỏ, dài khoảng 4 cm đến 15 cm, đường kính khoảng 2 cm đến 6 cm. Loại củ nhỏ hình dài, hơi bị ép dẹt, cong queo hoặc xoắn lại. Mặt ngoài màu nâu đen hoặc xám nâu, nhăn nheo nhiều, có các đường vân lượn cong nằm ngang không đều. Thể nặng, chất tương đối mềm, dai, khó bẻ gãy. Mặt cắt màu nâu đen hoặc đen bóng, dính. Mùi thơm nhẹ, vị hơi ngọt.

Vi phẫu
Lớp bần gồm nhiều hàng tế bào hình chữ nhật. Mô mềm bao gồm các tế bào thành mỏng, rải rác có các tế bào tiết chứa những giọt dầu nhỏ màu đỏ cam. Trong libe cũng có tế bào tiết nhưng ít gặp hơn. Libe-gỗ cấp 2 khá phát triển. Mạch rây gần tầng sinh libe-gỗ. Tầng sinh libe-gỗ xếp thành vòng liên tục. Gỗ cấp 2 phân bố vào đến tâm, gồm những bó gỗ thưa và phân cách bởi tia ruột rộng, gồm nhiều hàng tế bào.

Bột
Bột màu nâu thẫm. Mảnh bần màu nâu nhạt, nhìn từ mặt bên gồm các tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn, tế bào mô mềm gần tròn, tế bào tiết chứa giọt dầu màu vàng cam hay đỏ cam, mạch mạng đường kính tới 92 µm.

Định tính
A. Cho 0,5 g dược liệu đã cắt nhỏ vào 1 bình nón 50 ml, thêm 25 ml *nước* nóng, đun trong cách thủy 30 min. Lọc lấy 5 ml dịch lọc, thêm 1 ml *thuốc thử Fehling A (TT)* và 1 ml *thuốc thử Fehling B (TT)*, đun trong cách thủy 30 min, sẽ thấy xuất hiện tủa màu đỏ gạch.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - nước (14 : 6 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 2 g dược liệu đã cắt nhỏ, thêm 20 ml *methanol (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 1 h, để nguội, lọc. Cô dịch lọc còn khoảng 5 ml được dung dịch thử.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan catalpol trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 0,5 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Lấy 2 g Địa hoàng (mẫu chuẩn) đã cắt nhỏ, chiết cùng điều kiện như dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng, phun *thuốc thử anisaldehyd (TT)* và sấy ở 105 °C cho đến khi các vết hiện rõ. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu, hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng giá trị R_f và màu sắc với vết của catalpol trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Ethyl acetat - methanol - acid formic (16 : 0,5 : 2).
Dung dịch thử: Lấy 1 g dược liệu đã cắt nhỏ, thêm 50 ml *methanol 80% (TT)*, lắc siêu âm 30 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn, hòa cắn trong 5 ml *nước*. Lắc với *n-butanol đã bão hòa nước (TT)* 4 lần, mỗi lần 10 ml. Gộp dịch chiết n-butanol, cô đến cạn. Hòa cắn trong 2 ml *methanol (TT)* làm dung dịch thử.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan verbascosid chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 1 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Lấy 1 g Địa hoàng (mẫu chuẩn) đã cắt nhỏ, chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch thử, dung dịch dược liệu đối chiếu và 2 µl dung dịch chất đối chiếu. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch 2-aminoethyl diphenylborinat 1 % trong methanol (TT).* Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 5 min. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu, hoặc có vết cùng giá trị R_f và màu sắc với vết của verbascosid trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 15,0 % (với sinh địa) (Phụ lục 12.13).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 3,0 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 65,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10), dùng *nước* làm dung môi.

Định lượng
Catalpol
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Acetonitril.
Pha động B: Dung dịch acid phosphoric 0,1%.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan catalpol chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 100 µg/ml.
Dung dịch thử: Cắt một lượng dược liệu thành những mảnh nhỏ (kích thước khoảng 5 mm × 5 mm), sấy ở 80 °C, dưới áp suất giảm trong 24 h rồi nghiền thành bột thô. Cân chính xác khoảng 0,8 g bột dược liệu vào một bình nón nút mài, thêm chính xác 50 ml *methanol (TT)* và cân. Đun sôi hồi lưu trong 1,5 h, để nguội và cân lại, bổ sung *methanol (TT)* để được khối lượng ban đầu, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 0,6 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (tt/tt)	Pha động B (tt/tt)
0 - 10	1	99
10 - 30	1 → 4,5	99 → 95,5
30 - 60	4,5 → 10	95,5 → 90
60 - 63	10 → 1	90 → 99

Tiêm dung dịch chuẩn, tiến hành sắc ký và tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột tính trên pic catalpol phải không dưới 5000.
Tiêm dung dịch thử. Tính hàm lượng catalpol trong dược liệu dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{15}H_{22}O_{10}$ trong catalpol chuẩn.
Dược liệu phải chứa không dưới 0,20 % catalpol ($C_{15}H_{22}O_{10}$), tính theo dược liệu khô kiệt.

Verbascosid
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - dung dịch acid acetic 0,1 % (16 : 84).
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng verbascosid chuẩn và hòa tan trong pha động để được dung dịch có nồng độ khoảng 10 µg/ml.
Dung dịch thử: Hút chính xác 20 ml dịch lọc thu được trong phần định lượng catalpol, thu hồi dung môi trong chân không đến gần cạn. Dùng pha động để hòa tan và chuyển toàn bộ cắn vào bình định mức 5 ml, thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 334 nm.
Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Số đĩa lý thuyết của cột tính trên pic chuẩn verbascosid phải không dưới 5000.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng verbascosid trong dược liệu dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{29}H_{36}O_{15}$ trong verbascosid chuẩn.
Dược liệu phải chứa không dưới 0,02 % verbascosid ($C_{29}H_{36}O_{15}$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa thu hoặc mùa xuân, đào lấy rễ, loại bỏ thân, lá, rễ con, rửa sạch, dùng tươi là Tiên địa hoàng hoặc sấy nhẹ ở 45 °C đến 50 °C cho khô là Sinh địa.

Bào chế
Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm đối với sinh địa, thái lát dày, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản
Tiên địa hoàng: Vùi trong cát, tránh giá lạnh khô cứng.
Sinh địa: Để nơi thoáng, khô, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Tiên địa hoàng: Cam, khổ, hàn. Vào các kinh tâm, can, thận.
Sinh địa: Cam, hàn. Vào các kinh tâm, can, thận.

Công năng, chủ trị
Tiên địa hoàng: Thanh nhiệt, lương huyết. Chủ trị: Ôn bệnh vào dinh huyết, hầu họng sưng đau, huyết nhiệt làm khô tân dịch gây chảy máu (máu cam, nôn máu, ban chẩn...).
Sinh địa: Tư âm dưỡng huyết. Chủ trị: Huyết hư gây nóng sốt, nôn máu, máu cam, băng huyết, kinh nguyệt không đều, động thai.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 12 g đến 24 g. Dạng thuốc sắc.

ĐỊA LIỀN (Thân rễ)

Rhizoma Kaempferiae galangae
Thiền liền, Lương khương

Thân rễ đã thái phiến phơi hay sấy khô của cây Địa liền *(Kaempferia galanga L.)*, họ Gừng (Zingiberaceae).

Mô tả
Phiến dày khoảng 2 mm đến 5 mm, đường kính 0,6 cm trở lên, hơi cong lên. Mặt cắt màu trắng ngà có khi hơi ngả vàng.

Xung quanh là vỏ ngoài màu vàng nâu hoặc màu tro nhạt, nhăn nheo, có khi còn sót lại rễ con hoặc vết tích rễ con. Thể chất giòn dễ bẻ, có bột. Mùi thơm đặc trưng, vị cay.

Vi phẫu
Lớp bần gồm 8 đến 15 hàng tế bào hình chữ nhật. Mô mềm vỏ gồm những tế bào hình nón hay nhiều cạnh, thành mỏng, chứa hạt tinh bột, rải rác có các bó libe-gỗ nhỏ. Vòng nội bì khung caspari liền với vòng trụ bì. Mô mềm ruột gồm tế bào thành hơi dày chứa nhiều hạt tinh bột và rải rác có các bó libe-gỗ. Tế bào chứa tinh dầu có cả ở mô mềm vỏ và mô mềm ruột.

Bột
Bột màu trắng ngà. Soi dưới kính hiển vi thấy: Nhiều hạt tinh bột hình gần như ba cạnh, hình trứng hay hình tròn, đường kính 5 µm đến 30 µm, có rốn và vân mờ. Mảnh mô mềm có tế bào chứa tinh bột, hoặc kèm theo tế bào chứa tinh dầu màu vàng. Mảnh bần màu nâu nhạt, mảnh mạch vạch.

Định tính
A. Ngâm 1 g bột dược liệu với 5 ml *ether ethylic (TT)* trong 15 min, thỉnh thoảng lắc, lọc. Bay hơi dịch lọc đến cắn. Thêm 1 giọt đến 2 giọt *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*, xuất hiện màu nâu đỏ đến tím.
B. Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ethanol 90 % (TT)*. Đun cách thủy 20 min, để nguội và lọc.
Lấy 1 ml dịch lọc cho vào một ống nghiệm, thêm từ từ 1 ml *acid sulfuric (TT)* xuống đáy ống. Vòng tiếp xúc giữa 2 lớp chất lỏng có màu nâu đỏ, sau chuyển sang nâu tím.
Lấy 1 ml dịch lọc, thêm từ từ 1 ml *dung dịch natri carbonat 5 % (TT)*. Đun trong cách thủy 3 min, để nguội, thêm 1 giọt đến 2 giọt *thuốc thử diazo (TT)* sẽ có màu đỏ cam.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi khai triển: *n-Hexan - ethyl acetat* (18 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 0,25 g dược liệu, thêm 5 ml *methanol (TT)*, siêu âm 10 min, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,25 g Địa liền (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên cùng một bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).
Dùng 10 g dược liệu đã tán nhỏ.

Tro toàn phần
Không quá 7,0 % (Phụ lục 9.8).

Tỷ lệ vụn nát
Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 5 % (Phụ lục 12.12).

Tạp chất
Không quá 0,5 % (Phụ lục12.11).

Định lượng
Tiến hành theo phương pháp "Định lượng tinh dầu trong dược liệu" (Phụ lục 12.7). Lấy 30 g dược liệu, thêm 300 ml *nước*, cất trong 3 h.
Hàm lượng tinh dầu trong dược liệu không ít hơn 1,4 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Đào lấy thân rễ, rửa sạch, thái phiến mỏng, phơi khô. Khi dùng vi sao.

Bảo quản
Để nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh
Tân, ôn. Vào hai kinh tỳ, vị.

Công năng, chủ trị
Hành khí, ôn trung, tiêu thực, chỉ thống. Chủ trị: Tê thấp, đau nhức xương khớp, nhức đầu, răng đau, ngực bụng lạnh đau, tiêu hóa kém.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 9 g, dạng thuốc sắc, bột hoặc viên. Ngâm rượu trong 5 đến 7 ngày, lượng thích hợp, để xoa bóp. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Âm hư, thiếu máu hoặc vị có hỏa uất không dùng.

ĐỊA LONG
Pheretima
Giun đất

Toàn thân đã phơi hay sấy khô của con Giun [*Pheretima aspergillum* (E. Perrier), *Pheretima vulgaris* Chen., *Pheretima guillelmi* (Michaelsen), hay *Pheretima pectinifera*], họ Cự dẫn (Megascolecidae). Loại đầu tiên là Quảng địa long, 3 loại còn lại là Hồ địa long.

Mô tả
Quảng địa long: Là những lát mỏng có dạng như mái ngói, cong, bìa hơi cuộn, dài 15 cm đến 20 cm, rộng 1 cm đến 2 cm, toàn thân chia thành nhiều đốt. Mặt ngoài phần lưng có màu nâu đến xám tím, ở phần bụng có màu nâu vàng nhạt. Lỗ sinh thực cái nằm ở đốt thứ 14 đến 16, màu tương đối sáng. Thắt lại ở phần đầu, bè ra và tròn ở phần đuôi. Lông tơ ngắn, thô và rất cứng, màu hơi sáng. Lỗ sinh thực đực nằm ở phần nhô ra ở phần bụng của đốt thứ 18, phía ngoài được bao quanh bởi nhiều vòng cấu tạo từ những nếp nhăn cạn trên da, có 1 đến 2 dãy khối u nhỏ ở hai bên của phần trước, mỗi bên có khoảng 10 đến 20 cái, số lượng thay đổi. Lỗ nang thụ tinh gồm 2 đôi ở giữa đốt 7 đến 8/9, vòng sinh thực chiếm giữa các đốt 5 đến 11

hình đai yên ngựa. Thể chất nhẹ, dai, khó bẻ gãy. Mùi hôi khó chịu, vị hơi mặn.

Hổ địa long: Dài 8 cm đến 15 cm, rộng 0,5 cm đến 1,5 cm, toàn thân chia thành nhiều đốt. Phần lưng màu nâu đến nâu vàng, phần bụng màu nâu vàng sáng, 3 đôi lỗ nang thụ tinh ở đốt 6/7 đến 8/9. Lỗ sinh thực cái ở đốt 14 đến 16, màu tương đối sáng. Một đôi lỗ sinh thực đực nằm ở đốt thứ 18. Loài *Pheretima vulgaris* có lỗ sinh thực lộ ra hoàn toàn, có hình bông cải hoặc hình dương vật, loài *Pheretima guillelmi* chẻ theo chiều dọc, loài *Pheretima pectinifera* có một hay nhiều lỗ sinh thực đực với một hay nhiều núm ở bên trong.

Bột

Bột có màu xám hay vàng xám. Soi kính hiển vi thấy: Sợi cơ có sọc không màu hay màu nâu nằm rải rác hay dính đôi, đường kính 4 µm đến 25 µm mép thường không thẳng. Tế bào biểu bì màu nâu vàng, tế bào mô mềm chứa các hạt chất màu nâu sẫm.

Thịnh thoảng có lông tơ thường bị vỡ nằm rải rác, màu nâu nhạt hay vàng nâu đường kính 24 µm đến 32 µm, đầu to, ngắn.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: n-Butanol - acid acetic băng - nước (4 : 1 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 1 g dược liệu, thêm 10 ml *nước*, đun sôi, để nguội, ly tâm lấy phần dung dịch trong dùng làm dung dịch chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan các chất đối chiếu lysin, leucin và valin trong *nước* để có các dung dịch lần lượt có hàm lượng là 1 mg, 1 mg và 0,5 mg trong 1 ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 3 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch ninhydrin (TT)*, sấy ở 105 °C cho đến khi xuất hiện vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của các dung dịch đối chiếu.

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Toluen - methanol (95 : 5).

Dung dịch thử: Lấy 1 g dược liệu, thêm 20 ml *cloroform (TT)*, siêu âm trong 20 min, lọc, để bay hơi dịch lọc trên cách thủy đến khô. Hòa tan cắn trong 1 ml *cloroform (TT)* được dung dịch chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g Địa long (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 3 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang có cùng màu sắc và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của các dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất

Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.11).

Kim loại nặng

Không quá 30 phần triệu (Phụ lục 9.4.8, phương pháp 3). Lấy 1 g bột dược liệu để thử. Dùng 3,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị dung dịch đối chiếu.

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 16,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *nước* làm dung môi.

Chế biến

Loài Quảng địa long được thu hoạch từ mùa xuân đến mùa thu. Hồ địa long được thu hoạch vào mùa hạ. Dùng lá Nghể ràm ngâm nước, đổ lên mặt đất, bắt lấy giun đất bò lên. Loại bỏ những con giun đất có bệnh. Làm cho sạch nhớt. Kẹp thẳng giun đất vào que nứa, mổ bụng ngay lập tức, moi bỏ phủ tạng và đất, lau sạch, phơi khô hay sấy khô ở nhiệt độ thấp.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, cắt đoạn và phơi hoặc sấy khô ở nhiệt độ thấp.

Bảo quản

Nơi thoáng mát, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Hàm, hàn. Quy vào các kinh can, tỳ, phế, bàng quang.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt, trấn kinh, thông kinh lạc, bình suyễn, lợi niệu. Chủ trị: Sốt cao bất tỉnh, kinh giản co quắp, đau khớp, chân tay tê bại, bán thân bất toại, trúng phong ho suyễn do phế nhiệt, phù thũng, tiểu ít, cao huyết áp.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 4,5 g đến 9 g, dạng bột. Thường phối hợp trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ

Không dùng cho người hư hàn.

ĐINH HƯƠNG (Nụ hoa)

Flos Syzygii aromatici

Nụ hoa đã phơi hay sấy khô của cây Đinh hương [*Syzygium aromaticum* (L.) Merill et Perry], họ Sim (Myrtaceae).

Mô tả

Nụ hoa giống như một cái đinh, màu nâu sẫm, bao gồm phần bầu dưới của hoa hình trụ, dài 10 mm đến 12 mm, đường kính 2 mm đến 3 mm và một khối hình cầu

có đường kính 4 mm đến 6 mm. Ở phía dưới bầu đôi khi còn sót lại một đoạn cuống hoa ngắn, phía trên có 4 lá đài dày, hình 3 cạnh, xếp chéo chữ thập. Khối hình cầu gồm 4 cánh hoa chưa nở, xếp úp vào nhau. Bóc cánh hoa thấy bên trong có nhiều nhị, giữa có một vòi nhụy, thẳng, ngắn.

Vi phẫu
Mặt cắt ngang bầu hoa có hình elip hoặc tròn, quan sát từ ngoài vào trong thấy: Biểu bì uốn lượn, gồm một lớp tế bào, bên ngoài có tầng cutin dày, rải rác có lỗ khí.
Phần mô mềm: Mô mềm ở phía ngoài cấu tạo bởi các tế bào thành mỏng thường bị ép bẹt, có nhiều túi chứa tinh dầu hình trứng xếp thành 2 đến 3 vòng. Mô mềm phía trong cấu tạo bởi các tế bào đa giác, có chứa nhiều bó libe-gỗ, mỗi bó có gỗ ở giữa, libe bao quanh, bên ngoài libe là sợi hoặc các đám sợi.
Phần mô khuyết: Các tế bào thành mỏng nối tiếp nhau tạo thành mạng lưới, và những khuyết lớn.
Phần trụ giữa: Bên ngoài là một vài hàng tế bào mô mềm có chứa nhiều tinh thể calci oxalat hình cầu gai; bó libe-gỗ là các vòng liên tục, gỗ ở trong, libe ở ngoài, trong cùng là phần mô mềm có chứa nhiều tinh thể calci oxalat hình cầu gai.

Bột
Bột màu nâu sẫm, mùi thơm hắc, vị cay. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh mô mềm của bầu hoa có túi chứa tinh dầu hình cầu lớn, đường kính 80 µm đến 100 µm. Mảnh biểu bì có mang lỗ khí. Sợi ngắn, thành dày, khoang hẹp đứng riêng lẻ hay họp thành bó 2 sợi đến 3 sợi. Hạt phấn hoa hình 3 cạnh, màu vàng nhạt, đường kính 15 µm đến 20 µm. Mảnh cánh hoa gồm nhiều tế bào thành mỏng. Nhiều tinh thể calci oxalat hình cầu gai nằm trong tế bào hoặc đứng riêng lẻ bên ngoài. Mảnh mạch xoắn riêng lẻ hay tập trung thành bó. Các tế bào mô cứng.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Loại Đinh hương đã nở hoa, cuống hoa: Không quá 5,0 %.
Các tạp chất khác: Không quá 1 %.

Tro toàn phần
Không quá 7,0 % (Phụ lục 9.8).

Định lượng tinh dầu
Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7).
Lấy chính xác khoảng 5 g dược liệu đã được tán thành bột thô, cho vào bình cầu 250 ml, thêm 100 ml *nước cất*. Dùng 0,50 ml *xylen (TT)*; cất trong 4 h. Dược liệu phải chứa ít nhất 15,0 % tinh dầu.

Chế biến
Thu hái khi nụ hoa có màu đỏ sẫm, loại bỏ tạp chất và cắt bỏ phần cuống hoa, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản
Đóng gói trong bao bì kín, để nơi khô, mát, tránh ánh sáng.

Tính vị, quy kinh
Tân ôn. Vào các kinh phế, tỳ, vị, thận.

Công năng, chủ trị
Ôn trung, giáng nghịch, bổ thận trợ dương. Chủ trị: Tỳ vị hư hàn, nấc, bụng đau lạnh, ỉa chảy, nôn mửa, thận hư liệt dương.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 1 g đến 4 g dưới dạng thuốc sắc, hoặc tán hoặc ngâm rượu (xoa bóp).

Kiêng kỵ
Không hư hàn không dùng, kỵ uất kim.

ĐINH LĂNG (Rễ)
Radix Polysciacis

Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Đinh lăng [*Polyscias fruticosa* (L.) Harms], họ Nhân sâm (Araliaceae).

Mô tả
Rễ cong queo, thường được thái thành các lát mỏng, mặt cắt ngang màu vàng nhạt. Mặt ngoài màu trắng xám có nhiều vết nhăn dọc, nhiều lỗ vỏ nằm ngang và vết tích của các rễ con.

Vi phẫu
Mặt cắt ngang hình tròn, quan sát dưới kính hiển vi từ ngoài vào trong thấy: Lớp bần gồm nhiều hàng tế bào xếp đều đặn thành vòng đồng tâm và dãy xuyên tâm. Mô mềm vỏ, các tế bào thành mỏng, những lớp tế bào phía ngoài thường bị ép bẹp, trong mô mềm rải rác có tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Libe tạo thành vòng, bị tia tủy chia thành các bó hình nón, tầng phát sinh libe-gỗ. Gỗ chiếm phần lớn diện tích vi phẫu, rễ càng già phần gỗ càng nhiều.

Bột
Bột màu vàng nhạt, thơm nhẹ, vị hơi ngọt. Soi dưới kính hiển vi thấy nhiều hạt tinh bột hình chuông, hình đa giác, đường kính 10 µm đến 20 µm đứng riêng lẻ, kép 2, 3, 4 hay tụ tập thành khối. Mảnh bần, các mảnh mạch mạng, mạch vạch. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai đường kính 45 µm đến 70 µm. Mảnh mô mềm thường chứa tinh bột.

Định tính
A. Lấy khoảng 1 g bột dược liệu, thêm 5 ml *nước cất*, lắc mạnh trong 1 min, sẽ thấy bọt bền trong 10 min.
B. Lấy 5 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ethanol 90 % (TT)*, ngâm trong 3 h, lắc, lọc. Lấy dịch lọc làm các phản ứng sau: Lấy 1 ml dịch lọc vào ống nghiệm nhỏ, thêm 0,5 ml *anhydrid acetic (TT)*, thêm từ từ 0,5 ml *acid sulfuric (TT)*, tại lớp phân cách giữa hai dung dịch xuất hiện vòng màu đỏ. Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 ml *thuốc thử Fehling (TT)*, đun sôi, xuất hiện tủa đỏ gạch.

C. Lấy một ít bột dược liệu đặt trên khay sứ, nhỏ thêm 1 giọt *dung dịch Lugol*, bột chuyển sang màu xanh đen.
D. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel 60F$_{254}$.
Dung môi khai triển: Toluen - ethyl acetat - aceton - acid formic (5 : 2 : 2 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 10 g dược liệu đã cắt nhỏ, thêm 100 ml *nước*, đun sôi nhẹ trong 30 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 20 ml *dung dịch acid hydrocloric 4 M (TT)*, đun sôi hồi lưu trong 4 h, để nguội. Chuyển dịch thủy phân vào bình gạn, lắc kỹ với *cloroform (TT)* 2 lần, mỗi lần với 20 ml. Gộp dịch chiết cloroform, rửa bằng *nước cất* cho đến khi nước rửa trung tính (kiểm tra bằng giấy quỳ). Gạn lấy dịch chiết cloroform, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)* được dịch chấm sắc ký.
Dung dịch chất đối chiếu: Dung dịch acid oleanolic chuẩn trong *ethanol (TT)* có nồng độ 1 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Lấy 10 g rễ Đinh lăng (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl dung dịch đối chiếu và 10 µl đến 20 µl dung dịch thử. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*, sấy bản mỏng ở 105 °C cho tới khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường và dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với vết của acid oleanolic trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu và trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 8,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Chất chiết được trong ethanol: Không được ít hơn 5,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 90 % (TT)* làm dung môi.
Chất chiết được trong n-butanol: Không được ít hơn 2,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Cân chính xác khoảng 2 g bột dược liệu (qua rây 355) cho vào túi giấy và đặt vào bình Soxhlet, loại tạp bằng *ether dầu hỏa (40 °C đến 60 °C) (TT)* trong khoảng 2 h. Để nguội, lấy túi bột dược liệu ra, để bay hơi hết ether dầu hỏa, xé túi bột, chuyển cả bột và túi giấy vào bình nón nút mài 100 ml. Thêm chính xác 50,0 ml *methanol 80 % (TT)* vào bình nón, đậy nắp, cân xác định khối lượng, đun sôi hồi lưu trong cách thủy 2 h, để nguội, lấy bình nón ra, đậy kín, cân xác định lại khối lượng, bổ sung phần khối lượng bị giảm bằng *methanol 80 % (TT)*, lọc qua phễu lọc khô vào một bình hứng khô thích hợp. Bỏ 5 ml dịch lọc đầu, hút chính xác 25,0 ml dịch lọc, cô trên cách thủy đến còn khoảng 1 ml, dùng 20 ml *nước* chuyển dịch và cắn trong bát cô vào bình gạn 100 ml. Lắc kỹ lớp nước với *n-butanol bão hòa nước (TT)* 3 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp các dịch chiết n-butanol vào cốc thủy tinh đã cân bì trước, cô trên cách thủy đến cắn khô, sấy cắn ở 105 °C trong 3 h, lấy ra để nguội trong bình hút ẩm 30 min, cân nhanh để xác định khối lượng cắn. Tính phần trăm lượng chất chiết được trong dược liệu.

Chế biến
Thu hái, rửa sạch đất cát, thái lát, phơi hoặc sấy khô.

Chế biến
Thu hoạch rễ vào mùa thu đông sau khi cây trồng trên 5 năm. Đào lấy rễ, rửa sạch, bóc lấy vỏ rễ, thái lát, phơi khô.

Bào chế
Đinh lăng sống: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô.
Đinh lăng chế rượu gừng và mật: Tẩm rượu gừng 5 % vào Đinh lăng sống, trộn đều cho thấm rượu gừng, sao qua nhỏ lửa. Tẩm thêm Mật ong, trộn đều cho thấm mật rồi sao vàng cho thơm. Dùng 5 L rượu gừng 5 % và 5 kg Mật ong cho 100 kg dược liệu.

Bảo quản
Để nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Ngọt, bình. Quy vào kinh phế, tỳ, thận.

Công năng, chủ trị
Bổ khí, lợi sữa, giải độc. Chủ trị: Suy nhược cơ thể và suy nhược thần kinh, tiêu hóa kém, ngủ kém, phụ nữ sau đẻ ít sữa.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 2 g đến 6 g, dạng thuốc sắc hoặc thuốc tán bột. Thường phối hợp với một số vị thuốc khác.

ĐỖ TRỌNG (Vỏ thân)
Cortex Eucommiae

Vỏ thân đã phơi hay sấy khô của cây Đỗ trọng (*Eucommia ulmoides* Oliv.), họ Đỗ trọng (Eucommiaceae).

Mô tả
Dược liệu là những miếng vỏ phẳng hoặc hai bên mép hơi cong vào, to nhỏ không đều, dày 0,2 cm đến 0,7 cm, màu xám tro. Mặt ngoài sần sùi, có nhiều nếp nhăn dọc và vết tích của cành con. Mặt trong vỏ màu sẫm, trơn, chất giòn, dễ bẻ gãy, mặt bẻ có nhiều sợi màu trắng ánh bạc, có tính đàn hồi như cao su. Vị hơi đắng.

Vi phẫu
Mặt cắt ngang dược liệu nhìn dưới kính hiển vi từ ngoài vào trong có: Lớp bần dày, có chỗ bị nứt rách, gồm những tế bào dẹt thành hóa bần, xếp thành vòng đồng tâm và dãy

xuyên tâm. Mô mềm vỏ gồm nhiều hàng tế bào, các tế bào phía ngoài thường bị ép dẹt. Mô cứng xếp từng đám rải rác trong mô mềm vỏ, có cả trong libe. Libe cấp 2 dày có những đám sợi. Một số tế bào chứa nhựa nằm rải rác trong mô mềm vỏ, trong libe và trong mô cứng. Tia ruột có khoảng 2 đến 3 hàng tế bào, uốn lượn chạy từ tầng sinh libe-gỗ đến mô mềm vỏ. Trong cùng là tầng sinh libe-gỗ.

Bột

Bột màu nâu xám không mùi, vị hơi đắng. Soi dưới kính hiển vi thấy: Mảnh bần gồm các tế bào hình đa giác, tế bào bần hình đa giác có thành hóa gỗ dày không đều và có nhiều lỗ nhỏ; tế bào bần hình chữ nhật có thành dày lên 3 mặt, mặt còn lại tương đối mỏng, có lỗ trao đổi rõ. Nhiều sợi nhựa dài, mảnh, ngoằn ngoèo, chụm thành từng đám màu trắng đục hoặc kéo dài như sợi dây, có dạng hạt trên bề mặt. Mảnh mô cứng gồm những tế bào màu vàng, dài hoặc hình trái xoan, có khoang hẹp, có ống trao đổi rõ. Các tế bào đá thường tụ lại thành khối, hình gần chữ nhật tới gần tròn, hình chữ nhật kéo dài hoặc hình không đều, thành dày, đôi khi có chứa nhựa.

Định tính

A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml *cloroform (TT)*, ngâm 2 h. Lọc lấy dịch lọc, để bay hơi hết dung môi đến cắn, thêm vào cắn 1 ml *ethanol 96 % (TT)*, để yên khoảng 5 min sẽ thấy xuất hiện màng có tính đàn hồi.

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Dicloromethan - methanol - acid formic (3 : 1 : 0,1).

Dung dịch thử: Lấy 2,5 g bột dược liệu, thêm 30 ml *methanol (TT)*, siêu âm trong 30 min. Lọc, cất thu hồi dung môi và cô dịch lọc dưới áp suất giảm tới cắn. Hòa tan cắn trong 20 ml *nước*, chuyển toàn bộ dung dịch vào bình chiết và chiết bằng 50 ml *dicloromethan (TT)*, bỏ lớp dicloromethan và chiết lớp nước với 50 ml *n-butanol (TT)*. Bay hơi dịch chiết butanol tới cắn khô dưới áp suất giảm, hòa tan cắn trong 1 ml *methanol (TT)* được dung dịch chấm sắc ký.

Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan pinoresinol diglucosid chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml.

Dung dịch dược liệu đối chiếu: Lấy 2,5 g bột Đỗ trọng (mẫu chuẩn), tiến hành chiết tương tự như đối với dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 3/4 bản mỏng. Lấy bản mỏng ra để khô trong không khí. Phun hỗn hợp *acid sulfuric - nước* (20 : 80). Sấy bản mỏng ở 120 °C đến khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu hoặc có vết cùng giá trị R_f và màu sắc với vết pinoresinol diglucosid trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 70 °C, 5 h).

Tạp chất

Không quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần (Phụ lục 9.8)

Không được quá 8,5 %.

Tro không tan trong acid (Phụ lục 9.7)

Không được quá 6,0 %.

Chất chiết được trong dược liệu

Không được ít hơn 11,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 75 % (TT)* làm dung môi.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp gồm *nước* và *acetonitril (TT)* được phối hợp theo chương trình dung môi dưới đây.

Dung dịch thử: Lấy chính xác khoảng 0,4 g bột dược liệu (qua rây có cỡ mắt rây 0,850 mm), thêm 10 ml *ethanol 50 % (TT)*. Siêu âm trong 30 min. Ly tâm trong 5 min. Lọc lớp dung dịch qua màng lọc 0,45 µm và chuyển dịch lọc vào bình định mức 25 ml. Lặp lại cách chiết như trên một lần nữa. Gộp dịch lọc vào bình định mức và thêm *ethanol 50 % (TT)* đến vạch, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan pinoresinol diglucosid chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 1 mg/ml. Từ dung dịch này pha dãy dung dịch chuẩn có nồng độ 1, 10, 50, 100, 200 µg/ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 228 nm.

Thể tích tiêm: 5 µl.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Nước (% tt/tt)	Acetonitril (% tt/tt)	Rửa giải
0 - 20	90 → 80	10 → 20	Đẳng dòng

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký 5 lần đối với dung dịch chuẩn 50 µg/ml. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic pinoresinol diglucosid không lớn hơn 5,0 % và độ lệch chuẩn tương đối thời gian lưu của pinoresinol diglucosid không được lớn hơn 2,0 %. Số đĩa lý thuyết của cột tính theo pic pinoresinol diglucosid không được nhỏ hơn 50000.

Độ phân giải giữa pic của pinoresinol diglucosid với pic gần nhất trên sắc ký đồ dung dịch thử không được nhỏ hơn 1,5.

Tiến hành sắc ký với các dung dịch chuẩn đã pha ở trên. Vẽ đường chuẩn biểu diễn sự liên quan giữa diện tích pic pinoresinol diglucosid và nồng độ các dung dịch tương ứng.

Tiến hành sắc ký dung dịch thử. Xác định pic pinoresinol diglucosid trên sắc ký đồ của dung dịch thử bằng cách so sánh thời gian lưu với pic pinoresinol diglucosid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn. Thời gian lưu của pinoresinol diglucosid trên hai sắc ký đồ khác nhau không được lớn hơn 5,0 %.

Tính hàm lượng pinoresinol diglucosid trong dược liệu dựa vào diện tích pic pinoresinol diglucosid trên sắc ký đồ của dung dịch thử, đường chuẩn đã lập và hàm lượng $C_{32}H_{42}O_{16}$ trong pinoresinol diglucosid chuẩn.
Dược liệu phải chứa không ít hơn 0,10 % pinoresinol diglucosid ($C_{32}H_{42}O_{16}$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch từ tháng 4 đến tháng 6, bóc lấy vỏ, cạo bỏ vỏ thô, xếp đống cho đến khi mặt trong của vỏ có màu nâu tía đen thì phơi khô.

Bào chế
Đỗ trọng thái miếng: Cạo vỏ thô còn sót lại, rửa sạch, thái miếng hoặc sợi còn tơ, phơi khô, dùng sống hoặc chế.
Diêm đỗ trọng (Chế muối): Lấy Đỗ trọng thái miếng, tẩm nước muối trong 2 h (1 kg Đỗ trọng dùng 30 g muối trong 200 ml nước), sao vàng, đứt tơ là được; hoặc sao đến khi mặt ngoài màu đen sém, khi bẻ gãy thấy tính đàn hồi tơ kém so với khi chưa sao. Vị hơi mặn.

Bảo quản
Để nơi khô, thoáng.

Tính vị, quy kinh
Cam, ôn. Vào các kinh can, thận.

Công năng, chủ trị
Bổ can thận, mạnh gân cốt, an thai, hạ áp. Chủ trị: Can thận bất túc, đau nhức lưng gối, xương khớp, gân cốt vô lực, di tinh, liệt dương, động thai ra máu, lưu thai chóng mặt, hoa mắt, tăng huyết áp.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 đến 9 g, dạng thuốc sắc hoặc tán.

ĐỘC HOẠT (Rễ)
Radix Angelicae pubescentis

Rễ phơi hay sấy khô của cây Độc hoạt (*Angelica pubescens* Maxim.), họ Hoa tán (Apiaceae).

Mô tả
Rễ cái hình trụ, trên to, dưới nhỏ, đầu dưới phân 2 đến 3 nhánh hoặc hơn, dài 10 cm đến 30 cm. Đầu rễ phình ra, hình nón ngược với nhiều vân ngang. Đường kính 1,5 cm đến 3 cm, đỉnh trên còn sót lại ít gốc thân, mặt ngoài màu nâu xám hay nâu thẫm, có vân nhăn dọc, với các lỗ vỏ, hơi lồi ngang và những vết sẹo rễ con hơi nổi lên. Chất tương đối rắn chắc, khi ẩm thì mềm. Mặt bẻ gãy có vỏ màu xám trắng, với nhiều khoang dầu màu nâu rải rác, gỗ từ màu vàng xám đến vàng nâu, tầng phát sinh màu nâu. Mùi thơm ngát đặc biệt, vị đắng và hăng, nếm hơi tê lưỡi.

Vi phẫu
Lớp bần có nhiều hàng tế bào. Vỏ hẹp với ít khoang tinh dầu. Libe rộng chiếm nửa bán kính của rễ. Khoang tinh dầu tương đối nhiều, xếp thành vài vòng tiếp tuyến, lớn tới 153 µm, xung quanh bao bọc bởi 6 tế bào đến 10 tế bào tiết. Tầng phát sinh tạo thành vòng tròn liên tục. Tia gỗ rộng có 1 đến 2 hàng tế bào. Mạch rải rác, đường kính tới 84 µm, thường xếp theo hình xuyên tâm, riêng lẻ. Tế bào mô mềm chứa hạt tinh bột.

Định tính
A. Lấy 3 g bột dược liệu, thêm 3 ml *ether (TT)*, đun trên cách thủy hồi lưu 1 h, lọc và bốc hơi dịch lọc đến khô. Thêm vào cắn 30 ml *ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (TT)*, lắc và lọc. Hòa tan cắn trong 3 ml *ethanol (TT)* rồi đem quan sát dưới ánh sáng tử ngoại (366 nm) sẽ có huỳnh quang xanh tía.
B. Lấy 1 ml dung dịch ở phản ứng (A), thêm 3 giọt *dung dịch hydroxylamin hydroclorid 70 % trong methanol (TT)* mới pha và 3 giọt *dung dịch kali hydroxyd 10 % trong methanol (TT)*, đun nóng nhẹ trên cách thủy, để nguội rồi thêm 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 1 % trong acid hydrocloric (TT)*, lắc mạnh sẽ xuất hiện màu vàng cam.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel 60 F_{254}*.
Dung môi khai triển: Cyclohexan - ethyl acetat - aceton (8 : 2 : 0,5)
Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ether (TT)*, ngâm qua đêm, lọc. Bốc hơi dịch lọc trên cách thủy tới khô, hòa tan cắn trong 2 ml *cloroform (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột Độc hoạt (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử, được dung dịch đối chiếu.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng để khô ở trong không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát huỳnh quang cùng màu và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần
Không quá 8,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu
Cân chính xác khoảng 2 g bột dược liệu (qua rây số 250) đã để trong bình hút ẩm chứa *phosphor pentoxyd (TT)* trong 48 h, cho vào bình Soxhlet, thêm 70 ml *ether (TT)* và một số hạt thủy tinh. Đun hồi lưu trên cách thủy trong 4 h, để nguội, lọc, rửa bình và cặn bằng *ether (TT)*, gộp dịch lọc và dịch rửa vào bình định mức 100 ml, thêm *ether (TT)* đến vạch, lắc đều. Lấy chính xác 50 ml dịch chiết, cho vào 1 cốc có mỏ đã được sấy đến khối lượng không đổi và đã cân bì, bốc hơi dịch chiết ether ở nhiệt độ thường rồi đặt trong bình hút ẩm có chứa *phosphor pentoxyd (TT)* trong 24 h. Cân và tính lượng chất chiết được. Chất chiết được trong ether không được dưới 3,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa thu, khi thân, lá cây khô, lụi hoặc vào mùa xuân trước khi cây này chồi, đào lấy rễ, bỏ thân, lá, rễ con, rửa sạch, sấy đến gần khô, xếp đống 2 đến 3 ngày, sau khi mềm, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế
Dược liệu khô, loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái phiến mỏng, phơi khô hay sấy khô ở nhiệt độ thấp.

Bảo quản
Để nơi khô, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Tân, khổ, vi ôn. Vào các kinh thận, can, bàng quang.

Công năng, chủ trị
Khu phong, trừ thấp, thông tý, chỉ thống. Chủ trị: Phong hàn thấp tý, thắt lưng và đầu gối đau, thiếu âm phục phong đầu thống, phong hàn hiệp thấp đau đầu.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 9 g. Dạng thuốc sắc hoặc ngâm rượu.

ĐƠN KIM

Herba Bidensis pilosae
Đơn buốt, Quỷ châm thảo

Phần trên mặt đất còn tươi hoặc đã phơi hay sấy khô của cây Đơn kim (*Bidens pilosa* L.), họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả
Dược liệu là những đoạn thân, cành mang lá đã cắt thành từng đoạn dài 4 cm đến 6 cm. Lá đơn, thường có 3 lá chét hình trứng, thuôn dài 3 cm đến 5 cm, rộng 1,5 cm đến 2 cm, mặt trên ráp, mép có khía răng cưa nhọn.

Vi phẫu
Lá: Phần gân chính phía trên hơi lồi, phía dưới lồi nhiều hơn. Ngoài cùng là lớp biểu bì gồm một hàng tế bào tròn nhỏ, xếp đều đặn; biểu bì trên mang nhiều lông che chở. Sát biểu bì là mô dày góc. Mô mềm gồm những tế bào tròn to, thành mỏng. Bó libe-gỗ lớn nằm giữa gân chính, có cung libe bao phía trên và dưới mô gỗ.
Thân: Mặt cắt có hình đa giác. Từ ngoài vào trong có: Lớp biểu bì gồm những tế bào tròn nhỏ, xếp đều đặn. Sau biểu bì là mô dày, cấu tạo bởi 2 đến 3 lớp tế bào nhỏ thành dày. Mô mềm gồm các tế bào hình đa giác, thành mỏng. Các bó libe-gỗ xếp thành vòng không liên tục theo hình của mặt cắt thân. Trong cùng là mô mềm ruột gồm những tế bào to hình đa giác, thành mỏng.

Định tính
A. Lấy 5 g bột dược liệu, thêm 30 ml *ethanol 90 % (TT)*, lắc kỹ, đun trong cách thủy 10 min, lọc, cô dịch lọc trên cách thủy đến còn khoảng 5 ml (dung dịch A) dùng làm các phản ứng sau:
Lấy 2 ml dung dịch A, thêm 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, dung dịch có màu xanh đen.
Nhỏ một giọt dung dịch A lên miếng giấy lọc, để khô, hơ trên miệng lọ *amoniac (TT)* mở nắp, vết của dung dịch A có màu vàng đậm lên.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Toluen - ethyl acetat - aceton - acid formic (5 : 2 : 2 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 5 g bột dược liệu, thêm 50 ml *ethanol 90 % (TT)*, lắc đều, đun trong cách thủy sôi 10 min, lọc, cô dịch lọc tới cắn khô. Hoà cắn bằng cách lắc siêu âm với *nước* nóng 3 lần, mỗi lần 10 ml, trong 5 min, gạn phần dung dịch vào bình gạn, để nguội, lắc với *ethyl acetat (TT)* 3 lần, mỗi lần 10 ml, gạn lấy lớp ethyl acetat. Gộp các dịch chiết ethyl acetat, bốc hơi trong cách thủy tới cắn khô. Hòa tan cắn với 5 ml *ethanol 96 % (TT)* làm dịch chấm sắc ký.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 5 g bột Đơn kim (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên cùng bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để bay hơi dung môi ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % đối với dược liệu khô (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất
Không quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 8,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 90 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hái vào mùa hạ, mùa thu, cắt lấy phần trên mặt đất, rửa sạch để dùng tươi hoặc phơi, sấy khô.
Trước khi dùng, rửa sạch, để ráo nước, cắt đoạn 4 cm đến 6 cm, phơi hoặc sấy khô. Sao vàng.

Bảo quản
Để nơi khô, thoáng mát, phòng tránh nấm mốc.

Tính vị, quy kinh
Vị đắng, nhạt, hơi the, tính bình. Quy kinh can, thận.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt giải độc, giải nhiệt, hoạt huyết tán ứ, tiêu thũng chỉ thống, sát trùng. Chủ trị: Cảm mạo phát sốt, mắt đỏ sưng thũng, viêm họng, sưng họng, đau dạ dày, viêm ruột, lỵ, tiêu chảy, viêm thận cấp, dị ứng, mày đay, mụn nhọt, côn trùng cắn, rắn cắn, chấn thương tụ máu.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 16 g đến 20 g dược liệu khô, dạng thuốc sắc. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.
Trị mẩn ngứa: Dùng cây tươi, liều lượng thích hợp, nấu nước tắm, dùng bã xát kỹ lên vết mẩn, mụn nhọt.
Hoặc dùng lá tươi, rửa sạch, giã nát, đắp lên mi mắt khi đau mắt đỏ, nhức mắt, hoặc đắp, bó vào nơi chấn thương, tụ máu, sưng đau.
Trị rắn cắn: Lấy cây tươi, khoảng 50 g đến 80 g, rửa sạch, giã nát, vắt lấy dịch, mỗi lần uống 2 đến 3 thìa cà phê, ngày 2 đến 3 lần. Bã đắp vào vết thương.

ĐƠN LÁ ĐỎ (Lá)

Folium Excoecariae

Đơn mặt trời, Đơn tía

Dược liệu là lá đã phơi hay sấy khô của cây Đơn lá đỏ (*Excoecaria cochinchinensis* Lour.), họ Thầu dầu (Euphorbiaceae).

Mô tả
Lá hình bầu dục hai đầu thuôn nhọn, dài 6 cm đến 12 cm, rộng 2 cm đến 4 cm. Cuống lá dài 0,5 cm đến 1 cm. Phiến lá nguyên, mép lá có răng cưa nhỏ, mặt trên lá màu lục sẫm, mặt dưới màu đỏ tía. Có 10 đến 12 cặp gân lông chim nổi rõ ở mặt dưới lá, lõm ở mặt trên lá.

Vi phẫu
Phần gân lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới gồm một lớp tế bào nhỏ xếp liên tục, kích thước tương đối đều nhau. Nằm sát biểu bì trên và biểu bì dưới là mô dày gồm những đám tế bào hình trứng, kích thước khác nhau, thành dày bắt màu đỏ. Tiếp theo là mô mềm, gồm những tế bào có kích thước lớn, không đều nhau, thành mỏng, xếp lộn xộn. Giữa gân lá có bó libe-gỗ, hình cung, cung libe ở ngoài ôm lấy cung gỗ ở trong.
Phiến lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới gồm một hàng tế bào hình chữ nhật nằm ngang, có thành ngoài hóa cutin. Dưới biểu bì trên là mô dậu gồm một hàng tế bào hình chữ nhật.

Bột
Bột lá có màu xanh nâu, mùi hắc nhẹ. Quan sát dưới kính hiển vi thấy: Mảnh mô mềm, mạch mạng, mạch xoắn đứng riêng lẻ hay trong các mô, bó sợi, mảnh mô mềm, tinh thể calci oxalat hình cầu gai, mảnh biểu bì có nhiều tế bào lỗ khí kiểu song bào.

Định tính
A. Cân 1 g bột dược liệu cho vào ống nghiệm, thêm 5 ml *ethanol 50 % (TT)*, đun trong cách thủy trong 5 min, lọc. Dịch lọc có màu đỏ tía.
B. Cân 5 g dược liệu đã được làm nhỏ cho vào bình Soxhlet rồi chiết với *ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (TT)* đến khi hết màu. Bã dược liệu được để bay hơi hết dung môi, cho vào bình cầu dung tích 100 ml, thêm 50 ml *ethanol 90 % (TT)*, lắp sinh hàn hồi lưu, đun trong cách thủy sôi trong 30 min, lọc. Cô dịch lọc trong cách thủy đến còn khoảng 3 ml, lấy 1 ml dịch lọc ethanol vào ống nghiệm, thêm một ít bột *magnesi (TT)* và vài giọt *acid hydrocloric (TT)*, đun nóng nhẹ trên cách thủy, phải xuất hiện màu hồng đỏ.

Tro toàn phần
Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 4 h).

Tạp chất
Không quá 2,0 % (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ vụn nát
Qua rây có kích thước mắt rây 3,15 mm: Không quá 3,0 % (Phụ lục 12.12).

Chế biến
Thu hái lá quanh năm, nhưng tốt nhất vào mùa hè. Lá hái về được phơi hoặc sấy tới khô. Trước khi dùng sao vàng.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi thoáng mát.

Tính vị, quy kinh
Vị đắng nhạt, tính mát.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt giải độc, khu phong trừ thấp, lợi tiểu, giảm đau. Chủ trị: Mụn nhọt, mẩn ngứa, ban chẩn mày đay, đi ỉa lỏng lâu ngày, đại tiện ra máu.

Liều lượng, cách dùng
Ngày dùng 6 g đến 12 g lá khô (hoặc 20 g đến 40 g lá tươi), dưới dạng thuốc sắc hoặc hãm.

Kiêng kỵ
Người hay chảy máu không nên dùng.

ĐƯƠNG QUY (Rễ)

Radix Angelicae sinensis

Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Dương quy [*Angelica sinensis* (Oliv.) Diels.], họ Hoa tán (Apiaceae).

Mô tả
Rễ dài 10 cm đến 20 cm, gồm nhiều nhánh, thường phân biệt thành 3 phần: Phần đầu gọi là quy đầu, phần giữa gọi là quy thân, phần dưới gọi là quy vĩ.
Đường kính quy đầu từ 1,0 cm đến 3,5 cm, đường kính quy thân và quy vĩ từ 0,3 cm đến 1,0 cm. Mặt ngoài màu nâu nhạt, có nhiều nếp nhăn dọc. Mặt cắt ngang màu vàng ngà có vân tròn và nhiều điểm tinh dầu. Mùi thơm đặc biệt, vị ngọt, cay, hơi đắng.

Vi phẫu
Lớp bần mỏng màu nâu nhạt. Mô mềm vỏ gồm những tế bào thành mỏng chứa tinh bột. Vùng libe có nhiều ống tiết tinh dầu. Tầng sinh libe-gỗ là một vòng ngoằn ngoèo rõ rệt. Mô mềm ruột có nhiều sợi.

Bột
Bột màu nâu vàng, mùi thơm đặc biệt. Soi kính hiển vi thấy: Nhiều hạt tinh bột đứng riêng lẻ. Các ống tiết tinh dầu thường bị vỡ. Mảnh mô mềm có nhiều hạt tinh bột. Mảnh mạch mạng, mạch xoắn, mạch điểm.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel 60 F_{254}.
Dung môi khai triển: Cyclohexan - ethyl acetat (8 : 2).
Dung dịch thử: Lấy 4 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol 95 % (TT)* ngâm trong 1 h, thỉnh thoảng lắc. Lọc. Bốc hơi dịch lọc đến còn khoảng 10 ml, được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 4 g bột Đương quy (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có 2 vết phát quang xanh sáng to rõ và một số vết phụ khác có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel 60 F_{254}.
Dung môi khai triển: Cyclohexan - diclomethan - ethyl acetat - acid formic (4 : 1 : 1 : 0,5).
Dung dịch thử: Lấy 4 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol 95 % (TT)* ngâm trong 1 h, thỉnh thoảng lắc. Lọc. Bốc hơi dịch lọc đến còn khoảng 10 ml, được dung dịch thử.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Dùng dung dịch đối chiếu của phép thử A.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan acid ferulic chuẩn trong *ethanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi khai triển, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với vết của acid ferulic trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu và có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 15,0 % (Phụ lục 12.13).
Dùng 10 g dược liệu cắt nhỏ.

Tro toàn phần
Không được quá 7,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 40,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 50 % (TT)* làm dung môi.

Định lượng
A. Định lượng tinh dầu (Phụ lục 12.7).
Dùng 50 g bột dược liệu (qua rây số 355), thêm 250 ml *nước*, một ít đá bọt và 75 ml *glycerin (TT)*, cất trong 4 h (khi cất phải tăng nhiệt độ dần dần để tránh bị trào do tạo bọt).
Hàm lượng tinh dầu trong dược liệu không được ít hơn 0,4 % tính theo dược liệu khô kiệt.
B. Định lượng acid ferulic.
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - dung dịch acid phosphoric 0,085 % (17 : 83).
Dung dịch chuẩn: Hòa tan acid ferulic chuẩn trong *methanol 70 % (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 12 µg/ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,2 g bột dược liệu (qua rây số 355) vào bình nón nút mài dung tích 100 ml, thêm chính xác 20,0 ml *methanol 70 % (TT)*, đậy nắp, cân xác định khối lượng. Đun sôi hồi lưu cách thủy 30 min, để nguội, cân lại và bổ sung khối lượng mất đi bằng *methanol 70 % (TT)* nếu cần, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 321 nm.
Tốc độ dòng: 1,3 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký dung dịch chuẩn. Ghi sắc ký đồ. Số đĩa lý thuyết của cột tính theo pic của acid ferulic không được ít hơn 5000.
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, dung dịch thử. Ghi sắc ký đồ. Tính hàm lượng acid ferulic trong dược liệu dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{10}H_{10}O_4$ của acid ferulic chuẩn.
Hàm lượng acid ferulic ($C_{10}H_{10}O_4$) trong dược liệu không được ít hơn 0,05 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa thu. Đào lấy rễ, rửa sạch, loại bỏ tạp chất, phơi hoặc sấy ở nhiệt độ thấp đến khô.

Bào chế
Đương quy đã loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái lát mỏng, phơi khô hoặc sấy khô ở nhiệt độ thấp.
Tửu Đương quy: Lấy Đương quy đã thái thành lát, phun rượu cho đều, ủ qua, cho vào chảo đun nhỏ lửa, sao nhẹ đến khô, lấy ra để nguội. Cứ 100 kg Đương quy dùng 10 kg rượu. Dược liệu này là phiến mỏng dạng tròn hoặc

không đều, mặt cắt có vân nâu nhạt. Chất dai, màu vàng thẫm. Vị hơi đắng. Mùi thơm nồng, có mùi rượu.

Bảo quản
Để nơi khô mát, tránh ẩm, mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Cam, tân, ôn. Vào các kinh can, tâm, tỳ.

Công năng, chủ trị
Bổ huyết, hoạt huyết, điều kinh, giảm đau, nhuận tràng.
Chủ trị: Huyết hư, chóng mặt. Kinh nguyệt không đều, bế kinh, đau bụng kinh, táo bón do huyết hư. Phong thấp tê đau, sưng đau do sang chấn.
Đương quy chích rượu: Dùng điều trị bế kinh, đau bụng kinh, phong thấp tê đau, sưng đau do sang chấn.
Toàn Quy: Hòa huyết (vừa bổ huyết vừa hoạt huyết).
Quy vĩ: Hoạt huyết hóa ứ.
Quy thân: Dưỡng huyết bổ huyết.
Quy đầu: Chỉ huyết.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc hoặc ngâm rượu.

Kiêng kỵ
Tỳ vị có thấp nhiệt, đại tiện lỏng không nên dùng.

ĐƯƠNG QUY DI THỰC (Rễ)

Radix Angelicae acutilobae

Rễ củ đã phơi hay sấy khô của cây Đương quy di thực từ Nhật Bản [*Angelica acutiloba* (Sieb. et Zucc.) Kitagawa], họ Hoa tán (Apiaceae).

Mô tả
Rễ chính ngắn và mập, dài 10 cm đến 20 cm, đường kính 2 cm trở lên, có nhiều rễ nhánh dài 15 cm đến 20 cm, đường kính 0,2 cm trở lên. Mặt ngoài màu nâu tối, có nhiều nếp nhăn dọc, nhiều sẹo lồi nằm ngang là vết tích của rễ con. Mặt cắt ngang màu trắng ngà có vân tròn và nhiều điểm tinh dầu. Mùi thơm hơi hắc, vị ngọt nhẹ, sau hơi cay nóng.

Vi phẫu
Mặt cắt ngang hình tròn, từ ngoài vào trong có: Lớp bần gồm nhiều hàng tế bào hình chữ nhật thành dày xếp thành vòng đồng tâm và dãy xuyên tâm. Mô mềm vỏ gồm những tế bào thành mỏng, lớp phía ngoài thường bị ép bẹp, méo mó, rải rác có các khuyết tế bào hình dạng khác nhau. Thỉnh thoảng có các ống tiết tinh dầu nằm rải rác trong mô mềm vỏ và libe. Libe-gỗ bị phân cách bởi các tia ruột tạo thành các bó dài riêng biệt. Tầng sinh libe-gỗ tạo thành vòng liên tục. Tia ruột gồm 2 đến 3 hàng tế bào xếp theo hướng xuyên tâm.

Bột
Bột có màu vàng nâu, mùi thơm, vị cay. Soi dưới kính hiển vi thấy: Có nhiều hạt tinh bột hình tròn hay hình trứng nhỏ đứng riêng lẻ hay từng đám, đường kính từ 5 µm đến 20 µm. Mảnh mạch mạng, mạch xoắn, mạch điểm. Mảnh mô mềm có nhiều hạt tinh bột, rải rác có các giọt dầu màu vàng nhạt.

Định tính
A. Bột dược liệu phát quang dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel $60F_{254}$.
Dung môi khai triển: Cyclohexan - ethyl acetat - aceton (7 : 2 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu thêm 20 ml *aceton (TT)*, lắc thật kỹ (lắc trên máy lắc) trong 1 h. Lọc. Bốc hơi dịch lọc đến khô. Hòa tan cắn trong 1 ml *cloroform (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g Đương qui di thực (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết phát quang xanh lơ sáng có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Sau đó phun *dung dịch kali hydroxyd 1 M trong ethanol (TT)*, các vết này phát quang mạnh hơn.

Độ ẩm
Không quá 15,0 % (Phụ lục 12.13).
Dùng 10 g dược liệu đã cắt nhỏ.

Tro không tan trong acid
Không quá 4,5 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Thân, lá, hoa lẫn trong dược liệu: Không quá 2,0 %.
Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 35,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 50 % (TT)* làm dung môi.

Định lượng
Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Dùng 50 g bột dược liệu (qua rây số 355), thêm 250 ml *nước*, một ít đá bọt và 75 ml *glycerin (TT)*, cất trong 4 h (khi cất phải tăng nhiệt độ dần dần để tránh bị trào do tạo bọt).
Hàm lượng tinh dầu trong dược liệu không được ít hơn 0,1 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Đào lấy rễ củ ở cây trồng được 10 - 12 tháng, rửa sạch, phơi hay sấy ở 50 °C đến 60 °C đến khô.

Bảo quản
Để nơi khô mát, tránh ẩm, mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Cam, tân, ôn. Vào các kinh can, tâm, tỳ.

Công năng, chủ trị
Bổ huyết, hành huyết, hoạt huyết, điều kinh, nhuận tràng, thông đại tiện. Chủ trị: Kinh nguyệt không đều, đau bụng khi thấy kinh, thắt lưng đau, băng lậu, đại tiện khô táo, đi lỵ đau bụng.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 15 g, dạng thuốc sắc.

GAI (Rễ)

Radix Boehmeriae niveae
Trừ ma căn

Rễ đã phơi hoặc sấy khô của cây Gai làm bánh [*Boehmeria nivea* (L .) Gaud.], họ Gai (Urticaceae).

Mô tả
Rễ hình trụ, hơi cong queo, dài 8 cm đến 25 cm, đường kính 0,8 cm đến 2 cm. Mặt ngoài màu nâu xám hoặc nâu sẫm, có những vết nhăn dài theo chiều dọc và ngang, có lỗ bì và có vết tích của rễ con. Chất cứng, vết bẻ màu vàng có xơ, phần vỏ màu nâu xám, phần gỗ màu nâu nhạt, một số ở giữa có vòng đồng tâm, phần tủy (ruột) màu nâu, trong rỗng, tia ruột khá rõ. Mùi nhẹ, vị nhạt, nhai hơi dính răng.

Vi phẫu
Lớp bần gồm 3 đến 4 hàng tế bào hình chữ nhật, màu nâu. Mô mềm vỏ gồm các tế bào hình đa giác, thành mỏng, rải rác có các tế bào chứa chất nhày và tinh thể calci oxalat hình cầu gai, đôi khi có đám sợi. Bó libe-gỗ bị ngăn cách nhau bởi các tia ruột kéo dài ra tận mô mềm vỏ. Trong libe cũng có đám sợi. Mạch gỗ tròn to, chạy dài đến ruột. Mô mềm ruột hẹp.

Bột
Màu vàng nâu. Soi kính hiển vi thấy: Sợi dài, rời hoặc dính lại thành bó. Mảnh mô mềm có tế bào hình nhiều cạnh, thành mỏng, chứa đầy tinh bột. Hạt tinh bột tròn, nhỏ. Mảnh mạch gỗ rộng. Mảnh bần màu vàng sẫm, dày. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai.

Độ ẩm
Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 0,5 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 5,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa hạ hay mùa thu. Đào lấy rễ, rửa sạch đất, cắt bỏ rễ con, để nguyên hay thái phiến, dùng tươi hoặc phơi, sấy khô.

Bảo quản
Để nơi khô.

Tính vị, quy kinh
Cam, hàn. Vào kinh can, tâm.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt giải độc, chỉ huyết, an thai, lợi tiểu. Chủ trị: Huyết lâm, thổ huyết, hạ huyết, xích bạch đới, mụn nhọt, động thai ra máu, sưng đau do côn trùng cắn, sang chấn.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 20 g, dạng thuốc sắc.
Dùng ngoài: Lấy rễ tươi giã lấy nước để bôi, đắp hoặc sắc lấy nước rửa.

Kiêng kỵ
Vị hư hàn, ỉa chảy không nên dùng.

GẤC (Áo hạt)

Arillus Momordicae cochinchinensis

Áo hạt lấy từ hạt quả chín đem phơi hoặc sấy khô của cây Gấc [*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng.], họ Bí (Cucurbitaceae).

Mô tả
Dược liệu là những màng dày khoảng 1 mm, dài 2 cm đến 3 cm, rộng 2 cm đến 2,5 cm, màu đỏ cam, bề mặt nhăn nheo. Thể chất khô giòn, dễ gãy vụn, mùi hăng nhẹ, vị nhạt.

Bột
Bột màu đỏ cam, soi kính hiển vi thấy: Mảnh mô mềm gồm các tế bào hình đa giác, kích thước tương đối đều, thành hơi dày, xếp sít nhau, đều đặn. Nhiều hạt dầu tròn nhỏ màu cam. Rải rác có các khối chất màu nâu đen.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G
Dung môi khai triển: Cyclohexan - ether ethylic (4 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột thô dược liệu, thêm 10 ml *ether dầu hỏa (40 °C đến 60 °C) (TT)*, ngâm trong 1 h, lọc. Cô dịch lọc đến cắn. Hòa cắn trong 1 ml *ether dầu hỏa (40 °C đến 60 °C) (TT)* làm dung dịch chấm sắc ký.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch *β*-caroten nồng độ 0,1 mg/ml trong *ether dầu hỏa (40 °C đến 60 °C) (TT)*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết chính cùng màu, cùng giá trị R_f với vết của *β*-caroten trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 10,0 % (Phụ lục 12.13).
Dùng khoảng 10 g dược liệu.

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ vụn nát
Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.12).

Tro toàn phần
Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu
Cân chính xác 10 g bột dược liệu vào một bình nón nút mài dung tích 250 ml. Thêm 100 ml *ether dầu hỏa (40 °C đến 60 °C)*, đun hồi lưu trên cách thủy ấm trong 30 min. Để lắng, gạn lấy dịch chiết. Chiết như trên 2 lần nữa, mỗi lần với 50 ml *ether dầu hỏa (40 °C đến 60 °C)*. Lọc dịch chiết và tập trung các dịch lọc vào một chén đã cân bì, cô dịch lọc trên cách thủy đến khi hết ether dầu hỏa. Để nguội trong bình hút ẩm. Cân và tính kết quả.
Hàm lượng cắn dầu không được ít hơn 8,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Quả gấc chín, bổ lấy hạt, phơi hoặc sấy hay đồ chín cho bớt dính, bóc lấy áo hạt, ép lấy dầu hoặc phơi hoặc sấy khô ở nhiệt độ 40 °C đến 60 °C. Màng áo hạt gấc dùng chế dầu gấc.

Bảo quản
Để nơi khô, mát.

Tính vị, quy kinh
Cam, bình. Vào kinh can, tỳ, vị.

Công năng, chủ trị
Bổ tỳ, thanh can sáng mắt. Dùng cho trẻ con chậm lớn, phụ nữ mang thai, cho con bú, bệnh khô mắt, quáng gà.

Cách dùng, liều lượng
Dạng dầu. Người lớn 10 đến 20 giọt/ngày (2 lần/ngày). Trẻ em: 5 đến 10 giọt/ngày.

GẤC (Hạt)
Semen Momordicae cochinchinensis
Mộc miết tử

Hạt đã bóc áo hạt, phơi hay sấy khô, lấy từ quả chín của cây Gấc [*Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng.], họ Bí (Cucurbitaceae).

Mô tả
Hạt gần tròn, dẹt, giữa hơi phồng lên, đường kính 2 cm đến 4 cm, dày 0,5 cm. Vỏ hạt cứng màu nâu đen, mép có răng tù và rộng. Phía trong vỏ cứng có màng mỏng như nhung, màu lục xám, trên mặt có những vết dài nhỏ màu nâu. Hai lá mầm màu trắng ngà ép vào nhau, có chất dầu. Mùi đặc biệt, vị đắng.

Bột
Màu vàng xám, tế bào mô cứng hình tròn hay bầu dục, thành dày hóa gỗ, mép lượn sóng, đường kính 50 µm đến 120 µm, có khoang rõ rệt, hẹp. Tế bào mô mềm của lá mầm có hình nhiều cạnh, chứa dầu béo và hạt aleuron. Khối dầu hình tròn, đường kính 30 µm đến 70 µm, có vân lưới rõ trên bề mặt.

Định tính
A. Lấy 2 g bột dược liệu thô, thêm 20 ml *ether (TT)*, ngâm ấm khoảng 30 min, lọc. Lấy 2 ml dịch lọc, bốc hơi trên cách thủy đến khô. Thêm một ít bột *natri sulfat khan (TT)* vào cặn, đun nóng, sẽ có bọt và hơi cay màu trắng bốc lên.
B. Lấy 1 g bột dược liệu thô, thêm 10 ml *ethanol 70 % (TT)*, đun trên cách thủy 30 min [nếu cạn thì thêm *ethanol 70 % (TT)* vừa đủ thể tích], lọc. Lấy 2 ml dịch lọc cô trên cách thủy tới cắn sền sệt. Thêm vào cắn 20 ml *nước* nóng, khuấy đều, để nguội, lọc. Lấy 10 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm, lắc mạnh theo chiều dọc của ống nghiệm 1 min. Để yên, có cột bọt bền 5 min.

Độ ẩm
Không quá 10,0 % (Phụ lục 12.13).
Dùng 10 g dược liệu tán nhỏ.

Chế biến
Thu hái quả chín vào mùa đông, bổ ra và phơi cho se, loại bỏ vỏ thịt quả và áo hạt, lấy hạt phơi hoặc sấy khô.

Bào chế
Mộc miết tử sống: Tách bỏ phần vỏ hạch cứng, lấy nhân, để nguyên hoặc mài với dấm để bôi.
Bột mộc miết tử sương: Sao nhân hạch mộc miết tử sạch, nghiền nát, bọc vào giấy bản và ép để loại hết chất dầu được bột trắng như sương.

Bảo quản
Để nơi khô ráo.

Tính vị, quy kinh
Khổ, cam, ôn, có độc. Quy vào kinh can, tỳ vị.

Công năng, chủ trị
Tán kết tiêu sưng, giải độc. Chủ trị: Sưng viêm, nhũ ung, tắc tia sữa, tràng nhạc, trĩ, dò hậu môn, chấn thương, ứ huyết.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 0,9 g đến 1,2 g dạng uống. Dùng ngoài với một lượng bột thích hợp trộn với dầu hay dấm đắp tại chỗ, hoặc mài để bôi, hoặc ngâm rượu để bóp chỗ bị sưng dập.

Kiêng kỵ
Thận trọng đối với phụ nữ có thai.

GIẢO CỔ LAM

Herba Gynostemmae

Phần trên mặt đất đã phơi hay sấy khô của cây Giảo cổ lam [*Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Makino], họ Bí (Cucurbitaceae).

Mô tả

Phần trên mặt đất có dạng dây leo. Thân hình trụ, có góc cạnh, dài 0,3 m đến 1 m, phân đốt, khoảng cách giữa các đốt từ 6 cm đến 10 cm, mang tua cuốn mọc cùng phía cuống lá và lá. Lá kép hình chân chim có 5 đến 7 lá chét, lá chét ở giữa thường lớn hơn lá chét ở bên, cuống lá dài 3 cm đến 5 cm. Phiến lá màu lục hay hơi vàng nâu, mép có răng cưa tròn. Vị đắng, ngọt.

Vi phẫu

Thân: Lớp biểu bì là những tế bào tròn, nhỏ đều đặn, xếp thành hàng, thành tế bào phía ngoài hóa cutin. Mô dày cấu tạo khoảng 2 đến 3 lớp tế bào thành dày. Mô dày phát triển ở phần lồi. Mô mềm vỏ là những tế bào hình trứng có thành mỏng. Mô cứng tế bào hình đa giác thành dày hóa gỗ tạo thành vòng liên tục uốn theo chỗ lồi lõm của thân. Phía trong mô cứng là mô mềm ruột có những bó libe-gỗ xếp thành vòng tương ứng với phần lồi của thân. Phía trong các bó libe-gỗ xếp xen kẽ tạo thành vòng thứ 2. Bó libe-gỗ có mạch gỗ ở giữa và libe xung quanh, libe ở phía ngoài phát triển hơn phía trong.

Lá:

Gân lá: Biểu bì trên gồm những tế bào hình chữ nhật thường có lông che chở đa bào, các tế bào ngắn. Biểu bì dưới cấu tạo bởi những tế bào hình tròn, xếp thành hàng. Mô dày sát biểu bì trên và dưới gồm 2 đến 3 lớp tế bào thành dày. Bó libe-gỗ của gân chính cấu tạo bởi một cung libe bao quanh cung gỗ. Mô mềm gỗ gồm những tế bào thành mỏng có hình dạng thay đổi.

Phiến lá: Biểu bì trên và dưới có một lớp tế bào hình chữ nhật thỉnh thoảng có lông tiết đầu đơn bào. Dưới biểu bì trên là lớp mô mềm giậu gồm 1 đến 2 hàng tế bào nhỏ. Mô mềm có 2 đến 3 lớp tế bào thành mỏng.

Bột

Bột màu vàng xanh. Lông che chở đa bào, lông tiết, mảnh phiến lá có mạch xoắn, mảnh biểu bì lá mang lỗ khí, mạch xoắn, sợi xếp thành bó hay đứng riêng lẻ. Mảnh biểu bì có các u lồi.

Định tính

Lấy 3 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun sôi cách thủy 10 min. Lọc, lấy dịch lọc làm các phản ứng sau:

Lấy 2 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm, thêm một ít *bột magnesi (TT)* và 3 đến 4 giọt *acid hydrocloric (TT)*. Sau vài phút màu của dung dịch chuyển từ vàng sang hồng.

Lấy 1 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm, thêm 3 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)* sẽ xuất hiện màu xanh đen.

Lấy 1 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm to, thêm 5 ml *nước cất*, lắc mạnh trong 2 min. Để yên, cột bọt bền trong ít nhất 15 min.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không quá 3,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất

Không được có đất, cát, sỏi (Phụ lục 12.11).

Kim loại nặng

Không quá 2,0 phần triệu Pb; 1,0 phần triệu Cd; 0,5 phần triệu Hg; 1,0 phần triệu As (Phụ lục 9.4.11).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 10 g bột dược liệu (qua rây số 355) đã xác định độ ẩm cho vào túi giấy lọc, đặt túi vào bình Soxhlet, chiết bằng *cloroform (TT)* đến khi dịch chiết không còn màu (để loại clorophyl). Loại bỏ dịch chiết *cloroform*. Sau đó chiết bằng *methanol (TT)* trong 2 h. Lọc, lấy dịch lọc cất thu hồi dung môi đến còn khoảng 20 ml, rót từ từ vào 100 ml *aceton (TT)*, khuấy đều, sẽ xuất hiện tủa, lọc lấy tủa, hòa tan tủa vào 50 ml *nước* nóng, đun cách thủy cho tan hết. Lọc lấy dịch lọc vào bình gạn, chiết saponin bằng *n-butanol (TT)* 8 lần, mỗi lần 25 ml cho đến khi kiệt saponin. Gộp dịch chiết, cất thu hồi dung môi, cô trên cách thủy đến khô. Sấy cắn ở 60 °C đến khối lượng không đổi. Cân và tính hàm lượng saponin trong dược liệu theo công thức sau:

$$X\ (\%) = \frac{a}{m(100 - d)} \times 100 \times 100$$

Trong đó:

a là khối lượng cắn khô saponin (g);

m là khối lượng dược liệu đem định lượng (g);

d là độ ẩm dược liệu (%).

Hàm lượng saponin toàn phần trong dược liệu không được ít hơn 4,5 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hái vào mùa hạ, rửa sạch, phơi khô, cắt đoạn ngắn 2 cm đến 3 cm, phơi hoặc sấy khô. Khi dùng sao vàng.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô, thoáng, tránh ẩm, sâu mọt.

Tính vị, quy kinh

Vị đắng, tính hàn. Vào kinh can, phế.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt giải độc, chỉ ho, trừ đờm. Chủ trị: Đợt cấp của viêm phế quản mạn tính, viêm gan virus, viêm thận, viêm dạ dày cấp, bệnh tiểu đường, chứng tăng mỡ máu.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng 15 g đến 30 g, dưới dạng thuốc sắc, hoặc có thể tán thành bột thô làm chè hãm uống.

GỪNG (Thân rễ)

Rhizoma Zingiberis

Can khương

Thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Gừng (*Zingiber officinale* Rose.), họ Gừng (Zingiberaceae).

Mô tả

Thân rễ (quen gọi là củ) không có hình dạng nhất định, thường phân nhánh, dài 3 cm đến 7 cm, dày 0,5 cm đến 1,5 cm. Mặt ngoài màu trắng tro hay vàng nhạt, có vết nhăn dọc. Đỉnh các nhánh có đỉnh sinh trưởng của thân rễ. Vết bẻ màu trắng tro hoặc ngà vàng, có bột, vân tròn rõ. Mặt cắt ngang có sợi thưa. Mùi thơm, vị cay nóng.

Vi phẫu

Biểu bì gồm một lớp tế bào nhỏ hình chữ nhật, xếp tương đối đều đặn. Dưới lớp biểu bì là lớp suberoid gồm 5 đến 6 hàng tế bào tròn hoặc gần tròn nhuộm màu xanh, xếp xen kẽ nhau. Phía dưới lớp suberoid là lớp bần gồm những tế bào hình chữ nhật, xếp xuyên tâm và đồng tâm. Mô mềm vỏ gồm các tế bào tròn. Phía trong, lớp nội bì tạo thành vòng không liên tục, sát lớp nội bì là lớp trụ bì. Các bó libe-gỗ rải rác trong phần mô mềm vỏ và mô mềm ruột, tập trung nhiều nhất ở sát lớp nội bì. Mỗi bó hình tròn hay hình trứng có 1 đến 6 mạch gỗ ở giữa, libe chồng lên gỗ, rải rác có các mạch gỗ bị cắt dọc. Những tế bào tiết tinh dầu rải rác khắp mô mềm ruột và mô mềm vỏ.

Bột

Mảnh mô mềm gồm những tế bào hình nhiều cạnh, rải rác có chứa tế bào tiết tinh dầu màu vàng nhạt. Tinh bột hình trứng, có vân rõ. Mảnh bần gồm các tế bào hình chữ nhật, vách dày, màu vàng nâu. Sợi có thành mỏng. Mảnh mạch vạch, mạch vòng, mạch điểm.

Định tính

A. Lấy khoảng 5 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol 70 % (TT)*, đun sôi, lắc đều, lọc.

Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 5 giọt *dung dịch natri nitroprusiat 1 % (TT)*, thêm 3 giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, xuất hiện màu đỏ. Thêm 2 giọt *acid acetic băng (TT)*, có tủa chuyển sang màu vàng.

Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 3 giọt *dung dịch paranitroanilin (TT)*, thêm 0,5 ml *dung dịch natri hydrocarbonat 5 % (TT)*, 4 ml *nước*, đun sôi, để nguội, dung dịch có màu nâu đỏ.

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: n-Hexan - aceton - acid acetic băng (7,5 : 2,5 : 4 giọt).

Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 5 ml *aceton (TT)*, lắc trong 3 min, lọc, lấy dịch lọc làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột thân rễ Gừng (mẫu chuẩn) chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi khai triển xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *thuốc thử vanilin - sulfuric (TT)*. Sấy bản mỏng ở 110 °C cho đến khi xuất hiện vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có ít nhất 10 vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không quá 3,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tạp chất: Không quá 1,0 %.

Tỉ lệ non xốp: Không quá 1,0 %.

Chất chiết được trong dược liệu

Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10).

Chất chiết được trong nước: Không ít hơn 14,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chất chiết được trong ethanol 90 %: Không ít hơn 6,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Định lượng

Định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7).

Cho 30 g dược liệu đã được cắt nhỏ vào bình cầu dung tích 500 ml của bộ dụng cụ định lượng tinh dầu trong dược liệu. Thêm 300 ml *nước*, tiến hành cất trong 3 h.

Dược liệu phải chứa ít nhất 0,5 % tinh dầu tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Đào lấy củ gừng già, rửa sạch, phơi hoặc sấy đến khô (can khương). Khi dùng có thể sao vàng hoặc sao cháy (thán khương).

Bảo quản

Để nơi khô, mát.

Tính vị, quy kinh

Tân, nhiệt. Vào các kinh tâm, phế, tỳ, vị, thận, đại tràng.

Công năng, chủ trị

Ôn trung tán hàn, hồi dương, thông mạch, táo thấp tiêu đàm. Chủ trị: Đau bụng lạnh, đầy trướng không tiêu, nôn mửa ỉa chảy, tứ chi lạnh, đàm ẩm, ho suyễn.

Thán khương tăng cường chỉ huyết.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 4 g đến 8 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ

Âm hư nội nhiệt sinh ho, biểu hư ra mồ hôi nhiều hoặc mất máu không nên dùng.

HÀ THỦ Ô ĐỎ (Rễ)

Radix Fallopiae multiflorae

Dạ giao đằng

Rễ củ phơi hay sấy khô của cây Hà thủ ô đỏ [*Fallopia multiflora* (Thunb.) Haraldson Syn. *Polygonum multiflorum* (Thunb.)], họ Rau răm (Polygonaceae).

Mô tả

Rễ củ tròn, hoặc hình thoi, không đều, củ nhỏ để nguyên, dài 6 cm đến 15 cm, đường kính 4 cm đến 12 cm; củ to bổ đôi theo chiều dọc, hay chặt thành từng miếng to. Mặt ngoài màu nâu đỏ, có những chỗ lồi lõm do các nếp nhăn ăn sâu tạo thành. Chắt chắc, khó bẻ. Mặt cắt ngang có lớp bần mỏng màu nâu sẫm, mô mềm vỏ màu đỏ hồng, có nhiều bột, ở giữa có ít lõi gỗ. Mùi nhẹ, vị hơi đắng, hơi ngọt và chát.

Vi phẫu

Lớp bần gồm 3 đến 4 hàng tế bào thành dày, chứa chất màu nâu. Mô mềm vỏ phát triển nhiều, rải rác có nhiều tinh thể calci oxalat hình cầu gai và hình thoi. Từng đám libe cấp 2 rời nhau xếp thành một vòng tròn ứng với các đám gỗ cấp 2 ở bên trong. Tầng sinh libe-gỗ. Gỗ cấp 2 chạy vào đến tâm. Tia ruột chạy từ tâm cắt libe-gỗ cấp 2 thành từng đám. Ngoài ra có các bó libe-gỗ thứ cấp được hình thành sau gỗ cấp 2 nằm riêng lẻ hoặc chụm với nhau rải rác khắp mô mềm vỏ.

Bột

Mùi nhẹ, màu nâu hồng, vị hơi chát. Soi dưới kính hiển vi thấy: Nhiều hạt tinh bột đơn hoặc kép đôi, kép ba, nằm riêng lẻ hoặc kết thành khối, đường kính 5 µm đến 25 µm, hình gần tròn, rốn hình sao hay phân nhánh.

Rải rác có các mảnh mạch điểm. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai, đường kính 20 µm đến 50 µm. Mảnh bần gồm các tế bào hình đa giác thành dày có màu đỏ nâu. Mảnh mô mềm có tế bào thành mỏng chứa tinh bột. Sợi nhỏ dài có vách dày với nhiều ống trao đổi.

Định tính

A. Lấy 2 g bột dược liệu cho vào ống nghiệm, ngâm với 10 ml *nước* trong 30 min, gạn lấy 5 ml, thêm 3 giọt đến 4 giọt *dung dịch natri hydroxyd (TT)* sẽ có màu đỏ sẫm.

B. Lấy 0,1 g bột, thêm 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)* đun trong cách thủy trong 5 min, để nguội, lọc. Acid hóa dịch lọc bằng *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)* đến môi trường acid (thử bằng giấy quỳ), sau đó lắc với 20 ml *ether ethylic (TT)*, lớp ether ethylic có màu vàng cam, gạn lấy 5 ml ether, thêm 5 ml *amoniac đậm đặc (TT)*, lớp amoniac sẽ có màu đỏ.

C. Lấy 0,2 g bột dược liệu, đun trên cách thủy với 10 ml *ethanol 96 % (TT)* trong 5 min, để nguội, lọc. Lấy 5 ml dịch lọc, để bay hơi đến khô, thêm 2 ml *dung dịch antimony clorid (TT)* sẽ có màu đỏ hay tím đỏ.

D. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại lát cắt có màu vàng xám.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - methanol - nước (100 : 17 : 13).

Dung dịch thử: Lấy 0,25 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy trong 30 min, để nguội, lọc, để bay hơi dịch lọc đến cạn. Thêm vào cắn 10 ml *nước* và 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)*, đun hồi lưu trong cách thủy 30 min, để nguội sau đó lắc với *ether ethylic (TT)* 2 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp dịch chiết ether, để bay hơi tự nhiên còn khoảng 1 ml dùng làm dung dịch thử.

Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan emodin trong *ethanol 96 % (TT)* để được dung dịch có nồng độ 0,1 %.

Dung dịch dược liệu đối chiếu: Lấy 0,25 g bột Hà thủ ô đỏ (mẫu chuẩn), chiết như mô tả trong mục Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí ở nhiệt độ phòng. Quan sát các vết dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Sau đó cho bản mỏng tiếp xúc với hơi *amoniac (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu, trong đó phải có một vết cùng màu sắc, cùng giá trị R_f với vết emodin trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tạp chất khác: Không quá 0,5 %.

Tỉ lệ xơ gỗ: Không quá 1,0 %.

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 20,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 30 % (TT)* làm dung môi.

Định lượng anthraquinon kết hợp

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Methanol - dung dịch acid phosphoric 0,1 % (80 : 20).

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác các chất chuẩn emodin và physcion và hòa tan trong *methanol (TT)* để được dung dịch chuẩn hỗn hợp có nồng độ tương ứng là 80 µg/ml và 40 µg/ml.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 1 g bột dược liệu (qua rây số 250) vào một bình nón nút mài, thêm chính xác 50 ml *methanol (TT)*, đậy nút và cân. Đun sôi hồi lưu 1 h, để nguội, cân lại. Bổ sung khối lượng mất đi bằng *methanol (TT)*, lắc đều, lọc được dung dịch thử A

{dùng để xác định anthraquinon tự do (FAQ)}. Hút chính xác 25 ml dung dịch thử A cho vào bình nón nút mài, cô trên cách thủy đến cạn. Thêm chính xác 20 ml *dung dịch acid hydrocloric 8 % (TT)*, lắc siêu âm 5 min, thêm 20 ml *cloroform (TT)*, đun hồi lưu 1 h, làm nguội ngay lập tức rồi chuyển vào bình gạn. Rửa bình nón với 5 ml *cloroform (TT)*. Gộp dịch rửa vào bình gạn. Gạn lấy lớp cloroform. Lắc dung dịch acid với *cloroform (TT)* 3 lần nữa, mỗi lần dùng 15 ml. Gộp dịch chiết cloroform, cô trên cách thủy đến cạn. Dùng *methanol (TT)* để hòa tan và chuyển toàn bộ cắn vào bình định mức 10 ml, thêm *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc được dung dịch thử B {dùng để xác định anthraquinon toàn phần (TAQ)}.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch chuẩn. Tiến hành sắc ký và tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột tính trên pic emodin phải không dưới 3000.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và hai dung dịch thử. Tính hàm lượng emodin và physcion trong mỗi dung dịch thử và trong dược liệu dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của các dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng các chất chuẩn emodin và physcoin. Từ đó tính hàm lượng anthraquinon kết hợp (CAQ).

Hàm lượng CAQ = Hàm lượng TAQ - Hàm lượng FAQ

Dược liệu phải chứa không dưới 0,1 % anthraquinon kết hợp (CAQ), tính theo tổng hàm lượng của emodin ($C_{15}H_{10}O_5$) và physcion ($C_{16}H_{12}O_5$), tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, khi lá khô úa, đào lấy củ, cắt bỏ hai đầu, rửa sạch, củ to cắt thành miếng, phơi hay sấy khô. Nếu đồ chín rồi phơi thì tốt hơn. Trước khi dùng thường nấu, đồ với đậu đen.

Bào chế

Chế Hà thủ ô đỏ: Rửa sạch củ, ngâm nước vo gạo 1 ngày 1 đêm, sau đó rửa lại. Đồ nước đậu đen cho ngập (cứ 1 kg Hà thủ ô cần 100 g Đậu đen, 2 L nước, nấu đến khi đậu đen nhừ nát), nấu đến khi gần cạn, cần đảo luôn cho chín đều. Khi củ đã mềm, lấy ra, bỏ lõi (nếu có). Nếu còn nước đậu đen thì tẩm phơi cho hết. Làm sạch vụn nát. Thái hoặc cạo mỏng rồi phơi khô. Nếu đồ thì đồ 9 lần rồi phơi 9 lần (cửu chưng cửu sái) thì càng tốt.

Khi đun nên đặt vỉ ở đáy nồi cho khỏi cháy dược liệu.

Bảo quản

Để nơi khô, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Khổ, cam, sáp, ôn. Vào các kinh can, thận.

Công năng, chủ trị

Dưỡng huyết, bổ can thận, nhuận tràng thông tiện, làm xanh tóc. Chủ trị: Huyết hư thiếu máu, da xanh, gầy, đau lưng, di tinh, tóc bạc sớm, táo bón.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g Hà thủ ô đỏ đã chế, dạng thuốc sắc hoặc rượu thuốc.

HÀ THỦ Ô TRẮNG (Rễ)

Radix Streptocauli

Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Hà thủ ô trắng [*Streptocaulon juventas* (Lour.) Merr.], họ Thiên lý (Asclepiadaceae).

Mô tả

Rễ nạc hình trụ, đường kính 1 cm đến 3 cm. Mặt ngoài màu nâu nhạt đến nâu xám, có nếp nhăn và rãnh dọc, có nhiều lỗ vỏ nằm ngang và những vết tích của rễ con còn sót lại. Mặt cắt ngang có màu trắng ngà đến màu vàng nâu nhạt, nhìn thấy rõ tầng phát sinh libe-gỗ. Vị hơi đắng, có nhiều bột.

Vi phẫu

Mặt cắt ngang rễ hình tròn. Soi dưới kính hiển vi từ ngoài vào trong có: Lớp bần cấu tạo bởi nhiều hàng tế bào hình chữ nhật, xếp thành vòng đồng tâm và dãy xuyên tâm. Mô mềm vỏ gồm những tế bào có thành mỏng, rải rác có các tinh thể calci oxalat hình khối. Libe cấp 2 bị phân chia bởi tia ruột thành các bó dài. Trong libe có sợi, ống nhựa mủ. Tầng sinh libe-gỗ quan sát rõ. Gỗ cấp 2 cấu tạo bởi những mạch gỗ lớn, có thành dày, xếp nối tiếp thành từng dãy rời nhau trong mô mềm gỗ.

Bột

Màu nâu nhạt, vị đắng sau chát. Soi kính hiển vi thấy: Các mảnh mô mềm, nhiều tinh thể calci oxalat hình khối, hạt tinh bột đơn, kép đôi, kép ba, rải rác ở ngoài hay ở trong tế bào mô mềm. Các hạt tinh bột có rốn hạt hình chữ V hay chấm, những hạt to có thể quan sát thấy vân hạt. Mảnh bần màu vàng nâu. Nhiều mảnh mạch mạng, mạch chấm, sợi libe.

Định tính

A. Lấy 10 g bột dược liệu cho vào bình nón dung tích 250 ml, thấm ẩm bằng *amoniac đậm đặc (TT)* vừa đủ rồi thêm vào bình 20 ml đến 25 ml *cloroform (TT)*, đun trên cách thủy sôi trong 2 min đến 3 min, lọc vào bình gạn qua giấy lọc đã được thấm ẩm bằng *cloroform (TT)*. Lắc 2 lần, mỗi lần với 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (TT)*. Để yên cho dung dịch tách thành 2 lớp, gạn lấy lớp acid. Gộp dịch chiết acid rồi chia vào 3 ống nghiệm để làm các phản ứng sau:

Ống 1: Thêm 2 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)* sẽ xuất hiện tủa nâu.

Ống 2: Thêm 2 giọt *thuốc thử Mayer (TT)* sẽ xuất hiện tủa trắng.

Ống 3: Thêm 2 giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)* sẽ xuất hiện tủa vàng cam.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi khai triển: *Toluen - ethyl acetat* (9 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 10 ml *methanol (TT)*, lắc kỹ trong 30 min. Lọc, cô dịch lọc trên cách thủy tới còn khoảng 1 ml dùng làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,5 g bột Hà thủ ô trắng (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*. Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 3 min đến 5 min. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 %. (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất (Phụ lục 12.11).
Dược liệu còn sót gốc thân: Không quá 1,0 %.
Tỷ lệ rễ nhỏ (đường kính dưới 1 cm): Không quá 10,0 %.

Chế biến
Thu hái quanh năm, đào lấy rễ củ về rửa sạch, thái lát, phơi hoặc sấy khô. Có thể ngâm nước vo gạo 12 h rồi phơi hay sấy khô.

Bảo quản
Để nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Khổ, sáp, lương. Vào hai kinh can, thận.

Công năng, chủ trị
Bổ huyết, bổ can thận. Chủ trị: Huyết hư thiếu máu, đa xanh gầy, tóc bạc sớm, yếu sinh lý, kinh nguyệt không đều, đau nhức gân xương.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 12 g đến 20 g, dạng thuốc sắc.

HẠ KHÔ THẢO (Cụm quả)
Spica Prunellae

Cụm quả đã phơi hay sấy khô của cây Hạ khô thảo (*Prunella vulgaris* L.), họ Bạc hà (Lamiaceae).

Mô tả
Dược liệu hình chùy do bị ép nên hơi dẹt, dài 1,5 cm đến 8 cm, đường kính 0,8 cm đến 1,5 cm; màu từ nâu nhạt đến nâu đỏ. Toàn cụm quả có hơn 10 vòng đài còn lại và lá bắc, mỗi vòng lại có hai lá bắc mọc đối trên cuống hoa hay quả như hình quạt, đỉnh nhọn, có gân gợn rõ, mặt ngoài phủ lông trắng. Mỗi lá bắc có 3 hoa nhỏ, tràng hoa thường bị rụng, dài có 2 môi, 4 quả hạch nhỏ hình trứng, màu nâu với vết lồi trắng ở đầu nhọn. Thể nhẹ, chất giòn, mùi thơm nhẹ, vị nhạt.

Bột
Bột màu nâu đen, mùi nhẹ, vị nhạt. Soi kính hiển vi thấy: Lông che chở đa bào một dãy, từ 5 đến 7 tế bào, đôi khi rất dài, bề mặt lấm tấm. Mảnh biểu bì dưới của lá có lỗ khí. Tế bào biểu bì đài hoa có vách ngoằn ngoèo. Mảnh mô mềm của cành gồm tế bào hình chữ nhật, xếp xen kẽ nhau. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai, gai có đầu tù. Mảnh mạch vạch, mạch xoắn, mạch mạng. Đầu nhụy có tế bào dài và tỏa ra như nan quạt.

Định tính
A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 15 ml *ethanol (TT)*, đun hồi lưu trong cách thủy 1 h, lọc. Lấy dịch lọc để thử các phản ứng sau:
Lấy 1 ml dịch lọc cho vào một bát sứ nhỏ, bốc hơi trên cách thủy đến khô. Hòa tan cắn bằng 1 giọt *acid sulfuric (TT)*, xuất hiện màu đỏ tía chuyển dần sang màu lục tối.
Nhỏ một vài giọt dịch lọc lên một tờ giấy lọc rồi phun hỗn hợp gồm *dung dịch sắt (III) clorid 0,9 % (TT)* và *dung dịch kali fericyanid 0,6 % (TT)* theo tỷ lệ (1 : 1), sẽ xuất hiện màu xanh lơ.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Cyclohexan - cloroform - ethyl acetat - acid acetic băng* (20 : 5 : 8 : 0,5).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 1 h, lọc. Bốc hơi dịch lọc đến khô, hòa cắn 2 lần, mỗi lần với 15 ml *ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (TT)* trong khoảng 2 min, gạn bỏ dung dịch ether dầu hỏa. Hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol (TT)* làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g Hạ khô thảo (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra và để khô trong không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
Tiếp tục phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*, sấy bản mỏng ở 100 °C tới khi hiện rõ các vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 3,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Thân cây: Không quá 5 %.
Tạp chất khác: Không quá 1 %.

Chất chiết được trong dược liệu
Không dưới 7,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Vào mùa hạ, thu hái khi cụm quả có màu đỏ nâu, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản
Để nơi khô.

Tính vị, quy kinh
Tân, khổ, hàn. Vào các kinh can, đởm.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt giáng hỏa, minh mục, tán kết, tiêu sưng. Chủ trị: Tăng huyết áp, mắt đỏ sưng đau, đau con ngươi, chảy nước mắt do viêm tuyến lệ, nhức đầu, chóng mặt, bướu cổ; tràng nhạc, viêm tuyến vú, nhọt vú sưng đau.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 9 g đến 15 g. Dạng thuốc sắc.

HẬU PHÁC (Vỏ)
Cortex Magnoliae officinalis

Vỏ thân, vỏ rễ, vỏ cành phơi hay sấy khô của cây Hậu phác (*Magnolia officinalis* Rehd. et Wils.) hoặc cây Ao diệp hậu phác (*Magnolia officinalis* Rehd. et Wils var. *biloba* Rehd. et Wils.), họ Ngọc lan (Magnoliaceae).

Mô tả
Vỏ thân: Vỏ khô cuộn thành ống đơn hoặc ống kép, dài từ 30 cm đến 35 cm, dày 0,2 cm đến 0,7 cm, thường gọi là "đồng phát" (ống hậu phác). Đầu vỏ khô gần phần rễ loe ra như loa kèn, dài từ 13 cm đến 25 cm, dày 0,3 cm đến 0,8 cm, thường gọi là "hoa đồng phác". Mặt ngoài màu nâu xám, thô, đôi khi dạng vảy dễ bóc ra, có lỗ vỏ hình bầu dục và có vân nhăn dọc rõ. Cạo bỏ vỏ thô hiện ra màu nâu vàng. Mặt trong màu nâu tía hoặc nâu tía thẫm, tương đối trơn, có sọc dọc nhỏ, cạo ra có vết dầu rõ. Chất cứng khó bẻ gãy. Mặt gãy sần sùi, lấm tấm hạt, tầng ngoài màu nâu xám, tầng trong màu nâu tía hoặc nâu, có chất dầu, đôi khi có đốm sáng nhỏ. Mùi thơm, vị cay hơi đắng.
Vỏ rễ (căn phác): Dạng ống đơn hoặc phiến lát không đều, có khi cong queo giống như ruột gà gọi là kê trường phác. Chất cứng, dễ bẻ gãy, mặt gãy có xơ.
Vỏ cành (chi phác): Dạng ống đơn, dài 10 cm đến 20 cm, dày 0,1 cm đến 0,2 cm. Chất giòn, dễ bẻ gãy, mặt gãy có xơ.

Vi phẫu
Lớp bần có trên 10 hàng tế bào, có khi thấy tầng vỏ bong ra. Phía ngoài vỏ có vòng tế bào mô cứng và phía trong rải rác nhiều tế bào chứa dầu và nhóm tế bào mô cứng. Tia libe có 1 đến 3 hàng tế bào rộng. Phần nhiều sợi xếp thành bó tập trung ở vùng trụ bì. Rải rác có các tế bào chứa dầu.

Bột
Màu nâu. Có nhiều sợi, đường kính 15 µm đến 32 µm, thành rất dày, đôi khi có hình lượn sóng hoặc hình răng cưa ở một cạnh, hóa gỗ, ống lỗ không rõ. Tế bào mô cứng hình vuông, hình bầu dục, hình trứng, hoặc dạng phân nhánh không đều, đường kính từ 11 µm đến 65 µm, đôi khi có vân sọc rõ. Tế bào dầu hình bầu dục hoặc hơi tròn, đường kính 50 µm đến 85 µm, chứa chất dầu màu nâu vàng. Mảnh bần gồm những tế bào hình chữ nhật có thành dày, màu vàng nâu.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cyclohexan - ethyl acetat - aceton (9 : 1 : 0,5).
Dung dịch thử: Lắc 0,5 g bột dược liệu với 5 ml *methanol (TT)* trong 30 min, lọc, lấy dịch lọc làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan magnolol chuẩn và honokiol chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ mỗi chất là 0,1 %. Nếu không có các chất đối chiếu, dùng 0,5 g bột vỏ Hậu phác (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai, để khô bản mỏng trong không khí ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*. Sấy bản mỏng ở 100 °C trong 10 min. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 15,0 % (Phụ lục 12.13).
Dùng 10 g dược liệu, cắt nhỏ.

Tạp chất (Phụ lục 12.11).
Tỉ lệ vỏ chết: Không quá 2,0 %.
Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Tro toàn phần
Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu
Không dưới 5,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 70 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch từ tháng 4 đến tháng 6, bóc lấy vỏ rễ, vỏ thân, vỏ cành. Vỏ rễ và vỏ cành phơi âm can. Vỏ thân chần qua nước sôi, vớt ra, chất đống để nơi ẩm cho đến khi bề mặt lõi có màu nâu tía hay nâu thẫm, đồ mềm, cuộn thành ống

phơi khô.

Bào chế
Hậu phác phiến: Cạo sạch vỏ, rửa sạch, ủ mềm, thái lát, phơi khô.
Khương Hậu phác (chế gừng): Gừng tươi nghiền nát, ép, vắt lấy nước cốt gừng. Thêm một lượng nhỏ nước vào bã gừng, ép lấy nước gừng lần nữa. Trộn đều nước gừng. Tẩm nước gừng với Hậu phác phiến cho thấm hết nước gừng, sao nhỏ lửa đến khô, phiến cong, vết nứt có sợi và màu nâu tía. Dùng 10 kg Gừng tươi hoặc 3 kg Gừng khô cho 100 kg Hậu phác.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô ráo, tránh mất mùi thơm.

Tính vị, quy kinh
Khổ, tân, ôn. Quy vào kinh tỳ, vị, phế, đại tràng.

Công năng, chủ trị
Ôn trung hạ khí, táo thấp tiêu đờm. Chủ trị: Thượng vị đầy trướng, nôn mửa, tiết tả, thực tích, ho, suyễn.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, phối hợp trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ
Tỳ vị hư yếu, nguyên khí kém, phụ nữ có thai thận trọng khi dùng.

HOÀNG BÁ (Vỏ thân)
Cortex Phellodendri

Vỏ thân và vỏ cành (đã cạo bỏ lớp bần) phơi hay sấy khô của cây Hoàng bá (*Phellodendron chinense* Schneid. hoặc *Phellodendron amurense* Rupr.), họ Cam (Rutaceae).

Mô tả
Vỏ thân màu vàng nâu, dày 0,3 cm đến 0,5 cm, dài 20 cm đến 40 cm, rộng 3 cm đến 6 cm. Mặt ngoài còn sót lại lớp bần màu nâu đất, có những vết lõm sần sùi và rãnh dọc, mặt trong màu nâu nhạt, có nhiều vết nhăn dọc nhỏ, dài, vết bẻ lởm chởm, chất rắn, nhẹ, màu vàng rơm.
Vỏ cành dày 0,15 cm đến 0,20 cm, mảnh dài cuộn lại thành hình ống. Mặt ngoài có lớp thụ bì màu nâu xám, khi bong ra để lộ lớp bần màu nâu sẫm, trên có lấm tấm nhiều vết lỗ vỏ, mặt trong màu nâu nhạt hơn, có những vết nhăn nhỏ, dọc. Chất giòn, dễ bẻ, mặt bẻ lởm chởm, để lộ mô mềm màu vàng rơm.

Vi phẫu
Lớp bần còn sót lại rất mỏng gồm vài hàng tế bào hình chữ nhật dẹt. Mô mềm vỏ chiếm 1/3 bề dày vỏ thân, gồm những tế bào có thành mỏng, nhiều đám sợi rải rác và có tinh thể calci oxalat hình thoi. Lớp libe cấp 2 dày, chiếm 2/3 bề dày vỏ thân, có nhiều đám sợi nằm trong libe, có thành dày, khoang hẹp; bên cạnh có tinh thể calci oxalat hình thoi. Tia ruột gồm 2 đến 4 dãy tế bào hình chữ nhật, thành mỏng, xếp ngoằn ngoèo theo hướng xuyên tâm.

Bột
Màu vàng tươi, không mùi, vị rất đắng. Soi kính hiển vi thấy: Rất nhiều đám sợi mang tinh thể calci oxalat hình lăng trụ, có đám sợi màu vàng nâu, hoặc vàng tươi, có đám sợi đứng riêng lẻ, thành dày. Mảnh mô mềm vỏ với các tế bào hình gần tròn. Mảnh bần (còn sót lại) gồm các tế bào hình chữ nhật, thành hơi uốn lượn, màu vàng nâu. Quan sát dưới ánh sáng từ ngoại mặt cắt ngang dược liệu và bột vỏ thân có phát quang màu vàng tươi sáng.

Định tính
A. Lấy 0,2 g bột dược liệu, thêm 3 ml nước, đun nhẹ, lọc lấy 2 ml dịch lọc, thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric 1 % (TT)* thêm dần *dung dịch bão hòa clor trong nước (TT)*. Để yên 10 min, chỗ tiếp xúc giữa 2 lớp chất lỏng có 1 vòng màu đỏ sẫm.
B. Lấy 0,2 g bột dược liệu, thêm 1 ml *ethanol 90 % (TT)*, đun nhẹ, lọc. Lấy 1 đến 2 giọt dịch lọc nhỏ trên lam kính, hơ nhẹ trên đèn cồn đến gần khô, thêm 1 giọt *dung dịch acid nitric 25 % (TT)* hoặc 1 giọt *acid hydrocloric (TT)*, đậy lá kính mỏng lên. Sau 20 min soi kính hiển vi thấy những tinh thể hình kim màu vàng tươi.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *n-Butanol - acid acetic - nước* (7 : 1 : 2).
Dung dịch thử: Lấy 0,1 g bột dược liệu, thêm 5 ml *methanol (TT)*, đun nhẹ trong cách thủy, lọc, lấy dịch lọc làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 1 mg berberin clorid chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang màu vàng sáng cùng giá trị R_f và màu sắc với vết của berberin clorid chuẩn trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
D. Định tính phân biệt
P. amurense: Trong phần Định lượng, trên sắc ký đồ của dung dịch thử có hai pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic berberin clorid và palmatin clorid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
P. chinensis: Trong phần Định lượng, trên sắc ký đồ của dung dịch thử có pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic berberin clorid và không có pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic palmatin clorid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Dung dịch acid trifluoacetic 0,1 %.
Pha động B: Acetonitril (TT).
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng berberin clorid chuẩn và palmatin clorid chuẩn trong *methanol (TT)* để được dãy dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 1, 10, 100, 200 và 400 mg/L mỗi chất chuẩn.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,2 g bột dược liệu (qua rây số 355) vào bình định mức 50 ml, thêm 10 ml *methanol (TT)*, đậy nắp và cân, lắc siêu âm trong 30 min, để nguội, cân lại và bổ sung *methanol (TT)* để được khối lượng ban đầu. Trộn đều, ly tâm, lấy dịch trong lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký
Cột kích thước (30 cm × 3,9 mm) được nhồi pha tĩnh C (4 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 346 nm.
Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.
Thể tích tiêm: 5 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 20	90 → 10	10 → 90

Tiêm 5 lần dung dịch chuẩn ở nồng độ 200 mg/L, tiến hành sắc ký theo điều kiện đã mô tả. Thứ tự rửa giải: Palmatin clorid, berberin clorid. Sai số tương đối của diện tích pic berberin clorid và palmatin clorid thu được trong 5 lần tiêm không được lớn hơn 5,0 %; sai số tương đối của thời gian lưu của pic berberin clorid và palmatin clorid của 5 lần tiêm không được lớn hơn 2,0 %; số đĩa lý thuyết của cột tính theo pic berberin clorid và pic palmatin clorid không được nhỏ hơn 30000.
Tiêm các dung dịch chuẩn, ghi sắc ký đồ, lập đường chuẩn biểu thị sự liên quan giữa nồng độ và diện tích pic berberin clorid.
Tiêm dung dịch thử, tiến hành sắc ký theo điều kiện đã mô tả, ghi sắc ký đồ. Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử và đường chuẩn đã lập, tính hàm lượng berberin clorid trong dược liệu.
Hàm lượng berberin clorid ($C_{20}H_{18}NO_4Cl$) không được ít hơn 0,33 % đối với loài *P. amurense* và không ít hơn 2,5 % đối với loài *P. chinensis*, tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Vỏ thân và vỏ cành cạo sạch lớp bần, cắt thành từng miếng, phơi hoặc sấy khô ở 50 °C.

Bảo quản
Để nơi thoáng gió, khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Khổ, hàn. Vào các kinh thận, bàng quang.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt táo thấp, tư âm giáng hỏa, giải độc. Chủ trị: Âm hư phát sốt, xương đau âm ỉ, ra mồ hôi trộm; viêm tiết niệu; tả lỵ thấp nhiệt; hoàng đản; mụn nhọt lở ngứa.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán.

Kiêng kỵ
Tỳ hư, đại tiện lỏng, ăn uống không tiêu không nên dùng.

HOÀNG CẦM (Rễ)
Radix Scutellariae

Rễ đã phơi hay sấy khô và cạo vỏ của cây Hoàng cầm (*Scutellaria baicalensis* Georgi), họ Bạc hà (Lamiaceae).

Mô tả
Rễ hình chùy, vặn xoắn, dài 8 cm đến 25 cm, đường kính 1 cm đến 3 cm. Mặt ngoài nâu vàng hay vàng thẫm, rải rác có các vết của rễ con hơi lồi, phần trên hơi ráp, có các vết khía dọc vặn vẹo hoặc vân dạng mạng; phần dưới có các vết khía dọc và có các vết nhăn nhỏ. Rễ già gọi là Khô cầm, mặt ngoài vàng, trong rỗng hoặc chứa các vụn mục màu nâu đen hoặc nâu tối. Rễ con gọi là Điều cầm, chắt cứng chắc, mịn, ngoài vàng, trong màu xanh vàng, giòn, dễ bẻ. Hoàng cầm không mùi. Vị hơi đắng.

Bột
Màu vàng hay vàng nâu. Sợi libe rải rác hoặc tập hợp thành bó, hình thoi, dài 60 µm đến 250 µm, đường kính 9 µm đến 33 µm, thành dày có nhiều ống trao đổi nhỏ. Tế bào đá hơi tròn hoặc hình vuông hay chữ nhật, thành dày hay rất dày. Tế bào bần màu vàng nâu, nhiều cạnh. Mảnh mạch nhiều, thường là mạch mạng, đường kính 24 µm đến 27 µm. Sợi gỗ thường đứt gãy, đường kính 12 µm với các lỗ xiên rải rác. Nhiều hạt tinh bột, hạt đơn hình cầu đường kính 2 µm đến 10 µm, có rốn nổi rõ, có khi hạt kép 2 đến 3.

Định tính
A. Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 15 min, lọc. Lấy dịch lọc tiến hành các phản ứng sau:
Lấy 1 ml dịch lọc nhỏ thêm 2 giọt đến 3 giọt *dung dịch chì acetat 9,5 % (TT)*, sẽ có tủa màu vàng.
Lấy 1 ml dịch lọc khác, cho thêm 1 ít bột *magnesi (TT)* và 3 giọt đến 4 giọt *acid hydrocloric (TT)* sẽ có màu đỏ.
B. Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ether (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 5 min, để nguội, lọc. Bốc hơi dịch lọc đến khô, hòa tan cắn trong 10 ml *ethanol (TT)*. Lấy 3 ml dung dịch, nhỏ thêm 1 giọt đến 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, xuất hiện màu lục xám sau chuyển thành màu nâu tía.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Toluen - ethyl acetat - methanol - acid formic (10 : 3 : 1 : 2).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 30 ml hỗn hợp *ethyl acetat - methanol* (3 : 1), đun sôi hồi lưu trong cách thủy trong 30 min, để nguội, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa tan cắn trong 5 ml *ethanol (TT)* được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Hoàng cầm (mẫu chuẩn). Tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra để khô trong không khí rồi phun *dung dịch sắt (III) clorid 1 % trong ethanol (TT)*, sấy bản mỏng ở 105 °C cho đến khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - dung dịch acid phosphoric 0,5 % (47 : 53).
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác và hòa tan baicalin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch chuẩn có nồng độ khoảng 25 µg/ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,3 g bột dược liệu (qua rây số 710) vào bình nón nút mài, thêm 40 ml *ethanol 70 % (TT)*, đun hồi lưu trong cách thủy trong 3 h, để nguội, lọc. Chuyển dịch lọc vào bình định mức 100 ml, tráng rửa bình nón và cắn 3 lần bằng *ethanol 70 % (TT)*, mỗi lần 10 ml rồi gộp dịch rửa vào bình định mức trên, thêm *ethanol 70 % (TT)* vừa đủ đến vạch, trộn đều. Lấy chính xác 1 ml dung dịch trên vào bình định mức 10 ml, thêm *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch, trộn đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm được dung dịch thử.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C dùng cho sắc ký (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml đến 2 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành
Tiêm dung dịch chuẩn. Tính số đĩa lý thuyết, số đĩa lý thuyết không được dưới 2500 tính theo pic của baicalin.
Tiêm riêng biệt dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{21}H_{18}O_{11}$ của baicalin chuẩn, tính hàm lượng baicalin trong dược liệu
Hàm lượng baicalin ($C_{21}H_{18}O_{11}$) trong dược liệu không ít hơn 8,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa xuân, mùa thu, đào lấy rễ, loại bỏ thân, lá, rễ con, đất cát, phơi khô, đập bỏ lớp ráp ngoài (vỏ thô), đến khi vỏ màu nâu vàng thì đem phơi khô.

Bào chế
Hoàng cầm: Loại bỏ tạp chất, thân còn sót lại, ngâm vào nước lạnh hoặc ngâm vào nước sôi 10 min, hoặc đồ trong 30 min, lấy ra ủ cho mềm, thái phiến mỏng, phơi hoặc sấy khô (tránh phơi nắng to). Dược liệu là phiến mỏng hình tròn hoặc hình không đều, vỏ ngoài màu vàng nâu đến màu nâu, mặt cắt màu vàng nâu đến vàng lục có vân xuyên tâm.
Tửu Hoàng cầm (chế rượu): Lấy Hoàng cầm đã thái phiến mỏng, phun rượu cho ướt, trộn đều. Dùng lửa nhỏ sao qua, đem phơi khô. Cứ 10 kg Hoàng cầm dùng 1,5 L rượu.

Bảo quản
Để nơi khô, mát, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Khổ, hàn. Vào các kinh tâm, phế, can đởm, đại trường, tiểu trường.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt táo thấp, tả hỏa giải độc, an thai. Chủ trị: Phế nhiệt ho đờm đặc, đau sưng họng, nôn ra máu, máu cam, viêm gan mật, kiết lỵ, tiêu chảy, mụn nhọt, lở ngứa, động thai chảy máu.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, dạng thuốc sắc. Thường phối hợp với một số vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Người tỳ vị hư hàn, không có thấp nhiệt, thực hỏa thì không nên dùng.

HOÀNG ĐẰNG (Thân và Rễ)
Caulis et Radix Fibraureae

Thân và rễ đã phơi hay sấy khô của cây Hoàng đằng (*Fibraurea recisa* Pierre và *Fibraurea tinctoria* Lour.), họ Tiết dê (Menispermaceae).

Mô tả
Những đoạn thân và rễ hình trụ thẳng hoặc hơi cong, dài 10 cm đến 30 cm, đường kính 0,6 cm đến 3 cm. Mặt ngoài màu nâu có nhiều vân dọc và sẹo của cuống lá (đoạn thân) hay sẹo của rễ con (đoạn rễ). Mặt cắt ngang có màu vàng gồm 3 phần rõ rệt: Phần vỏ hẹp, phần gỗ có những tia ruột xếp thành hình nan hoa bánh xe, phần ruột ở giữa tròn và hẹp; thể chất cứng, khó bẻ gãy, vị đắng.

Vi phẫu
Cả 2 loài có cấu tạo thân và rễ giống nhau.
Thân: Lớp bần còn sót lại gồm nhiều hàng tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn. Mô mềm vỏ gồm những tế bào thành mỏng có hình gần tròn, hình trứng hay hình chữ nhật, rải rác có những tế bào mô cứng, thành dày, khoang rộng có nhiều vân rõ. Tinh thể calci oxalat hình lập phương, hình chữ nhật hay hình thoi nằm trong các tế bào mô cứng hoặc gần các tế bào mô cứng. Vòng mô cứng liên tục, uốn lượn, lồi lõm theo các bó libe-gỗ, gồm những tế bào thành dày, khoang rộng, rải rác cũng có tinh thể calci oxalat. Bó libe nằm sát vòng mô cứng, phân cách nhau bởi các tia ruột hẹp, gồm 2 đến 3 hàng tế bào hình chữ nhật. Bó gỗ gồm

nhiều mạch gỗ to, phân cách nhau bởi những tia ruột, rải rác cũng có vài tế bào mô cứng. Mô mềm ruột gồm những tế bào tròn hay nhiều cạnh.
Rễ: Lớp bần còn sót lại gồm những tế bào hình chữ nhật thành dày. Tầng phát sinh ngoài gồm 1 lớp tế bào thành mỏng xếp đều đặn. Mô mềm vỏ cấu tạo bởi những tế bào thành mỏng, vòng mô cứng liên tục gồm những tế bào thành dày hóa gỗ, có vân rõ, rải rác nhiều tinh thể calci oxalat hình lập phương hoặc hình thoi. Libe và gỗ cấp 2 chia thành 2 hoặc 3 nan quạt. Mỗi nan quạt bị các tia ruột rộng cắt thành nhiều nhánh.

Bột
Bột màu vàng. Soi dưới kính hiển vi thấy: Tế bào mô cứng hình chữ nhật, hình thoi hoặc gần như tròn màu vàng. Mảnh mạch điểm, mạch vạch. Mảnh mô mềm có tế bào chứa tinh bột. Tinh thể calci oxalat hình lập phương hay hình khối chữ nhật. Các hạt tinh bột có dạng tròn, hình chuông hay hình trái xoan, có nhiều hạt kép đôi, rốn rõ, đường kính 10 µm đến 23 µm.

Định tính
A. Quan sát lát cắt dược liệu dưới ánh sáng từ ngoại ở bước sóng 366 nm sẽ thấy phát quang màu vàng tươi.
B. Lấy 0,1 g bột dược liệu, thêm 3 ml đến 4 ml *dung dịch acid sulfuric 1 % (TT)*, lắc kỹ, lọc, lấy 2 ml dịch lọc vào ống nghiệm, thêm 0,5 ml *nước clor (TT)* từ từ dọc thành ống nghiệm, giữa 2 lớp dung dịch sẽ có một vòng màu đỏ.
C. Lấy 0,2 g bột dược liệu, thêm 2 ml *ethanol 90 % (TT)*, ngâm trong 1 h. Lọc lấy dịch chiết, nhỏ lên phiến kính 1 giọt dịch chiết, rồi nhỏ vào đó 1 giọt *dung dịch acid nitric 32 % (TT)*. Sau 5 min đến 10 min đem soi kính hiển vi, sẽ quan sát thấy những tinh thể hình kim màu vàng.
D. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Toluen - ethyl acetat - isopropanol - methanol - amoniac (6 : 3 : 1,5 : 1,5 : 0,5).
Dung dịch thử: Lấy 0,1 g bột dược liệu, thêm 5 ml *ethanol 90 % (TT)*, đun sôi trên cách thủy 2 đến 3 min, lọc, lấy dịch lọc làm dung dịch thử.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan palmatin clorid chuẩn trong *ethanol 90 % (TT)* để được dung dịch có nồng độ 0,1 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Lấy 0,1 g bột Hoàng đằng (mẫu chuẩn) chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai trong bình sắc ký bão hòa hơi amoniac, lấy bản mỏng ra để khô trong không khí. Quan sát dưới ánh sáng từ ngoại ở bước sóng 366 nm, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có ít nhất 2 vết màu vàng, trong đó có một vết có cùng màu và giá trị R_f với vết palmatin clorid trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu. Khi phun lên bản mỏng *thuốc thử Dragendorff (TT)*, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết có cùng màu đỏ cam và giá trị R_f với vết palmatin clorid trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu và có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 14,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 8,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không được ít hơn 17,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *dung dịch acid hydrocloric 1 % trong methanol (TT)* làm dung môi.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril – dung dịch acid phosphoric 0,4 % (32 : 68).
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,6 g bột dược liệu (qua rây số 355) vào bình nón có nút mài, thêm chính xác 100 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 % trong methanol (TT)*, đậy nút, cân và để yên qua đêm, sau đó đun trên cách thủy 1 h, để nguội, cân lại và bổ sung *dung dịch acid hydrocloric 1 % trong methanol (TT)* để được khối lượng ban đầu. Trộn đều và lọc. Pha loãng 2,0 ml dịch lọc thành 10,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 % trong methanol (TT)*, trộn đều và lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan palmatin clorid chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 1 % trong methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 30 µg/ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 345 nm.
Nhiệt độ cột: 40 °C.
Thể tích tiêm: 5 µl.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch chuẩn. Số đĩa lý thuyết của cột không được nhỏ hơn 5000 tính theo pic palmatin clorid.
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, dung dịch thử. Tính hàm lượng palmatin clorid trong dược liệu dựa vào diện tích pic palmatin clorid trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{21}H_{22}NO_4Cl$ trong palmatin clorid chuẩn.
Dược liệu phải chứa không ít hơn 2,0 % palmatin clorid ($C_{21}H_{22}NO_4Cl$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Lấy rễ và thân cây Hoàng đằng, rửa sạch, cạo sạch lớp bần, cắt thành từng đoạn phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản
Để nơi khô, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Khổ, hàn. Vào các kinh tâm, can, đởm, vị.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt tiêu viêm, lợi thấp, giải độc. Chủ trị: Chữa đau mắt đỏ, viêm họng, mụn nhọt mẩn ngứa, kiết lỵ, viêm bàng quang.

Cách dùng, liều lượng
Ngày từ 6 g đến 12 g dưới dạng thuốc sắc. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Bệnh thuộc hàn không nên dùng.

HOÀNG KỲ (Rễ)

Radix Astragali membranacei

Rễ phơi hay sấy khô của cây Hoàng Kỳ Mông Cổ [*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge. var. *mongholicus* (Bge.) Hsiao, hoặc cây Hoàng Kỳ Mạc Giáp (*Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bge.], họ Đậu (Fabaceae).

Mô tả
Rễ hình trụ, đôi khi phân nhánh, trên to, phần dưới nhỏ dần, dài 30 cm đến 90 cm, đường kính 1 cm đến 3,5 cm. Mặt ngoài màu vàng hơi nâu nhạt hoặc màu nâu nhạt, với nếp nhăn dọc và rãnh dọc không đều. Chất cứng, dai, không dễ bẻ gãy, mặt gãy nhiều sợi và nhiều tinh bột; phần vỏ màu trắng hơi vàng, gỗ màu vàng nhạt với những vết nứt và tia hình nan quạt. Phần giữa của rễ già, đôi khi có dạng gỗ mục nát, màu nâu hơi đen hoặc rỗng. Mùi thơm nhẹ, vị hơi ngọt và hơi tanh như mùi đậu khi nhai.

Vi phẫu
Mặt cắt ngang rễ: Lớp bần gồm nhiều hàng tế bào xếp thành vòng đồng tâm và dãy xuyên tâm. Dưới lớp bần là mô mềm vỏ gồm các tế bào thường bị ép bẹt. Lục bì có 3 đến 5 hàng tế bào mô dày. Phần ngoài của libe thường cong và có khe nứt. Sợi xếp thành bó, thành tế bào dày lên và hóa gỗ hoặc hơi hóa gỗ, sắp xếp xen kẽ với các bó mạch rây. Tế bào đá đôi khi thấy rõ ở gần lục bì. Tầng phát sinh libe-gỗ thành vòng liên tục. Mạch gỗ đơn hay tụ họp thành nhóm 2 đến 3 rải rác; có sợi gỗ ở giữa các mạch; tế bào cứng đơn chiếc hoặc họp thành những nhóm 2 đến 3 cái, đôi khi nhìn thấy từng dãy. Tế bào mô mềm có chứa các hạt tinh bột.

Bột
Màu trắng hơi vàng, các sợi họp thành bó hoặc rải rác, đường kính 5 µm đến 36 µm, thành sợi dày có khe nứt dọc trên bề mặt, 2 đầu sợi thường bị gãy thành dạng tua hoặc hình hơi cụt. Các mảnh mạch vạch; rải rác có các tế bào cứng hình tròn hoặc không đều, thành hơi dày. Nhiều hạt tinh bột đơn hoặc kép đôi kép ba hình gần tròn hoặc hình trứng, đường kính 2 µm đến 21 µm nằm rải rác hoặc tập trung thành đám. Mảnh mô mềm chứa hạt tinh bột.

Định tính
A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml *dicloromethan (TT)*, lắc siêu âm 30 min, lọc. Lấy 0,5 ml dịch lọc, cho vào ống nghiệm, thêm cẩn thận dọc theo thành ống nghiệm khoảng 0,5 ml *acid sulfuric (TT)*. Để yên khoảng 20 min. Ở giữa hai lớp chất lỏng sẽ xuất hiện một vòng màu nâu đỏ hoặc nâu vàng.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Cloroform - methanol - nước* (13 : 7 : 2), lấy lớp dưới.
Dung dịch thử: Lấy 3 g bột dược liệu, thêm 20 ml *methanol (TT)* đun sôi hồi lưu 1 h trên cách thủy, để nguội, lọc. Cho dịch lọc chảy qua một cột sắc ký (đường kính trong 10 mm đến 15 mm) đã được nhồi 5 g *nhôm oxyd trung tính* (cỡ hạt từ 100 mesh đến 120 mesh). Rửa giải bằng 100 ml *methanol 40 % (TT)*. Bốc hơi dịch rửa giải trên cách thủy đến khô. Hòa tan cắn trong 30 ml *nước* rồi lắc với *n- butanol đã bão hòa nước (TT)* 2 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp các dịch chiết n-butanol, rửa bằng *nước* 2 lần, mỗi lần 20 ml, loại bỏ nước rửa, bốc hơi dịch chiết n-butanol trên cách thủy đến khô. Hòa cắn trong 0,5 ml *methanol (TT)*, được dung dịch thử.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan chất đối chiếu astragalosid IV trong *methanol (TT)* để được dung dịch chất đối chiếu có nồng độ 1 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Lấy 3 g bột Hoàng kỳ (mẫu chuẩn), tiến hành chiết giống như dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*. Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 5 min. Quan sát dưới ánh sáng thường và ánh sáng tử ngoại bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết cùng màu và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu hoặc phải có một vết cùng màu và cùng giá trị R_f với vết astragalosid IV (có màu nâu khi quan sát dưới ánh sáng thường; có huỳnh quang màu vàng cam khi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại) trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Cloroform - methanol* (10 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 30 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun sôi hồi lưu trên cách thủy 20 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 15 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,3 % (TT)*, lọc. Điều chỉnh dịch lọc đến pH 5 - 6 bằng *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)* rồi lắc với 15 ml *ethyl acetat (TT)*. Gạn lấy dịch chiết ethyl acetat, lọc qua giấy lọc có *natri sulfat khan (TT)*. Cô dịch chiết ethyl acetat trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 1 ml *ethyl acetat (TT)* được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột Hoàng kỳ (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, hơ trên hơi *amoniac (TT)*. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang cùng màu sắc, cùng giá trị R_f với các vết phát quang trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất
Không quá 2,0 % (Phụ lục 12.11).

Kim loại nặng
Không quá 5 phần triệu Pb; 0,3 phần triệu Cd; 2 phần triệu As; 0,2 phần triệu Hg (Phụ lục 9.4.11).

Chất chiết được trong dược liệu (Phụ lục 12.10)
Chất chiết được trong nước: Không ít hơn 17,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Sử dụng phương pháp chiết lạnh, dùng *nước* làm dung môi.
Chất chiết được trong ethanol 96 %: Không ít hơn 20,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Sử dụng phương pháp chiết lạnh, dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Định lượng
Astragalosid IV
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Acetonitril (TT).
Pha động B: Nước.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng astragalosid IV chuẩn và hòa tan trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,5 mg/ml và 0,25 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 2 g bột dược liệu (qua rây số 710) vào một ống ly tâm thủy tinh kích thước 15 cm × 2 cm có nắp kín, thêm 30 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm trong 30 min, ly tâm 2500 r/min trong 5 min. Hút lấy dịch trong. Rửa cặn 3 lần, mỗi lần với 15 ml *methanol (TT)*, ly tâm với tốc độ và thời gian như trên. Tập trung các dịch chiết methanol, cô trên cách thủy đến cạn. Thêm vào cặn 10 ml *dung dịch amoniac 10 % (TT)*, lắc siêu âm 5 min để hòa tan cặn. Chuyển dịch chiết sang bình gạn, chiết lần lượt với 20, 10, 10 và 10 ml *n-butanol đã bão hòa nước (TT)*. Tập trung các dịch chiết butanol, cô trên cách thủy đến cạn. Dùng *methanol (TT)* để hòa tan và chuyển toàn bộ cặn vào bình định mức 10 ml, thêm *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector tán xạ ánh sáng bay hơi.
Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 10	0	100
10 - 45	0 → 60	100 → 40
45 - 60	60	40

Tiêm dung dịch chuẩn, tiến hành sắc ký với điều kiện sắc ký đã nêu trên và tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột tính trên pic astragalosid IV phải không dưới 4000. Xây dựng đường hồi quy tuyến tính biểu diễn sự phụ thuộc giữa logarit của diện tích pic astragalosid IV và logarit của nồng độ dung dịch chuẩn (µg/ml) theo phương trình $y = ax + b$.
Tiêm dung dịch thử. Sử dụng phương trình đường chuẩn biến đổi logarit của phương pháp ngoại chuẩn của 2 điểm đã lập ở trên để tính nồng độ của astragalosid IV trong dung dịch thử (µg/ml) theo công thức sau:

$$C_t = e^{(Ln(St)-b)/a}$$

Trong đó:
C_t là nồng độ astragalosid IV trong dung dịch thử (µg/ml).
St là diện tích pic astragalosid IV trong sắc ký đồ của dung dịch thử.
a là giá trị hệ số góc (giá trị intercept) của đường hồi quy tuyến tính đã lập ở trên.
b là bậc tự do (giá trị slope) của đường hồi quy tuyến tính đã lập ở trên.
Tính hàm lượng phần trăm của astragalosid IV trong dược điệu.
Dược liệu phải chứa không ít hơn 0,04 % astragalosid IV ($C_{41}H_{68}O_{14}$), tính theo dược liệu khô kiệt.

Calycosin-7-O-β-D-glucosid
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Acetonitril (TT).
Pha động B: Dung dịch acid formic 0,2 %.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng chất chuẩn calycosin-7-O-β-D-glucosid và hòa tan trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 50 µg/ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 1 g bột dược liệu (qua rây số 250) vào một bình nón nút mài, thêm chính xác 50 ml *methanol (TT)* và cân. Đun sôi hồi lưu trong 4 h, lấy ra, để nguội, cân lại. Bổ sung khối lượng mất đi bằng *methanol (TT)*, lắc đều, lọc. Hút chính xác 25 ml dịch lọc, cô trên cách thủy đến cạn. Dùng *methanol (TT)* để hòa tan và chuyển toàn bộ cặn vào bình định mức 5 ml, thêm *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 260 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 20	20 → 40	80 → 60
20 - 30	40	60

Tiêm dung dịch chuẩn. Tiến hành sắc ký và tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột tính trên pic calycosin-7-O-β-D-glucosid phải không dưới 3000.
Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng calycosin-7-O-β-D-glucosid trong dược liệu dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{22}H_{22}O_{10}$ của calycosin-7-O-β-D-glucosid chuẩn.
Dược liệu phải chứa không ít hơn 0,02 % calycosin-7-O-β-D-glucosid ($C_{22}H_{22}O_{10}$), tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch rễ vào mùa xuân, mùa thu, loại bỏ rễ con và thân rồi phơi khô.

Bào chế
Hoàng kỳ phiến: Loại bỏ tạp chất, phân loại to, nhỏ, rửa sạch, ủ mềm, thái phiến dày, phơi khô.
Hoàng kỳ mật chích (chế mật): Hoàng kỳ đã thái phiến, lấy mật ong, hòa với ít nước sôi, trộn đều, ủ cho ngấm, sao nhỏ lửa cho vàng, khi sờ không dính tay thì lấy ra để nguội. Cứ 10 kg Hoàng kỳ dùng 2,5 kg đến 3,0 kg Mật ong.

Bảo quản
Để nơi khô, thoáng, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Cam, ôn. Vào các kinh phế, tỳ.

Công năng, chủ trị
Bổ khí cố biểu, lợi tiểu, trừ mủ, sinh cơ. Chủ trị: Khí hư mệt mỏi, kém ăn; trung khí hạ hãm, tiêu chảy lâu ngày, sa tạng phủ, tiện huyết, rong huyết; ra mồ hôi; nhọt độc khó vỡ; nội nhiệt tiêu khát; viêm thận mạn.
Hoàng kỳ chích mật: Kiện tỳ ích khí.
Hoàng kỳ phiến: Cố biểu, lợi tiểu, trừ mủ sinh cơ.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 9 g đến 30 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán.

HOÀNG LIÊN (Thân rễ)
Rhizoma Coptidis

Thân rễ phơi khô của nhiều loài Hoàng liên chân gà như *Coptis chinensis* Franch., *Coptis quinquesecta* Wang, hoặc *Coptis teeta* Wall., họ Hoàng liên (Ranunculaceae).

Mô tả
Thân rễ là những mẩu cong queo, dài 3 cm trở lên, đường kính 0,2 cm đến 0,8 cm, có nhiều đốt khúc khuỷu và phân nhiều nhánh. Mặt ngoài màu vàng nâu hay vàng xám, mang vết tích của rễ con và cuống lá. Chất cứng rắn, vết bẻ ngang không phẳng, phần gỗ màu vàng tươi, tia ruột có chỗ rách, phần vỏ và ruột màu vàng đỏ, cũng có khi rỗng. Không mùi, vị rất đắng và tồn tại lâu.

Vi phẫu
Mặt cắt ngang thân rễ gần tròn, từ ngoài vào trong quan sát thấy: Lớp thụ bì bao gồm tầng hóa bần và lớp mô mềm vỏ ngoài đã chết. Lớp bần thứ cấp cấu tạo bởi các tế bào thành mỏng, xếp đều đặn. Tầng phát sinh bần. Mô mềm vỏ trong cấu tạo bởi các tế bào hình đa giác thành mỏng hơi nhăn nheo, xếp lộn xộn, rải rác có các tế bào mô cứng hình đa giác, thành rất dày họp thành từng đám. Sợi tập hợp thành đám tạo thành vòng tròn rời nhau, tế bào sợi nhỏ hơn tế bào mô cứng, có thành dày khoang hẹp. Libe xếp thành từng đám tương ứng với các sợi bên ngoài và đứng sát với mặt trong của đám sợi. Tầng phát sinh libe-gỗ. Phần gỗ dày, gỗ phía trong liền nhau tạo thành vòng liên tục, gỗ phía ngoài bị phân cách bởi các tia ruột rộng tạo thành các nhánh riêng biệt. Trong cùng là mô mềm ruột, cấu tạo bởi các tế bào hình đa giác, nhăn nheo xếp đều nhau và có khuyết tế bào rộng.

Bột
Màu vàng, vị rất đắng. Quan sát dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 366 nm, có huỳnh quang màu vàng tươi.
Soi dưới kính hiển vi thấy: Tế bào mô cứng màu vàng hình tròn hay nhiều cạnh có thành dày, khoang rộng, có ống trao đổi. Mảnh mô mềm có tế bào chứa hạt tinh bột. Hạt tinh bột hình trứng hay bầu dục, dài 9 µm đến 12 µm, rộng khoảng 5 µm, mảnh bần màu vàng nâu gồm những tế bào hình nhiều cạnh. Mảnh mạch chấm, mạch vạch. Sợi là các tế bào hình chữ nhật, dài, thành dày, đứng riêng lẻ hay tập hợp thành bó.

Định tính
A. Lấy 0,2 g bột dược liệu, thêm 2 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun nóng nhẹ, lọc. Lấy 1 - 2 giọt dịch lọc đặt trên phiến kính, để bay hơi tự nhiên đến khô, thêm 1 giọt *dung dịch acid nitric 25 % (TT)*, để yên 5 min rồi đem quan sát dưới kính hiển vi, thấy xuất hiện những tinh thể hình kim nhỏ màu vàng, đun nóng tiêu bản, tinh thể mất đi và dung dịch có màu hồng.
B. Lấy 0,1 g bột dược liệu, ngâm 2 h với 10 ml *nước*, lấy 2 ml nước ngâm, thêm 1 giọt *acid sulfuric (TT)* rồi thêm dần *dung dịch bão hòa clor trong nước (TT)*. Giữa hai lớp chất lỏng có màu đỏ thẫm.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: n-Butanol - acid acetic băng - nước (7 : 1 : 2).
Dung dịch thử: Lấy 0,1 g bột dược liệu, thêm 5 ml *methanol (TT)*, lắc mạnh trong 30 min, lọc, lấy dịch lọc làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan riêng biệt berberin clorid vào *methanol (TT)* và palmatin clorid vào *methanol (TT)* để được mỗi dung dịch có nồng độ 0,5 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hòa tan 3,4 g *kali dihydrophosphat (TT)*, 1,7 g *natri laurylsulfat (TT)* trong 1000 ml hỗn hợp dung môi gồm *nước - acetonitril* (1 : 1), lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Dung dịch chuẩn: Pha dung dịch chuẩn riêng biệt, có chứa 0,015 mg palmatin clorid hoặc 0,060 mg berberin clorid trong 1 ml *methanol (TT)*.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,07 g bột dược liệu (qua rây số 250) vào bình nón nút mài có dung tích 100 ml, thêm 25 ml hỗn hợp dung môi gồm *methanol - acid hydrocloric* (100 : 1) và đun hồi lưu trên cách thủy 30 min, để nguội, lọc lấy dịch chiết. Lấy bã dược liệu được chiết thêm 2 lần nữa. Gộp các dịch chiết, bốc hơi trên cách thủy tới cắn. Lắc cắn với *nước* nóng 5 lần, mỗi lần 15 ml, lọc và gộp các dịch lọc, làm bay hơi trên cách thủy tới khô. Hòa tan cắn trong *methanol (TT)* và chuyển vào bình định mức 50 ml, thêm *methanol (TT)* đến vạch, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm) (Lichrosorb RP 18 là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 345 nm.
Tốc độ dòng: 0,7 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành: Tiêm riêng biệt dung dịch chuẩn, dung dịch thử. Tiến hành sắc ký theo điều kiện đã mô tả. Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{20}H_{18}NO_4Cl$ của berberin clorid chuẩn, hàm lượng $C_{21}H_{22}NO_4Cl$ của palmatin chuẩn, tính hàm lượng của berberin clorid và palmatin clorid trong dược liệu.
Dược liệu phải chứa ít nhất 3,5 % berberin clorid ($C_{20}H_{18}NO_4Cl$) và 0,5 % palmatin clorid ($C_{21}H_{22}NO_4Cl$), tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Đào lấy thân rễ già, rửa thật nhanh cho sạch đất cát, cắt bỏ rễ con và gốc thân, phơi hay sấy khô.

Bào chế
Chải rửa sạch (không ngâm), ủ vừa mềm, thái mỏng, phơi trong râm cho khô.
Chế rượu: Lấy Hoàng liên đã thái phiến, tẩm rượu, ủ 30 min, sao khô. 1 kg dược liệu dùng 150 ml đến 200 ml rượu.
Chế gừng: Lấy Gừng tươi, rửa sạch, giã nát, thêm một lượng nước thích hợp, vắt lấy nước, trộn với dược liệu đã thái phiến, ủ 30 min đến 60 min, sao khô. 1 kg dược liệu dùng 200 g Gừng tươi.
Chế muối: Dùng dung dịch muối ăn 5 % trộn với dược liệu đã thái phiến, ủ 30 min đến 60 min, sao khô. 1 kg dược liệu dùng 150 ml dung dịch muối ăn 5 %.

Bảo quản
Để nơi khô ráo, thoáng mát.

Tính vị, quy kinh
Vị đắng, tính hàn. Vào kinh tâm, tỳ, vị, can, đởm, đại tràng.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt táo thấp, thanh tâm, trừ phiền, thanh can sáng mắt, tả hỏa, giải độc. Chủ trị: Đau bụng, viêm ruột, ỉa lỵ, bồn chồn mất ngủ, đau mắt đỏ.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 2 g đến 12 g, dưới dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ
Âm hư phiền nhiệt, tỳ hư tiết tả không nên dùng.

HOÀNG NÀN (Vỏ thân, vỏ cành)
Cortex Strychni wallichianae

Vỏ thân hoặc vỏ cành đã phơi hay sấy khô của cây Hoàng nàn (*Strychnos wallichiana* Steud.ex DC.), họ Mã tiền (Loganiaceae).

Mô tả
Mảnh vỏ dày, thường có hình lòng máng hay cuộn tròn thành ống. Mặt ngoài có nhiều nốt sần màu nâu xám. Mặt trong màu nâu đen, có nhiều đường vân nhỏ chạy dọc, vỏ giòn, dễ bẻ gãy, vết bẻ không phẳng, vị rất đắng.

Vi phẫu
Lớp bần gồm nhiều lớp tế bào hình chữ nhật xếp thành vòng đồng tâm và dãy xuyên tâm, rải rác có chỗ nứt rách và bong ra. Mô mềm vỏ gồm những tế bào thành mỏng, các tế bào phía ngoài thường bị ép bẹt, có nhiều tinh thể calci oxalat hình khối, trong mô mềm có vòng mô cứng tạo thành vòng liên tục, gồm các tế bào thành dày hóa gỗ, khoang hẹp. Libe cấp 2 phát triển nhiều, bị tia ruột ngăn cách thành từng bó hình nón. Những tia ruột gồm 1 đến 3 dãy tế bào chạy xuyên qua phần libe và phát triển rộng ra có khi đến mô mềm vỏ.

Bột

Bột màu nâu sẫm, vị rất đắng. Soi dưới kính hiển vi thấy: Những mảnh bần màu vàng nâu gồm các tế bào nhiều cạnh thành dày, mảnh mô mềm có tế bào thành mỏng hình đa giác hay gần tròn mang tinh thể calci oxalat hình khối. Nhiều tế bào mô cứng thành rất dày, khoang hẹp nhìn thấy rõ các ống trao đổi. Nhiều tinh thể calci oxalat hình khối dài 25 µm đến 35 µm, rộng 10 µm đến 24 µm.

Định tính

A. Lấy 1 g bột dược liệu thấm ẩm bằng 1 ml *amoniac đậm đặc (TT)*, thêm 10 ml *cloroform (TT)*, lắc trong 5 min. Lọc lớp cloroform qua giấy lọc có *natri sulfat khan (TT)*. Chia dịch lọc làm hai phần rồi bốc hơi trên cách thủy tới khô.

Hòa tan một phần cắn trong 2 giọt đến 3 giọt *acid sulfuric (TT)*, thêm vài tinh thể *kali dicromat (TT)*, nghiêng chén sẽ xuất hiện những vệt tím, mất màu nhanh (strychnin).

Thêm vào phần cắn còn lại 2 giọt đến 3 giọt *acid nitric (TT)*, sẽ xuất hiện màu đỏ cam (brucin).

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Toluen - aceton - ethanol - amoniac đậm đặc (4 : 5 : 0,6 : 0,4).

Dung dịch thử: Cho 0,5 g bột dược liệu vào bình nón nút mài, thêm 5 ml hỗn hợp *cloroform - ethanol* (10 : 1) và 0,5 ml *amoniac đậm đặc (TT)*. Đậy nút và lắc trong 5 min, để yên trong 1 h, thỉnh thoảng lắc đều, lọc, lấy dịch lọc làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan strychnin và brucin chuẩn trong *cloroform (TT)* để được dung dịch có nồng độ từng chất là 2 mg/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng rẽ lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *thuốc thử Dragendorff (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết strychnin và brucin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 17,0 % (Phụ 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 2 g bột dược liệu (qua rây số 355) vào bình nón nút mài 250 ml. Thêm chính xác 2,0 ml *amoniac (TT)* và 100 ml hỗn hợp *ether ethylic - cloroform* (1 : 1). Đậy kín bình, để yên trong 24 h, thỉnh thoảng lắc. Để lắng, lọc nhanh dịch chiết qua giấy lọc gấp nếp đặt trong phễu có nắp đậy và tiến hành ở chỗ mát để lấy 50 ml dịch lọc, lắc dịch lọc lần lượt với 20, 20 và 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 4,0 % (TT)* để chiết alcaloid. Gộp các dịch chiết, kiềm hóa bằng *amoniac (TT)* đến pH 8 đến 9 (khoảng 2 ml) và chiết alcaloid bằng hỗn hợp *ether ethylic - cloroform* (1 : 1) lần lượt với 50 ml, 30 ml và 20 ml. Gộp các dịch chiết và làm bay hơi hết dung môi, cắn còn lại được sấy khô ở 100 °C đến khối lượng không đổi, cân cắn. Hàm lượng alcaloid toàn phần (X) trong dược liệu được tính theo công thức sau:

$$X\ (\%) = \frac{m \times 10\,000 \times 2}{p \times (100 - a)}$$

Trong đó:

m là khối lượng cắn (g);

p là khối lượng dược liệu đem cân (g);

a là độ ẩm dược liệu (%).

Hàm lượng alcaloid toàn phần trong dược liệu không ít hơn 2,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Khi trời khô ráo bóc lấy vỏ cây, vỏ cành to, phơi khô hay sấy nhẹ tới khô. Trước khi dùng cần phải chế biến như sau: Ngâm dược liệu trong nước, hoặc nước vo gạo từ 12 h đến 24 h. Vớt ra, rửa sạch. Cạo bỏ lớp vỏ vàng bên ngoài và vỏ đen bên trong. Tiếp tục ngâm nước vo gạo 3 ngày, 3 đêm. Mỗi ngày thay nước một lần. Rửa sạch. Phơi hoặc sấy khô. Thái phiến nhỏ. Tẩm phiến với dầu vừng hoặc dầu lạc. Sao vàng.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô ráo.

Tính vị, quy kinh

Khổ, hàn, rất độc. Vào kinh can, tỳ.

Công năng, chủ trị

Trừ phong hàn thấp tý, chỉ thống, chỉ tả, sát trùng. Chủ trị: Đau nhức xương cốt, mình mẩy, đau bụng, nôn, tiêu chảy, dùng trị ghẻ, ngứa.

Cách dùng, liều lượng

Mỗi lần uống tối đa 0,1 g. Ngày dùng 2 đến 4 lần. Không quá 0,4 g/ngày. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ

Không dùng cho phụ nữ có thai, đang cho con bú, trẻ em dưới 5 tuổi.

HOÀNG TINH (Thân rễ)

Rhizoma Polygonati

Củ cây cơm nếp, Đại hoàng tinh, Hoàng tinh đầu gà, Hoàng tinh dạng gừng

Thân rễ đã phơi hay sấy khô của một số loài Hoàng tinh: *Polygonatum kingianum* Coll. Et Hemsl., *Polygonatum sibiricum* Red. hoặc *Polygonatum cyrtonema* Hua, họ Mạch môn đông (Convallariaceae).

Dựa vào hình thái khác nhau, người ta còn phân biệt Đại hoàng tinh, Kê đầu hoàng tinh (hoàng tinh đầu gà), Khương hình hoàng tinh (hoàng tinh dạng gừng).

Mô tả
Đại hoàng tinh: Thân rễ nạc, dài hơn 10 cm, rộng 3 cm đến 6 cm, dày 2 cm đến 3 cm. Mặt ngoài màu vàng nhạt đến nâu vàng, có các mấu vòng, nếp nhăn và vết sẹo rễ dạng sợi, trên các mấu có vết tích của thân dạng vòng tròn lõm với phần giữa lồi lên. Chất cứng, dai, khó bẻ, mặt bẻ trông như sừng, màu vàng nhạt đến vàng nâu. Mùi thơm nhẹ, vị ngọt, dai dính.
Hoàng tinh đầu gà (Kê đầu hoàng tinh): Dược liệu có hình trụ, cong queo, dài 3 cm đến 10 cm, đường kính 0,5 cm đến 1,5 cm. Đốt dài 2 cm đến 4 cm, hơi có dạng chùy, thường phân nhánh. Mặt ngoài màu trắng ngà đến vàng xám, trong mờ, có những nếp nhăn dọc, vết sẹo của thân hình tròn, đường kính 5 mm đến 8 mm.
Hoàng tinh dạng gừng (Khương hình hoàng tinh): Độ dài, ngắn không đều nhau, thường nối liền nhau thành nhóm vài củ. Mặt ngoài màu vàng xám hoặc nâu vàng, xù xì, phía trên có vết sẹo của thân hình tròn lồi, đường kính 0,8 cm đến 1,5 cm.
Không dùng làm thuốc nếu dược liệu có vị đắng.
Hoàng tinh phiến: Các phiến dày không đều. Bên ngoài có màu vàng nhạt đến màu nâu vàng. Mặt phiến hơi mịn bóng, màu vàng nhạt đến nâu vàng, có nhiều vết đốm của bó mạch. Chất hơi cứng và dai. Mùi nhẹ, vị ngọt và nhớt khi nhai.

Vi phẫu
Đại hoàng tinh: Tế bào biểu bì có thành tương đối dày. Nhiều tế bào nhày lớn chứa bó tinh thể calci oxalat hình kim, rải rác trong mô mềm. Các bó mạch nằm rải rác, thường ở dạng bó mạch đồng tâm.
Hoàng tinh đầu gà (Kê đầu hoàng tinh) và *Hoàng tinh dạng gừng*: Có dạng bó mạch chồng chất.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C) - ethyl acetat - acid formic (5 : 2 : 0,1).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol 70 % (TT)*, đun hồi lưu trong cách thủy 1 h, lọc dưới áp suất giảm. Bốc hơi dịch lọc đến khô. Hòa tan cắn trong 10 ml *nước*. Lắc dung dịch thu được hai lần, mỗi lần với 20 ml *n-butanol (TT)*, gộp dịch chiết n-butanol và bốc hơi đến khô. Hòa tan cắn thu được trong 1 ml *methanol (TT)* được dung dịch chấm sắc ký.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Hoàng tinh (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, phun *dung dịch vanilin 5 % trong acid sulfuric (TT)*. Sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 18,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần
Không được quá 4,0 % (Phụ lục 9.8).
Nghiền nhỏ dược liệu, sấy khô vài giờ ở 80 °C trước khi tiến hành.

Tro không tan trong acid
Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Phần gốc rễ còn sót và củ già đã xơ cứng: Không quá 2,0 %.
Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Chất chiết được trong dược liệu
Không được dưới 45,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10).
Dùng *ethanol 50 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa xuân, mùa thu, đào lấy thân rễ, cắt bỏ thân cây và rễ con, rửa sạch, luộc hoặc đồ đến hết lõi trắng, lấy ra, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế
Hoàng tinh phiến: Lấy hoàng tinh sạch, ủ mềm, thái phiến dày, phơi hoặc sấy khô.
Tửu Hoàng tinh (chế rượu): Lấy Hoàng tinh sạch, trộn với rượu, cho vào thùng đậy nắp, đun trong cách thủy để dược liệu hút hết rượu, lấy ra cắt lát dày, phơi khô. Cứ 100 kg Hoàng tinh dùng 20 L rượu.

Bảo quản
Để nơi khô mát, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Cam, bình. Vào các kinh tỳ, phế, thận.

Công năng, chủ trị
Kiện tỳ, nhuận phế, ích thận. Chủ trị: Tỳ vị hư nhược, cơ thể mệt mỏi, sức yếu, miệng khô, ăn kém, phế hư ho khan, tinh huyết bất túc, nội nhiệt tiêu khát.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 8 g đến 16 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các loại thuốc khác.

Kiêng kỵ
Người phế vị có đờm thấp nặng, không nên dùng.

HOẠT THẠCH
Talcum

Khoáng thạch thiên nhiên có thành phần chủ yếu là magnesi silicat ngậm nước $[Mg_3(Si_4O_{10})(OH)_2]$.

Mô tả
Cục to nhỏ không đều, màu trắng, vàng, hoặc xám, lam nhạt sáng ánh như sáp. Chất mềm, trơn mịn, không hút ẩm, không tan trong nước. Không mùi, không vị.

Định tính
Đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận bột talc.

Chế biến
Loại bỏ tạp chất, đất cát.

Bào chế
Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, đập vỡ thành miếng, nghiền khô thành bột mịn hoặc thủy phi bằng cách thêm đồng lượng nước, nghiền ướt. Thêm nước, khuấy, để lắng, gạn bỏ phần huyền phù và chất nổi, làm vài lần như vậy, gạn lấy lắng cặn, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản
Để nơi khô.

Tính vị, quy kinh
Cam, đạm, hàn. Quy vào kinh vị, bàng quang.

Công năng, chủ trị
Lợi tiểu thẩm thấp, thanh nhiệt giải thử. Chủ trị: Lâm lậu, thạch lâm kèm tiểu khó và đau nóng, bứt rứt háo khát do thử thấp, tiết tả do thấp nhiệt.
Dùng ngoài trị thấp chẩn (eczema), thấp sang (lở loét), rôm sảy, chàm.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 10 g đến 20 g, dạng thuốc bột, sắc hoặc hòa với nước uống. Phối hợp trong các bài thuốc.
Dùng ngoài: Lượng thích hợp.

Kiêng kỵ
Không dùng cho phụ nữ có thai và người có chứng dương hư.

HOẮC HƯƠNG
Herba Pogostemonis

Bộ phận trên mặt đất, đã phơi khô của cây Hoắc hương [*Pogostemon cablin* (Blanco) Benth.], họ Bạc hà (Lamiaceae).

Mô tả
Thân hình trụ vuông, phân nhiều cành, cành hơi cong, dài 30 cm đến 60 cm, đường kính 2 mm đến 7 mm, có lông tơ. Chất giòn, dễ gãy, ở mặt gãy thấy tủy rõ. Thân già gần hình trụ, đường kính 10 mm đến 12 mm, màu nâu xám. Lá mọc đối, thường là một khối nhàu nát; lá nguyên hình trứng hoặc hình elip, dài 4 cm đến 9 cm, rộng 3 cm đến 7 cm, cả hai mặt lá màu lục xám có lông mượt như nhung, chóp lá hơi nhọn hoặc tròn, gốc lá vát nhọn hoặc tròn, mép lá có răng cưa không đều, cuống lá thon nhỏ dài 2 cm đến 5 cm, có lông. Mùi thơm đặc trưng, vị hơi đắng.

Vi phẫu
Lá: Biểu bì lá có nhiều lông che chở đa bào, gồm 2 đến 5 tế bào dài, đầu thuôn nhọn. Lông tiết tròn hay tròn dẹt. Biểu bì dưới có nhiều lỗ khí, lông che chở và lông tiết nhiều hơn biểu bì trên. Đám mô dày góc xếp sát biểu bì trên và biểu bì dưới của gân lá. Mô mềm phiến lá có các tế bào thành mỏng. Bó libe-gỗ ở giữa gân lá có libe phía dưới, gỗ phía trên. Phiến lá có mô dậu ở trên, mô khuyết ở dưới.

Bột
Bột lá có màu nâu xám, mùi thơm đặc trưng, vị tê nhẹ. Soi kính hiển vi thấy: Những mảnh biểu bì mang lỗ khí. Nhiều lông tiết lớn (đa bào), đường kính 30 µm đến 70 µm và các lông tiết nhỏ với đầu có 1 đến 3 tế bào chân rất ngắn. Rải rác có các mảnh mạch xoắn, mạch điểm, mảnh cánh hoa. Hạt phấn hoa có đường kính 20 µm đến 30 µm.

Định tính
A. Dưới ánh sáng tử ngoại (366 nm), bột Hoắc hương có màu nâu gụ.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) - ethyl acetat - acid acetic băng (95 : 5 : 0,2).
Dung dịch thử: Pha loãng 0,5 ml tinh dầu thu được ở phần Định lượng tinh dầu trong dược liệu với 5 ml *ethyl acetat (TT)* được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,5 ml tinh dầu cất được từ Hoắc hương (mẫu chuẩn) pha trong 5 ml *ethyl acetat (TT)* được dung dịch đối chiếu.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl đến 2 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch sắt (III) clorid 5 % trong ethanol (TT)*, sấy bản mỏng ở 105 °C cho tới khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).
Dùng 10 g dược liệu đã cắt nhỏ.

Tỷ lệ vụn nát
Qua rây có kích thước mắt rây 3,150 mm: Không quá 10 % (Phụ lục 12.12).

Tạp chất (Phụ lục 12.11).
Không quá 2,0 %.
Lá: Không dưới 20,0 %.

Tro toàn phần
Không quá 11,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 4,0 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 2,5 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Định lượng
Tiến hành theo phương pháp "Định lượng tinh dầu trong dược liệu" (Phụ lục 12.7).
Cân chính xác khoảng 25 g dược liệu đã tán thành bột thô vào bình cầu có dung tích 500 ml của bộ dụng cụ định lượng tinh dầu trong dược liệu, thêm 200 ml nước, tiến hành cất trong 3 h.
Hàm lượng tinh dầu trong dược liệu không được ít hơn 3,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Khi cây có cành lá xum xuê, cắt lấy phần cây trên mặt đất, ngày phơi, đêm đậy kín, làm nhiều lần như vậy cho đến khi được liệu khô.

Bào chế
Loại bỏ rễ còn sót lại và các tạp chất, lấy lá sạch để riêng. Rửa sạch thân, ủ mềm, cắt đoạn, phơi khô, rồi trộn đều thân với lá.

Bảo quản
Để nơi mát, khô.

Tính vị, quy kinh
Tân, vi ôn. Vào các kinh tỳ, vị, phế.

Công năng, chủ trị
Giải thử, hóa thấp, chỉ nôn. Chủ trị: Chứa cảm nắng, hoắc loạn, bụng đầy trướng, nôn mửa, ỉa chảy.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, dạng thuốc sắc, hãm hay bột.

Kiêng kỵ
Không dùng cho người âm hư, khí hư.

HÒE (Nụ hoa)
Flos Styphnolobii japonici imaturi

Nụ hoa đã phơi hay sấy nhẹ đến khô của cây Hòe [*Styphnolobium japonicum* (L.) Schott, Syn. *Sophora japonica* L.], họ Đậu (Fabaceae).

Mô tả
Nụ hoa hình trứng có cuống nhỏ, ngắn, một đầu hơi nhọn, dài 3 mm đến 6 mm, rộng 1 mm đến 2 mm, màu vàng xám. Đài hoa hình chuông, màu vàng xám, dài bằng 1/2 đến 2/3 chiều dài của nụ hoa, phía trên xẻ thành 5 răng nông. Hoa chưa nở dài từ 4 mm đến 10 mm, đường kính 2 mm đến 4 mm. Cánh hoa chưa nở màu vàng. Mùi thơm, vị hơi đắng.

Bột
Có nhiều hạt phấn hình cầu, đường kính 16 µm, có 3 lỗ rãnh, bề mặt có nếp nhăn dạng mắt lưới. Lông che chở đa bào gồm 2 tế bào đến 4 tế bào, tế bào ở phía đầu dài và thuôn nhọn, tế bào ở chân ngắn. Mảnh biểu bì cánh hoa gồm những tế bào hình nhiều cạnh có nhiều vân nhỏ, sít nhau. Mảnh biểu bì đài hoa gồm những tế bào hình nhiều cạnh có mang lỗ khí (kiểu thập tự) và lông che chở. Mảnh mạch xoắn.

Định tính
A. Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ethanol (TT)*. Đun sôi trong 3 min, để nguội, lọc. Dịch lọc (dung dịch A) dùng làm các phản ứng sau và dịch chấm sắc ký lớp mỏng.
Lấy 2 ml dung dịch A pha loãng với 10 ml *ethanol 90 % (TT)* rồi chia vào 3 ống nghiệm:
Ống 1: Thêm 5 giọt *acid hydrocloric (TT)* và ít bột *magnesi (TT)*, dung dịch chuyển dần từ màu vàng nhạt sang màu hồng rồi tím đỏ.
Ống 2: Thêm 2 giọt *dung dịch natri hydroxyd 20 % (TT)*, xuất hiện tủa vàng cam, tủa sẽ tan trong lượng dư thuốc thử.
Ống 3: Thêm 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, dung dịch có màu xanh rêu.
B. Nhỏ 2 giọt đến 3 giọt dung dịch A lên tờ giấy lọc, để khô, soi dưới đèn tử ngoại (ở bước sóng 366 nm) sẽ quan sát thấy huỳnh quang màu vàng nâu.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *n-Butanol - acid acetic - nước* (4 : 1 : 5).
Dung dịch thử: Dung dịch A.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan rutin chuẩn trong *ethanol 90 % (TT)* để được dung dịch có chứa 1 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng phát quang màu nâu và cùng giá trị R_f với vết rutin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Hiện màu bằng hơi *amoniac đậm đặc (TT)*, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu vàng có cùng giá trị R_f với vết rutin (R_f từ 0,5 đến 0,54) trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 11,0 % (Phụ lục 9.6, 2 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Tỷ lệ hoa đã nở: Không quá 10,0 %.
Tỷ lệ hoa sẫm màu: Không quá 1,0 %.
Các bộ phận khác của cây: Không quá 2,0 %.

Định lượng
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 0,2 g rutin chuẩn đã sấy khô (trong chân không) tới khối lượng không đổi, cho vào một bình định mức 100 ml. Hòa tan trong 70 ml *methanol (TT)* bằng cách làm ấm trên cách thủy. Để nguội, thêm *methanol (TT)* đủ 100 ml, lắc kỹ. Lấy chính xác 10 ml

dung dịch này cho vào một bình định mức 100 ml. Thêm nước tới vạch, lắc kỹ (mỗi ml chứa 0,2 mg rutin khan).
Lập đường cong chuẩn: Lấy chính xác 1,0 ml; 2,0 ml; 3,0 ml; 4,0 ml; 5,0 ml; và 6,0 ml dung dịch chuẩn cho vào bình định mức 25 ml riêng biệt, thêm *nước* cho tới 6 ml ở mỗi bình rồi thêm 1 ml *dung dịch natri nitrit 5 % (TT)*, trộn kỹ. Để yên 6 min, thêm 1 ml *dung dịch nhôm nitrat 10 % (TT)*, trộn kỹ, lại để yên 6 min. Thêm 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, thêm *nước* tới vạch, trộn kỹ và để yên trong 15 min. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 500 nm. Vẽ đường cong chuẩn lấy độ hấp thụ là trục tung, nồng độ là trục hoành.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 1 g bột dược liệu thô đã sấy khô ở 60 °C trong 6 h cho vào bình Soxhlet. Thêm 120 ml *ether (TT)*, chiết tới khi dịch chiết không màu. Để nguội và gạn bỏ ether. Thêm 90 ml *methanol (TT)* và chiết tới khi dịch chiết không còn màu. Chuyển dịch chiết vào một bình định mức 100 ml, rửa bình chiết bằng những lượng nhỏ *methanol (TT)* rồi cho tiếp vào bình định mức. Thêm *methanol (TT)* cho tới vạch và lắc kỹ. Lấy chính xác 10 ml dung dịch trên cho vào bình định mức 100 ml, thêm *nước* tới vạch và trộn kỹ. Lấy chính xác 3 ml dung dịch thu được vào bình định mức 25 ml, thêm 3 ml *nước* rồi thêm 1 ml *dung dịch natri nitrit 5 % (TT)*, trộn kỹ. Để yên 6 min, thêm 1 ml *dung dịch nhôm nitrat 10 % (TT)*, trộn kỹ, để yên 6 min. Thêm 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, thêm *nước* tới vạch, trộn kỹ và để yên trong 15 min. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 500 nm (Phụ lục 4.1). Tính khối lượng rutin (µg) của dung dịch thử dựa vào đường cong chuẩn đã lập và độ hấp thụ đo được. Tính hàm lượng phần trăm rutin trong dược liệu. Hàm lượng rutin trong dược liệu không ít hơn 20,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Khi trời khô ráo (thường vào buổi sáng), ngắt các chùm hoa chưa nở, tuốt lấy nụ, loại bỏ các bộ phận khác của cây, phơi nắng hoặc sấy nhẹ cho đến khô.

Bảo quản
Để nơi khô, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Khổ, hơi hàn. Vào các kinh can, đại tràng.

Công năng, chủ trị
Lương huyết chỉ huyết, thanh can tả hỏa. Chủ trị: Các chứng chảy máu, chảy máu cam, ho ra máu, băng huyết, đại tiểu tiện ra máu, đau đầu, chóng mặt, mắt đỏ.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc hoặc hãm uống như chè.
Cần sao đen khi dùng cầm máu.

Kiêng kỵ
Không có thực hỏa không được dùng.

HỒ TIÊU (Quả)
Fructus Piperis nigri

Quả đã phơi hay sấy khô của cây Hồ tiêu (*Piper nigrum* L.) họ Hồ tiêu (Piperaceae). Gồm hai loại: Toàn bộ quả gần chín (Hồ tiêu đen), hoặc quả đã bỏ thịt quả rồi phơi khô (Hồ tiêu trắng hay hồ tiêu sọ).

Mô tả
Hồ tiêu đen: Quả hình cầu, đường kính 3,5 mm đến 5 mm. Mặt ngoài màu nâu đen, có nhiều vết nhăn hình mạng lưới nổi lên. Đầu quả có vết của vòi nhuỵ nhỏ hơi nổi lên, gốc quả có vết sẹo của cuống quả. Chất cứng. Phần thịt quả có thể bóc ra được. Vỏ quả trong màu trắng tro hoặc màu vàng nhạt; mặt cắt ngang màu vàng nhạt. Quả có chất bột, trong có lỗ hổng nhỏ là vị trí của nội nhũ. Mùi thơm, vị cay.
Hồ tiêu sọ: Mặt ngoài màu trắng tro hoặc màu trắng vàng nhạt, nhẵn.

Vi phẫu
Vỏ quả ngoài cấu tạo bởi một lớp tế bào xếp không đều và hơi uốn lượn. Vòng mô cứng xếp sát vỏ quả ngoài. Tế bào mô cứng hình nhiều cạnh, thành dày, khoang hẹp, có ống trao đổi rõ, xếp thành đám sát nhau thành nhiều vòng liên tục. Vỏ quả giữa: Vùng ngoài cấu tạo bởi tế bào nhỏ, thành mỏng, nhăn nheo, bị bẹp, kéo dài theo hướng tiếp tuyến, có nhiều tế bào chứa tinh dầu. Vỏ quả trong gồm tế bào mô cứng thành dày phía trong và hai bên thành hình chữ U. Một lớp tế bào vỏ hạt xếp đều đặn, thành mỏng. Vùng ngoại nhũ rất rộng, phía ngoài gồm 2 đến 3 lớp tế bào nhỏ thành mỏng, ở sát vỏ hạt; phía trong gồm tế bào lớn hơn, thành mỏng chứa nhiều tinh bột và tế bào tiết tinh dầu. Đối diện với cuống quả có một vùng nội nhũ rất nhỏ, cây mầm nằm trong nội nhũ.

Bột
Hồ tiêu đen: Bột màu tro thẫm, tế bào đá ở vỏ ngoài hình gần vuông, chữ nhật hoặc không đều, đường kính 19 µm đến 66 µm, thành tương đối dày. Tế bào đá vỏ quả trong hình đa giác, đường kính 20 µm đến 30 µm, nhìn mặt bên có hình vuông, thành tế bào có một mặt mỏng. Tế bào vỏ hạt hình đa giác, màu nâu, thành dày mỏng không đều và có hình chuỗi hạt. Giọt dầu tương đối ít, hình tròn, đường kính 51 µm đến 75 µm. Hạt tinh bột rất nhỏ, thường tụ tập lại thành khối.

Định tính
A. Lấy 5 g bột dược liệu, thêm 3 ml *amoniac đậm đặc (TT)*, trộn cho thấm đều, thêm 15 ml *cloroform (TT)*, lắc, đun hồi lưu trên cách thủy trong 15 min, lọc. Cho dịch lọc vào bình gạn, thêm 10 ml *dung dịch acid sulfuric 2 % (TT)*, lắc mạnh trong 1 min, để yên cho dung dịch tách thành 2 lớp, gạn lấy phần acid, lọc, lấy dịch lọc làm các phản ứng sau:
Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 2 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)*, để yên 5 min dung dịch sẽ đục.

Lấy 1 ml dịch chiết acid, thêm 6 giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, để yên 5 min dung dịch sẽ đục.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cyclohexan - ethyl acetat - aceton (7 : 3 : 1).
Dung dịch thử: Lấy khoảng 0,5 g bột dược liệu thô, thêm 20 ml *ethanol (TT)*, đun trên cách thủy 15 min, lọc, lấy dịch lọc làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch piperin trong *ethanol (TT)* có nồng độ 4 mg/ml. Nếu không có piperin, lấy khoảng 0,5 g bột Hồ tiêu (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*. Sấy bản mỏng ở 100 °C cho tới khi xuất hiện rõ các vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Hoặc

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Toluen - ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (8 : 2).
Dung dịch thử: Pha loãng 0,2 ml tinh dầu thu được ở phần Định lượng với 0,5 ml *cloroform (TT)* được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,2 ml tinh dầu cất được từ Hồ tiêu (mẫu chuẩn) pha trong 0,5 ml *cloroform (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô bản mỏng trong không khí, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*. Sấy bản mỏng ở 100 °C trong 10 min. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng giá trị R_f và cùng màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 11,0 % (Phụ lục12.13).

Tỷ lệ vụn nát
Hạt lép: Khối lượng của không ít hơn 100 hạt hồ tiêu 4 g.

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 8,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Định lượng
Tiến hành theo phương pháp "Định lượng tinh dầu trong dược liệu" (Phụ lục 12.7).
Cân chính xác khoảng 50 g dược liệu, cho vào bình cầu của bộ dụng cụ cất tinh dầu, cất trong 5 h.
Hàm lượng tinh dầu trong dược liệu không ít hơn 2,5% tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch vào cuối mùa thu năm trước đến mùa xuân năm sau, hái lấy quả xanh thẫm khi chùm quả xuất hiện 1 đến 2 quả chín đỏ hay vàng, phơi hay sấy khô ở 40 °C đến 50 °C, quả ngả sang màu đen thơm gọi là Hồ tiêu đen (hắc Hồ tiêu). Còn hái quả lúc thật chín đỏ, ngâm dưới nước chảy 3 đến 4 ngày, sát bỏ thịt quả và vỏ đen, phơi hay sấy khô. Dược liệu có màu trắng ngà, vị cay gọi là Hồ tiêu trắng (Hồ tiêu sọ).

Bào chế
Loại bỏ tạp chất, vụn nát, khi dùng tán thành bột mịn.

Bảo quản
Nơi khô, mát, trong bao bì kín.

Tính vị, quy kinh
Tân, nhiệt. Quy vào kinh vị, đại tràng.

Công năng, chủ trị
Ôn trung tán hàn, kiện vị chỉ đau. Chủ trị: Vị hàn gây nôn mửa, tiêu chảy đau bụng và khó tiêu, chán ăn.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 0,6 g đến 1,5 g, dạng thuốc bột, dùng ngoài với lượng thích hợp.

Kiêng kỵ
Âm hư, hỏa vượng, trĩ, táo bón không nên dùng.

HỒNG HOA (Hoa)
Flos Carthami tinctorii

Hoa đã phơi khô của cây Hồng hoa (*Carthamus tinctorius* L.), họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả
Hoa dài 1 cm đến 2 cm, mặt ngoài màu vàng đỏ hay đỏ. Tràng hoa hình ống thon, phía trên xẻ làm 5 cánh hẹp, dài 0,5 cm đến 0,8 cm, hoa có 5 nhị. Bao phấn dính liền thành ống, màu vàng, núm nhụy dài hình trụ, hơi phân đôi, nhô ra khỏi cánh hoa. Chất mềm, mùi thơm nhẹ, vị hơi đắng.

Bột
Màu vàng cam, thường thấy mảnh cánh hoa, chỉ nhị, núm nhụy, những tế bào tiết hình ống dài, kèm theo các mạch, đường kính tới 66 µm, chứa chất tiết, màu từ vàng nâu đến đỏ nâu. Thành ngoài tế bào biểu bì của đầu cánh hoa nhô lên như những lông tơ. Tế bào biểu bì trên của núm nhụy và vòi nhụy biệt hóa thành những lông đơn bào hình nón nhỏ hay hơi tù ở đỉnh. Hạt phấn hình cầu, đường kính 60 µm đến 70 µm, có 3 lỗ nảy mầm, vỏ ngoài hạt phấn có gai. Tinh thể calci oxalat hình lăng trụ. Mảnh mô mềm gồm những tế bào hình chữ nhật. Mảnh đầu cánh hoa gồm nhiều tế bào kết hợp lên nhau như lợp ngói. Tế bào chỉ nhị thành mỏng, hình chữ nhật. Mảnh mạch vạch, mạch mạng.

Định tính

A. Ngâm 1 g dược liệu trong 10 ml *ethanol 50 % (TT)* khoảng 10 min. Gạn dịch ngâm (phần trên) vào một cốc có mỏ, treo một băng giấy lọc và ngâm một phần vào dịch này. Sau 5 min, lấy băng giấy lọc ra, ngâm vào *nước* rồi nhấc ra ngay. Phần trên băng giấy lọc có màu vàng nhạt, phần dưới băng giấy lọc có màu đỏ nhạt.

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

Bản mỏng: Silica gel H.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - acid formic - nước - methanol (7 : 2 : 3 : 0,4).

Dung dịch: Lấy 0,5 g bột dược liệu cho vào bình nón nút mài, thêm 5 ml *dung dịch aceton 80 % (TT)*, đậy kín, lắc đều trong 15 min, lọc. Dịch lọc được dùng làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,5 g bột Hồng hoa (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

C. Độ hấp thụ

Sắc tố màu vàng: Làm khô dược liệu trong 24 h với silica gel trong bình hút ẩm, sau đó nghiền thành bột mịn. Cân chính xác 0,1 g bột dược liệu, ngâm và lắc trong 150 ml *nước* khoảng 1 h, lọc dung dịch vào bình định mức dung tích 500 ml bằng phễu lọc xốp thủy tinh số 3. Rửa phễu lọc và cẩn bằng *nước* tới khi nước rửa không còn màu, thêm *nước* tới vạch và lắc kỹ. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch ở bước sóng 401 nm. Độ hấp thụ không được dưới 0,40.

Sắc tố màu hồng: Cân chính xác khoảng 0,25 g bột mịn dược liệu (thu được ở mục Sắc tố màu vàng), thêm 50 ml *dung dịch aceton 80 % (TT)*, ngâm ở 50 °C trên cách thủy trong 90 min, để nguội, lọc qua phễu lọc xốp thủy tinh số 3 vào bình định mức dung tích 100 ml. Rửa cẩn với 25 ml *dung dịch aceton 80 % (TT)* bằng cách chia thành nhiều lần và gộp nước rửa vào bình định mức, thêm *dung dịch aceton 80 % (TT)* tới vạch, lắc kỹ. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch ở bước sóng 518 nm. Độ hấp thụ không dưới 0,20.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tỷ lệ hoa biến màu nâu đen: Không quá 0,5 %.

Tạp chất khác: Không quá 2,0 %.

Tro toàn phần

Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu

Không được ít hơn 30,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10). Dùng *nước* làm dung môi.

Định lượng

Hydroxysafflor yellow A

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Methanol - acetonitril - dung dịch acid phosphoric 0,7 % (26 : 2 : 72).

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,4 g bột dược liệu (qua rây số 355) vào một bình nón nút mài, thêm chính xác 50 ml *methanol 25 % (TT)*, cân và lắc siêu âm trong 40 min, để nguội, cân lại. Bổ sung khối lượng mất đi bằng *methanol 25 % (TT)*, lắc đều, lọc. Dùng dịch lọc làm dung dịch thử.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác hydroxysafflor yellow A chuẩn và hòa tan trong *methanol 25 % (TT)* để được dung dịch chuẩn có nồng độ khoảng 0,13 mg/ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 403 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch chuẩn. Tiến hành sắc ký và tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột tính trên pic hydroxysafflor yellow A phải không dưới 3000.

Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tiến hành sắc ký. Tính hàm lượng của hydroxysafflor yellow A trong dược liệu dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{27}H_{32}O_{16}$ trong hydroxysafflor yellow A chuẩn.

Dược liệu phải chứa không ít hơn 1,0 % hydroxysafflor yellow A ($C_{27}H_{32}O_{16}$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Kaempferol

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Methanol - dung dịch acid phosphoric 0,4 % (52 : 48).

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,5 g bột dược liệu (qua rây số 355) vào một bình nón nút mài, thêm chính xác 25 ml *methanol (TT)*, cân. Đun hồi lưu trong 40 min, để nguội, cân lại. Bổ sung khối lượng mất đi bằng *methanol (TT)*, lắc đều, lọc. Hút chính xác 15 ml dịch lọc vào một bình cầu đáy bằng, thêm 5 ml *acid hydrocloric 17 % (TT)*, lắc đều rồi đun trên cách thủy trong 30 min để thủy phân, làm nguội ngay. Chuyển dịch đã thủy phân vào bình định mức 25 ml, thêm *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác kaempferol chuẩn và hòa tan trong *methanol (TT)* để được dung dịch chuẩn có nồng độ khoảng 9 µg/ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 367 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch chuẩn. Tiến hành sắc ký và tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột tính trên pic kaempferol phải không dưới 3000.

Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tiến hành sắc ký. Tính hàm lượng của kaempferol trong dược liệu dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{15}H_{10}O_6$ trong kaempferol chuẩn.
Dược liệu phải chứa không ít hơn 0,05 % kaempferol ($C_{15}H_{10}O_6$). Tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa hạ, hái lấy hoa đang nở và cánh hoa chuyển từ vàng sang đỏ, để nơi râm mát, thoáng gió hoặc phơi nắng nhẹ cho khô dần.

Bảo quản
Để nơi khô, mát, tránh ẩm và mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Tân, ôn. Vào các kinh tâm, can.

Công năng, chủ trị
Hoạt huyết thông kinh, tán ứ huyết, giảm đau. Chủ trị: Phụ nữ vô kinh, bế kinh, đau bụng khi hành kinh, hành kinh ra huyết cục, chấn thương gây tụ huyết, sưng đau, mụn nhọt.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 4 g đến 12 g, dạng thuốc sắc, thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Phụ nữ có thai không nên dùng.

HÚNG CHANH (Lá)
Folium Plectranthi amboinici

Lá tươi hoặc phơi âm can của cây Húng chanh [*Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng.], họ Bạc hà (Lamiaceae).

Mô tả
Lá hình bầu dục hay hình trứng rộng, đầu hơi nhọn hoặc tù, gốc hình nêm. Phiến lá dày, mọng nước, dài 6 cm đến 10 cm, rộng 4 cm đến 8 cm, mép khía tai bèo. Cả 2 mặt lá đều có lông tiết, mặt dưới nhiều hơn, cuống lá dài 2 cm đến 4 cm. Gân chính to, gân bên nhỏ, nổi rõ ở mặt dưới lá. Mùi thơm dễ chịu như mùi chanh, vị chua.

Vi phẫu
Biểu bì trên và biểu bì dưới có lông che chở đa bào gồm 3 tế bào đến 6 tế bào. Lông tiết có 2 loại: loại đầu có 2 tế bào, chân đơn bào rất ngắn và loại đầu đơn bào, chân đơn bào. Phần gân lá có mô dày sát biểu bì trên và biểu bì dưới. Tế bào mô mềm thành mỏng, to. Nhiều bó libe-gỗ hình trái xoan xếp thành vòng tròn ở phần gân chính. Những bó phía trên nhỏ, những bó phía dưới to. Tất cả các bó đều quay gỗ vào phía trong. Phiến lá chỉ có một loại mô khuyết.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G.*
Dung môi khai triển: *Toluen - ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C)* (8 : 2).
Dung dịch thử: Cất tinh dầu từ 100 g dược liệu bằng phương pháp cất kéo bằng hơi nước. Pha một giọt tinh dầu trong 1 ml *ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (TT).*
Dung dịch đối chiếu: Cất tinh dầu từ 100 g lá Húng chanh (mẫu chuẩn) bằng phương pháp cất kéo bằng hơi nước. Pha một giọt tinh dầu trong 1 ml *ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (TT).*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy ra bản mỏng ra, để khô ngoài không khí hay sấy nhẹ cho bay hết dung môi. Phun *thuốc thử vanilin - acid sulfuric (TT)*, sấy bản mỏng ở 110 °C khoảng 10 min đến khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Chế biến
Thu hái quanh năm, lúc trời khô ráo hái những lá bánh tẻ, loại bỏ lá sâu và lá già. Có thể phơi âm can.

Bảo quản
Nơi khô, mát.

Tính vị, quy kinh
Tân, ôn. Vào kinh phế, tỳ.

Công năng, chủ trị
Ôn phế trừ đàm, tân ôn giải biểu, tiêu độc. Chủ trị: Cảm cúm, ho sốt do phong hàn, nục huyết, ho gà, khản tiếng, trùng thú cắn.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 10 g đến 16 g, dạng thuốc sắc, thuốc xông, vắt lá tươi lấy dịch uống, thường dùng lá tươi.

HUYỀN SÂM (Rễ)
Radix Scrophulariae

Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Huyền sâm (*Scrophularia buergeriana* Miq. hoặc *Scrophularia ningpoensis* Hemsl.), họ Hoa mõm chó (Scrophulariaceae).

Mô tả
Rễ củ nguyên, phần trên hơi phình to, phần dưới thuôn nhỏ dần, một số rễ hơi cong, dài 3 cm đến 15 cm. Mặt ngoài màu nâu xám hoặc nâu đen, có nếp nhăn và rãnh lộn xộn, nhiều lỗ vỏ nằm ngang và nhiều vết tích của rễ con hay đoạn rễ nhỏ còn sót lại. Mặt cắt ngang màu đen, phía ngoài cùng có lớp bần mỏng, phía trong có nhiều vân tỏa ra (bó libe-gỗ). Thể chất mềm, hơi dẻo, mùi đặc biệt giống như mùi đường cháy, vị hơi ngọt và hơi đắng.
Dược liệu thái lát: Những lát mỏng hình gần tròn hoặc hình bầu dục. Bên ngoài màu vàng xám hoặc nâu xám. Bề mặt

lát màu đen, hơi bóng, đôi khi có khe nứt. Mùi đặc biệt giống như mùi đường cháy, vị hơi ngọt và hơi đắng.

Vi phẫu

Lớp bần có từ 3 đến 4 hàng tế bào nhăn nheo, có chỗ bị rách nứt. Mô mềm vỏ gồm những tế bào có thành mỏng. Trong mô mềm có những đám mô cứng gồm 1 tế bào hoặc từ 2 đến 5 tế bào có thành dày xếp rải rác. Libe cấp 2 hình chùy cấu tạo bởi những tế bào nhỏ xếp đều đặn, bị những tia tủy rộng phân cách. Gỗ cấp 2 có những mạch gỗ xếp thẳng hàng từ trong ra ngoài, tia tủy rộng, thành không hóa gỗ, ở miền tủy có đám mạch gỗ cấp 1.

Bột

Màu nâu đen, vị hơi mặn. Soi kính hiển vi thấy: Nhiều tế bào mô cứng riêng lẻ hay tụ thành đám, hình chữ nhật, hơi vuông, hơi tròn hoặc hình thoi, dài 47 µm đến 250 µm, đường kính 23 µm đến 132 µm, thành dày, ống trao đổi nhỏ, phân nhánh. Mạch gỗ hầu hết là mạch vạch. Mảnh bần gồm những tế bào nhiều cạnh đều đặn có thành dày. Mảnh mô mềm. Tinh bột nhỏ, hình tròn nằm rải rác.

Định tính

A. Lấy 1 g dược liệu, thêm 10 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun trong cách thủy 15 min, để nguội và lọc. Lấy dịch lọc làm các phản ứng sau:

Lấy 5 ml dịch lọc cho vào một chén sứ, cô trên cách thủy đến cắn. Thêm vào cắn 1 ml *anhydrid acetic (TT)* và 1 ml *cloroform (TT)*, khuấy đều, lọc. Cho dịch lọc vào một ống nghiệm khô, thêm từ từ theo thành ống khoảng 1 ml *acid sulfuric (TT)*. Giữa hai lớp chất lỏng có vòng màu nâu đỏ, lớp dung dịch phía trên có màu vàng nâu.

Nhỏ vài giọt dịch lọc lên một miếng giấy lọc, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm thấy bên trong của vết có màu vàng nhạt, rìa bên ngoài có màu xanh nhạt. Nhỏ tiếp lên phần bên trong của vết một giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, để khô, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại 366 nm thấy có màu vàng lục sáng.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - nước (12 : 4 : 1), lấy lớp dưới.

Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 25 ml *methanol (TT)*, lắc đều và để ngâm 1 h, lắc siêu âm 30 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 25 ml *nước*, lắc với *n-butanol đã bão hòa nước (TT)* 2 lần, mỗi lần 30 ml. Gộp dịch chiết n-butanol, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 5 ml *methanol (TT)* được dung dịch thử.

Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan harpagosid chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 1 mg/ml.

Dung dịch dược liệu đối chiếu: Lấy 2 g bột Huyền sâm (mẫu chuẩn) tiến hành chiết tương tự như đối với dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 4 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, phun *dung dịch vanilin 5 % trong acid sulfuric (TT)*, sấy bản mỏng cho đến khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu và có vết cùng giá trị R_f và màu sắc với vết harpagosid trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 14,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 4,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 1,5 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 60 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *nước* làm dung môi.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động A: Acetonitril (TT).

Pha động B: Dung dịch acid phosphoric 0,03 % (TT).

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,5 g bột dược liệu (qua rây số 355) vào bình nón nút mài, thêm chính xác 50 ml *methanol 50 % (TT)*, đậy nút và cân. Ngâm 1 h rồi lắc siêu âm trong 45 min, để nguội, cân lại. Bổ sung khối lượng mất đi bằng *methanol 50 % (TT)*, lắc đều, lọc, dùng dịch lọc làm dung dịch thử.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan harpagid, harpagosid trong *methanol 30 % (TT)* để được dung dịch chuẩn hỗn hợp có nồng độ tương ứng chính xác khoảng 60 µg/ml và 20 µg/ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

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

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 10	3 → 10	97 → 90
10 - 20	10 → 33	90 → 67
20 - 25	33 → 50	67 → 50
25 - 30	50 → 80	50 → 20
30 - 35	80	20
35 - 37	80 → 3	20 → 97

Tiêm dung dịch chuẩn, tiến hành sắc ký và tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột tính trên cả 2 pic harpagosid và harpagid phải không dưới 5000.
Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử, tiến hành sắc ký và tính hàm lượng của harpagid và harpagosid trong dược liệu dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{15}H_{24}O_{10}$ của harpagid chuẩn và hàm lượng $C_{24}H_{30}O_{11}$ của harpagosid chuẩn.
Dược liệu phải chứa ít nhất 0,45 % tổng hàm lượng của harpagid ($C_{15}H_{24}O_{10}$) và harpagosid ($C_{24}H_{30}O_{11}$), tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hái vào mùa đông khi thân và lá tàn lụi. Đào lấy rễ, rửa sạch, cắt bỏ rễ con, cắt đầu chồi thừa 3 mm, tách riêng từng rễ, phân loại to nhỏ. Phơi hoặc sấy ở 50 °C đến 60 °C đến gần khô. Đem ủ 5 ngày đến 10 ngày đến khi trong ruột có màu đen hoặc nâu đen, rồi tiếp tục phơi đến khô.
Cách ủ: Dược liệu sau khi phơi gần khô đem tãi ra trong nong nia thành một lớp dày chừng 15 cm, để chỗ mát, hàng ngày đảo vài lần, có thể đậy lên trên bằng một lớp rơm mỏng hay bằng một cái nong hoặc nia khác. Trong khi ủ phải đảo luôn, không để dày quá, không đậy kín quá dễ bị hấp hơi, thối hỏng.
Khi dùng rửa sạch, ủ mềm, thái lát phơi khô.

Bảo quản
Để nơi khô, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Khổ, hàm, hàn. Vào hai kinh phế, thận.

Công năng, chủ trị
Tư âm giáng hỏa, lương huyết giải độc. Chủ trị: Sốt cao, sốt nóng về chiều, viêm họng, phát ban, mụn nhọt, mẩn ngứa, táo bón.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 8 g đến 15 g, dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ
Tỳ vị hư hàn, tiêu hóa rối loạn không dùng.
Không dùng chung với Lê lô.

HUYẾT GIÁC (Lõi gỗ)
Lignum Dracaenae

Là lõi gỗ phần gốc thân có chứa nhựa đã phơi hay sấy khô của cây Huyết giác {*Dracaena cambodiana* Pierre ex Gagnep. và *Dracaena cochinchinensis* (Lour.) S.C.Chen}, họ Huyết giác (Dracaenaceae).

Mô tả
Lõi gỗ hình trụ rỗng ở giữa hoặc đôi khi là những mảnh gỗ có hình dạng và kích thước khác nhau, màu đỏ nâu. Chất cứng chắc không mùi, vị hơi chát.

Định tính
A. Cho 1 g dược liệu vào bình nón, thêm 10 ml *ethanol 96 % (TT)*, lắc siêu âm trong 10 min, lọc, được dịch chiết A. Lấy 1 ml dịch chiết A, pha loãng thành 5 ml bằng *ethanol 96 % (TT)* và chia vào 2 ống nghiệm:
Ống 1: Kiềm hóa với *dung dịch kali hydroxyd 10 % (TT)*, màu đỏ đậm lên.
Ống 2: Acid hóa với *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)*, màu đỏ chuyển sang màu cam.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* $60F_{254}$.
Dung môi khai triển: *Toluen – ethyl acetat* (9 : 1).
Dung dịch thử: Dịch chiết A.
Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 1 g bột Huyết giác (mẫu chuẩn) vào bình nón, thêm 10 ml *ethanol 96 % (TT)*, lắc siêu âm trong 10 min, lọc.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 bản mỏng, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*. Sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi xuất hiện vết. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Vụn đen: Không quá 2,0 %.
Các tạp chất khác: Không quá 5,0 %.

Tro toàn phần
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 20,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol (TT)* làm dung môi.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Dung dịch acid acetic 1 % - acetonitril* (61 : 39) (có thể điều chỉnh tỷ lệ nếu cần).
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 2,5 g dược liệu đã nghiền thành bột thô vào bình nón nút mài 100 ml, thêm chính xác 50,0 ml *methanol (TT)*, đậy nắp, cân xác định khối lượng. Đun sôi hồi lưu trong cách thủy 30 min, để nguội, cân xác định lại khối lượng, bổ sung lượng mất đi bằng *methanol (TT)*, lọc qua màng lọc 0,45 µm được dung dịch tiêm sắc ký.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan loureirin B trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,15 mg/ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (250 mm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (cột Inertsil ODS-3 là thích hợp).

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 276 nm.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành: Tiêm riêng biệt dung dịch chuẩn, dung dịch thử vào hệ thống sắc ký. Dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ loureirin B ($C_{18}H_{20}O_5$) của dung dịch chuẩn, tính hàm lượng loureirin B trong dược liệu.
Hàm lượng loureirin B ($C_{18}H_{20}O_5$) không được dưới 0,20 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hái quanh năm, lấy gỗ của những cây huyết giác già, lâu năm đã chết, lõi gỗ đã chuyển màu đỏ nâu, bỏ phần vỏ ngoài, gỗ mục và giác trắng, thái lát và phơi hay sấy khô.

Bảo quản
Để nơi khô, mát.

Tính vị, quy kinh
Khổ, sáp, bình. Quy vào các kinh tâm và can.

Công năng, chủ trị
Hoạt huyết chỉ thống, tán ứ sinh tân, chỉ huyết sinh cơ.
Chủ trị: Dùng uống chữa chấn thương máu tụ sưng đau, sau đẻ huyết hôi ứ trệ, bế kinh.
Dùng ngoài: Vết thương chảy máu, vết thương mụn nhọt lâu lành không liền miệng.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 8 g đến 12 g, phối hợp trong các bài thuốc hoặc ngâm rượu xoa bóp hoặc uống.

Kiêng kỵ
Phụ nữ có thai không nên dùng.

HƯƠNG GIA BÌ (Vỏ rễ)
Cortex Periplocae

Vỏ rễ đã phơi hay sấy khô của cây Hương gia bì (*Periploca sepium* Bge.), họ Thiên lý (Asclepiadaceae).

Mô tả
Mảnh vỏ dày từ 0,5 mm đến 3 mm có hình ống hoặc hình máng, dài 3 cm đến 17 cm hoặc có thể dài hơn, thường cuộn tròn thành ống. Mặt ngoài màu vàng nâu, xù xì, có các đường vân nứt dọc, không đều, dễ bong. Nhẹ, giòn, dễ gãy, mùi thơm hắc đặc biệt.

Vi phẫu
Lớp bần gồm nhiều hàng tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn thành hàng đồng tâm và dãy xuyên tâm. Mô mềm vỏ gồm những tế bào thành mỏng, hình đa giác xếp lộn xộn, rải rác mang tinh thể calci oxalat hình khối. Bó libe cấp 2 chiếm khoảng 2/3 vi phẫu. Những tia ruột gồm 2 đến 3 dãy tế bào. Rải rác trong mô mềm, libe có những túi chứa chất thơm.

Bột
Bột màu nâu, mùi thơm, vị đắng. Soi dưới kính hiển vi thấy: Nhiều mảnh bần màu nâu sẫm, các mảnh mô mềm mang tinh bột, tinh thể calci oxalat hình khối chữ nhật, kích thước 30 µm đến 40 µm. Hạt tinh bột chủ yếu là hạt đơn nhỏ, hình gần tròn hoặc nhiều cạnh. Thể cứng hình đa giác có thành dày đứng riêng lẻ hay tập trung thành đám. Mảnh mạch thường là mạch điểm.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Toluen - ethyl acetat - methanol (9 : 2 : 0,5).
Dung dịch thử: Lắc 1,0 g bột dược liệu với 5 ml *methanol (TT)* trong 3 min, lọc. Dùng dịch lọc làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Hương gia bì (mẫu chuẩn), chiết như dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *thuốc thử vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT).* Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 3 min đến 5 min. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến
Thu lấy vỏ rễ, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản
Để nơi khô mát, trong bao bì kín.

Tính vị, quy kinh
Tân, ôn, có độc. Vào kinh can, thận.

Công năng, chủ trị
Khử phong chỉ thống, kiện tỳ cố thận, lợi niệu, chỉ thống giải độc. Chủ trị: Đau lưng gối, đau gân khớp, tiểu tiện khó khăn, mụn nhọt, sang lở, sang chấn gãy xương.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng sắc hoặc ngâm rượu.

HƯƠNG NHU TÍA
Herba Ocimi tenuiflori
É tía

Đoạn đầu cành có hoặc không có hoa được phơi trong bóng râm hoặc sấy nhẹ cho đến khô của cây Hương nhu tía (*Ocimum tenuiflorum* L. hay *O. sanctum* L.), họ Bạc hà (Lamiaceae).

Mô tả
Đoạn đầu thân và cành có thiết diện vuông, mặt ngoài màu nâu tím, có nhiều lông. Lá mọc đối chéo chữ thập, cuống dài 1 cm đến 2 cm. Phiến lá hình trứng, đầu thuôn nhọn, dài 2 cm đến 4 cm, rộng 1,5 cm đến 3,5 cm, mép có răng cưa, màu xanh lục ở mặt trên, tím đậm hoặc phớt tím ở mặt dưới, có lông. Hoa là xim co ở đầu cành, xếp thành từng vòng 6 đến 8 hoa. Dược liệu khô thường có một số lá và hoa đã rụng, để lại cuống ở trên cành. Quả bế, với bốn phần quả đựng trong đài tồn tại. Quả khô, ngâm vào nước sẽ trương nở một lớp chất nhầy màu trắng bao bọc chung quanh. Toàn cây có mùi thơm đặc trưng, vị hơi cay, tê.

Vi phẫu
Lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới có mang lông che chở đa bào gồm 2 tế bào đến 10 tế bào xếp thành dãy dài. Tế bào của lông có thành khá dày, chỗ chân lông dính vào biểu bì các tế bào nhô cao tạo thành u lồi. Lông tiết có chân gồm 1 tế bào đến 2 tế bào ngắn, đầu thường có 2 tế bào đến 4 tế bào chứa tinh dầu màu vàng. Ở vùng gân chính có mô dày nằm sát biểu bì trên và biểu bì dưới. Cung libe-gỗ thường chia làm hai, phần trên có hai bó libe-gỗ nhỏ quay xuống đối diện với hai cung libe-gỗ to. Cung mô dày dính kèm theo phía dưới của cung libe. Phần phiến lá có một lớp mô dậu ở sát biểu bì trên, kế đến là mô khuyết.

Bột
Bột màu xanh nâu, mùi thơm, vị hơi cay. Dưới kính hiển vi thấy: Lông che chở đa bào có nhiều đoạn thắt, bề mặt lấm tấm. Lông tiết chân 1 đến 2 tế bào ngắn, đầu có 2 đến 4 tế bào chứa tinh dầu màu vàng. Mảnh biểu bì lá có lỗ khí (kiểu trực bào). Mảnh mạch vạch, mạch xoắn, mạch mạng, mạch chấm. Hạt phấn hoa hình cầu đường kính 35 đến 39 µm, có 6 rãnh, bề mặt có dạng mạng lưới. Mảnh cánh hoa có tế bào màng ngoằn ngoèo, mang nhiều lông tiết. Sợi đứng riêng lẻ hay chụm thành từng đám. Tế bào mô cứng thành dày và có ống trao đổi rõ.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cyclohexan - ethyl acetat (9 : 1).
Dung dịch thử: Lấy tinh dầu đã thu được ở phần Định lượng, pha loãng trong *xylen (TT)* theo tỷ lệ 1 : 1.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 5 giọt eugenol chuẩn trong 1 ml *xylen (TT).*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng khoảng 20 µl các dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*, sấy bản mỏng ở 110 °C trong 5 min. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu và giá trị R_f với vết của eugenol trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu {trên sắc ký đồ của dung dịch thử, theo thứ tự từ vạch chấm sắc ký, các vết có màu sắc như sau: Vết màu tím, vết màu vàng cam (eugenol), vết màu xanh tím}.
Có thể phun *dung dịch sắt (III) clorid 1 % trong ethanol (TT)* lên bản mỏng khác sau khi khai triển ở hệ dung môi trên để phát hiện riêng vết eugenol có màu vàng nâu.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol (9 : 1).
Dung dịch thử: Lấy khoảng 1 g bột dược liệu, thêm 30 ml *methanol (TT)*, siêu âm 10 min, lọc. Lấy dịch lọc cất thu hồi dung môi tới còn khoảng 1 ml dùng làm dung dịch chấm sắc ký.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan acid ursolic chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 0,2 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng khoảng 10 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*, sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng thường, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu tím đỏ và cùng giá trị R_f với vết của acid ursolic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không được quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).
Dùng 10 g dược liệu đã cắt nhỏ.

Tro toàn phần
Không được quá 16,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không được quá 3,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng
Định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7).
Cho 40 g dược liệu khô đã cắt nhỏ vào bình cầu dung tích 500 ml của bộ dụng cụ định lượng tinh dầu trong dược liệu, thêm 300 ml *nước*, 0,5 ml *xylen (TT)* vào ống hứng tinh dầu có khắc vạch, tiến hành cất trong 4 h.
Dược liệu phải chứa ít nhất 0,5 % tinh dầu tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hái khi cây ra hoa, rửa sạch, để nguyên hoặc cắt thành từng đoạn 2 - 3 cm, phơi âm can đến khô.

Bảo quản
Dược liệu để nơi khô mát, tránh làm mất tinh dầu.

Tính vị, quy kinh
Tân, ôn. Vào hai kinh phế, vị.

Công năng, chủ trị
Phát hãn, thanh thử, tán thấp hành thủy. Chủ trị: Cảm nắng, cảm hàn, sốt nóng sợ rét, nhức đầu, đau bụng đi ngoài, tức ngực, nôn mửa, chuột rút, cước khí, thủy thũng.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 6 g đến 12 g dược liệu khô, dạng thuốc sắc hay thuốc hãm.

HƯƠNG NHU TRẮNG
Herba Ocimi gratissimi
É trắng

Đoạn đầu cành có hoặc không có hoa được phơi trong bóng râm hoặc sấy nhẹ cho đến khô của cây Hương nhu trắng (*Ocimum gratissimum* L.), họ Bạc hà (Lamiaceae).

Mô tả
Đoạn đầu thân và cành có thiết diện vuông, mặt ngoài màu xanh nhạt hay hơi trắng, có nhiều lông. Lá mọc đối chéo chữ thập, cuống dài 3 cm đến 7 cm. Phiến lá hình trứng nhọn, mép có răng cưa, mặt trên màu xanh lục, mặt dưới màu nhạt hơn, phủ lông mịn, dài 8 cm đến 14 cm, rộng 3 cm đến 6 cm. Hoa là xim co ở đầu cành, mỗi mấu có 6 hoa. Quả bế, với bốn phân quả đựng trong đài tồn tại. Toàn cây có mùi thơm đặc trưng, vị hơi cay, tê.

Vi phẫu
Lá: Tiết diện gân chính của lá thường to hơn so với Hương nhu tía. Biểu bì trên và biểu bì dưới có mang lông che chở đa bào gồm 2 đến 10 tế bào xếp thành dãy dài. Tế bào của lông có thành khá dày, chỗ chân lông dính vào biểu bì không có các u lồi do các tế bào nhỏ cao (khác với hương nhu tía). Lông tiết có chân gồm 1 đến 2 tế bào ngắn, đầu thường có 2 đến 4 tế bào chứa tinh dầu màu vàng. Ở vùng gân chính có mô dày nằm sát biểu bì trên và biểu bì dưới. Cung libe-gỗ thường chia làm hai, phần trên có nhiều bó libe-gỗ nhỏ xếp thành hàng đối diện với hai cung libe-gỗ to. Cung mô dày dính kèm theo phía dưới của cung libe. Phần phiến lá có một lớp mô giậu ở sát biểu bì trên, kế đến là mô khuyết.

Bột
Bột màu xanh nâu, mùi thơm, vị hơi cay. Dưới kính hiển vi thấy: Lông che chở đa bào có nhiều đoạn thắt, bề mặt lấm tấm. Lông tiết chân 1 đến 2 tế bào ngắn, đầu có 2 đến 4 tế bào chứa tinh dầu màu vàng. Mảnh biểu bì lá có lỗ khí (kiểu trực bào). Mảnh mạch vạch, mạch xoắn, mạch mạng, mạch chấm. Hạt phấn hoa hình cầu đường kính 35 đến 39 µm, có 6 rãnh, bề mặt có dạng mạng lưới. Mảnh cánh hoa có tế bào màng ngoằn ngoèo, mang nhiều lông tiết. Sợi đứng riêng lẻ hay chụm thành từng đám. Tế bào mô cứng thành dày và có ống trao đổi rõ.

Định tính
Tiến hành các phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4) như mô tả trong chuyên luận Hương nhu tía.

Độ ẩm
Không được quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).
Dùng 10 g dược liệu đã cắt nhỏ.

Tro toàn phần
Không được quá 15,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không được quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng
Định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7).
Cho 40 g dược liệu khô đã cắt nhỏ vào bình cầu dung tích 500 ml của bộ dụng cụ định lượng tinh dầu trong dược liệu, thêm 300 ml *nước*, 0,5 ml *xylen (TT)* vào ống hứng tinh dầu có khắc vạch, tiến hành cất trong 4 h.
Dược liệu phải chứa ít nhất 1,0 % tinh dầu tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hái khi cây ra hoa, rửa sạch, để nguyên hoặc cắt thành từng đoạn 2 - 3 cm, phơi âm can đến khô. Có thể cất lấy tinh dầu để dùng. Nếu cất tinh dầu, thu hái vào lúc cây Hương nhu đã phát triển đầy đủ, có nhiều lá và hoa.

Bảo quản
Dược liệu để nơi khô mát, tránh làm mất tinh dầu.
Tinh dầu: Tránh ánh sáng, đựng đầy lọ, nút kín, để nơi mát.

Tính vị, quy kinh
Tân, ôn. Vào hai kinh phế, vị.

Công năng, chủ trị
Phát hãn, thanh thử, tán thấp hành thủy, hành khí chỉ thống, kiện tỳ ngừng nôn. Chủ trị: Cảm nắng, sốt nóng sợ rét, nhức đầu, đau bụng đi ngoài, tức ngực, nôn mửa, chuột rút, cước khí thủy thũng, tỳ hư ỉa chảy, thấp chẩn, viêm da, rắn độc cắn.
Tinh dầu Hương nhu trắng: Tinh dầu lỏng, màu vàng nhạt, mùi thơm, vị cay, tê, để ngoài không khí biến màu nâu đen. Có tác dụng giảm đau tại chỗ, sát trùng, dùng làm thuốc phòng chữa thối rữa, thuốc chữa đau răng.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 6 g đến 12 g dược liệu khô, dạng thuốc sắc hay thuốc hãm.

HƯƠNG PHỤ (Thân rễ)
Rhizoma Cyperi
Củ gấu, Củ gấu biển, Củ gấu vườn

Thân rễ đã loại bỏ rễ con và lông, phơi hay sấy khô của cây Hương phụ vườn *(Cyperus rotundus* L.), hoặc cây Hương phụ biển *(Cyperus stoloniferus* Retz.), họ Cói (Cyperaceae).

Mô tả
Hương phụ vườn: Thân rễ (thường gọi là củ) hình thoi, thể chất chắc, dài 1 cm đến 3 cm, đường kính 0,4 cm đến 1 cm. Mặt ngoài màu xám đen, có nhiều nếp nhăn dọc và đốt ngang (mỗi đốt cách nhau 0,1 cm đến 0,6 cm); trên

mỗi đốt có lông cứng mọc thẳng góc với củ, màu xám đen và có nhiều vết tích của rễ con. Vết cắt ngang có sợi, mặt nhẵn bóng, phần vỏ có màu xám nhạt, trụ giữa màu nâu sẫm. Mùi thơm, vị hơi đắng ngọt, sau đó có vị cay.

Hương phụ biển: Thân rễ hình thoi, thể chất chắc, kích thước củ không đều nhau, kích thước trung bình 1 cm đến 5 cm, đường kính 0,5 cm đến 1,5 cm, mặt ngoài có màu nâu hay nâu sẫm; có nhiều nếp nhăn dọc và đốt ngang củ (mỗi đốt cách nhau 0,1 cm đến 0,6 cm); trên mỗi đốt có lông cứng mọc nghiêng theo chiều dọc, về phía đầu củ, màu nâu hay nâu sẫm và có nhiều vết tích của rễ con. Vết cắt ngang có sợi, mặt nhẵn bóng, phần vỏ màu hồng nhạt, trụ giữa màu nâu sẫm. Mùi thơm, vị hơi đắng ngọt, sau đó có vị cay.

Vi phẫu

Vi phẫu Hương phụ vườn và Hương phụ biển giống nhau. Biểu bì gồm một hàng tế bào hình trái xoan, to nhỏ không đều. Hạ bì gồm 2 đến 3 hàng tế bào thành dày hình vuông hay chữ nhật, rải rác có các đám sợi hóa gỗ. Mô mềm vỏ khoảng hai mươi đến ba mươi hàng tế bào thành mỏng, hình hơi tròn hay trái xoan, xếp lộn xộn, trong đó có nhiều hạt tinh bột và tế bào tiết hình tròn hoặc teo lại thành nhiều cạnh. Trong mô mềm vỏ còn có các đám libe-gỗ, mỗi đám gồm mạch gỗ bao quanh libe. Nội bì gồm một vòng tế bào hình vuông nhỏ, thành hơi dày. Trụ bì gồm một hàng tế bào hình chữ nhật, thành mỏng, xếp sát nội bì. Mô mềm ruột gồm những tế bào hình tròn to, thành mỏng, trong đó có chứa tinh bột và các đám libe-gỗ.

Bột

Bột của Hương phụ vườn màu hồng nhạt và của Hương phụ biển màu trắng xám. Soi dưới kính hiển vi thấy: Tế bào mô cứng hình chữ nhật hay nhiều cạnh, màu vàng nhạt, thành dày, có ống trao đổi rõ. Tế bào tiết hình tròn hay bầu dục, trong đó có chất tiết màu vàng, xung quanh có 5 tế bào đến 8 tế bào xếp tỏa ra rất đặc biệt. Hạt tinh bột hình tròn hay bầu dục, rộng 4 µm đến 25 µm, rốn và vân không rõ. Tế bào nội bì màu vàng, hình chữ nhật, thành dày. Mảnh mạch vạch, mạch mạng.

Định tính

A. Lấy 10 g bột dược liệu, làm ẩm bằng 20 ml *amoniac (TT)*, lắc kỹ với 60 ml *cloroform (TT)*. Gạn lấy lớp cloroform, bốc hơi trên cách thủy tới cắn. Hòa cắn bằng 15 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 % (TT)*. Lọc, lấy dịch lọc chia đều vào 3 ống nghiệm để làm các phản ứng sau:

Ống 1: Thêm 1 giọt đến 2 giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, xuất hiện tủa trắng đục.

Ống 2: Thêm 1 giọt đến 2 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)*, xuất hiện tủa nâu.

Ống 3: Thêm 1 giọt đến 2 giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)*, xuất hiện tủa vàng cam.

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Dicloromethan - ethyl acetat - acid acetic băng (80 : 1 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 1,0 g bột dược liệu, thêm 5 ml *ether (TT)*, ngâm trong 1 h, thỉnh thoảng lắc, lọc và để dịch lọc bay hơi tự nhiên đến cạn. Hòa tan cắn trong 0,5 ml *ethyl acetat (TT)* được dung dịch chấm sắc ký.

Dung dịch chất đối chiếu: Hoà tan α-cyperon chuẩn trong *ethyl acetat (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 1 mg/ml.

Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có α-cyperon chuẩn, lấy 1,0 g bột Hương phụ (mẫu chuẩn) tương ứng, chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch dược liệu đối chiếu, 2 µl dung dịch α-cyperon đối chiếu. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 254 nm. Các vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu hoặc có vết cùng màu lam thẫm và cùng giá trị R_f với với vết α-cyperon thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu.

Tiếp tục phun lên bản mỏng *dung dịch 2,4-dinitrophenyl hydrazin*, các vết trên sắc ký đồ phải dần dần chuyển sang màu đỏ cam.

Cách pha dung dịch 2,4-dinitrophenyl hydrazin: Lấy 1,5 g *2,4-dinitrophenyl hydrazin (TT)*, hòa tan trong 20 ml *dung dịch acid sulfuric 50 % (TT)*, chuyển dung dịch thu được vào bình định mức 100 ml, thêm *nước* đến vạch, trộn đều, lọc.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Dùng 10 g dược liệu đã tán nhỏ.

Tro toàn phần

Không quá 3,5 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tỷ lệ dược liệu còn lông và phần gốc thân còn gắn vào củ (dài quá 0,5 cm đến 1 cm): Không quá 8,0 %.

Tỷ lệ dược liệu cháy đen: Không quá 1,0 %.

Tạp chất khác: Không quá 0,5 %.

Kim loại nặng

Không được quá 20 phần triệu.

Dùng 1 g dược liệu, tiến hành thử theo phương pháp 3, Phụ lục 9.4.8. Sử dụng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị dung dịch đối chiếu.

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 15,0 % đối với Hương phụ (nguyên củ hoặc đã nghiền vụn, thái lát) tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 50 % (TT)* làm dung môi.

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp "Định lượng tinh dầu trong dược liệu" (Phụ lục 12.7). Dùng 50 g dược liệu thô, thêm

300 ml *nước*, 50 ml *glycerin (TT)*, cất tinh dầu trong 5 h. Hàm lượng tinh dầu không được ít hơn 0,5 % đối với Hương phụ (nguyên củ hoặc đã đập vụn, thái lát) tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa thu, lấy dược liệu về, phơi khô, đốt cháy hết thân lá, lông và rễ con, sau đó rửa sạch phơi khô.

Bào chế
Hương phụ: Lấy Hương phụ đã được chế biến ở trên, đập vụn hoặc làm ẩm và ủ một đêm cho mềm rồi thái lát mỏng, sấy khô. Dược liệu là những mảnh vụn, hoặc lát có mặt vỡ hoặc mặt cắt màu nâu vàng hay trắng, mùi thơm, vị đắng.
Hương phụ chế: Lấy Hương phụ chia đều làm 4 phần: Tẩm 1 phần bằng nước muối 5 %, 1 phần bằng nước gừng 5 %, 1 phần bằng giấm và 1 phần bằng rượu. Tẩm đủ ướt hoặc theo tỷ lệ cứ 10 kg hương phụ dùng 2 L nước muối 5 % hoặc 2 L nước gừng 5 % hoặc 2 L giấm hoặc 2 L rượu. Ủ riêng mỗi phần trong 12 h rồi sao vàng đến khi có mùi thơm. Riêng phần tẩm rượu nên sao xong mới tẩm. Khi dùng trộn đều 4 phần với nhau.

Bảo quản
Để nơi khô, mát, tránh mốc, mọt, tránh làm bay tinh dầu.

Tính vị, quy kinh
Vị hơi cay, hơi đắng, tính bình. Quy kinh can, tỳ, tam tiêu.

Công năng, chủ trị
Hành khí chỉ thống, giải uất điều kinh, kiện vị tiêu thực. Chủ trị: Đau dạ dày, tiêu hóa kém, đau cơ, đau ngực sườn, đau dây thần kinh ngoại biên, đau đầu, đau bụng kinh, rối loạn kinh nguyệt.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 9 g, dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ
Âm hư huyết nhiệt không nên dùng.

HY THIÊM

Herba Siegesbeckiae

Cỏ đĩ

Bộ phận trên mặt đất đã phơi hay sấy khô của cây Hy thiêm (*Siegesbeckia orientalis* L.), họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả
Thân rỗng ở giữa, đường kính 0,2 cm đến 0,5 cm. Mặt ngoài thân màu nâu sẫm đến nâu nhạt, có nhiều rãnh dọc song song và nhiều lông ngắn sít nhau. Lá mọc đối, phiến lá nhăn nheo và thường cuộn lại; lá nguyên có phiến hình mác rộng, mép khía răng cưa tù, có ba gân chính. Mặt trên lá màu lục sẫm, mặt dưới màu lục nhạt, hai mặt đều có lông. Cụm hoa hình đầu nhỏ, gồm hoa màu vàng hình ống ở giữa, 5 hoa hình lưỡi nhỏ ở phía ngoài. Lá bắc có lông dính.

Dược liệu sau khi chế biến là những đoạn không đều nhau. Thân gần vuông, rỗng ở giữa, bên ngoài màu nâu sẫm hoặc nâu nhạt, có rãnh dọc song song và nốt sần nhỏ. Mặt cắt có một phần ruột màu trắng. Lá thường vụn nát, màu lục xám, mép khía răng cưa tù, hai mặt phủ lông tơ màu trắng. Đôi khi gặp các đoạn thân mang cụm hoa hình đầu màu vàng. Mùi nhẹ, vị hơi đắng.

Vi phẫu
Gân lá: Gân phía trên và dưới đều lồi, mặt dưới lồi nhiều hơn. Biểu bì trên và dưới gồm một hàng tế bào hình trứng nhỏ, xếp liên tục đều đặn, mang lông che chở đa bào, dài, thường có 6 đến 8 tế bào xếp thẳng hàng, vách ngăn giữa các tế bào phình to đặc biệt, các tế bào càng gần đầu lông càng dài và nhỏ dần. Dưới biểu bì là mô dày, cấu tạo bởi các tế bào hình tròn nhỏ, có thành dày ở góc, xếp đều đặn thành 2 đến 3 hàng. Mô mềm gồm những tế bào hình tròn, thành mỏng, kích thước không đều nhau. Trong mô mềm rải rác có những ống tiết gồm 4 tế bào đến 5 tế bào nhỏ xếp thành vòng. Ở giữa gân lá có một bó libe-gỗ to, hình trứng, có lớp libe hình cung bao phía dưới bó gỗ, bó gỗ cấu tạo bởi các mạch gỗ tương đối nhỏ xếp thành hàng, tập trung thành đám. Trong gân lá có thể thấy 3 đến 5 bó libe-gỗ nhỏ hơn, xếp thành hình cung, có cấu tạo tương tự bó libe-gỗ to.
Phiến lá: Biểu bì trên và dưới cấu tạo bởi 1 hàng tế bào hình chữ nhật nhỏ, tế bào biểu bì trên có kích thước lớn hơn, có thể mang lông che chở đa bào cấu tạo tương tự như phần gân lá. Mô dậu là 2 hàng tế bào hình chữ nhật to, xếp sít nhau và thẳng góc với biểu bì trên. Mô khuyết là những tế bào thành mỏng, có kích thước không đều nhau. Giữa phiến lá có một số bó libe-gỗ hình trứng nhỏ của gân phụ.
Thân: Biểu bì gồm một hàng tế bào nhỏ, hình trứng, xếp đều đặn liên tục, có thể mang lông che chở đa bào cấu tạo tương tự như ở gân lá. Mô dày gồm 2 đến 3 hàng tế bào, có thành dày phát triển ở góc. Mô mềm vỏ gồm các tế bào hình tròn, thành mỏng kích thước không đều nhau. Trong mô mềm vỏ, sát với bó libe-gỗ hơn có những bó sợi lớn, xếp thành vòng liên tục hoặc gián đoạn, bao lấy bó libe-gỗ. Ứng với mỗi bó sợi là một bó libe-gỗ hình trứng, tương đối to cũng xếp thành vòng liên tục. Trong bó libe-gỗ có libe hình bán nguyệt được bó sợi bao gần hết. Gỗ cấu tạo bởi các mạch gỗ to, xếp thành hàng, tập trung tạo thành bó. Trong cùng là mô mềm ruột gồm các tế bào to, hình tròn, thành mỏng, rải rác thấy một số ống tiết cấu tạo tương tự phần gân lá.

Bột
Màu lục xám. Soi kính hiển vi thấy: Lông che chở đa bào, dài, thường có 6 tế bào đến 8 tế bào xếp thành hàng, vách ngăn giữa các tế bào phình to đặc biệt, các tế bào càng gần đầu lông càng dài và nhỏ dần. Hai loại lông tiết: Loại đầu hình cầu đa bào, chân đơn bào và loại đầu hình cầu đơn bào, chân đa bào. Mảnh biểu bì mang lỗ khí. Mảnh mô mềm cấu tạo bởi các tế bào hình tròn, thành mỏng. Sợi đứng riêng lẻ hoặc tập trung thành bó, tế bào sợi ngắn và nhỏ, khoang

rộng. Hạt phấn hoa hình cầu gai tương đối to, gai thưa và nhọn, bề mặt có 3 lỗ rãnh, đường kính khoảng 33 µm đến 35 µm, màu vàng nhạt. Mảnh cánh hoa gồm tế bào màu vàng nhạt, thành mỏng. Mảnh mạch vạch, mạch mạng.

Định tính

A. Lấy 3 g dược liệu đã tán nhỏ. Thêm 2 ml *dung dịch amoniac 10 % (TT)*, trộn cho thấm đều. Thêm 20 ml *cloroform (TT)*. Lắc, để yên 4 h. Lọc vào bình gạn. Thêm 10 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*. Lắc kỹ rồi để yên cho dung dịch tách thành 2 lớp. Gạn lấy lớp dung dịch acid ở phía trên cho vào 3 ống nghiệm để làm các phản ứng sau:
Ống nghiệm 1: Thêm 1 giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, xuất hiện tủa trắng.
Ống nghiệm 2: Thêm 1 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)*, xuất hiện tủa nâu.
Ống nghiệm 3: Thêm 1 giọt *dung dịch acid picric 1 % (TT)*, xuất hiện tủa vàng.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi triển khai: *Toluen - ethyl acetat - aceton - acid formic* (15 : 2 : 2 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 30 ml *ethyl acetat (TT)*, lắc siêu âm 30 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol 96 % (TT)* được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g Hy thiêm (mẫu chuẩn) đã nghiền nhỏ, tiến hành chiết như mô tả trong phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin - acid sulfuric (TT)*, sấy bản mỏng ở 120 °C đến khi hiện rõ các vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6, 2 g, 100 °C, 4 h).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.
Tỷ lệ lá trong dược liệu: Không ít hơn 40,0 %.

Tỷ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.12).

Tro toàn phần

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 10,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến

Khi trời khô ráo, cắt lấy cây có nhiều lá hoặc mới ra hoa, cắt bỏ gốc và rễ, phơi hoặc sấy đến khô ở 50 °C đến 60 °C. Khi dùng rửa sạch, ủ mềm, cắt đoạn, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô, mát.

Tính vị, quy kinh

Khổ, hàn. Vào các kinh can, thận.

Công năng, chủ trị

Trừ phong thấp, thanh nhiệt, giải độc. Chủ trị: Đau lưng, gối, xương khớp; chân tay tê buốt, mụn nhọt.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 12 g, dạng thuốc sắc.

ÍCH MẪU

Herba Leonuri japonici

Phần trên mặt đất đã được cắt thành từng đoạn phơi hay sấy khô của cây Ích mẫu (*Leonurus japonicus* Houtt.), họ Bạc hà (Lamiaceae).

Mô tả

Dược liệu là những đoạn thân, có hoặc không có lá, dài từ 5 cm đến 7 cm, đường kính 0,2 cm đến 1 cm, thiết diện vuông, bốn mặt lõm, thẳng, mặt ngoài có nhiều rãnh dọc, lông bao phủ ngắn. Thân có màu xanh xám hoặc màu xanh hơi vàng, chỗ rãnh màu nhạt hơn. Chất nhẹ, dai, vết bẻ có ruột ở giữa. Trên các đoạn thân, phần lớn mang lá mọc đối; lá có cuống, ở phần phía trên cuống ngắn hơn. Lá phía gốc và trên ngọn có hình dáng thay đổi. Lá mọc đối, phiến lá xẻ sâu thành 3 thùy, mỗi thùy lại chia 3 phần không đều, thùy mép nguyên hoặc hơi xẻ răng cưa. Lá màu xanh xám, thường nhàu nát và gãy vụn, dễ bị rụng. Cụm hoa mọc ở kẽ lá thành vòng dày đặc, càng lên phía ngọn cụm hoa càng dày đặc. Tràng hoa màu hồng tím khi tươi. Khi khô chun sít lại. Quả nhỏ có 3 cạnh, nhẵn, màu xám nâu. Mùi nhẹ, vị hơi đắng.

Vi phẫu

Thân: Mặt cắt ngang hình gần vuông, lồi ở 4 góc. Từ ngoài vào trong có: Biểu bì, gồm 1 lớp tế bào hình chữ nhật, xếp đều đặn, được bao phủ bởi một lớp cutin ở phía ngoài, mang lông che chở đa bào và lông tiết, lông che chở nhiều ở 4 góc lồi. Lông tiết có đầu gồm 4 đến 8 tế bào, chân đơn bào. Mô dày gồm 6 đến 10 hàng tế bào thành dày rất phát triển ở 4 góc lồi. Mô mềm vỏ có từ 3 đến 4 hàng tế bào nhỏ, thành mỏng. Trong mô mềm vỏ sát libe có sợi xếp thành từng đám nhỏ. Gỗ gồm các mạch gỗ to xếp thành hàng rải rác trong mô gỗ. Libe khá hẹp gồm những tế bào nhỏ, xếp liên tục thành vòng bao quanh gỗ. Tầng phát sinh nằm giữa libe và gỗ, gồm những tế bào hình chữ nhật, hoặc vuông, thành mỏng, xếp thành vòng. Mô mềm ruột khá

rộng. Hạt phấn hoa hình cầu gai tương đối to, gai thưa và nhọn, bề mặt có 3 lỗ rãnh, đường kính khoảng 33 µm đến 35 µm, màu vàng nhạt. Mảnh cánh hoa gồm tế bào màu vàng nhạt, thành mỏng. Mảnh mạch vạch, mạch mạng.

Định tính

A. Lấy 3 g dược liệu đã tán nhỏ. Thêm 2 ml *dung dịch amoniac 10 % (TT)*, trộn cho thấm đều. Thêm 20 ml *cloroform (TT)*. Lắc, để yên 4 h. Lọc vào bình gạn. Thêm 10 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*. Lắc kỹ rồi để yên cho dung dịch tách thành 2 lớp. Gạn lấy lớp dung dịch acid ở phía trên cho vào 3 ống nghiệm để làm các phản ứng sau:
Ống nghiệm 1: Thêm 1 giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, xuất hiện tủa trắng.
Ống nghiệm 2: Thêm 1 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)*, xuất hiện tủa nâu.
Ống nghiệm 3: Thêm 1 giọt *dung dịch acid picric 1 % (TT)*, xuất hiện tủa vàng.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi triển khai: *Toluen - ethyl acetat - aceton - acid formic* (15 : 2 : 2 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 30 ml *ethyl acetat (TT)*, lắc siêu âm 30 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol 96 % (TT)* được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g Hy thiêm (mẫu chuẩn) đã nghiền nhỏ, tiến hành chiết như mô tả trong phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin - acid sulfuric (TT)*, sấy bản mỏng ở 120 °C đến khi hiện rõ các vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6, 2 g, 100 °C, 4 h).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.
Tỷ lệ lá trong dược liệu: Không ít hơn 40,0 %.

Tỷ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.12).

Tro toàn phần

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 10,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến

Khi trời khô ráo, cắt lấy cây có nhiều lá hoặc mới ra hoa, cắt bỏ gốc và rễ, phơi hoặc sấy đến khô ở 50 °C đến 60 °C. Khi dùng rửa sạch, ủ mềm, cắt đoạn, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô, mát.

Tính vị, quy kinh

Khổ, hàn. Vào các kinh can, thận.

Công năng, chủ trị

Trừ phong thấp, thanh nhiệt, giải độc. Chủ trị: Đau lưng, gối, xương khớp; chân tay tê buốt, mụn nhọt.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 12 g, dạng thuốc sắc.

ÍCH MẪU

Herba Leonuri japonici

Phần trên mặt đất đã được cắt thành từng đoạn phơi hay sấy khô của cây Ích mẫu (*Leonurus japonicus* Houtt.), họ Bạc hà (Lamiaceae).

Mô tả

Dược liệu là những đoạn thân, có hoặc không có lá, dài từ 5 cm đến 7 cm, đường kính 0,2 cm đến 1 cm, thiết diện vuông, bốn mặt lõm, thẳng, mặt ngoài có nhiều rãnh dọc, lông bao phủ ngắn. Thân có màu xanh xám hoặc màu xanh hơi vàng, chỗ rãnh màu nhạt hơn. Chất nhẹ, dai, vết bẻ có ruột ở giữa. Trên các đoạn thân, phần lớn mang lá mọc đối; lá có cuống, ở phần phía trên cuống ngắn hơn. Lá phía gốc và trên ngọn có hình dáng thay đổi. Lá mọc đối, phiến lá xẻ sâu thành 3 thùy, mỗi thùy lại chia 3 phần không đều, thùy mép nguyên hoặc hơi xẻ răng cưa. Lá màu xanh xám, thường nhàu nát và gãy vụn, dễ bị rụng. Cụm hoa mọc ở kẽ lá thành vòng dày đặc, càng lên phía ngọn cụm hoa càng dày đặc. Tràng hoa màu hồng tím khi tươi. Khi khô chun sít lại. Quả nhỏ có 3 cạnh, nhẵn, màu xám nâu. Mùi nhẹ, vị hơi đắng.

Vi phẫu

Thân: Mặt cắt ngang hình gần vuông, lồi ở 4 góc. Từ ngoài vào trong có: Biểu bì, gồm 1 lớp tế bào hình chữ nhật, xếp đều đặn, được bao phủ bởi một lớp cutin ở phía ngoài, mang lông che chở đa bào và lông tiết, lông che chở nhiều ở 4 góc lồi. Lông tiết có đầu gồm 4 đến 8 tế bào, chân đơn bào. Mô dày gồm 6 đến 10 hàng tế bào thành dày rất phát triển ở 4 góc lồi. Mô mềm vỏ có từ 3 đến 4 hàng tế bào nhỏ, thành mỏng. Trong mô mềm vỏ sát libe có sợi xếp thành từng đám nhỏ. Gỗ gồm các mạch gỗ to xếp thành hàng rải rác trong mô gỗ. Libe khá hẹp gồm những tế bào nhỏ, xếp liên tục thành vòng bao quanh gỗ. Tầng phát sinh nằm giữa libe và gỗ, gồm những tế bào hình chữ nhật, hoặc vuông, thành mỏng, xếp thành vòng. Mô mềm ruột khá

rộng gồm những tế bào kích thước lớn, thành mỏng, càng vào giữa tế bào càng lớn hơn. Một số tế bào có chứa tinh thể calci oxalat hình kim và hình lăng trụ nhỏ.
Gân giữa lá: Biểu bì trên hoặc dưới gồm một hàng tế bào hình chữ nhật, xếp đều đặn, mang lông che chở đa bào và lông tiết. Mô dày xếp sát biểu bì trên và biểu bì dưới, gồm những tế bào thành dày. Mô dày trên gồm 2 đến 3 hàng tế bào. Mô dày dưới tạo thành hình vòng cung, chỗ dày nhất gồm 2 đến 3 hàng tế bào. Mô mềm gồm những tế bào tròn, thành mỏng. Libe-gỗ xếp thành hình vòng cung ở giữa, gỗ xếp ở trên và libe ở dưới; đôi khi cung libe-gỗ chia thành các cụm. Thỉnh thoảng trên cung chính có thêm một cung nhỏ với libe ở trên và gỗ ở dưới.
Phiến lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới gồm 1 hàng tế bào hình chữ nhật. Tế bào biểu bì trên có kích thước tương đối lớn, tế bào biểu bì dưới nhỏ và dẹt hơn. Cả 2 mặt phiến lá đều mang lông che chở, lông tiết; biểu bì dưới có lỗ khí. Mô dậu và mô khuyết gồm các tế bào hình giậu không đều hoặc các tế bào hình gần tròn.

Bột
Bột có màu lục xám. Soi dưới kính hiển vi thấy: Lông che chở đa bào, hơi cong, thành dày, bề mặt có nhiều u lồi nhỏ. Lông tiết có đầu gồm 4 đến 8 tế bào, nhìn từ đỉnh có hình gần tròn hoặc ellip, chân rất ngắn. Mảnh mạch có lỗ trao đổi hình thang hoặc hình xoắn. Hạt phấn hoa hình cầu, đường kính 20 µm đến 22 µm, 3 rãnh, bề mặt có chấm mờ. Sợi có thành dày, tụ thành đám. Mảnh biểu bì mang lông che chở, lông tiết, lỗ khí. Mảnh lá có mạch gỗ xoắn.

Định tính
A. Lấy khoảng 3 g bột dược liệu, loại tạp bằng *ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C)(TT)* trong dụng cụ Soxhlet 2 h. Lấy bã dược liệu cho bay hết ether dầu hỏa, thấm ẩm bằng 5 ml đến 7 ml *amoniac đậm đặc (TT)*. Thêm 20 ml *ether (TT)*, lắc đều và để ngâm trong 2 h. Lọc, cất thu hồi dung môi ether đến cắn, thêm vào cắn 5 ml đến 7 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*, lắc kỹ, ly tâm. Gạn và chia dịch ly tâm vào 3 ống nghiệm để làm các phản ứng sau:
Ống 1: Nhỏ 1 giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, xuất hiện tủa trắng.
Ống 2: Nhỏ 2 giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)*, xuất hiện tủa vàng cam.
Ống 3: Nhỏ 1 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)*, xuất hiện tủa nâu.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel 60F$_{254}$.
Dung môi khai triển: n-Butanol - acid hydrocloric - ethyl acetat (8 : 2 : 0,5).
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 1 g bột thô dược liệu, chuyển vào túi giấy lọc rồi cho vào bình chiết Soxhlet. Thêm 300 ml *ethanol (TT)* vào bình cầu đáy tròn dung tích 500 ml. Tiến hành chiết trong khoảng 15 h. Lấy dịch chiết ethanol, cô dưới áp suất giảm đến còn khoảng 5 ml, chuyển dịch chiết đậm đặc vào cột nhôm oxyd trung tính đã được chuẩn bị trước {10 g *nhôm oxyd trung tính dùng cho sắc ký cột*, cỡ hạt 0,063 - 0,200 mm, được nhồi ướt bằng *ethanol 95 % (TT)* vào cột thủy tinh có khóa, đường kính trong từ 1,5 cm đến 1,8 cm để có chiều cao khoảng 4 cm}. Rửa giải bằng 200 ml *ethanol (TT)*, gộp dịch rửa giải vào bình cầu 250 ml, cô cạn dưới áp suất giảm trong máy cất quay chân không. Hòa tan và chuyển toàn bộ cắn bằng *hỗn hợp acetonitril - dung dịch acid acetic 0,1 %* (2 : 8) vào bình định mức 10 ml, thêm cùng dung môi đến vạch, lắc đều (được dung dịch A). Lấy 3 ml dung dịch A, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 0,5 ml *ethanol (TT)* được dung dịch thử.
Dung dịch chất đối chiếu: Hoà tan stachydrin hydroclorid chuẩn trong *ethanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 1 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có stachydrin hydroclorid chuẩn thì dùng 0,5 g bột thô Ích mẫu (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả trong phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí rồi phun *thuốc thử Dragendorff (TT)* đến khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu sắc và giá trị R_f với vết stachydrin hydroclorid của dung dịch đối chất chiếu hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,5 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 4 h).

Tỷ lệ vụn nát
Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 10,0 % (Phụ lục 12.12).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.
Tỷ lệ lá trên toàn bộ dược liệu: Không ít hơn 55,0 %.

Tro toàn phần
Không quá 13,5 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 15,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *nước* làm dung môi.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - nước (80 : 20).
Dung dịch chuẩn (1): Hòa tan stachydrin hydroclorid chuẩn trong *ethanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 2 mg/ml.
Dung dịch chuẩn (2): Pha loãng 1 ml dung dung dịch chuẩn (1) bằng *ethanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ stachydrin hydroclorid vào khoảng 0,4 mg/ml.

Dung dịch thử: Lấy phần dung dịch A thu được trong phép thử định tính B, lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh aminopropyl liên kết silica gel dùng cho sắc ký (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 203 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiêm 6 lần dung dịch chuẩn (1). Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic stachydrin hydroclorid của 6 lần tiêm không được lớn hơn 2,0 %.
Tiêm riêng biệt dung dịch chuẩn (2), dung dịch thử. Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn (2) và hàm lượng $C_7H_{13}NO_2.HCl$ của stachydrin hydroclorid chuẩn, tính hàm lượng của stachydrin hydroclorid trong dược liệu.
Dược liệu phải chứa ít nhất 0,5 % stachydrin hydroclorid ($C_7H_{13}NO_2.HCl$), tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Vào mùa hè (khoảng tháng 5 đến 6), khi có tới một nửa số hoa trên cây đã nở, có thể tiến hành thu hái. Chặt lấy phần trên mặt đất dài không quá 40 cm kể từ ngọn xuống, phơi hay sấy khô. Bó lại thành từng bó. Cũng có thể, sau khi phơi khô, chặt từng đoạn 5 cm đến 7 cm, rồi đóng gói vào các bao tải, để nơi thoáng mát. Trước khi dùng cần sao vàng.

Bảo quản
Để nơi khô, mát.

Tính vị, quy kinh
Khổ, tân, hơi hàn. Vào các kinh can, tâm bào.

Công năng, chủ trị
Hoạt huyết khử ứ, lợi thủy tiêu phù. Chủ trị: Rối loạn kinh nguyệt, kinh đau, kinh bế, khí hư bạch đới, rong kinh, rong huyết, huyết hôi ra không hết, phù thũng, tiểu tiện không lợi.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ
Không dùng cho người huyết hư không có huyết ứ.

ÍCH TRÍ (Quả)

Fructus Alpiniae oxyphyllae
Riềng lá nhọn

Quả chín đã phơi hay sấy khô của cây Ích trí (*Alpinia oxyphylla* Miq.), họ Gừng (Zingiberaceae).

Mô tả
Quả hình bầu dục, hai đầu hơi nhọn, dài 1,2 cm đến 2 cm, đường kính 1 cm đến 1,3 cm. Vỏ quả mỏng màu nâu hoặc nâu xám, có 13 đến 20 đường gờ nhỏ, trên bề mặt lồi lõm không đều, ở đỉnh có vết bao hoa, gốc có vết cuống quả. Hạt đính thành khối 3 múi có màng mỏng ngăn cách, mỗi múi có 6 đến 11 hạt.
Hạt hình cầu dẹt hoặc nhiều cạnh, không đều, đường kính khoảng 3 mm, màu nâu sáng hoặc vàng sáng, áo hạt mỏng, màu nâu nhạt, chất cứng, nội nhũ màu trắng. Mùi thơm, vị cay, hơi đắng.

Vi phẫu
Mặt cắt ngang hạt: Tế bào mô mềm của áo hạt đôi khi còn sót lại. Tế bào vỏ hạt có hình gần tròn, gần vuông hoặc hình chữ nhật, hơi xếp theo hướng xuyên tâm, thành tương đối dày. Hạ bì gồm một hàng tế bào mô mềm, có chứa chất màu vàng nâu. Một hàng các tế bào chứa dầu hình gần vuông hoặc hình chữ nhật có chứa các giọt dầu màu vàng. Lớp sắc tố gồm những hàng tế bào chứa chất màu vàng nâu, rải rác có 1 đến 3 hàng các tế bào chứa dầu, tương đối lớn, hình gần tròn có chứa các giọt dầu màu vàng. Vỏ lụa gồm một hàng tế bào mô cứng xếp đều đặn (giống mô dậu) có chứa chất màu vàng hoặc màu đỏ nâu, thành bên và thành phía trong rất dày, khoang nhỏ có chứa hạt silic. Tế bào ngoại nhũ chứa đầy các hạt tinh bột. Tế bào nội nhũ chứa hạt aleuron và các giọt dầu.

Bột
Màu vàng nâu. Tế bào vỏ hạt dài khi nhìn trên bề mặt, đường kính tới 29 µm, thành hơi dày, thường xếp thẳng đứng với hạ bì. Các tế bào của lớp sắc tố nhăn nheo và giới hạn không rõ, chứa chất màu nâu đỏ hay nâu sẫm, thường bị vỡ vụn tạo thành các mảng sắc tố không đều. Tế bào chứa dầu hình gần vuông hay hình chữ nhật phân tán ở giữa các tế bào của lớp sắc tố. Tế bào mô cứng của vỏ lụa màu nâu hoặc vàng nâu, hình đa giác khi nhìn trên bề mặt, thành dày, không hóa gỗ, trong có chứa hạt silic khi nhìn trên bề mặt, khi nhìn ở phía trên, thấy một hàng tế bào xếp đều đặn (giống mô dậu), thành phía trong và thành bên dày hơn, khoang lệch tâm có chứa hạt silic. Các tế bào ngoại nhũ chứa đầy các hạt tinh bột tụ lại thành khối tinh bột. Các tế bào nội nhũ chứa các hạt aleuron và giọt dầu.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi khai triển: *n-Hexan - ethyl acetat* (9 : 1).
Dung dịch thử: Hòa tan một lượng tinh dầu của dược liệu (thu được ở phần định lượng) trong *ethanol (TT)* để thu được dung dịch có chứa 10 µl tinh dầu trong 1 ml.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan một lượng tinh dầu Ích trí (mẫu chuẩn) trong *ethanol (TT)* để thu được dung dịch có chứa 10 µl tinh dầu trong 1 ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl đến 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và cùng giá trị R_f

với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Phun lên bản mỏng *dung dịch dinitrophenylhydrazin (TT)*, các vết trên sắc ký đồ chuyển dần sang màu đỏ da cam.

Độ ẩm
Không quá 11,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất
Không quá 0,5 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 2,5 % (Phụ lục 9.7).

Định lượng
Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Dùng 30 g dược liệu. Thêm 300 ml nước. Cất trong 5 h.
Hàm lượng tinh dầu không dưới 1,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa hạ, mùa thu, hái lấy quả đã chuyển từ màu xanh lục sang màu đỏ, phơi hay sấy khô ở nhiệt độ thấp.

Bào chế
Dùng sống: Loại bỏ tạp chất và vỏ ngoài, khi dùng giã nát.
Diêm ích trí (chế muối): Lấy cát, sao to lửa cho tơi, sau đó cho Ích trí vào, sao cho phồng vỏ, có màu vàng. Lấy ra rây sạch cát, giã bỏ vỏ, sấy sạch. Lấy nhân trộn với nước muối, ủ cho thấm đều, cho vào chảo đun nhỏ lửa, sao đều đến khô. Lấy ra để nguội, khi dùng giã nát (cứ 100 kg Ích trí nhân dùng 2 kg muối, cho nước sôi vào pha vừa đủ, lọc trong để dùng).

Bảo quản
Để nơi khô, mát, trong bao bì kín, tránh ẩm, nóng làm bay mất tinh dầu.

Tính vị, quy kinh
Tân, ôn. Vào các kinh tỳ, thận.

Công năng, chủ trị
Ôn thận cố tinh, ôn tỳ chỉ tả. Chủ trị: Tỳ hàn gây tiết tả, đau bụng hàn, tiết nhiều nước bọt, thận hàn gây đái dầm, đi tiểu vặt, di tinh, cặn hơi trắng nước tiểu do thận dương hư.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, dạng thuốc sắc.

KÉ ĐẦU NGỰA (Quả)
Fructus Xanthii strumarii
Thương nhĩ tử

Quả già đã phơi hoặc sấy khô của cây Ké đầu ngựa (*Xanthium strumarium* L.), họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả
Quả hình trứng hay hình thoi, dài 1,2 cm đến 1,7 cm, đường kính 0,5 cm đến 0,8 cm. Mặt ngoài màu xám vàng hay xám nâu, có nhiều gai hình móc câu dài 0,2 cm đến 0,3 cm, đầu dưới có sẹo của cuống quả. Vỏ quả già rất cứng và dai. Cắt ngang thấy có hai ngăn, mỗi ngăn chứa một quả thật (quen gọi là hạt). Quả thật hình thoi có lớp vỏ rất mỏng, màu xám xanh rất dễ bong khi bóc phần vỏ quả già. Hạt hình thoi, nhọn hai đầu, vỏ hạt màu xám nhạt có nhiều nếp nhăn dọc. Hai lá mầm dày, bao bọc cây mầm, rễ và chồi mầm nhỏ nằm ở phía đầu nhọn của hạt.

Vi phẫu
Vỏ quả già (thực chất là lá bắc biến đổi): Biểu bì gồm một lớp tế bào hình chữ nhật đều đặn, phía ngoài phủ lớp cutin, có nhiều lông che chở đa bào, gai móc và lông tiết kiểu chân đa bào, đầu đa bào. Mô mềm gồm vài lớp tế bào hình nhiều cạnh thành mỏng. Mô cứng gồm 8 đến 10 hàng tế bào hình nhiều cạnh. Trong phần mô mềm có các bó libe-gỗ nhỏ.
Quả thật: Vỏ quả gồm 4 đến 5 lớp tế bào hình chữ nhật nhỏ xếp sít nhau. Vỏ hạt gồm hai hàng tế bào nhỏ tương đối đều nhau. Bên trong chứa hai lá mầm hình thuôn nhọn.

Bột
Màu nâu nhạt hay xám lục, có mùi thơm, vị hơi béo. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì có lông che chở đa bào, lông tiết, mảnh mạch, tế bào mô cứng, mảnh sợi của gai móc và hạt tinh bột tròn nhỏ.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: n-Butyl acetat - acid formic - nước (7 : 2,5 : 2,5).
Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 25 ml *methanol (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 20 min, lọc. Bay hơi dịch lọc đến còn khoảng 2 ml.
Dung dịch chất đối chiếu: Hoà tan acid clorogenic chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 0,5 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có acid clorogenic chuẩn, lấy 2 g bột quả Ké đầu ngựa (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm hoặc để tiếp xúc với hơi amoniac cho đến khi các vết hiện rõ. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với vết của acid clorogenic trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu, hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm
Không được quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Bộ phận khác của cây: Không được quá 3,0 %.
Tỷ lệ quả non lép: Không được quá 10,0 %.

Chất chiết được trong dược liệu
Không được ít hơn 7,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp ngâm lạnh (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 70 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa thu, khi quả già chín, lúc trời khô ráo, hái lấy quả, loại bỏ tạp chất và cuống lá, phơi hoặc sấy nhẹ ở 40 °C đến 45 °C cho đến khô.

Bảo quản
Để nơi khô, mát.

Tính vị, quy kinh
Tân, khổ, ôn. Vào kinh phế.

Công năng, chủ trị
Trừ phong thấp, tiêu độc, tán phong thông khiếu. Chủ trị: Đau khớp, chân tay tê đại co rút; viêm mũi, viêm xoang; mụn nhọt, mẩn ngứa.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc, hoặc hoàn. Thường phối hợp với một số vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Đau đầu do huyết hư không nên dùng.

KÊ HUYẾT ĐẰNG (Thân)

Caulis Spatholobi suberecti
Huyết đằng

Thân đã thái thành phiến phơi hay sấy khô của cây Kê huyết đằng (*Spatholobus suberectus* Dunn), họ Đậu (Fabaceae).

Mô tả
Dược liệu hình trụ to, dài, hoặc phiến thái vát hình bầu dục không đều, dày 0,3 cm đến 0,8 cm. Bần màu nâu hơi xám, có khi thấy vết đốm màu trắng hơi xám; chỗ mất lớp bần sẽ hiện ra màu nâu hơi đỏ. Mặt cắt ngang: Gỗ màu nâu hơi đỏ hoặc màu nâu, lộ ra nhiều lỗ mạch. Libe có chất nhựa cây tiết ra, màu nâu hơi đỏ đến màu nâu hơi đen, xếp xen kẽ với gỗ thành 3 đến 8 vòng, hình bán nguyệt, lệch tâm. Phần tủy lệch về một bên. Chất khô cứng. Vị chát.

Vi phẫu
Mặt cắt ngang: Bần gồm một số lớp tế bào chứa chất đỏ hơi nâu. Vỏ tương đối hẹp, có những nhóm tế bào đá trong khoang chứa đầy các chất đỏ hơi nâu. Tế bào mô mềm chứa tinh thể calci oxalat hình lăng trụ. Các bó mạch khác thường do libe xen kẽ với gỗ, xếp thành một số vòng. Phía ngoài cùng libe là một lớp tế bào mô cứng gồm những tế bào đá và những bó sợi; đa số tia bị nén lại; nhiều tế bào tiết chứa đầy chất đỏ hơi nâu, thường có từ vài tế bào đến 10 tế bào hoặc nhiều hơn, xếp lớp theo chiều tiếp tuyến. Bó sợi tương đối nhiều, không hóa gỗ hoặc hơi hóa gỗ, vây tròn xung quanh có các tế bào chứa các tinh thể calci oxalat hình lăng trụ tạo thành những sợi tinh thể; thành của tế bào chứa tinh thể hóa gỗ và dày lên; có các nhóm tế bào đá rải rác. Đôi khi tia gỗ chứa chất đỏ hơi nâu, các mạch gỗ đa số là mạch đơn, gần tròn, đường kính tới 400 µm, xếp rải rác, các bó sợi gỗ cũng thành hình các sợi tinh thể. Một số tế bào mô mềm gỗ có chứa chất màu nâu đỏ.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Cloroform - methanol* (30 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột thô dược liệu, thêm 100 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun hồi lưu 1 h, lọc, cô dịch lọc tới cắn khô, hòa tan cắn trong 2 ml *methanol (TT)*, thêm 1 g *silica gel (TT)*, khuấy kỹ, đuổi hết dung môi, chuyển lên trên một cột có đường kính trong là 1,0 cm (chứa 2 g *silica gel*, kích thước hạt từ 75 µm đến 150 µm). Rửa giải bằng 30 ml *ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C) (TT)*, sau đó rửa giải tiếp bằng 40 ml *cloroform (TT)*, lấy dịch rửa giải cloroform bay hơi đến cắn khô, hòa tan cắn trong 0,5 ml *cloroform (TT)* dùng làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Kê huyết đằng (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên cùng bản mỏng 5 µl đến 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có huỳnh quang cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 4,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 0,6 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 8,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Vào mùa thu, đông, chặt lấy thân leo, loại bỏ cành và lá, thái phiến, phơi khô.

Bào chế
Dược liệu dạng trụ dài, loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ngâm ủ đến khi mềm, thái phiến, phơi khô.

Bảo quản
Để nơi khô, mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Khổ, cam, ôn. Vào các kinh can, thận.

Công năng, chủ trị
Hoạt huyết thông lạc, bổ huyết. Chủ trị: Chứng huyết hư gây huyết ứ trệ, bế thống kinh, chấn thương tụ huyết, phong thấp đau lưng, đau xương khớp.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 10 g đến 16 g, dạng thuốc sắc.
Dùng ngoài: Lượng thích hợp.

KÊ NỘI KIM
Endothelium Corneum Gigeriae Galli
Màng mề gà

Lớp màng trong đã phơi hoặc sấy khô của mề con Gà (*Gallus gallus domesticus* Brisson), họ Chim trĩ (Phasianidae).

Mô tả
Màng gần nguyên vẹn hoặc từng mảnh khô cong, cuộn lại, dày khoảng 0,2 cm. Mặt ngoài màu vàng, lục vàng hoặc nâu vàng, màng mỏng trong mờ, có nếp nhăn dọc nhỏ lên. Chất giòn dễ gãy vỡ, vết gãy bóng như sừng. Mùi hơi tanh, vị hơi đắng.

Độ ẩm
Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 7,5 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 50 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Mổ gà, bóc lấy màng mề gà khi còn nóng, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế
Kê nội kim sao: Lấy Kê nội kim sạch, rang với cát đến khi phồng lên, lấy ra, để nguội. Dược liệu sau khi sao có màu nâu vàng sậm tới màu vàng sẫm đen, trên bề mặt có những nốt phồng nhỏ, bị vỡ khi bóp nhẹ, mảnh vỡ bóng láng.
Kê nội kim chế dấm: Lấy Kê nội kim sạch, sao đến khi phồng lên, phun dấm, lấy ra phơi hoặc sấy khô. Cứ 100 kg Kê nội kim dùng 15 L dấm.

Bảo quản
Để nơi khô, trong bao bì kín, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Cam, bình. Vào các kinh tỳ, vị, tiểu trường, bàng quang.

Công năng, chủ trị
Kiện vị, tiêu thực, sáp tinh. Chủ trị: Thực tích không tiêu, bụng đầy trướng, nôn mửa, kiết lỵ, di tinh. Trẻ em cam tích, đái dầm.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, dạng thuốc tán.

Kiêng kỵ
Không bị tích trệ không nên dùng.

KHA TỬ (Quả)
Fructus Terminaliae chebulae
Chiêu liêu

Quả chín phơi hay sấy khô của cây Chiêu liêu (*Terminalia chebula* Retz.), họ Bàng (Combretaceae).

Mô tả
Dược liệu hình quả trám hoặc hình trứng thuôn, dài 2 cm đến 4 cm, đường kính 2 cm đến 2,5 cm. Mặt ngoài màu nâu hơi vàng hoặc màu nâu thẫm, hơi sáng bóng; có 5 đến 6 cạnh dọc và vân nhăn không đều; phần đáy có vết sẹo cuống quả, hình tròn. Chất chắc, thịt quả dày 0,2 cm đến 0,4 cm, màu nâu hơi vàng, hoặc vàng nâu thẫm; hạch quả dài 1,5 cm đến 2,5 cm, đường kính 1 cm đến 1,5 cm, màu vàng nhạt, thô và cứng. Hạt hình thoi hẹp, dài khoảng 1 cm, đường kính 0,2 cm đến 0,4 cm, vỏ cứng màu vàng nâu, đôi lá mầm màu trắng, chồng lên nhau và cuộn xoắn lại. Không mùi, vị chua, chát, sau ngọt.

Định tính
A. Ngâm 3 g bột dược liệu trong 30 ml *nước*, sau 3 h, lọc, được dung dịch A.
Lấy 2 ml dung dịch A, thêm 1 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, sẽ có tủa màu xanh da trời sẫm.
Lấy 2 ml dung dịch A, thêm 1 giọt *thuốc thử gelatin - natri clorid (TT)* sẽ có tủa màu trắng.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Cloroform - ethyl acetat - acid formic* (6 : 4 : 1).
Dung dịch thử: 3 g bột dược liệu (loại bỏ hạt) thêm 10 ml *ethanol 96 % (TT)*, siêu âm trong 20 min, sử dụng lớp dịch chiết ở trên làm dung dịch thử.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan acid gallic chuẩn trong *ethanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 0,5 mg trong 1 ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Hoặc nếu không có acid gallic thì dùng 3 g bột Kha tử (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 3 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí. Phun *dung dịch sắt (III) clorid 2 % trong ethanol (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết có cùng vị trí và màu sắc với vết của acid galic trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu, hoặc có các vết cùng màu sắc và R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu
Không dưới 30,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương chiết lạnh (Phụ lục 12.10), dùng *nước* làm dung môi.

Chế biến
Thu hái lấy quả chín vào mùa thu, đông, loại bỏ tạp chất, phơi khô.

Bào chế
Kha tử đã loại bỏ tạp chất, rửa sạch, phơi khô, khi dùng đập nát.
Thịt quả Kha tử: Lấy Kha tử sạch, ngâm qua nước, ủ mềm, bỏ hạch, phơi thịt quả đến khô.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô.

Tính vị, quy kinh
Khổ, toan, sáp, bình. Vào các kinh phế, đại trường.

Công năng, chủ trị
Sáp trường chỉ tả, liễm phế, giáng hỏa lợi hầu họng. Chủ trị: Tả lỵ lâu ngày, đại tiện ra máu, lòi dom; hen suyễn khó thở, ho lâu ngày không khỏi; đau bụng.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 6 g, dạng thuốc sắc hay thuốc viên.

KHIẾM THỰC (Hạt)
Semen Euryales

Hạt của quả chín đã phơi hay sấy khô của cây Khiếm thực (*Euryales ferox* Salisb.), họ Súng (Nymphaeaceae).

Mô tả
Hạt hình cầu, đường kính 5 mm đến 8 mm, phần lớn là hạt vỡ. Vỏ hạt màu đỏ nâu, một đầu màu trắng vàng, chiếm khoảng 1/3 hạt, có vết lõm là rốn hạt dạng điểm. Khi bỏ vỏ lụa hạt sẽ có màu trắng, chất tương đối cứng. Mặt gãy màu trắng, chất bột. Không mùi, vị nhạt.

Bột
Màu trắng ngà, vị nhạt. Soi dưới kính hiển vi thấy: Nhiều hạt tinh bột hình cầu, đường kính 1 µm đến 3 µm, rốn hạt không rõ, bề mặt hạt không nhẵn. Nhiều hạt tinh bột tập trung thành khối lớn. Các mảnh vỏ hạt màu nâu đỏ.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Tỷ lệ nhân hạt biến màu: Không quá 1,0 %.
Tạp chất khác: Không quá 0,5 %.

Tỷ lệ vụn nát
Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 30 % (Phụ lục 12.12).

Tro toàn phần
Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.8).

Chế biến
Thu hoạch vào cuối thu đầu đông. Thu hái quả chín, loại bỏ vỏ quả, lấy hạch cứng, rửa sạch, loại bỏ vỏ cứng, lấy hạt, phơi khô.

Bào chế
Dùng hạt khô sống hoặc sao.
Khiếm thực sao: Lấy cám rang nóng đợi lúc khói bay lên, cho Khiếm thực sạch vào, sao cho tới màu hơi vàng, lấy ra sàng bỏ cám, để nguội (10 kg Khiếm thực cần 1 kg cám).

Bảo quản
Để nơi thoáng khô, tránh mọt.

Tính vị, quy kinh
Vị ngọt chát, tính bình. Vào các kinh tỳ, thận.

Công năng, chủ trị
Ích thận, cố tinh, kiện tỳ, trừ thấp nhiệt, chỉ tả, ngừng đới hạ. Chủ trị: Mộng tinh, di tinh, hoạt tinh, bạch trọc, đới hạ, tỳ hư, tiêu chảy lâu ngày, di niệu.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 9 g đến 15 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các loại thuốc khác.

Kiêng kỵ
Đại tiện táo bón, tiểu tiện bí không nên dùng.

KHOẢN ĐÔNG HOA
Flos Tussilaginis farfarae

Cụm hoa chưa nở đã phơi hay sấy khô của cây Khoản đông (*Tussilago farfara* L.), họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả
Cụm hoa là một đầu hình chùy dài, thường là 2 đến 3 cụm hoa cùng mọc trên 1 cành hoặc mọc đơn độc, dài 2 cm đến 2,5 cm, phần trên rộng hơn và phần dưới thon dần. Đỉnh cuống cụm hoa có nhiều lá bắc dạng vảy. Mặt ngoài của lá bắc đỏ tía hoặc đỏ nhạt, mặt trong được phủ kín bởi những đám lông trắng như bông. Mùi thơm, vị hơi đắng và cay.

Bột
Màu vàng hơi nâu nhạt, thô, không mịn, bết vào nhau thành từng mảng do có nhiều lông quyện vào. Soi kính hiển vi thấy: Nhiều mảnh biểu bì cánh hoa có tế bào hình đa giác to, trong tế bào lác đác có sắc tố màu vàng nâu nhạt. Nhiều mảnh biểu bì lá bắc có các tế bào hình đa giác và các lỗ khí; trong một số tế bào có sắc tố màu đỏ hơi nâu. Nhiều lông đơn bào xoắn, trắng bông. Hạt phấn hình cầu màu vàng, màng ngoài có gai. Bó mạch gỗ màu đỏ cam. Mảnh đầu nhụy.

Định tính
A. Lấy 1 g bột dược liệu thêm 10 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun sôi, lắc kỹ, lọc. Lấy 1 ml dịch lọc thêm 1 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, có màu xám đen và có tủa.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G
Dung môi khai triển: Cyclohexan - ethyl acetat (9,5 : 0,5).
Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 2 ml *ether dầu hỏa (40 °C đến 60 °C) (TT)*, ngâm và thỉnh thoảng lắc trong 1 h. Lọc, bốc hơi tự nhiên đến cắn. Hòa cắn trong 1 ml *cloroform (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột Khoản đông hoa (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí hay sấy nhẹ cho bay hết dung môi. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm sau đó phun *dung dịch vanilin - acid sulfuric (TT)*, sấy 105 °C cho đến khi xuất hiện vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 14,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất
Nụ hoa biến thành màu đen: Không quá 0,5 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Chất chiết được bằng ethanol: Không dưới 20,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch vào tháng 12 hoặc khi trời lạnh, hoa vẫn còn dưới đất, thu lấy nụ, loại bỏ cuống hoa, đất cát, phơi âm can hoặc sấy nhẹ đến khô.

Bào chế
Khoản đông hoa: Loại bỏ tạp chất và cuống hoa còn sót lại.
Khoản đông hoa chế mật: Lấy Mật ong, có thể hòa loãng bằng một lượng nước sôi, trộn đều mật với Khoản đông hoa, ủ cho thấm đều, cho vào chảo sao nhỏ lửa cho đến khi sờ không dính tay, lấy ra để nguội. Dùng 2,5 kg Mật ong cho 10 kg Khoản đông hoa.

Bảo quản
Nơi khô, mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Tân, cam, ôn. Quy vào kinh phế.

Công năng, chủ trị
Nhuận phế hóa đờm, chỉ khái, giáng nghịch. Chủ trị: Ho và suyễn mới và lâu ngày, hư lao.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 5 g đến 9 g. Dạng thuốc sắc. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Không dùng cho người âm hư phế nhiệt, phế ráo.

KHỔ HẠNH NHÂN
Semen Armeniacae amarum
Hạnh đắng, Hạnh nhân đắng

Hạt lấy ở quả chín được bỏ hạch cứng đã phơi hay sấy khô của cây Mơ (*Prunus armeniaca* L.), họ Hoa hồng (Rosaceae).

Mô tả
Hạt hình tim dẹt, dài 1 cm đến 1,9 cm, rộng 0,8 cm đến 1,5 cm, dày 0,5 cm đến 0,8 cm. Mặt ngoài màu nâu vàng đến màu nâu thẫm, một đầu hơi nhọn, một đầu tròn, 2 mặt bên không đối xứng. Ở đầu nhọn có rốn vạch ngắn nổi lên. Ở phía đầu tròn có một hợp điểm với nhiều vân màu nâu sẫm tỏa lên. Vỏ hạt mỏng, hạt có 2 lá mầm màu trắng kem, nhiều dầu béo. Không mùi, vị đắng.

Vi phẫu
Vỏ hạt có những tế bào đá hình gần tròn tập hợp thành khối, thành tế bào dày, rõ rệt và đồng nhất, đường kính 60 µm đến 90 µm. Nhìn phía trên, tế bào đá có hình tam giác tù, thành tế bào rất dày ở đỉnh.

Định tính
A. Nghiền vài hạt dược liệu với nước, ngửi thấy mùi đặc biệt của benzaldehyd.
B. Lấy 0,1 g bột dược liệu cho vào một ống nghiệm, nhỏ vào mấy giọt nước, treo một băng giấy nhỏ có tẩm acid picric bão hòa vào phía trên mặt dược liệu, nút kín ống nghiệm, ngâm ống trong cách thủy khoảng 10 min, băng giấy thuốc thử sẽ chuyển sang màu đỏ gạch.
Giấy tẩm acid picric bão hòa: Thấm ướt giấy bằng *dung dịch acid picric bão hòa (TT)*, để khô ngoài không khí. Trước khi dùng thấm ướt bằng *dung dịch natri carbonat 10 %*.

C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cloroform - ethyl acetat - methanol - acid formic (15 : 40 : 22 : 10), dùng sau khi pha và được để ở 5 °C đến 10 °C trong 12 h.
Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu vào bình Soxhlet, thêm một lượng *dicloromethan (TT)* thích hợp. Đun hồi lưu 2 h, bỏ dịch chiết dicloromethan. Lấy bã bay hơi hết dung môi đến khô, thêm 30 ml *methanol (TT)*, đun hồi lưu 30 min, để nguội, lọc.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan amygdalin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 2 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có chất đối chiếu, lấy 2 g Khổ hạnh nhân (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra để khô trong không khí, nhúng nhanh bản mỏng trong *dung dịch acid phosphomolybdic 8 % trong ethanol chứa acid sulfuric 15 %*. Sấy bản mỏng ở 110 °C đến khi các vết hiện rõ. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu hoặc phải có vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với vết của amygdalin trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 7,0 % (Phụ lục 12.13).

Không bị ôi
Nghiền vài hạt dược liệu với nước nóng, không được ngửi thấy mùi ôi của dầu.

Tạp chất
Không được có tạp chất và lẫn những mảnh vụn của vỏ quả trong (Phụ lục 12.11).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - dung dịch acid phosphoric 0,1 % (8 : 92).
Dung dịch chuẩn: Hòa tan amygdalin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 40 µg/ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,25 g bột dược liệu (qua rây có cỡ mắt rây 0,850 mm) vào một bình nón nút mài, thêm chính xác 25 ml *methanol (TT)*, đậy nút và cân. Siêu âm trong 30 min, để nguội và cân lại. Bổ sung khối lượng mất đi bằng *methanol (TT)*, lắc đều, lọc. Hút chính xác 5 ml dịch lọc vào bình định mức 50 ml, thêm *methanol 50 % (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 207 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch chuẩn, tiến hành sắc ký và tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột tính trên pic amygdalin phải không dưới 7000.
Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng amygdalin trong dược liệu dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{20}H_{27}NO_{11}$ của amygdalin chuẩn.
Dược liệu phải chứa không dưới 3,0 % amygdalin ($C_{20}H_{27}NO_{11}$), tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Quả thu hoạch vào mùa hạ, hái quả chín, loại bỏ phần thịt, đập vỡ vỏ hạch, tách lấy các hạt bên trong, phơi hay sấy khô.
Khổ hạnh nhân sống: Loại bỏ tạp chất, giã nát khi dùng.
Đàn khổ hạnh nhân: Lấy khổ hạnh nhân sạch, xóc trong nước sôi đến khi vỏ lụa hơi nhăn bỏ ra chà sát, loại bỏ vỏ lụa, phơi hoặc sấy khô, khi dùng giã nát.
Khổ hạnh nhân sao: Lấy đàn khổ hạnh nhân, cho vào chảo, sao nhỏ lửa đến khi chuyển thành màu vàng. Giã nát khi dùng.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Khổ, tân, ôn, ít độc. Qui vào các kinh phế, đại tràng.

Công năng, chủ trị
Chỉ khái bình suyễn, nhuận tràng thông tiện. Chủ trị: Ho suyễn do ngoại tà hoặc đờm ẩm, táo bón do huyết hư và thiếu tân dịch.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 4,5 g đến 9 g, dạng thuốc sắc, phối hợp trong các bài thuốc. Khi sắc các thuốc khác gần được mới cho khổ hạnh nhân vào.

Kiêng kỵ
Hư nhược mà ho không phải do tà khí thì không dùng, không dùng quá liều, kéo dài để tránh methemoglobin.

KHỔ SÂM (Lá và Cành)
Folium et Ramulus Crotonis tonkinensis

Lá và cành đã được phơi và sấy khô của cây khổ sâm (*Croton tonkinensis* Gagnep.), họ Thầu dầu (Euphorbiaceae).

Mô tả
Dược liệu là lá nguyên hay đã gãy vụn thành những mẩu dài khoảng 1 cm đến 3 cm, trộn lẫn với một số đoạn cành hay ngọn non có thể mang hoa, quả. Mảnh vụn của lá có hai màu rõ rệt: Mặt trên lục xám có rất nhiều đốm trắng lấm tấm, mặt dưới màu trắng bạc. Đoạn thân cành có màu xám trắng, thiết diện hơi tròn hoặc có khía dọc. Lá mọc so

le hay mọc chụm ở gần ngọn. Phiến hình mác, gân giữa và gân phụ hai bên nổi rõ, xuất phát từ gốc. Nơi tiếp giáp giữa cuống lá và phiến có hai tuyến nhỏ. Hoa mọc thành chùm. Quả nang, chia thành ba ngăn rõ rệt, mỗi ngăn chứa một hạt màu nâu.
Lá khô giòn, dễ bẻ, vò ra có mùi thơm nhẹ, vị hơi chát, se lưỡi.

Vi phẫu
Lá: Mặt cắt ngang gân giữa và một ít phiến lá ở hai bên có dạng lồi ở hai mặt trên và dưới. Biểu bì trên gần như không có lông, bề mặt của biểu bì dưới phủ đầy lông. Mỗi lông hình khiên được cấu tạo bởi nhiều tế bào dài, thành mỏng, trong suốt và hơi nhọn ở đầu, kết dính nhau tạo thành. Chân lông ngắn, có màu vàng nâu. Nhìn trên mặt biểu bì tách ra, lông có dạng hoa cúc đồng tiền gồm nhiều "cánh" tỏa tròn xếp trên một mặt phẳng với chân lông và vòng tròn nhỏ ở giữa. Xen lẫn giữa các tế bào biểu bì hình thường rải rác có tế bào biểu bì tiết to hơn, chứa chất tiết màu vàng nhạt đôi khi kết thành khối.
Phần gân giữa: Ở mặt trên và dưới rải rác có biểu bì tiết. Ngay sát biểu bì có mô dày góc ứng với phần lồi trên và dưới. Ở lá non, bó libe-gỗ có hình cung. Ở lá trưởng thành, bó libe-gỗ gồm nhiều đám rời xếp theo vòng tròn với gỗ ở vòng trong và libe ở vòng ngoài. Mô mềm của vùng gân giữa có nhiều tế bào chứa tinh thể calci oxalat hình cầu gai và ống nhựa mủ cắt ngang còn chứa chất nhựa dầu màu vàng nhạt.
Phần phiến lá: Sát biểu bì trên là một hàng mô dậu gồm các tế bào hình chữ nhật nhỏ và dài, rải rác có một số tế bào mô dậu to hơn chứa tinh thể calci oxalat hình cầu gai, bên dưới mô dậu là mô khuyết. Tinh thể calci oxalat có ít trong vùng mô dậu và có nhiều hơn trong vùng mô khuyết
Thân: Thiết diện hơi tròn hoặc có chỗ lồi lõm. Ngoài cùng là biểu bì mang lông hình khiên như ở lá. Dưới biểu bì là nhiều lớp mô dày góc, rải rác có ống nhựa mủ xen lẫn. Mô mềm vỏ và tủy có chứa nhiều tinh thể calci oxalat hình cầu gai, hạt tinh bột hình đa giác thường tụ thành đám và ống nhựa mủ xếp rải rác. Ở thân già có đám sợi trụ bì ở vùng sát bên ngoài libe cấp 1. Lớp libe cấp 2 khá dày với nhiều mạch rây to. Gỗ cấp 2 gồm mô mềm gỗ thẳng hàng và mạch gỗ to. Gỗ cấp 1 khá rõ với nhiều đám nhỏ hẳn vào vùng tủy. Libe trong tủy tụ thành từng đám to, thành có tế bào khá dày và nhỏ hơn tế bào mô mềm tủy.

Bột
Bột dược liệu có màu xanh lá, ít có xơ, mùi thơm nhẹ, vị hơi chát, se lưỡi. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì có mang nhiều lông hình khiên và lỗ khí kiểu song bào. Lông hình khiên còn nguyên vẹn hay vỡ thành nhiều mảnh. Mảnh mạch vạch, mạch mạng. Hạt tinh bột riêng lẻ hay tụ lại thành đám. Sợi thành dày, không thấy lỗ trao đổi. Mảnh mô mềm chứa tinh bột. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Khối nhựa màu vàng nhạt.

Định tính
A. Lấy khoảng 2 g bột dược liệu vào bình nón dung tích 100 ml, thêm 25 ml *dung dịch acid sulfuric 2 % (TT)*. Đun trong cách thủy ở 100 °C trong 10 min, lọc. Lấy khoảng 1 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm, thêm vài giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, xuất hiện màu nâu đen.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng Silica gel F_{254}.
Dung môi khai triển: Hexan - ethyl acetat (2 : 1).
Dung dịch thử: Lấy khoảng 1 g bột dược liệu cho vào bình nón, thêm 50 ml *methanol (TT)*, chiết siêu âm 30 min, lọc qua giấy lọc, cô dịch lọc còn khoảng 3 ml.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan ent-kauran (ent-7β-hydroxy-15-oxo kaur-16-en-18-yl acetat) chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 0,5 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có ent-kauran chuẩn, dùng 1 g bột Khổ sâm (mẫu chuẩn) chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí hoặc sấy nhẹ cho bay hết dung môi. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 254 nm. Phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*, sấy bản mỏng ở 110 °C trong khoảng 5 min đến khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu và cùng giá trị R_f với vết của ent-kauran trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu. Hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 4 h).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ thân cành
Không quá 20,0 %.

Tỷ lệ vụn nát
Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 5 % (Phụ lục 12.12).

Tro toàn phần
Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8)

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 8,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - nước cất hai lần (65 : 35).
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 1,0 g bột dược liệu (qua rây số 355) cho vào túi giấy lọc đặt vào bình Soxhlet. Thêm 200 ml *methanol (TT)* và chiết trong 3 h. Lấy dịch chiết, cất thu hồi dung môi tới cắn, hòa tan cắn bằng *methanol (TT)* và chuyển vào bình định mức 25 ml,

thêm *methanol (TT)* đến vạch, lắc đều. Lọc, bỏ 5 ml dịch lọc đầu, lọc tiếp qua màng lọc 0,45 µm.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 5 mg ent-kauran (ent-7β-hydroxy-15-oxo kaur-16-en-18-yl acetat) chuẩn, hoà tan bằng vừa đủ 5 ml *methanol (TT)* (dung dịch có nồng độ khoảng 1 mg/ml). Pha loãng dung dịch thu được thành các nồng độ 5; 10; 50; 100; 200 và 500 µg/ml, lọc qua màng lọc 0,45 µm, được dãy các dung dịch chuẩn.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (4,6 mm × 25 cm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) hoặc tương đương.
Tốc độ dòng: 0,4 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 233 nm.
Thời gian tiến hành sắc ký: 45 min.
Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký các dung dịch chuẩn. Lập đường chuẩn biểu thị sự liên quan giữa nồng độ ent-kauran và diện tích pic.
Tiến hành sắc ký dung dịch thử. Dựa vào diện tích pic ent-kauran thu được và đường chuẩn đã lập, tính hàm lượng ent-kauran trong dược liệu.
Hàm lượng ent-kauran ($C_{22}H_{32}O_4$) trong dược liệu không ít hơn 0,4 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch lá và ngọn non quanh năm, rửa sạch, cắt thành từng đoạn dài khoảng 1 cm đến 3 cm, phơi hoặc sấy nhẹ đến khô. Khi dùng sao vàng.

Bảo quản
Để nơi khô, mát

Tính vị, quy kinh
Vị đắng, hơi ngọt, hơi chát; tính mát. Quy vào các kinh can, đại tràng.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt, tiêu độc, sát trùng. Chủ trị: Ung nhọt, lở loét ngoài da, viêm mũi, tiểu ra máu, viêm loét dạ dày tá tràng, tiêu hóa kém.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 15 g đến 20 g, dạng thuốc sắc.
Dùng ngoài: Lấy nước sắc đặc để rửa, chữa mụn nhọt lở ngứa. Lượng thích hợp.

KHÔI (Lá)
Folium Ardisiae

Lá phơi hay sấy khô của cây Khôi *(Ardisia sylvestris* Pitard), họ Đơn nem (Myrsinaceae).

Mô tả
Lá hình mác thuôn, dài 25 cm đến 35 cm, rộng 6 cm đến 10 cm, cuống lá dài 1,5 cm đến 3 cm, phiến lá nguyên, mép có khía răng cưa rất nhỏ, đều và sít nhau, mặt trên màu xanh lục, mặt dưới màu tím có nhiều chấm nhỏ, hai mặt đều có lông mịn như nhung.

Vi phẫu
Gân chính: Lõm ở phía trên, lồi ở phía dưới. Trên lớp biểu bì có lông che chở đa bào, lông tiết chân đơn bào, đầu đa bào. Biểu bì là một lớp tế bào xếp đều đặn. Mô dày gồm những tế bào có thành dày nằm sát dưới biểu bì. Mô mềm gồm những tế bào hình tròn thành mỏng, rải rác có các ống tiết. Các bó libe-gỗ xếp gần sát nhau thành hình vòng cung; mỗi bó libe-gỗ có libe ở ngoài, gỗ ở trong. Mô mềm ruột là những tế bào hình tròn to thành rất mỏng, rải rác có những ống tiết.
Phiến lá: Dưới lớp biểu bì trên là một hàng tế bào mô dậu, mô mềm khuyết gồm các tế bào nhỏ thành mỏng, xếp không đều.

Bột
Bột màu nâu xám, mùi thơm, vị ngọt mát. Có nhiều lông che chở đa bào, lông tiết chân đơn bào, đầu đa bào, mảnh mô mềm, lỗ khí, có nhiều mạch xoắn, tinh thể calci oxalat hình cầu gai.

Định tính
A. Lấy 3 g bột dược liệu, thêm 20 ml *nước cất*, đun sôi trong 2 min đến 3 min, lọc qua giấy lọc, lấy dịch lọc làm các phản ứng sau:
Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid (TT)*, sẽ xuất hiện màu xanh đen.
Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 2 giọt *dung dịch gelatin 1 % (TT)*, sẽ có tủa bông trắng.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}
Dung môi khai triển: Ethyl acetat - cloroform - acid formic (3 : 3 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 3 g bột dược liệu cho vào túi giấy lọc và đặt vào bình Soxhlet, loại tạp bằng *ether dầu hỏa (40 °C đến 60 °C) (TT)* đến khi dịch chiết không còn màu, lấy bã dược liệu, chiết bằng 30 ml *ethyl acetat (TT)* trong 2 h, lấy dịch chiết, thu hồi dung môi tới cắn khô. Hòa tan cắn trong 1 ml *methanol (TT)* được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Dùng 3 g bột lá Khôi (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 10 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT).* Sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 2 g, 100 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 20,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không được có đất, đá, sỏi (Phụ lục 12.11).

Kim loại nặng
Không quá 2,0 phần triệu Pb; 0,5 phần triệu Cd; 0,5 phần triệu Hg; 1,0 phần triệu As (Phụ lục 9.4.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 10,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Sau khi thu hái, rửa sạch, phơi khô. Khi dùng, cắt đoạn dài 3 cm đến 5 cm và vi sao.

Bảo quản
Để nơi khô, thoáng, tránh ẩm.

Tính vị, quy kinh
Vị nhạt, tính bình. Vào kinh tỳ, vị

Công năng, chủ trị
Giáng vị khí, hòa vị, chỉ thống. Chủ trị: Đau dạ dày thể đa toan, nuốt chua, ợ hơi.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 12 g đến 16 g, dưới dạng thuốc sắc, hoặc thuốc bột. Ngoài ra còn phối hợp lá Khôi với lá Vối, lá Hòe nấu nước tắm trị ngứa lở.
Ghi chú: Loại lá Khôi có hai mặt đều xanh, không dùng.

KHƯƠNG HOẠT (Thân rễ và Rễ)
Rhizoma et Radix Notopterygii

Thân rễ và rễ đã phơi khô của cây Khương hoạt (*Notopterygium incisum* Ting ex H. T. Chang) hoặc Khương hoạt lá rộng (*Notopterygium forbesii* Boiss.), họ Hoa tán (Apiaceae).

Mô tả
Khương hoạt: Thân rễ hình trụ, hơi cong queo, dài 4 cm đến 13 cm, đường kính 0,6 cm đến 2,5 cm, đầu thân rễ có sẹo gốc thân khí sinh. Mặt ngoài màu nâu đến nâu đen. Nơi bị tróc vỏ ngoài màu vàng, khoảng giữa các đốt ngắn, có vòng mấu nhỏ, gần liền nhau, tựa như hình con tằm (quen gọi là Tàm khương), hoặc khoảng giữa có các đốt kéo dài dạng đốt tre (gọi là Trúc tiết khương). Trên đốt có nhiều sẹo rễ con, dạng điểm hoặc dạng bướu và vảy, màu nâu. Thể nhẹ, chất giòn xốp, dễ bẻ gãy. Mặt bẻ không phẳng, có nhiều kẽ nứt. Vỏ màu từ vàng nâu đến nâu tối, có chất dầu, có điểm chấm dầu, màu nâu. Gỗ màu trắng vàng, tia ruột xếp theo hướng xuyên tâm rõ. Lõi (ruột) màu vàng đến vàng nâu. Mùi thơm, vị hơi đắng và cay.
Khương hoạt lá rộng (Khoan diệp khương hoạt): Rễ dạng chùy tròn, có vân nhăn dọc và lỗ vỏ dọc, mặt ngoài màu nâu, nơi gần thân rễ, có vân tròn sát liền nhau, dài 8 cm đến 15 cm, đường kính 1 cm đến 3 cm (quen gọi là điều khương). Thân rễ thô, hình trụ to, dạng có đốt, có mấu không đều, đỉnh có nhiều vết gốc thân khí sinh và rễ tương đối nhỏ còn sót lại (gọi là Đại đầu khương), chất giòn, xốp, dễ bẻ, mặt bẻ hơi phẳng: Vỏ màu nâu nhạt. Gỗ màu trắng vàng. Mùi nhẹ, vị nhạt.
Dược liệu thái lát: Các lát cắt ngang hoặc xiên có hình gần tròn, không đều. Bên ngoài màu nâu tới đen, bề mặt lát có màu nâu ở phía ngoài, trắng ngà ở phần gỗ, đôi khi thấy các tia xuyên tâm. Chất nhẹ và giòn. Mùi thơm, vị hơi đắng và cay.

Bột
Màu nâu, mùi thơm hắc, vị đắng. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh bần, tế bào chứa tinh dầu, khối tinh dầu màu vàng, ống tiết.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol (8 : 2).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 5 ml *methanol (TT)*, siêu âm 20 min, để lắng và dùng lớp dung dịch ở phía trên làm dịch chấm sắc ký.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan nodakenin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 0,5 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có nodakenin chuẩn, lấy 1 g bột Khương hoạt (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 4 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết của nodakenin trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu, hoặc có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 15,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần
Không quá 8,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 3,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 15,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Định lượng

Tinh dầu
Tiến hành theo phương pháp "Định lượng tinh dầu trong dược liệu" (Phụ lục 12.7). Lấy 30 g dược liệu, thêm 500 ml nước, cất trong 5 h.

Hàm lượng tinh dầu trong dược liệu: Không ít hơn 1,4 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Notopterol và isoimperatoin
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - nước (44 : 56), điều chỉnh tỷ lệ nếu cần thiết.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,4 g bột dược liệu (qua rây số 355) vào bình nón nút mài, thêm chính xác 50 ml *methanol (TT)*, đậy nút bình và cân xác định khối lượng. Lắc siêu âm trong 30 min, để nguội và cân lại, bổ sung *methanol (TT)* để được khối lượng ban đầu, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan notopterol chuẩn và isoimperatorin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ lần lượt chính xác khoảng 60 µg/ml và 30 µg/ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 310 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký dung dịch chuẩn và ghi sắc ký đồ. Tính toán số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột tính trên pic notopterol phải không được dưới 5000.
Tiến hành sắc ký lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{21}H_{22}O_5$ của notopterol chuẩn và $C_{16}H_{14}O_4$ của isoimperatorin chuẩn, tính hàm lượng tổng cộng của notopterol và isoimperatorin trong dược liệu.
Dược liệu phải chứa không ít hơn 0,4 % tổng lượng notopterol ($C_{21}H_{22}O_5$) và isoimperatorin ($C_{16}H_{14}O_4$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa xuân, mùa thu, đào lấy rễ và thân rễ, loại bỏ rễ con và đất, phơi hoặc sấy khô hoặc thái lát dày, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản
Để nơi khô, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Tân, khổ, ôn. Vào các kinh bàng quang, can, thận.

Công năng, chủ trị
Tán phong hàn, trừ phong thấp, chỉ thống. Chủ trị: Cảm mạo phong hàn (mình đau không có mồ hôi), phong chạy khắp người, mình, chân, tay, các khớp đau nhức nặng nề, thiên về đau ở nửa người trên.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán, thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Chứng thực nhiệt, hư nhiệt không nên dùng.

KIM ANH (Quả)

Fructus Rosae laevigatae

Quả già đã phơi hay sấy khô của cây Kim anh (*Rosa laevigata* Michx.). Họ Hoa hồng (Rosaceae).

Mô tả
Quả giả (đế hoa lõm biến thành) bổ dọc, hình bầu dục, dài 2 cm đến 4 cm, rộng 0,3 cm đến 1,2 cm. Mép cắt thường quăn gập lại. Mặt ngoài màu da cam, nâu đỏ hoặc nâu sẫm bóng, hơi nhăn nheo, có vết của gai đã rụng. Đầu trên mang vết tích của lá đài và nhị. Đầu dưới còn sót lại một đoạn cuống ngắn. Phần lớn đã được nạo sạch hạt (quả đóng) và lông. Quả đóng có góc, màu vàng nâu nhạt, rất cứng, có nhiều lông tơ. Vị hơi ngọt, chát.

Định tính
Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 15 ml *nước cất*, đun cách thủy 5 min, lắc đều, lọc. Dùng dịch lọc để tiến hành các phản ứng sau:
Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 0,5 ml *dung dịch natri hydrocarbonat bão hòa (TT)*, thêm một giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*. Lắc, dung dịch có màu tím đậm. Thêm 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)*, dung dịch mất màu.
Lấy 0,5 ml dịch lọc, thêm 1 ml *thuốc thử Fehling (TT)*, đun sôi, xuất hiện tủa đỏ gạch.
Nhỏ 1 giọt dịch lọc trên phiến kính, thêm 2 giọt *dung dịch phenylhydrazin hydroclorid 10 % (TT)*, đậy lá kính lên. Vài phút sau soi kính hiển vi thấy có tinh thể hình kim màu vàng.
Lắc mạnh 2 ml dịch lọc trong 1 min, xuất hiện nhiều bọt.

Độ ẩm
Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 3,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Tỷ lệ quả không nạo sạch "Hạt" và "Lông": Không quá 3,0 %.
Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Chế biến
Thu hái vào tháng 10 đến 11, khi 'quả' chín tới biến thành màu đỏ, phơi khô, loại bỏ gai cứng.

Bào chế
Kim anh: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, sấy khô.
Kim anh nhục (thịt 'quả' Kim anh): Lấy quả Kim anh sạch, ngâm mềm, bổ đôi, nạo hết 'hạt' (quả đóng) và lông ở trong, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản
Để nơi khô, thoáng, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Toan, cam, sáp, bình. Vào các kinh phế, thận, bàng quang.

Công năng, chủ trị
Cố tinh sáp niệu, sáp trường, chỉ tả. Chủ trị: Di tinh, hoạt tinh, đi niệu, niệu tần (tiểu nhiều lần), băng kinh, rong huyết, ỉa chảy, lỵ lâu ngày.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Có thấp nhiệt, tiểu tiện bí, rất không nên dùng.

KIM NGÂN (Cuộng)

Caulis cum folium Lonicerae

Cành và lá phơi hay sấy khô của cây Kim ngân (*Lonicera japonica* Thunb.) và một số loài khác cùng chi như *Lonicera dasystyla* Rehd.; *Lonicera confusa* DC. và *Lonicera cambodiana* Pierre ex Danguy, họ Kim ngân (Caprifoliaceae).

Mô tả
Đoạn thân hình trụ dài 2 cm đến 5 cm, đường kính 2 cm đến 0,5 cm, vỏ ngoài màu nâu nhạt đến nâu sẫm, bên trong màu vàng nhạt, lõi xốp hoặc rỗng. Lá khô nguyên dạng hình trứng, mọc đối, dài 3 cm đến 5 cm, cuống ngắn, cả hai mặt có lông mịn. Mùi thơm nhẹ, vị hơi đắng.

Vi phẫu
Thân: Mặt cắt ngang có thiết diện tròn. Biểu bì gồm một lớp tế bào nhỏ, đều đặn, mang nhiều lông che chở. Mô dày gồm 2 đến 3 hàng tế bào thành dày xếp sát dưới lớp biểu bì. Mô mềm vỏ gồm những tế bào hình tròn, thành mỏng. Tế bào không đều có thành dày hóa gỗ tạo thành một vòng phía trong mô mềm vỏ. Libe tạo thành vòng liên tục. Các mạch gỗ xếp thành hàng, các hàng tập hợp lại thành bó. Mô mềm ruột gồm các tế bào hình đa giác tròn, có thành hóa gỗ nhiều, tế bào càng ở trong kích thước càng lớn dần. Cành già thường có khuyết ở trung tâm.
Gân giữa lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới gồm một lớp tế bào xếp đều đặn thành ngoài hóa cutin mang nhiều lông che chở. Mô dày xếp sát biểu bì trên và biểu bì dưới gồm 3 đến 4 lớp tế bào hình đa giác tròn có thành dày ở góc. Mô mềm cấu tạo bởi các tế bào hình đa giác, có kích thước lớn, thành mỏng, rải rác mang tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Bó libe-gỗ ở giữa gân lá. Libe tạo thành vòng bao quanh gỗ.
Phiến lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới gồm một hàng tế bào phía ngoài hóa cutin, rải rác mang lông che chở. Mô dậu gồm các tế bào hình chữ nhật xếp vuông góc với biểu bì trên.

Bột
Bột màu nâu nhạt, mùi thơm nhẹ, vị hơi đắng. Lông che chở đơn bào, thành dày, nhẵn, chân lông hơi phình. Mảnh biểu bì mang lông che chở. Mạch dẫn có các loại mạch vạch, mạch điểm, mạch mạng, mạch xoắn. Hạt tinh bột đơn, kép đôi hay kép ba. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Mảnh mô mềm phiến lá. Mảnh biểu bì mang lỗ khí.

Định tính
A. Lấy 10 g bột dược liệu cho vào bình nón có dung tích 100 ml, thêm 20 ml *ethanol 90 % (TT)*. Lắc kỹ, đun cách thủy trong 15 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến khi còn khoảng 5 ml. Lấy 1 ml dịch chiết vào ống nghiệm, thêm 2 giọt đến 3 giọt *acid hydrocloric (TT)* và một ít bột *magnesi (TT)* hoặc bột *kẽm (TT)*, dung dịch chuyển từ màu vàng sang đa cam đến đỏ.
B. Lấy 1 g bột dược liệu cho vào ống nghiệm, thêm 10 ml *nước cất*, lắc nhẹ trong 5 min, lọc. Cho vào 2 ống nghiệm, mỗi ống 2 ml dịch lọc. Thêm 2 giọt đến 3 giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)* vào ống nghiệm thứ nhất, dung dịch có màu vàng đậm hơn so với ống nghiệm thứ hai không thêm dung dịch natri hydroxyd 10 %.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel $60F_{254}$.
Dung môi khai triển: Butyl acetat - acid formic - nước (7 : 2,5 : 2,5).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu thêm 20 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm trong 20 min, để nguội, lọc. Bốc hơi dịch lọc trên cách thủy đến cắn. Hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan acid clorogenic chuẩn trong *ethanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml. Nếu không có acid clorogenic chuẩn thì dùng 1 g bột Kim ngân cuộng (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng từ ngoại ở bước sóng 366 nm, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
D. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel $60F_{254}$.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - nước (65 : 35 : 10). Lắc kỹ, lấy lớp dưới.
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu thêm 10 ml *methanol 50 % (TT)*, lắc siêu âm trong 30 min, để nguội, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Kim ngân cuộng (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi khai triển, lấy bản mỏng ra khỏi bình sắc ký, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 0,5 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không được ít hơn 12,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 50 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Hái cành mang lá, loại bỏ tạp chất, cắt khúc dài 2 cm đến 5 cm, phơi trong bóng râm hay sấy nhẹ đến khô.

Bảo quản
Để nơi khô mát, tránh sâu mọt.

Tính vị, quy kinh
Vị ngọt, hơi đắng, tính hàn. Vào kinh phế, vị.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt, giải độc. Chủ trị: Ho do phế nhiệt, ban sởi, mụn nhọt, mày đay, lở ngứa, nhiệt độc, lỵ.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 15 g đến 30 g, dạng thuốc sắc.

KIM NGÂN (Hoa)

Flos Lonicerae

Nụ hoa có lẫn một số hoa đã phơi hay sấy khô của cây Kim ngân (*Lonicera japonica* Thunb.) và một số loài khác cùng chi như *Lonicera dasystyla* Rehd.; *Lonicera confusa* DC. và *Lonicera cambodiana* Pierre, họ Kim ngân (Caprifoliaceae).

Mô tả
Nụ hoa hình ống hơi cong queo, dài 1 cm đến 5 cm, đầu to, đường kính khoảng 0,2 cm đến 0,5 cm. Mặt ngoài màu vàng đến nâu, phủ đầy lông ngắn. Phía dưới ống tràng có 5 lá đài nhỏ, màu lục. Bóp mạnh đầu nụ sẽ thấy 5 nhị và 1 vòi nhụy. Mùi thơm nhẹ, vị hơi đắng.
Hoa đã nở dài từ 2 cm đến 5 cm, tràng chia thành 2 môi cuộn ngược lại. Môi trên xẻ thành 4 thùy, môi dưới nguyên. Nhị và vòi nhụy thường thò ra ngoài tràng hoa.

Bột
Bột màu vàng nâu nhạt, có mùi thơm nhẹ. Hạt phấn hình cầu, đường kính 53 µm đến 62 µm, màu vàng, có 3 lỗ rãnh nảy mầm rõ, bề mặt có nhiều gai nhỏ, thưa. Lông tiết gồm 2 loại: Lông tiết đầu hình chùy cấu tạo bởi 20 tế bào đến 30 tế bào và lông tiết đầu hình cầu gồm khoảng 10 tế bào. Lông che chở đơn bào cũng gồm 2 loại: Một loại thành dầy, nhẵn hoặc có những chấm lồi nhỏ, một loại thành mỏng, vết lồi rất rõ. Mảnh biểu bì cánh hoa có lông tiết, lông che chở.

Định tính
A. Lấy 5 g bột dược liệu cho vào bình nón có dung tích 100 ml, thêm 20 ml *ethanol 90 % (TT)*. Lắc kỹ, đun cách thủy trong 15 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến khi còn khoảng 5 ml. Lấy 1 ml dung dịch vào ống nghiệm, thêm 2 giọt đến 3 giọt *dung dịch acid hydrocloric 10% (TT)* và một ít bột *magnesi (TT)* hoặc bột *kẽm (TT)*, dung dịch chuyển từ màu vàng sang da cam đến đỏ.
B. Lấy 1 g bột dược liệu cho vào ống nghiệm, thêm 10 ml *nước cất*, lắc nhẹ trong 5 min, lọc. Cho vào 2 ống nghiệm, mỗi ống 2 ml dịch lọc. Thêm 2 giọt đến 3 giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)* vào ống nghiệm thứ nhất, dung dịch có màu vàng đậm hơn so với ống nghiệm thứ hai không thêm dung dịch natri hydroxyd 10 %.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel $60F_{254}$.
Dung môi khai triển: Butyl acetat - acid formic - nước (7 : 2,5 : 2,5).
Dung dịch thử: Lấy 0,2 g bột dược liệu thêm 10 ml *methanol (TT)* lắc siêu âm trong 20 min, để nguội, lọc. Bốc hơi dịch lọc trên cách thủy đến cắn. Hòa tan cắn trong 2 ml *ethanol (TT)*.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan acid clorogenic chuẩn trong *ethanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Lấy 0,2 g bột Kim ngân hoa (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu hoặc có vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric
Không quá 1,5 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Tỷ lệ cành lá: Không quá 2 %.
Tạp chất khác: Không quá 0,5 %.

Tỷ lệ hoa đã nở
Không quá 10 %. Cân 100 g hoa Kim ngân, chọn riêng hoa đã nở, cân và tính tỷ lệ phần trăm.

Chất chiết được trong dược liệu
Không được ít hơn 29,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10).
Dùng *ethanol 96 %* làm dung môi.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - dung dịch acid phosphoric 0,4 % (13 : 87).
Dung dịch chuẩn: Hòa tan acid clorogenic chuẩn trong *methanol 50 % (TT)* để được dung dịch có nồng độ 0,15 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,5 g bột dược liệu (qua rây số 355) vào bình nón nút mài dung tích 100 ml, thêm chính xác 50,0 ml *methanol 50 % (TT)*, đậy nắp, cân xác định khối lượng. Lắc siêu âm trong 30 min, để nguội, cân lại và bổ sung khối lượng mất đi bằng *methanol 50 % (TT)* nếu cần, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 327 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký dung dịch chuẩn và ghi sắc ký đồ. Số đĩa lý thuyết của cột tính theo pic của acid clorogenic không được ít hơn 1000.
Tiến hành sắc ký dung dịch thử. Ghi sắc ký đồ. Tính hàm lượng acid clorogenic trong dược liệu dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{18}O_9$ của acid clorogenic chuẩn. Hàm lượng acid clorogenic ($C_{16}H_{18}O_9$) trong dược liệu không được ít hơn 1,5 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Hái nụ hoa có lẫn ít hoa đã nở, loại bỏ tạp chất, phơi trong bóng râm hay sấy nhẹ đến khô.

Bảo quản
Để nơi khô mát, tránh sâu mọt.

Tính vị, quy kinh
Cam, hàn. Vào các kinh phế, vị, tâm.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt, giải độc, tán phong nhiệt. Chủ trị: Ung nhọt, ban sởi, mày đay, lở ngứa, cảm mạo phong nhiệt, ôn bệnh phát nhiệt, nhiệt độc huyết lị.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 12 g đến 16 g, dạng thuốc sắc hoặc hãm. Có thể ngâm rượu, làm hoàn tán.

Kiêng kỵ
Tỳ vị hư hàn ỉa chảy, hoặc vết thương, mụn nhọt có mủ loãng do khí hư; mụn nhọt đã có mủ, vỡ loét không nên dùng.

KIM TIỀN THẢO

Herba Desmodii styracifolii

Đồng tiền lông, Vảy rồng, Mắt trâu

Phần trên mặt đất đã phơi hay sấy khô của cây Kim tiền thảo [*Desmodium styracifolium* (Osbeck.) Merr.], họ Đậu (Fabaceae).

Mô tả
Dược liệu có thân hình trụ, cắt ngắn thành đoạn dài 3 cm đến 5 cm, đường kính khoảng 0,2 cm đến 0,3 cm, phủ đầy lông mềm, ngắn, màu vàng. Chất hơi giòn, mặt bẻ lởm chởm. Lá đơn hay kép mọc so le, lá kép gồm 3 lá chét, tròn hoặc thuôn, đường kính 2 cm đến 4 cm, đỉnh tròn, tù, gốc hình tim hoặc tù, mép nguyên, mặt trên màu lục hơi vàng hoặc màu lục xám, nhẵn; mặt dưới hơi trắng, có lông. Gân hình lông chim, cuống dài 1 cm đến 2 cm, hai lá kèm hình mũi mác dài khoảng 0,8 cm. Mùi thơm.

Vi phẫu
Lá: Có gân lồi ở mặt dưới. Tế bào biểu bì của gân chính có kích thước nhỏ hơn so với tế bào ở phiến lá. Mặt trên của phiến lá nhẵn, mặt dưới mang nhiều lông che chở và lông tiết. Lông che chở có loại đa bào, dài (chân có 1 đến 2 tế bào rất ngắn, tế bào ở đầu rất dài), cũng có loại đơn bào ngắn hơn và đầu thường cong hình móc câu. Lông tiết đa bào có chân phình to gồm nhiều tế bào, phía trên lông thon nhỏ, đầu tù. Mô mềm dậu và mô mềm ở 2 bên phiến lá hơi lấn sâu vào phần gân lá khá đặc biệt. Lớp mô dày góc nằm sát biểu bì trên và dưới của gân chính. Đám mô cứng nhỏ có hình tròn rất đặc sắc bao bọc bó libe-gỗ phụ, nằm sát lớp mô dày trên. Bó libe-gỗ chính hình cung, sát libe là một vòng mô cứng, đa số phát triển thành sợi.
Thân: Mặt cắt gần như tròn. Biểu bì gồm những tế bào khá nhỏ mang nhiều lông che chở, lông tiết (giống như ở lá). Mô dày phiến gồm 2 đến 3 lớp tế bào. Mô mềm vỏ, thỉnh thoảng có những khoảng gian bào, thành hơi nhăn. Ở vùng sát với mô cứng thường có chứa tinh thể calci oxalat hình khối lập phương. Mô cứng thường hóa sợi tạo thành cung phủ lên bó libe. Bó libe-gỗ gồm libe cấp 1 là những tế bào nhỏ có thành mỏng, xếp lộn xộn, có nhiều quản bào. Libe cấp 2 gần như liên tục gồm những tế bào xếp đồng tâm và xuyên tâm khá đều đặn. Gỗ tạo từng bó gồm gỗ cấp 2 và gỗ cấp 1, xen kẽ giữa những tia gỗ. Tầng sinh libe-gỗ khá liên tục. Mô mềm tủy rộng, cấu tạo bởi những tế bào hình nhiều cạnh, rải rác có tinh thể calci oxalat hình khối lăng trụ (nằm sát phần bị nhuộm màu xanh với thuốc nhuộm carmin-lục iod) rất đặc biệt.

Bột
Bột có màu lục nhạt, mùi thơm, vị ngọt nhạt. Soi kính hiển vi thấy: Lông che chở đa bào gồm chân có 1 đến 2 tế bào rất ngắn, phần trên của lông rất dài, có đầu nhọn; lông che chở đơn bào ngắn, đầu nhọn hay có móc hình câu. Lông tiết đa bào chân phình to gồm 2 hàng tế bào, mỗi hàng khoảng 4 đến 5 tế bào với chất tiết màu vàng, phần trên của lông thuôn dài, đầu tù. Mảnh biểu bì mang lông che chở và lỗ chân lông bị gãy còn sót lại, có hình tròn. Lỗ khí kiểu song bào (1 to, 1 nhỏ) thường nằm rời. Mảnh biểu bì dưới của lá mang đầy lông che chở. Mảnh biểu bì thân gồm những tế bào dài, thành mỏng bên trong thường có rải rác vết sắc tố màu nâu, vàng nâu. Thỉnh thoảng có tế bào mô cứng có thành dày. Nhiều bó sợi bị tua ra. Mảnh mạch vạch, mạch xoắn, mạch điểm.

Định tính
A. Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 50 ml *nước*, đun nóng trong cách thủy trong 15 min, thỉnh thoảng lắc nhẹ. Để nguội, lọc qua giấy lọc, bốc hơi dịch lọc đến cắn. Hòa tan cắn bằng 5 ml *ethanol* 96 % *(TT)* được dung dịch A.

Lấy 2 ml dung dịch A, thêm vào một ít bột *magnesi (TT)* và 3 giọt đến 5 giọt *acid hydrocloric (TT)*, sẽ xuất hiện màu hồng đến đỏ.

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

Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.

Dung môi khai triển: *Ethyl acetat - acid formic - acid acetic - nước* (100 : 11 : 11 : 26).

Dung dịch thử: Lấy 3 g bột dược liệu cho vào bình nón nút mài 100 ml, thêm 50 ml *methanol (TT)*. Lắc siêu âm trong 30 min, lọc qua giấy lọc, cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 30 ml *nước* nóng rồi chuyển vào bình gạn, để nguội, thêm 30 ml *cloroform (TT)*, lắc kỹ. Gạn bỏ dịch chiết cloroform (lớp dưới), lớp nước được lắc hai lần với *n-butanol (TT)*, mỗi lần 30 ml. Gộp các dịch chiết n-butanol, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa tan cắn trong 2 ml *ethanol (TT)* được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 3 g Kim tiền thảo (mẫu chuẩn). Tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra để khô trong không khí, phun *dung dịch nhôm clorid 3 % (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Tro toàn phần không quá 8,5 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất

Thân già và rễ: Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Không được dưới 8,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 95 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa hạ, mùa thu, rửa sạch dược liệu, loại bỏ tạp chất, cắt thành đoạn ngắn, phơi khô.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, cắt đoạn và phơi khô.

Bảo quản

Để nơi khô ráo, thoáng mát.

Tính vị, quy kinh

Cam, hàm, lương. Quy vào các kinh can, đơn, thận, bàng quang.

Công năng, chủ trị

Thanh thấp nhiệt, lợi tiểu. Chủ trị: Nhiệt lâm, thạch lâm, phù thũng, hoàng đản.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 15 g đến 30 g. Dạng thuốc sắc. Thường phối hợp với một số vị thuốc khác.

KINH GIỚI

Herba Elsholtziae ciliatae

Bán biên tô, Tiểu kinh giới, Bài hương thảo

Đoạn ngọn cành mang lá, hoa còn tươi hay đã phơi hay sấy khô của cây Kinh giới [*Elsholtzia ciliata* (Thunb) Hyland.], họ Bạc hà (Lamiaceae).

Mô tả

Đoạn thân hoặc cành dài 30 cm đến 40 cm, thân vuông, có lông mịn. Lá mọc đối hình trứng, dài 3 cm đến 9 cm, rộng 2 cm đến 5 cm, mép có răng cưa, gốc lá dạng nêm, men xuống cuống lá thành cánh hẹp, cuống dài 2 cm đến 3 cm. Cụm hoa là một xim co ở đầu cành, dài 2 cm đến 7 cm, rộng 1,3 cm. Hoa nhỏ, không cuống, màu tím nhạt (khi còn tươi). Quả bế nhỏ, thuôn, nhẵn bóng, dài 0,5 cm. Mùi thơm đặc biệt, vị cay.

Vi phẫu

Thân: Biểu bì gồm một hàng tế bào hình chữ nhật, có lông che chở đa bào gồm 5 tế bào đến 7 tế bào và lông tiết chân đơn bào đầu đa bào. Mô dày sát biểu bì, ở những chỗ lồi của thân lớp mô dày thường dày hơn. Mô mềm vỏ. Libe cấp 2. Tầng sinh libe-gỗ. Gỗ cấp 2 tạo thành một vòng liên tục. Mô mềm ruột.

Bột

Bột màu nâu đen, mùi thơm, vị cay. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì lá có nhiều lỗ khí và lông tiết, tế bào bạn của lỗ khí giống tế bào biểu bì, thành tế bào ngoằn ngèo. Mảnh thân tế bào hình đa giác. Hạt phấn hoa màu vàng. Mảnh mạch mạng, mạch vạch.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % đối với dược liệu khô (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Đoạn ngọn cành dài quá 40 cm: Không quá 4,0 %.

Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Chế biến

Lúc trời khô ráo, cắt lấy đoạn cành có nhiều lá và hoa, đem phơi hoặc sấy ở 40 °C đến 50 °C đến khô.

Bào chế

Kinh giới rửa sạch, thái ngắn 2 cm đến 3 cm để dùng sống, có thể sao qua hoặc sao cháy cho bớt thơm cay.

Bảo quản

Để nơi khô mát, trong bao bì kín.

Tính vị, quy kinh
Tân, vi khổ. ôn. Vào các kinh can, phế.

Công năng, chủ trị
Giải biểu, khu phong, chỉ ngứa, tuyên độc thấu chẩn. Chủ trị: Cảm mạo, phong hàn, phong nhiệt, phong cấm khẩu, mụn nhọt, dị ứng, sởi mọc không tốt.
Sao đen: Chỉ huyết. Chủ trị: Rong huyết, băng huyết, thổ huyết, đại tiện ra máu.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 10 g đến 16 g dược liệu khô, hoặc 30 g dược liệu tươi, dưới dạng thuốc sắc hoặc hãm. Dùng ngoài, lượng thích hợp, sao vàng chà sát da khi bị dị ứng ngứa.

Kiêng kỵ
Biểu hư, tự ra mồ hôi nhiều, không có ngoại cảm, phong hàn không nên dùng.

LÁ HEN
Folium Calotropis
Bông bông, Nam tỳ bà

Lá phơi hay sấy khô của cây Lá hen [*Calotropis gigentea* (L.) Dryand. ex Ait. f.], họ Thiên lý (Asclepiadaceae).

Mô tả
Lá có cuống ngắn khoảng 0,5 cm, lá to hình thuôn dài, dài từ 12 cm đến 20 cm, rộng 5 cm đến 10 cm, hai mặt đều có lông trắng, mặt dưới nhiều hơn. Mặt dưới lá có gân nổi rõ; gân giữa rộng và có một tuyến lớn ở phía gần cuống lá. Xung quanh tuyến có lông màu hung đỏ, hơi cứng và thô.

Vi phẫu
Phần gân lá: Phía trên phẳng, phía dưới lồi. Biểu bì trên và dưới là một lớp tế bào nhỏ xếp đều đặn, có lông che chở đa bào (biểu bì dưới có nhiều lông hơn). Mô dày nằm dưới biểu bì gồm 2 đến 3 lớp tế bào hình tròn, thành dày. Tiếp đến là mô mềm, gồm những tế bào lớn hơn, hình trứng hay hình đa giác, có thành mỏng, kích thước không đều nhau, có ống nhựa mủ nằm rải rác trong mô mềm, hoặc trong mạch gỗ. Bó libe-gỗ gân chính gồm có cung gỗ gồm những mạch gỗ, xếp thành dãy, bao bọc bởi vòng libe. Rải rác có tinh thể calci oxalat hình cầu gai đường kính 0,03 mm đến 0,04 mm, trong tế bào mô mềm.
Phần phiến lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới gồm một hàng tế bào nhỏ, xếp thành hàng đều đặn, rải rác có lỗ khí. Trên biểu bì, mang lông che chở đa bào. Phía dưới biểu bì trên là mô dậu, gồm 3 đến 4 hàng tế bào hình chữ nhật, xếp vuông góc với mặt lá. Mô mềm, gồm những tế bào thành mỏng, xếp sít nhau, để hở những khoảng gian bào. Rải rác trong phiến lá có mạch xoắn, bó libe-gỗ, libe ở ngoài, gỗ ở trong.

Bột
Có màu lục nhạt, vị đắng hơi chát. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì có nhiều lỗ khí và lông che chở đa bào. Nhiều lông che chở đa bào thành mỏng, trong suốt. Nhiều mảnh mạch xoắn, các mảnh mạch vạch. Các tinh thể calci oxalat hình cầu gai nằm rải rác.

Định tính
A. Lấy khoảng 20 g bột thô dược liệu, cho vào bình nón 250 ml. Thêm 70 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*. Đun sôi 10 min. Lọc, chuyển dịch lọc vào bình gạn dung tích 100 ml. Kiềm hóa dịch lọc bằng *dung dịch amoniac 25 % (TT)* tới pH 10. Chiết alcaloid bằng cách lắc với *cloroform (TT)* 3 lần, mỗi lần 10 ml. Gộp dịch chiết cloroform, rồi lắc với *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* 3 lần, mỗi lần 5 ml. Cô dịch chiết acid còn khoảng 3 ml, sau đó cho vào 3 ống nghiệm nhỏ, mỗi ống 1 ml. Tiến hành các phản ứng sau:
Ống 1: Thêm 2 giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)*, xuất hiện tủa vàng cam.
Ống 2: Thêm 2 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)*, xuất hiện tủa nâu.
Ống 3: Thêm 2 giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, xuất hiện tủa trắng.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - amoniac (50 : 9 : 1).
Dung dịch thử: Lấy khoảng 5 g bột thô dược liệu, loại tạp bằng ether dầu hỏa trong bình Soxhlet, tãi bã dược liệu để bay hết dung môi. Thấm ẩm dược liệu bằng *dung dịch amoniac 10 % (TT)*. Thêm 30 ml *cloroform (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 15 min, để nguội, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cắn.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 5 g bột Lá hen (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí ở nhiệt độ phòng, phun *thuốc thử vanilin - acid sulfuric (TT)*. Sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng vị trí và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Tro toàn phần
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Chế biến
Thu hái vào tháng 9 đến tháng 11. Lau sạch phấn trắng ở mặt sau lá. Phơi khô. Khi dùng rửa sạch, để ráo nước, thái chỉ, sao qua hoặc tẩm mật ong, sao vàng.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để ở nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh
Vị đắng, hơi chát, tính mát. Vào kinh phế.

Công năng, chủ trị
Trừ đờm, giảm ho, giáng khí nghịch, tiêu độc. Chủ trị: Hen suyễn kèm theo ho, nhiều đờm; dùng ngoài, trị bệnh ngoài da: Ngứa lở, mụn nhọt, đau răng, rắn cắn.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ
Phụ nữ có thai và trẻ em dưới 1 tuổi.

LÁ LỐT
Herba Piperis lolot

Phần trên mặt đất tươi hay phơi sấy khô của cây Lá lốt (*Piper lolot* C. DC.), họ Hồ tiêu (Piperaceae).

Mô tả
Đoạn ngọn cành dài 20 cm đến 30 cm. Lá nhăn nheo, nhàu nát. Mặt trên lá màu lục xám, dưới lục nhạt. Lá hình tim dài 5 cm đến 12 cm, rộng 4 cm đến 11 cm. Đầu lá thuôn nhọn, gốc hình tim, phiến mỏng, mép nguyên, có 5 gân chính tỏa ra từ cuống lá, gân giữa thẳng, dài, rõ, các gân bên hình cung, gân cấp 1 hình lông chim, gân cấp 2 hình mạng. Cuống dài 2 cm đến 3,5 cm, gốc cuống lá ôm lấy thân. Thân hình trụ, phình ra ở các mấu, mặt ngoài có nhiều đường rãnh dọc.

Vi phẫu
Biểu bì trên và dưới gồm một lớp tế bào xếp đều đặn, biểu bì dưới của gân lá mang lông che chở đơn bào và đa bào ngắn, đầu nhọn có từ 2 tế bào đến 3 tế bào xếp thành dãy, lỗ khí ở mặt dưới phiến lá. Đám mô dày xếp sát biểu bì trên và biểu bì dưới. Mô mềm gồm tế bào tròn, thành mỏng. Một bó libe-gỗ to nằm giữa gân lá, gồm có vòng mô dày bao bọc xung quanh, bó gỗ có nhiều mạch to xếp phía trên, cung libe ở phía dưới. Phiến lá có mô mềm đồng hóa xếp giữa hai lớp hạ bì, tế bào nhỏ, thành mỏng xếp lộn xộn. Rải rác có tế bào tiết tinh dầu trong mô mềm và trong libe.

Bột
Màu lục xám, mùi thơm, vị hơi đắng. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì trên của lá gồm tế bào thành mỏng, hình nhiều cạnh, mang tế bào tiết. Mảnh biểu bì dưới lá tế bào thành mỏng, nhăn, mang lỗ khí và tế bào tiết. Tế bào tiết màu vàng, xung quanh có khoảng 6 tế bào sắp xếp tỏa ra. Tế bào biểu bì dưới gân lá hình nhiều cạnh, thành mỏng, mang lông che chở đơn bào hay đa bào ngắn, đầu nhọn. Mảnh thân cây: Tế bào hình nhiều cạnh, mang lỗ vỏ, lông che chở và tế bào tiết, có khi lông đã rụng để lại những vết tròn nhỏ. Sợi mô cứng thành mỏng hay hơi dày, khoang rộng. Mảnh mạch xoắn, mạch mạng, mạch điểm.

Định tính
A. Cân 3 g bột dược liệu cho vào bình nón, làm ẩm bằng *amoniac đậm đặc (TT)*, thêm 50 ml hỗn hợp đồng thể tích *ether (TT)* và *cloroform (TT)*, lắc, lọc. Chuyển dịch lọc vào bình gạn, thêm 10 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*. Lắc, gạn lấy phần dịch acid (dung dịch A) và làm các phản ứng sau:
Lấy 1 ml dung dịch A, thêm 1 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)*, xuất hiện tủa nâu.
Lấy 1 ml dung dịch A, thêm 1 giọt *dung dịch acid picric 1 % (TT)*, xuất hiện tủa vàng.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Ethyl acetat - methanol - nước* (100 : 17 : 13).
Dung dịch thử: Lấy 5 g bột dược liệu, cho vào bình nón dung dịch 100 ml, thêm 50 ml *ethanol 90 % (TT)*, đun hồi lưu trong 1 h, để nguội, lọc, bốc hơi dịch lọc đến cắn. Hòa cắn trong *nước* bằng cách đun nóng trong cách thủy và khuấy 3 lần, mỗi lần 10 ml, gạn lấy phần dung dịch, gộp các dung dịch thu được để vào tủ lạnh ở 2 °C đến 8 °C qua đêm, lọc. Lấy dịch lọc lắc với 15 ml *ethyl acetat (TT)*, gạn lấy dịch chiết ethyl aceat, bay hơi tới cắn, hòa cắn trong 1 ml *ethanol 96 % (TT)* được dịch chấm sắc ký.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 5 g bột Lá lốt (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát bản mỏng dưới sáng tử ngoại bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % đối với dược liệu khô (Phụ lục 12.13).

Tạp chất
Tạp chất không quá 2,0 % (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ vụn nát
Qua rây có kích thước mắt rây 3,15 mm: Không quá 3,0 %.

Định lượng
Tiến hành theo phương pháp "Định lượng tinh dầu trong dược liệu" (Phụ lục 12.7). Lấy 30 g dược liệu, thêm 300 ml *nước*, cất trong 3 h.
Hàm lượng tinh dầu trong dược liệu không được ít hơn 0,5 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch quanh năm, lúc trời khô ráo, cắt lấy cây, loại bỏ gốc rễ, rửa sạch, đem phơi hay sấy ở 40 °C đến 50 °C đến khô.

Bảo quản
Để nơi khô, tránh làm rụng lá, mất màu và mùi thơm.

Tính vị, quy kinh
Tân, ôn, mùi thơm. Vào các kinh tỳ, phế.

Công năng, chủ trị
Ôn trung tán hàn, hạ khí chỉ thống, trừ phong thấp. Chủ trị: Phong hàn thấp, chân tay lạnh, tê bại. Rối loạn tiêu hóa, nôn mửa, đầy hơi, đau bụng ỉa chảy, thận và bàng quang lạnh, đau răng, đau đầu, chảy nước mũi hôi, ra mồ hôi tay chân.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 8 g đến 12 g lá khô hoặc từ 15 g đến 30 g lá tươi, dạng thuốc sắc.
Dùng ngoài: Sắc đặc, ngậm chữa đau răng.

Kiêng kỵ
Vị nhiệt, táo bón không nên dùng.

LÁ MÓNG (Lá)
Folium Lawsoniae

Lá tươi hoặc đã phơi hay sấy khô của cây Lá móng (*Lawsonia inermis* L.), họ Tử vi (Lythraceae).

Mô tả
Lá hình trứng, gốc lá thuôn, đầu nhọn, dài 2 cm đến 3 cm, rộng 1 cm đến 1,5 cm, cuống ngắn, mép lá nguyên hơi lượn sóng, mặt trên màu lục, mặt dưới màu nâu nhạt.

Vi phẫu
Gân chính: Gân lá hơi lồi ở phía dưới, hơi lõm và nhọn ở phía trên. Biểu bì trên và dưới là một lớp tế bào xếp đều đặn. Sau biểu bì trên và dưới là lớp mô dày có 2 đến 3 hàng tế bào có thành dày ở góc. Mô mềm gồm các tế bào hình đa giác thành mỏng. Rải rác trong mô mềm có tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Giữa gân chính là những bó libe-gỗ xếp thành hình cung, libe ở phía trên và dưới, các bó gỗ ở trong.
Phiến lá: Dưới lớp biểu bì trên là 2 đến 3 hàng tế bào mô dậu, mô mềm rải rác có tinh thể calci oxalat hình cầu gai.

Bột
Bột có màu xanh lục. Soi dưới kính hiển vi thấy: Mảnh mô mềm mang tinh bột, tinh thể calci oxalat hình cầu gai, mảnh mạch xoắn, mạch điểm, mạch thang.

Định tính
A. Lấy khoảng 5 g bột dược liệu cho vào bình nón, thêm 30 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun cách thủy khoảng 10 min, lọc, dịch lọc làm các phản ứng sau:
Cho 1 ml dịch lọc vào ống nghiệm, thêm ít bột *magnesi (TT)* và 5 giọt *acid hydrocloric (TT)*, lắc đều rồi đặt vào bình cách thủy vài phút sẽ xuất hiện màu đỏ đậm.
Nhỏ 1 giọt dịch lọc lên tờ giấy lọc, sấy nhẹ cho khô rồi đặt trên miệng lọ amoniac đậm đặc đã mở nút thấy màu vàng của vết dậm lên.
Cho vào ống nghiệm 1 ml dịch lọc, thêm 2 - 3 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)* sẽ xuất hiện màu xanh đen.
Lấy 1 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm to, thêm 5 ml *nước*, lắc mạnh ống nghiệm theo chiều dọc sẽ có cột bọt bền 15 min.
B. Lấy 5 g bột dược liệu, thêm 10 ml *methanol (TT)* và 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 N (TT)*, đun hồi lưu 15 min, lọc nóng. Đun cách thủy dịch lọc để loại hết methanol và thu được dịch chiết nước. Acid hóa dịch chiết nước bằng *acid hydrocloric (TT)* đến pH 6, sau đó lắc kỹ với 5 ml *cloroform (TT)*, gạn lớp cloroform vào ống nghiệm, thêm 3 ml *amoniac (TT)*, lắc đều, lớp amoniac sẽ xuất hiện màu đỏ.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % đối với dược liệu khô (Phụ lục 9.6, 2 g, 100 °C, 5 h).

Tỉ lệ vụn nát
Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.12).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Tạp chất vô cơ: Không được có.
Bộ phận khác của cây: Không quá 2 %.

Chế biến
Thu hái lá, phơi khô hoặc sấy khô. Khi dùng tiến hành vi sao.

Bảo quản
Để nơi khô mát, tránh ẩm, trong bao bì kín.

Tính vị, quy kinh
Vị đắng hơi chát. Tính ấm. Vào kinh can, thận.

Công năng, chủ trị
Hoạt huyết, tán ứ. Chủ trị: Đau nhức xương khớp, tê bại chân tay, bế kinh, hoặc phụ nữ kinh nguyệt không đều. Còn dùng khi bị chấn thương sưng tấy cơ nhục. Sang lở, mụn nhọt, hắc lào, nấm móng tay, móng chân. Rắn cắn.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 8 g đến 12 g, dưới dạng thuốc sắc.
Dùng ngoài: Lấy Lá móng giã nát, trộn với dấm thành bột nhão đắp vào nơi bị sưng đau, hoặc nhọt độc, hoặc vết rắn cắn. Cũng có thể nấu nước ngâm rửa.

Kiêng kỵ
Phụ nữ có thai, hoặc đa kinh không dùng.

LẠC TIÊN
Herba Passiflorae foetidae

Phần trên mặt đất đã phơi hoặc sấy khô của cây Lạc tiên (*Passiflora foetida* L.), họ Lạc tiên (Passifloraceae).

Mô tả
Đoạn thân rỗng, dài khoảng 5 cm, mang tua cuốn và lá, có thể có lẫn hoa và quả. Thân và lá có nhiều lông. Cuống lá dài 3 cm đến 4 cm. Phiến lá mỏng màu lục hay hơi vàng nâu, dài và rộng khoảng 7 cm đến 10 cm, chia thành 3 thùy rộng, đầu nhọn. Mép lá có răng cưa nông, gốc lá hình tim. Lá kèm hình vảy phát triển thành sợi mang lông tiết đa bào, tua cuốn ở nách lá.

Vi phẫu
Lá: Phiến lá gồm biểu bì trên, mô dậu, mô mềm và biểu bì dưới. Biểu bì trên và dưới có lông che chở và lông tiết. Lông che chở đơn bào, nhỏ. Lông tiết có chân đa bào gồm nhiều dãy tế bào xếp thành hàng dọc, thon dần về phía ngọn, đầu đơn bào hình trứng, chứa chất tiết màu vàng.
Gân chính gồm biểu bì trên và dưới, mô dày dưới biểu bì, mô mềm và ở giữa là bó libe-gỗ. Trong libe và rải rác trong mô mềm có tinh thể calci oxalat hình cầu gai có đường kính 7 µm đến 12 µm.

Bột
Có nhiều lông che chở đơn bào, lông tiết đa bào còn nguyên hay bị gãy. Mảnh biểu bì có lỗ khí kiểu hỗn bào. Mảnh mô mềm hay libe có chứa tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Mảnh mạch xoắn, mạch vạch.

Định tính
A. Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ethanol 90% (TT)*. Đun sôi trong 5 min, lọc nóng dịch chiết qua 0,1 g *than hoạt tính (TT)* trên giấy lọc gấp nếp, thu được 5 ml dịch lọc. Lấy 2 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm, thêm ít bột *magnesi (TT)* rồi thêm 0,2 ml *acid hydrocloric (TT)*. Để yên vài phút, dung dịch sẽ có màu đỏ cam.
B. Lấy 10 g bột dược liệu cho vào bình nón 250 ml, thấm ẩm bằng *dung dịch amoni hydroxyd 10 % (TT)* trong 15 min. Thêm 40 ml *cloroform (TT)*, thỉnh thoảng lắc. Sau 30 min, lọc, cô dịch lọc đến còn 10 ml rồi chuyển vào bình gạn. Thêm vào bình gạn 5 ml *dung dịch acid sulfuric 1% (TT)*. Lắc kỹ và gạn lớp acid, chia dịch chiết thu được vào 3 ống nghiệm:
Ống nghiệm 1: Thêm 1 giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, xuất hiện tủa trắng đục.
Ống nghiệm 2: Thêm 1 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)*, xuất hiện tủa đỏ nâu.
Ống nghiệm 3: Thêm 1 giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)*, xuất hiện tủa vàng cam.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}
Dung môi khai triển: Ethyl acetat - acid formic - acid acetic băng - nước (100 : 11 : 11 : 35). Cho hỗn hợp dung môi vào bình gạn rồi lắc đều, thu lấy lớp trên.
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml *methanol (TT)*. Chiết siêu âm trong 10 min, lọc. Bổ sung *methanol (TT)* hoặc cô đặc để thu được 5 ml dịch lọc.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan vitexin chuẩn trong *methanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ 0,1 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Lấy 1 g bột Lạc tiên (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên cùng bản mỏng 6 µl dung dịch thử và 6 µl dung dịch dược liệu đối chiếu (hoặc 4 µl dung dịch chất đối chiếu). Chấm dải dài 7 mm. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng và sấy khô ở 120 °C trong 2 - 3 min. Phun lên bản mỏng *dung dịch 2-aminoethyl diphenyl borat 1 % trong methanol (TT)*, sau đó phun *dung dịch polyethylen glycol 400 5 % trong methanol (TT)*. Để khô bản mỏng ngoài không khí khoảng 30 min. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu hoặc có vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết vitexin trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric
Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất (Phụ lục 12.11).
Tạp chất vô cơ: Không quá 0,5 %.
Tạp chất hữu cơ: Không quá 1,0 %.

Tỷ lệ vụn nát
Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.12).
Tỷ lệ lá trên toàn bộ dược liệu: Không ít hơn 25,0 %.

Chất chiết được trong dược liệu
Không dưới 18,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10). Dùng *nước* làm dung môi.

Định lượng
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,25 g bột dược liệu (qua rây số 250) cho vào bình nón 250 ml, thêm 40 ml *ethanol 60 % (TT)* và đun hồi lưu trong cách thủy 30 min. Để nguội, lọc dịch chiết qua giấy lọc gấp nếp vào bình định mức dung tích 100 ml. Chuyển toàn bộ giấy lọc và bã dược liệu vào bình nón và tiếp tục chiết thêm 2 lần nữa, mỗi lần 30 ml *ethanol 60 % (TT)*. Lọc, gộp các dịch lọc vào bình định mức trên, thêm *ethanol 60 % (TT)* tới vạch, lắc đều, thu được dung dịch A.
Lấy chính xác 5 ml dung dịch A cho vào cốc có mỏ, cô trong cách thủy tới cắn khô. Dùng 10 ml hỗn hợp *methanol - acid acetic băng* (10 : 100) để hòa tan và chuyển toàn bộ cắn vào bình định mức 25 ml, thêm 10 ml hỗn hợp chứa *acid boric (TT)* 2,5 % và *acid oxalic (TT)* 2 % trong *acid formic khan (TT)*. Bổ sung *acid acetic khan (TT)* tới vạch, lắc đều.
Dung dịch mẫu trắng: Lấy chính xác 5 ml dung dịch A cho vào cốc có mỏ, cô cách thủy tới cắn khô. Dùng 10 ml hỗn hợp *methanol - acid acetic băng* (10 : 100) để hòa tan và chuyển toàn bộ cắn vào bình định mức 25 ml, thêm 10 ml *acid formic khan (TT)*. Bổ sung *acid acetic khan (TT)* tới vạch, lắc đều.
Sau 30 min, đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của các dung dịch trên ở bước sóng 401 nm trong cóng đo 1 cm. Tính hàm lượng phần trăm flavonoid toàn phần (tính theo vitexin) theo A (1 %, 1 cm). Lấy 628 là giá trị của A (1 %, 1 cm) của vitexin ở bước sóng 401 nm.

Hàm lượng flavonoid toàn phần trong dược liệu tính theo vitexin ($C_{21}H_{20}O_{10}$) không được ít hơn 0,6 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa xuân, hạ. Cắt lấy dây, lá, hoa Lạc tiên, thái ngắn, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản
Để nơi khô, tránh mốc, tránh ánh sáng làm biến màu.

Tính vị, quy kinh
Cam, vi khổ, lương. Vào các kinh tâm, can.

Công năng, chủ trị
An thần, giải nhiệt, mát gan. Chủ trị: Suy nhược thần kinh, tim hồi hộp, mất ngủ, ngủ mơ.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 20 g đến 40 g, dạng thuốc sắc. Ngoài ra có thể uống cao lỏng, siro, rượu thuốc với lượng tương ứng. Nên uống trước khi đi ngủ.

LIÊN KIỀU (Quả)
Fructus Forsythiae suspensae

Quả chín đã phơi hay sấy khô của cây Liên kiều [*Forsythia suspensa* (Thunb.) Vahl.], họ Nhài (Oleaceae).

Mô tả
Quả hình trứng đến hình trứng hẹp, hơi dẹt, dài 1,5 cm đến 2,5 cm, đường kính 0,5 cm đến 1,3 cm. Mặt ngoài có vết nhăn dọc không đều và nhiều chấm nhỏ nhô lên. Mỗi mặt có một rãnh dọc. Đỉnh nhỏ, nhọn, đáy có cuống quả nhỏ hoặc vết cuống đã rụng. Có 2 loại quả Liên kiều là Thanh kiều và Lão kiều. Thanh kiều thường không nứt ra, màu nâu lục, chấm nhỏ màu trắng xám nhô lên ít, chất cứng, hạt nhiều, màu vàng lục, nhỏ dài, một bên có cánh. Lão kiều nứt ra từ đỉnh hoặc nứt thành 2 mảnh, mặt ngoài màu nâu vàng hoặc nâu đỏ, mặt trong màu vàng nâu nhạt, trơn phẳng, có một vách ngăn dọc. Chất giòn dễ vỡ. Hạt màu nâu, dài 5 mm đến 7 mm, một bên có cánh, phần lớn đã rụng. Mùi thơm nhẹ, vị đắng.

Vi phẫu
Mặt cắt ngang vỏ quả: Vỏ ngoài là một hàng tế bào biểu bì có phủ một lớp cutin, thành phía ngoài và bên dày dần lên. Vỏ quả giữa gồm tế bào mô mềm ở phía ngoài với các bó mạch rải rác và nhiều hàng tế bào đá ở phía trong, tế bào hình thon dài, hình gần tròn hoặc hình bầu dục, thành dày mộng không đều, thường xếp theo dạng tiếp tuyến xen kẽ, kéo dài tới vách ngăn dọc. Vỏ quả trong gồm một lớp tế bào mô mềm dẹt và rất nhỏ.

Bột
Bột có màu vàng nâu nhạt đến nâu, mùi rất thơm, vị hơi chát. Dưới kính hiển vi thấy: Mảnh tế bào mô cứng hoặc tế bào mô cứng riêng lẻ gồm các tế bào hình bầu dục, thuôn dài hoặc gần tròn, thành dày, ống trao đổi có thể nhìn thấy rõ hoặc không rõ. Mảnh tế bào vỏ quả màu vàng nhạt (vỏ quả giữa) hoặc vàng nâu (vỏ quả ngoài) gồm các tế bào hình đa giác, thành mỏng. Mảnh mạch vạch có kích thước nhỏ và ít thấy. Khối nhựa màu nâu đỏ. Mảnh nội nhũ gồm tế bào hình đa giác thành mỏng, trong suốt không màu, chứa nhiều giọt dầu béo. Tế bào vỏ hạt màu nâu đen nằm rải rác trong các tế bào vỏ quả ngoài hay trong tế bào nội nhũ.

Định tính
A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 15 ml *methanol (TT)*, đun trên cách thủy 2 min, lọc, lấy dịch lọc để làm các phản ứng sau:
Lấy 5 ml dịch lọc, cô đến cắn, hòa cắn trong 1 ml *anhydrid acetic (TT)* và 1 ml *cloroform (TT)*, khuấy kỹ cho tan, lọc. Cho dịch lọc vào ống nghiệm khô rồi cẩn thận thêm từ từ dọc theo thành ống nghiệm 0,5 ml *acid sulfuric (TT)*. Màu tím đỏ xuất hiện giữa 2 lớp dung dịch.
Lấy 5 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm, cho thêm 0,1 g bột *magnesi (TT)* và 1 ml *acid hydrocloric (TT)*, để yên, sẽ xuất hiện màu từ đỏ nhạt đến đỏ vàng.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol (8 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C)(TT)*, đậy nút, lắc siêu âm 20 min, lọc. Gạn bỏ dung dịch ether dầu. Làm khô cắn trên cách thủy, thêm 20 ml *methanol (TT)*, đậy nút, lắc siêu âm 20 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 5 ml *methanol (TT)* làm dung dịch thử.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Lấy 1 g bột Liên kiều (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan forsythin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 0,25 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 3 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi khai triển xong, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng rồi phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*. Sấy bản mỏng ở 105 °C tới khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu sắc và giá trị R_f với vết của forsythin trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu và phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 10,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất
Không quá 3,0 % (đối với Thanh kiều), không quá 9,0 % (đối với Lão kiều) (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không được quá 4,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu
Không được ít hơn 30 % (đối với Thanh kiều) và không được ít hơn 16,0 % (đối với Lão kiều) tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 65 %* làm dung môi.

Định lượng
Forsythin
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - nước (25 : 75).
Dung dịch chuẩn: Hòa tan forsythin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,2 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 1 g bột dược liệu (qua rây số 180) vào một bình nón nút mài, thêm chính xác 15 ml *methanol (TT)* và cân. Để yên qua đêm, lắc siêu âm trong 25 min, để nguội và cân lại. Bổ sung khối lượng mất đi bằng *methanol (TT)*, lắc đều, lọc. Hút chính xác 5 ml dịch lọc, cô trên cách thủy đến gần cạn, trộn với 0,5 g bột *nhôm oxyd trung tính (TT)* rồi chuyển hỗn hợp vào cột thủy tinh (đường kính trong 1 cm đến 1,5 cm) đã nhồi sẵn 1 g bột *nhôm oxyd trung tính (TT)* (cỡ 100 mesh đến 120 mesh). Rửa giải bằng 80 ml *ethanol 70 % (TT)*. Cô dịch rửa giải trên cách thủy đến cạn. Dùng *methanol 50 % (TT)* để hòa tan và chuyển toàn bộ cắn vào bình định mức 5 ml, thêm *methanol 50 % (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 277 nm.
Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch chuẩn, tiến hành sắc ký và tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột tính trên pic forsythin phải không dưới 3000.
Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng forsythin trong dược liệu dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{27}H_{34}O_{11}$ của forsythin chuẩn.
Dược liệu phải chứa không ít hơn 0,15 % forsythin ($C_{27}H_{34}O_{11}$), tính theo dược liệu khô kiệt
Forsythosid A
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - dung dịch acid acetic băng 0,4 % (15 : 85).
Dung dịch chuẩn: Hòa tan forsythosid A chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,1 mg/ml (pha trước khi dùng).
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,5 g bột dược liệu (qua rây số 180) vào một bình nón nút mài, thêm chính xác 15 ml *methanol 70 % (TT)*, đậy nút và cân. Lắc siêu âm trong 30 min, để nguội, cân lại. Bổ sung khối lượng mất đi bằng *methanol 70 % (TT)*, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 330 nm.
Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch chuẩn. Tiến hành sắc ký và tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột tính trên pic forsythosid A phải không dưới 5000.
Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng forsythosid A trong dược liệu dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{29}H_{36}O_{15}$ của forsythosid A chuẩn.
Dược liệu phải chứa không dưới 0,25 % forsythosid A ($C_{29}H_{36}O_{15}$), tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa thu. Thu hái những quả gần chín và hơi xanh lục, loại bỏ tạp chất, đồ chín và phơi hay sấy khô gọi là Thanh kiều. Thu hái những quả đã chín mục, phơi hay sấy khô và loại bỏ tạp chất gọi là Lão kiều.

Bào chế
Loại bỏ tạp chất, loại bỏ cuống, chà xát cho nứt quả, sàng bỏ hạt, lõi, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản
Nơi khô ráo.

Tính vị, quy kinh
Khổ, vi hàn. Quy vào kinh tâm, đởm, tam tiêu, đại tràng.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt giải độc, tiêu sưng tán kết. Chủ trị: Đinh nhọt, tràng nhạc, đờm hạch, nhũ ung, đan độc (viêm quầng đỏ); cảm mạo phong nhiệt, ôn bệnh vào tâm bào sốt cao gây háo khát, tinh thần hôn ám (mê sảng), phát ban; lâm lậu kèm bí tiểu tiện.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 15 g, dạng thuốc sắc, thường kết hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Không dùng cho người tỳ vị hư hàn, âm hư nội nhiệt, nhọt đã vỡ.

LINH CHI

Ganoderma
Nấm lim, Nấm trường thọ

Thể quả hóa gỗ đã phơi hay sấy khô của Linh chi [*Ganoderma lucidum* (Leyss. ex Fr.) Karst.], họ Nấm lim (Ganodermataceae).

Mô tả
Thể quả dạng hình thận, hình tròn hay hình quạt, hóa gỗ, cứng, đường kính 5 cm đến 18 cm, dày 1 cm đến 2 cm. Mặt trên màu nâu vàng đến nâu đỏ, bóng loáng như đánh vecni, có những vòng đồng tâm và nếp nhăn tỏa ra, mép mỏng, nhẵn, hơi lượn sóng. Mặt dưới màu vàng nâu đến nâu nhạt với các lỗ nhỏ li ti. Phần trong xốp, màu trắng đến nâu nhạt. Cuống hình trụ, đính lệch, có khi phân nhánh, dài 6 cm đến 10 cm, đường kính 1 cm đến 3,5 cm, màu nâu đỏ đến nâu đen. Mùi thơm nhẹ, vị đắng.

Bột
Bột màu vàng nâu. Soi bột dưới kính hiển vi thấy: Sợi nấm rải rác hoặc tụ thành đám, không màu hoặc nâu nhạt, mảnh, hơi cong, phân nhánh, đường kính 2,5 µm đến 6 µm. Bào tử hình trứng, màu nâu, đứng riêng lẻ hay tụ thành từng đám, dài 8 µm đến 12 µm, rộng 5 µm đến 8 µm, đỉnh trơn nhẵn, lớp vỏ ngoài không màu, lớp vỏ trong có nhiều chỗ lồi ra.

Định tính
A. Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun sôi hồi lưu 1 h, lọc. Nhỏ vài giọt dịch lọc lên tờ giấy lọc, sấy nhẹ cho khô, phun hỗn hợp *dung dịch sắt (III) clorid 0,9 % (TT)* và *dung dịch kali fericyanid 0,6 % (TT)* theo tỷ lệ (1 : 1), sẽ có màu xanh lơ.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C) - ether ethylic - acid formic (15 : 5 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 2 g bột thô dược liệu, thêm 30 ml *methanol (TT)*, đun hồi lưu trong 30 min, lọc. Bốc hơi dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 2 ml *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột thô Linh chi (mẫu chuẩn) tiến hành chiết như mẫu thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm đến 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, quan sát dưới sáng từ ngoại ở bước sóng 366 nm.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (có ít nhất 4 vết phát quang màu vàng ánh xanh, trong đó có vết thứ hai từ trên xuống có cường độ đậm hơn nhiều so với các vết khác).

Độ ẩm
Không quá 17,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g; 100 °C; 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 3,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 0,5 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 3,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 95 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hái quanh năm, lúc trời khô ráo, loại bỏ tạp chất, phơi khô trong râm hay sấy ở 40 °C đến 50 °C đến khô.

Bào chế
Đem phần thể quả phơi khô hoặc sấy khô ở nhiệt độ 50 °C đến 60 °C đồ cho mềm rồi thái phiến dài 5 cm đến 7 cm, dày 2 mm đến 3 mm, phơi hoặc sấy cho khô.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô ráo, tránh mốc mọt, sâu bọ.

Tính vị, quy kinh
Vị hơi đắng, ngọt. Tính ôn, bình, không độc. Vào kinh can, thận.

Công năng, chủ trị
Hành khí, hoạt huyết, tư bổ chính khí. Chủ trị: Hư lao (sức đề kháng giảm, tiêu hóa kém, mỡ máu cao, khí huyết hư), khí huyết ứ trệ (bệnh mạch vành, tăng huyết áp, thống phong thấp khớp).

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 2 g đến 5 g, dưới dạng sắc hoặc thuốc bột, hoặc dạng chè tan. Có thể dùng riêng hoặc phối hợp với Nhân sâm.

LONG ĐỞM (Rễ và Thân rễ)
Radix et Rhizoma Gentianae

Rễ và thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Long đởm (*Gentiana scabra* Bunge), cây Điều diệp long đởm (*Gentiana manshurica* Kitag.), cây Tam hoa long đởm (*Gentiana triflora* Pall.) hoặc cây Kiên long đởm (*Gentiana rigescens* Franch.), họ Long đởm (Gentianaceae). Ba loại đầu gọi là Long đởm, loại cuối cùng gọi là Kiên long đởm.

Mô tả
Long đởm: Thân rễ có đường kính 0,3 cm đến 1 cm, được cột thành từng bó không đều, xén thành từng đoạn dài 1 cm đến 3 cm, mặt ngoài của thân rễ màu xám thẫm hoặc nâu thẫm, phần trên có những vết sẹo thân hoặc phần sót lại của thân cây, phần xung quanh và phía dưới mang nhiều rễ mảnh.
Rễ hình trụ hơi vặn, dài 10 cm đến 20 cm, đường kính 0,2 cm đến 0,5 cm, mặt ngoài màu vàng nhạt hay nâu vàng, phần nhiều phía trên có những nếp nhăn ngang rõ rệt, phía dưới hẹp hơn, có những nếp nhăn dọc và vết sẹo của rễ con. Chất giòn, dễ bẻ gẫy, mặt gẫy hơi bằng phẳng, vỏ trắng vàng hay nâu vàng, gỗ màu nhạt hơn và có vòng chấm chấm. Mùi nhẹ, vị hơi đắng.
Kiên long đởm: Lớp bên ngoài dạng màng, dễ bong, không thấy nếp nhăn ngang. Gỗ màu trắng vàng, dễ tách khỏi vỏ.

Vi phẫu
Long đởm: Biểu bì gồm một lớp tế bào, thành phía ngoài tương đối dày. Vỏ hẹp và có khe; nội bì rõ, gồm những tế bào kéo dài theo hướng tiếp tuyến, mỗi tế bào bị chia cắt

bởi những thành tế bào kéo dài tạo thành những tế bào nhỏ hơn hình gần chữ nhật. Libe rộng và có khe. Tầng phát sinh không rõ. Mạch được xếp thành 3 đến 10 nhóm. Tủy rõ rệt. Tế bào mô mềm chứa tinh thể calci oxalat hình kim nhỏ.
Kiến long đởm: Các mô ngoài nội bì phần lớn rơi rụng. Nội bì rõ rệt. Libe chiếm 2/3 phần tính theo bán kính mặt cắt. Các mạch trong gỗ được phân bố đều đặn và dày đặc tạo thành tia. Không có tủy.

Bột
Màu nâu vàng. Soi kính hiển vi thấy:
Bột Long đởm: Tế bào biểu bì hình thoi khi nhìn trên bề mặt. Tế bào nội bì hình chữ nhật khá rộng khi nhìn trên bề mặt, trên thành tế bào có các nếp nhăn ngang nhỏ, mỗi tế bào bị chia bởi các vách ngăn kéo dài tạo thành những tế bào nhỏ, hầu hết những vách ngăn kéo dài dày lên tạo thành hình chuỗi hạt. Tế bào mô mềm chứa tinh thể calci oxalat hình kim nhỏ. Mạch mạng và mạch hình thang, đường kính khoảng 45 µm.
Bột Kiến long đởm: Không có biểu bì. Tế bào nội bì hình gần vuông hoặc hình chữ nhật, trên thành tế bào có các nếp nhăn ngang tương đối dày và sít nhau, có khi dày tới 3 µm, mỗi tế bào được chia thành vài tế bào nhỏ xếp song song với nhau, vách ngăn hơi dày hoặc dạng chuỗi hạt.

Định tính
A. Lấy 0,5 g bột dược liệu thêm 5 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun trên cách thủy 15 min, lọc lấy dịch lọc. Trên một tờ giấy lọc, chấm dịch lọc này thành 3 vết riêng biệt rồi sấy khô giấy lọc. Vết thứ nhất dùng làm vết đối chứng; vết thứ hai được nhỏ chồng thêm 1 giọt *dung dịch kali hydroxyd 5 % (TT)*; vết thứ ba được nhỏ chồng thêm 1 giọt *dung dịch nhôm clorid 1 % trong methanol (TT)*. Quan sát màu các vết dưới ánh sáng tử ngoại 366 nm. Kết quả: Vết đối chứng có màu xanh lơ nhạt; vết thứ hai có màu nâu tím; vết thứ ba có màu xanh lơ nhạt, sáng hơn vết chứng.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Ethyl acetat - methanol - nước (8 : 2 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 10 ml *methanol (TT)*, đun trên cách thủy trong khoảng 15 min, lọc, cô dịch lọc trên cách thủy còn khoảng 2 ml thu được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,5 g bột dược liệu Long đởm (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Các vết trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng màu sắc và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 7,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến
Thu hoạch vào mùa xuân và mùa thu, đào lấy thân rễ và rễ, rửa sạch và phơi âm can hoặc sấy nhẹ đến khô.

Bào chế
Loại bỏ tạp chất, rửa sạch ủ mềm, cắt đoạn 2 cm đến 3 cm, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản
Nơi khô, thoáng.

Tính vị, quy kinh
Khổ, hàn. Vào các kinh can, đởm, bàng quang.

Công năng, chủ trị
Thanh thấp nhiệt, tả can đởm hỏa. Chủ trị: Hoàng đản thấp nhiệt, âm hộ sưng ngứa kèm đới hạ, thấp chẩn, mắt đỏ, tai nghễnh ngãng, sườn đau, miệng đắng, kinh phong co giật.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 8 g đến 12 g, thường phối hợp trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ
Tỳ vị hư hàn không dùng.

LONG NHA THẢO
Herba Agrimoniae
Tiên hạc thảo

Phần trên mặt đất đã phơi hay sấy khô của cây Long nha thảo (*Agrimonia pilosa* Ledeb. var. *nepalensis* (D. Don) Nakai (*A. nepanlensis* D. Don), họ Hoa hồng (Rosaceae).

Mô tả
Những mảnh lá, thân, cành đã cắt thành đoạn dài 4 cm đến 6 cm. Lá chét nguyên vẹn màu xanh nhạt, hình bầu dục hay hình trái xoan ngược, mép có răng cưa, cả hai mặt đều mang nhiều lông mịn. Thân và cành gần tròn, màu vàng nâu đến nâu, to nhỏ khác nhau, thường rỗng ở giữa.

Vi phẫu
Phần gân chính của lá: Phía trên hơi lõm, phía dưới lồi. Ngoài cùng là lớp biểu bì cấu tạo bởi một hàng tế bào tròn nhỏ, xếp đều đặn, rải rác có lông che chở, lông tiết. Dưới biểu bì có mô dày góc. Mô mềm gồm những tế bào tròn, thành mỏng. Bó libe-gỗ ở giữa gân chính gồm cung libe bao phủ phía dưới mô gỗ.
Thân: Mặt cắt tròn, từ ngoài vào trong gồm: Biểu bì gồm một lớp tế bào tròn nhỏ, rải rác có lông che chở, lông tiết. Dưới biểu bì là mô dày cấu tạo bởi 2 đến 3 lớp tế bào nhỏ, thành dày. Mô mềm gồm các tế bào to, hình đa giác,

thành mỏng. Mô cứng tập trung thành từng đám tạo thành vòng gần liên tục. Libe-gỗ thành vòng liên tục, libe ở phía ngoài, gỗ ở phía trong. Có thể thấy mô mềm ruột còn sót lại là những tế bào to hình đa giác, thành mỏng, rải rác có tinh thể calci oxalat hình cầu gai.

Bột
Bột màu xám, vị đắng nhẹ. Soi dưới kính hiển vi thấy: Những mảnh phiến lá; biểu bì lá mang lỗ khí; mảnh biểu bì thân; mảnh mô mềm mang tinh thể calci oxalat hình cầu gai, hình khối; các bó mạch; lông che chở; lông tiết chân có 2 đến 3 tế bào, đầu có 4 đến 6 tế bào. Tế bào mô cứng đứng riêng lẻ hay tụ thành đám.

Định tính
A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml *nước cất*, đun sôi trong 5 min, lọc. Lấy dịch lọc cho vào 2 ống nghiệm, tiến hành tiếp như sau:
Ống 1: Thêm 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, xuất hiện màu xanh đen.
Ống 2: Thêm 3 giọt *dung dịch gelatin 2 % (TT)*, xuất hiện tủa bông.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel 60F$_{254}$.
Dung môi khai triển: Cloroform - ethyl acetat - acid formic (5 : 4 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 5 g bột dược liệu, thêm 100 ml *nước*, đun sôi nhẹ trong 1 h. Lọc, cô dịch lọc còn 30 ml, để nguội. Lắc dịch lọc với 40 ml dung môi khai triển. Gạn lấy lớp dưới, cô trên cách thủy đến cạn. Hoà cắn trong 1 ml *ethanol 50 % (TT)* được dung dịch chấm sắc ký.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 5 g bột Long nha thảo (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun hỗn hợp *dung dịch acid boric 10 % - dung dịch acid oxalic 10 %* (2 : 1). Sấy ở 105 °C đến khi các vết hiện rõ. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không được quá 11,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không được quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).
Dùng 1 g dược liệu.

Tạp chất
Không được quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không được ít hơn 10,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *nước* làm dung môi.

Chế biến
Thu hái vào mùa hạ, mùa thu. Loại bỏ tạp chất, cắt đoạn, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế
Vị thuốc được sao tồn tính trước khi dùng để cầm máu.

Bảo quản
Để nơi khô ráo, thoáng mát.

Tính vị, quy kinh
Vị đắng, chát, tính ấm, vào các kinh tâm, phế, can, thận.

Công năng, chủ trị
Liễm huyết, chỉ huyết, thanh tràng chỉ tả, ích khí bổ trung. Chủ trị: Ho ra máu, nôn ra máu, đại tiện ra máu, chảy máu cam, băng huyết. Ngoài ra còn dùng chữa viêm ruột, lỵ, sốt rét, tràng nhạc, ung thũng, chữa bệnh gan, mật, viêm miệng.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 12 g đến 20 g dược liệu khô, dạng thuốc sắc, thuốc tán. Dùng riêng, hoặc phối hợp với các vị thuốc khác.
Dùng ngoài: Lấy 40 g đến 80 g lá tươi giã nát, đắp, bó để cầm máu vết thương; hoặc dùng dạng cao lỏng, bôi vào chỗ mụn nhọt sưng đau, viêm núm trĩ, viêm tuyến vú.

LONG NHÃN
Arillus Longan

Áo hạt (cùi) của quả đã phơi hay sấy khô của cây Nhãn (*Dimocarpus longan* Lour.), họ Bồ hòn (Sapindaceae).

Mô tả
Cùi quả nhãn dày mỏng không đều, rách nứt theo thớ dọc, màu vàng cánh gián hay màu nâu, trong mờ, một mặt nhãn không phẳng, một mặt sáng bóng, có vân dọc nhỏ, dài 1,5 cm, rộng 2 cm đến 4 cm, dày chừng 0,1 cm, thường thấy cùi kết dính. Thể chất mềm nhuận, dẻo dai, sờ không dính tay. Mùi thơm nhẹ, vị ngọt đậm.

Vi phẫu
Mặt cắt ngang: Một hàng tế bào biểu bì ngoài gồm những tế bào hình gần vuông. Một hàng tế bào biểu bì trong gồm những tế bào thành hơi dày và được phủ một lớp cutin hơi dày. Giữa biểu bì ngoài và biểu bì trong là những tế bào mô mềm lớn, hình trụ, đường kính 148 µm, xếp thành nhiều hàng. Một số tế bào mô mềm có chứa khối chất màu vàng nhạt và những giọt dầu.

Độ ẩm
Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 4 h).

Tạp chất
Tỷ lệ màu nâu sẫm không quá 5,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không quá 4,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 70,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *nước* làm dung môi.

Chế biến
Mùa hạ và mùa thu, hái quả nhãn đã chín, cùi dày ráo nước, đem phơi nắng to hoặc sấy nhẹ ở nhiệt độ từ 40 °C đến 50 °C đến khi lắc quả có tiếng kêu lốc cốc, bóc bỏ vỏ cứng và hạt, lấy cùi đã nhăn vàng sấy ở 50 °C đến 60 °C đến khi sờ không dính tay (độ ẩm dược liệu dưới 15,0 %) thì bỏ ra. Chú ý giữ vệ sinh khi bóc cùi và khi sấy, phơi.
Chùm quả trước khi phơi hoặc sấy có thể nhúng nước sôi từ 1 min đến 2 min.

Bảo quản
Đóng gói trong các thùng, hòm kín, có lót thêm chất chống ẩm. Để nơi khô, mát, thoáng, tránh mốc, mọt, để phòng dược liệu bị ẩm ướt, chua và biến màu.

Tính vị, quy kinh
Cam, ôn. Vào các kinh tâm, tỳ.

Công năng, chủ trị
Bổ ích tâm tỳ, dưỡng huyết, an thần. Chủ trị: Khí huyết bất túc, hồi hộp, tim đập mạnh, hay quên, mất ngủ, huyết hư.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 9 g đến 15 g.

Kiêng kỵ
Không dùng cho người ở trong có đàm hỏa, thấp trệ, đàm ẩm.

LÔ HỘI (Nhựa)
Aloe

Chất dịch đã cô đặc và sấy khô, lấy từ lá cây Lô hội (chủ yếu từ *Aloe vera* L. và *Aloe ferox* Mill.), họ Lô hội (Asphodelaceae).

Mô tả
Khối nhựa có kích thước không đồng đều, màu nâu đen bóng, dễ vỡ vụn, chỗ vỡ óng ánh như thủy tinh. Mùi hơi khó chịu, vị đắng nồng.

Định tính
A. Lấy 0,5 g bột dược liệu cho vào bình nón 250 ml, thêm 50 ml *nước*, lắc kỹ trong 5 min. Lọc được dịch lọc A.
Lấy 5 ml dịch lọc A cho vào ống nghiệm và thêm 0,2 g *dinatri tetraborat (TT)*, đun nóng đến tan. Lấy 1 ml dung dịch thu được, thêm 30 ml *nước cất*, lắc kỹ. Quan sát dưới ánh sáng từ ngoại ở bước sóng 366 nm sẽ có huỳnh quang màu vàng sáng xuất hiện.
Lấy 2 ml dịch lọc A cho vào ống nghiệm, thêm 2 ml *nước bão hòa brom (TT)*, xuất hiện tủa màu vàng.
B. Lấy 0,1 g bột dược liệu cho vào bình nón dung tích 100 ml. Thêm 5 ml *dung dịch sắt (III) clorid 3 % (TT)* và 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)*. Lắc đều rồi đun trên cách thủy 10 min, để nguội, thêm 15 ml *ether ethylic (TT)*, lắc kỹ trong 1 min. Gạn lấy lớp ether và thêm 5 ml *dung dịch amoniac 10 % (TT)*, lắc kỹ. Lớp amoniac có màu hồng tím.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Nước - ethyl acetat - methanol (13 : 100 : 17).
Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 20 ml *methanol (TT)*, đun sôi trong cách thủy. Lắc trong vài phút, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 25 mg barbaloin chuẩn, hòa tan trong *methanol (TT)* và pha loãng đến 10 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm, lấy bản mỏng ra để khô trong không khí. Phun *dung dịch kali hydroxyd 10 % trong methanol (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải không có vết có huỳnh quang màu tím, phải cho vết có huỳnh quang và giá trị R_f tương tự với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1,000 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 4,0 % (Phụ lục 9.8).

Định lượng
Cân chính xác khoảng 0,4 g bột dược liệu (qua rây số 180) vào một bình nón dung tích 250 ml. Làm ẩm dược liệu với 2 ml *methanol (TT)* và thêm 5 ml *nước cất* đã đun nóng 60 °C, lắc đều. Thêm 75 ml *nước* và đun trong cách thủy ở 60 °C trong 30 min, thỉnh thoảng lắc. Để nguội, lọc vào bình định mức có dung tích 1000 ml, tráng bình nón và rửa giấy lọc với 20 ml *nước*, gộp dịch tráng và rửa vào bình định mức trên. Thêm *nước* tới vạch. Trộn đều. Lấy chính xác 10 ml dịch chiết trên cho vào một bình cầu có dung tích 100 ml. Thêm 1 ml *dung dịch sắt (III) clorid 60 % (TT)* và 6 ml *acid hydrocloric (TT)*. Đun hồi lưu trong cách thủy 4 h. Để nguội, rồi chuyển toàn bộ dung dịch vào một bình gạn, rửa bình cầu lần lượt bằng 4 ml *nước*, 4 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* và 4 ml *nước*. Gộp các dịch rửa vào bình gạn trên. Lắc kỹ hỗn hợp trên với *ether ethylic (TT)* ba lần, mỗi lần 20 ml. Gộp tất cả dịch chiết ether vào một bình gạn khác và rửa 2 lần với *nước*, mỗi lần 10 ml. Gạn lớp ether vào một bình định mức có dung tích 100 ml. Thêm *ether ethylic (TT)* tới vạch. Lấy chính xác 20 ml dung dịch ether ethylic, bốc hơi tới cắn trên cách thủy. Hòa tan cắn bằng 10 ml *dung dịch magnesi acetat 0,5 % trong methanol (TT)*. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 512 nm (Phụ lục 4.1), dùng *methanol (TT)* làm mẫu trắng. Hàm lượng dẫn chất hydroxyanthracen tính theo barbaloin được tính theo công thức sau:

$$X\ \% = \frac{(A \times 19{,}6)}{m}$$

Trong đó:
A là độ hấp thụ đo được ở bước sóng 512 nm;
m là lượng bột dược liệu đã trừ độ ẩm (g);
X là hàm lượng dẫn chất hydroxyanthracen tính theo barbaloin.
Chế phẩm phải chứa dẫn chất hydroxyanthracen không dưới 18 % tính theo barbaloin ($C_{21}H_{22}O_9$), tính theo chế phẩm khô kiệt.

Chế biến
Cắt lá cây, ép lấy chất dịch ở trong, đem cô khô.

Bảo quản
Để nơi khô mát, trong lọ kín.

Tính vị, quy kinh
Khổ, hàn. Vào các kinh can, vị, đại trường.

Công năng, chủ trị
Thanh can nhiệt, thông tiện. Chủ trị: Can có thực nhiệt, đại tiện bí, tiểu nhi cam tích kinh phong, can nhiệt, bế kinh, làm giảm độc ba đậu.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 0,06 g đến 0,20 g. Dùng để tẩy, mỗi lần từ 1 g đến 2 g. Dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán.

Kiêng kỵ
Tỳ vị suy yếu, đang ỉa lỏng hoặc phụ nữ có thai không dùng.

LỘC GIÁC
Cornu Cervi
Gạc hươu

Sừng già (gạc) đã hoá xương hay gốc sừng (giác cơ) rụng xuống sau khi đã cưa lấy nhung của Hươu sao đực (*Cervus nippon* Temminck), họ Hươu (Cervidae).
Người ta quen gọi là gạc Hươu sao (Mai hoa lộc giác) và gốc gạc hươu rụng (Lộc giác thoát bàn).

Mô tả
Gạc Hươu sao: Thường chia thành 3 đến 4 nhánh, dài 30 cm đến 60 cm, đường kính 2,5 cm đến 5 cm, hai bên đối xứng. Đa số nhánh cạnh phát triển hướng về hai bên, nhánh thứ nhất tương đối gần gốc sừng (Trân châu bàn), nhánh thứ hai gần nhánh thứ nhất. Đầu nhánh chủ (nhánh chính) chia thành hai nhánh nhỏ. Mặt ngoài màu nâu vàng hoặc nâu xám. Đầu nhánh màu trắng xám không có lông. Bộ phận giữa và dưới thường có dạng bướu hay mấu nhỏ nổi lên, thường gọi là cốt đinh (đinh xương). Cốt đinh sắp xếp thành cạnh (lăng) dọc, không liên tục; ở dưới gốc sừng có mâm lồi lên gọi là Trân châu bàn. Chất rắn chắc. Mặt cắt có vòng ngoài màu trắng, giữa màu xám, có những lỗ dạng tổ ong nhỏ. Vị hơi mặn.

Gốc gạc hươu rụng (Lộc giác thoát bàn): Hình mũ trụ hoặc mũ trụ dẹt, đường kính 3 cm đến 6 cm. Trân châu bàn, đường kính 4,5 cm đến 6,5 cm, cao 1,5 cm đến 4 cm. Mặt ngoài màu nâu xám hay nâu vàng xám, sáng bóng. Phần giữa có lỗ dạng tổ ong. Mặt đáy phẳng, giống hình tổ ong, hầu hết màu trắng vàng hoặc nâu vàng. Mép chung quanh Trân châu bàn thường có lỗ nhỏ thưa. Mặt trên hơi phẳng, hình bán cầu không đều, chất cứng. Vòng ngoài mặt cắt có chất xương màu trắng xám, phần giữa màu trắng. Vị hơi mặn.

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 17,0 %.
Cân chính xác khoảng 4 g bột thô chế phẩm vào cốc có mỏ, thêm 90 ml *nước*, đun sôi nhẹ trong 1 h (bổ sung lượng nước hao hụt trong quá trình đun), lọc nóng, rửa cặn với 10 ml *nước* nóng, lọc. Gộp các dịch lọc và chuyển vào bình định mức 100 ml, thêm *nước* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lấy chính xác 25 ml dung dịch thu được vào cốc thủy tinh đã làm khô và cân bì trước, cô trong cách thủy đến cắn khô, cắn thu được sấy ở 105 °C trong 3 h, lấy ra để nguội trong bình hút ẩm 30 min, cân nhanh để xác định khối lượng cắn. Tính phần trăm lượng chất chiết được bằng nước.

Chế biến
Thường thu lấy gạc hươu vào mùa xuân khi gạc rụng hoặc gốc sừng rụng xuống sau khi đã cưa lấy nhung hươu năm trước (gốc sừng còn lại, sẽ rụng vào mùa xuân năm sau).

Bào chế
Rửa sạch gạc, cưa thành khúc, ngâm tẩm trong nước ấm, vớt gạc ra, chẻ thành phiến, phơi âm can đến khô, hoặc tán thành bột thô.

Bảo quản
Để gạc nơi khô, mát.

Tính vị, quy kinh
Hàm, ôn. Vào các kinh can, thận.

Công năng, chủ trị
Ôn thận dương, mạnh gân xương, hành huyết, tiêu thũng. Chủ trị: Liệt dương di tinh, thắt lưng cột sống đau lạnh, âm thư, mụn nhọt, nhọt vú mới phát, ứ huyết sưng đau.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 6 g đến 15 g, dạng thuốc cao, chế tễ lộc giác giao, lộc giác sương.

Kiêng kỵ
Người thận hư có hỏa không nên dùng, người thượng tiêu có đờm nhiệt, trung vị có hỏa không nên uống.

LỘC GIÁC GIAO
Colla Cornus Cervi
Cao gạc Hươu, Cao Ban long

Chế phẩm dạng keo rắn, chế từ gạc hươu bằng cách đun nấu với nước và cô đặc lại.

Chế biến
Cắt gạc hươu thành từng miếng nhỏ, ngâm trong nước lạnh và rửa sạch (đến khi nước rửa trong). Nấu với nước vài lần, lọc, gộp các dịch lọc (có thể cho một ít bột phèn), để yên, lọc. Cô dịch lọc cho đến khi thu được một dịch lỏng sánh, có thể thêm rượu gạo, đường trắng, dầu đậu nành tới khi thu được cao đặc. Để nguội, làm đông lạnh, cắt thành từng miếng nhỏ và để khô trong không khí.

Mô tả
Miếng cao hình khối vuông dẹt, cạnh dài từ 3 cm đến 4 cm, dày 0,6 cm, màu nâu vàng hoặc nâu đỏ, trong mờ, đôi khi mặt trên có một tầng bọt, màu vàng nhạt. Chất giòn, dễ gẫy, mặt gẫy sáng bóng. Vị hơi ngọt.

Độ ẩm
Không được quá 15,0 %.
Cân chính xác khoảng 1 g chế phẩm đã cắt nhỏ, hòa tan trong 2 ml nước nóng, bốc hơi trên cách thủy đến khô. Giữ cho lớp keo không dày quá 2 mm đến 3 mm, tiếp tục tiến hành xác định độ ẩm (Phụ lục 9.6, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.8).
Dùng 1,0 g.

Kim loại nặng
Không được quá 30 phần triệu.
Dùng cắn thu được từ thử nghiệm "Tro toàn phần", tiến hành xác định giới hạn kim loại nặng theo Phụ lục 9.4.8, phương pháp 3. Dùng 3,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Arsen
Không được quá 3 phần triệu.
Lấy 1 g chế phẩm đã cắt nhỏ, thêm 1 g *calci hydroxyd (TT)* và một ít *nước*, trộn đều, làm khô, đốt nhẹ cho cháy hết carbon, nung ở 500 °C đến 600 °C đến thành tro hoàn toàn. Để nguội, hòa tan cắn tro trong 5 ml *acid hydrocloric (TT)* và 2 ml *nước*. Tiến hành xác định giới hạn arsen (Phụ lục 9.4.2, phương pháp A).

Cắn không tan trong nước
Không được quá 2,0 %.
Cân chính xác 1,0 g chế phẩm đã cắt nhỏ, thêm 10 ml *nước*, đun nóng để hòa tan rồi chuyển vào một ống ly tâm (đã sấy ở 105 °C đến khối lượng không đổi và cân để xác định khối lượng), ly tâm. Gạn bỏ lớp dầu loang trên thành ống và dung dịch phía trên. Thêm nước ấm dọc theo thành ống đến thể tích ban đầu, khuấy đều và ly tâm, gạn bỏ lớp dầu loang và dung dịch phía trên. Tiếp tục rửa như trên 3 lần nữa. Sấy ống ly tâm và cắn ở 105 °C trong 2 h, lấy ra, để nguội trong bình hút ẩm 30 min, cân và tính phần trăm cắn không tan trong nước.

Giới hạn nhiễm khuẩn
Đáp ứng yêu cầu giới hạn nhiễm khuẩn của thuốc uống có nguồn gốc tự nhiên (Phụ lục 13.6).

Định lượng
Cân chính xác khoảng 0,05 g chế phẩm đã cắt nhỏ, tiến hành theo phương pháp định lượng nitrogen toàn phần trong hợp chất hữu cơ (Phụ lục 10.9, phương pháp 1).
Chế phẩm phải chứa ít nhất 10,0 % nitrogen toàn phần tính theo chế phẩm khô.

Bảo quản
Để nơi khô, mát, trong lọ kín.

Tính vị, quy kinh
Cam, hàm, ôn. Vào các kinh thận, can.

Công năng, chủ trị
Ôn bổ can, thận, ích tinh, dưỡng huyết. Chủ trị: Liệt dương hoạt tinh, thắt lưng đầu gối mỏi có cảm giác lạnh, hư lao gầy còm, đại tiểu tiện ra máu, âm thư thũng độc, băng huyết, rong huyết.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 3 g đến 6 g, hòa với nước ấm rồi uống hoặc ăn với cháo nóng (hoà tan trước rồi mới uống).

Kiêng kỵ
Người thực nhiệt không nên dùng.

LỘC GIÁC SƯƠNG
Cornu Cervi degelatinatum

Bã gạc hươu sau khi nấu cao phơi hoặc sấy khô. Khi nghiền hoặc tán nhỏ sẽ thành bột trắng.

Mô tả
Khối hình trụ tròn dài hoặc chẻ thành từng miếng, bị vỡ, lớn nhỏ không đều nhau. Mặt ngoài màu trắng, có chất bột, thường có cạnh dọc, đôi khi có điểm chấm nhỏ, màu xám hoặc nâu xám. Thể nhẹ, chất xốp, giòn. Mặt bẻ gẫy có phần ngoài tương đối đặc, màu trắng hoặc trắng xám, phần giữa có lỗ dạng tổ ong, màu nâu xám hoặc vàng xám. Có tính hút ẩm. Vị nhạt, nhai có cảm giác dính răng.

Độ ẩm
Không được quá 8,0 % (Phụ lục 9.6, 2 g, 105 °C, 5 h).

Chế biến
Lấy sừng hoá xương (lộc giác), nấu bỏ chất keo, lấy riêng xương, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế
Phơi khô, đập vụn, tán nhỏ trước khi dùng.

Bảo quản
Để nơi khô, tránh ẩm, trong bao bì kín.

Tính vị, quy kinh
Hàm, ôn. Vào các kinh can, thận.

Công năng, chủ trị
Ôn thận, trợ dương, thu liễm, chỉ huyết. Chủ trị: Tỳ thận dương hư, ăn ít, nôn mửa, tiêu chảy, bạch đới, di niệu, băng huyết, rong huyết, ung nhọt, đờm hạch.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 9 g đến 15 g, dạng thuốc hoàn, tán.

LỘC NHUNG

Cornu Cervi Pantotrichum
Nhung hươu

Sừng non có lông nhung và chưa bị xương hóa của Hươu sao đực (*Cervus nippon* Temminck), họ Hươu (Cervidae).

Mô tả
Nhung hươu sao (còn gọi là Hoa lộc nhung): Có hình trụ, phân nhánh. Loại có 1 nhánh phụ thường được gọi là "nhánh đôi", nhánh chính (nhánh lớn) dài khoảng 17 cm đến 20 cm, đường kính mặt cắt ngang từ 4 cm đến 5 cm; nhánh mọc ra cao hơn mặt cắt khoảng 1 cm được gọi là "nhánh phụ" dài từ 9 cm đến 15 cm, đường kính hơi nhỏ hơn nhánh chính. Lớp da mặt ngoài có màu nâu đỏ hoặc màu nâu, thường bóng, được phủ một lớp lông dày, mềm, có màu vàng đỏ hoặc vàng nâu, phần đầu trên lông dày hơn phần phía dưới, có một gân màu đen xám ở đế giữa nhánh chính và nhánh phụ, da và lông dính sát vào nhau. Mặt cắt có màu trắng hơi vàng, phía ngoài không có xương, phần giữa có nhiều lỗ nhỏ dày đặc. Thể chất nhẹ. Có mùi hơi tanh, vị hơi mặn.
Loại sừng có 2 nhánh phụ thường được gọi là "nhánh ba", nhánh chính dài 23 cm đến 33 cm và có đường kính nhỏ hơn nhánh chính của loại nhánh đôi, hình hơi cong và dẹt, đỉnh hơi nhọn, phần dưới thường có các gân dọc nổi và các u lồi lên. Da có màu vàng hơi đỏ, lông mềm hơi thưa và mập.

Định tính
A. Lấy khoảng 0,1 g bột dược liệu, thêm 4 ml *nước*, đun nóng 15 min, để nguội, lọc. Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 3 giọt *thuốc thử ninhydrin (TT)*, trộn đều, đun sôi vài phút, màu tím hơi xanh xuất hiện. Lấy 1 ml dịch lọc khác, thêm 2 giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, trộn đều, thêm từng giọt *dung dịch đồng sulfat 0,5 % (TT)*, xuất hiện màu tím hơi xanh.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *n-Butanol - acid acetic băng - nước* (3 : 1 : 1).
Dung dịch thử. Lấy 0,4 g bột dược liệu, thêm 5 ml *ethanol 70 % (TT)*, lắc siêu âm 15 min, lọc, dịch lọc để chấm sắc ký.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,4 g bột Lộc nhung (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử được dung dịch đối chiếu Lộc nhung. Hòa tan glycin chuẩn trong *ethanol 70 % (TT)* để được dung dịch có nồng độ 2 mg/ml làm dung dịch đối chiếu glycin.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 8 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu Lộc nhung và 1 µl dung dịch đối chiếu glycin, triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 13 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch ninhydrin 2 % trong aceton (TT)*, sấy ở 105 °C cho đến khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường.
Trên sắc ký đồ của dung dịch mẫu thử phải có vết cùng màu, cùng R_f với vết trên sắc ký đồ mẫu đối chiếu lộc nhung và mẫu đối chiếu glycin.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa xuân, cưa lấy Lộc nhung, cưa xong khâu mép mặt cắt lại, treo trên bếp than hồng, vẩy nước nóng vừa phải, quay trở luôn, để khô dần, nhung sẽ không bị nứt. Sấy liên tục 3 đến 4 ngày đêm đến khi khô hẳn, cũng có thể sấy nhung đến khô dẻo, lấy dao sắc thái ra từng miếng, tiếp tục sao nhỏ lửa cho khô hẳn.

Bào chế
Lộc nhung phiến: Lấy lộc nhung khô, đốt cháy hết lông, cạo sạch, lấy băng vải cuốn quanh thân nhung. Đổ rượu trắng đã đun nóng vào các lỗ nhỏ mặt miệng nhung đã cưa đến khi nhung mềm hoặc tẩm rượu rồi đồ cho mềm, đem thái ngang thành lát tròn, mỏng, ép phẳng, sấy khô.
Bột lộc nhung: Lấy Lộc nhung hươu, đốt bỏ lông, cạo sạch, cắt thành mảnh nhỏ, làm khô, nghiền thành bột mịn.

Bảo quản
Để nơi khô, trong bao bì kín, có kèm chất hút ẩm, tránh mọt.

Tính vị, quy kinh
Cam, hàm, ôn. Vào các kinh thận, can.

Công năng, chủ trị
Bổ thận dương, ích tinh huyết, mạnh gân cốt, trừ nhọt độc. Chủ trị: Liệt dương, hoạt tinh, tử cung lạnh, khó thụ thai, tinh thần mệt mỏi, sợ lạnh, chóng mặt, tai ù, tai điếc (cơ năng), trẻ chậm liền thóp, lưng gối đau lạnh, gân xương mềm yếu, rong huyết, nhọt lâu ngày không liền miệng.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 1 g đến 2 g, tán bột hòa vào nước thuốc uống. Đầu tiên uống liều nhỏ rồi sau đó tăng dần, không nên uống ngay liều lớn.

Kiêng kỵ
Thực nhiệt âm hư dương thịnh không nên dùng.

LỨC (Lá)

Folium Plucheae pteropodae
Sài hồ nam

Lá phơi hay sấy khô của cây Lức (*Pluchea pteropoda* Hemsl.), họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả
Lá mọc so le, hình bầu dục hay hình trứng ngược, hầu như không cuống, dài 3 cm đến 4 cm, rộng 1 cm đến 2 cm, mép

có răng cưa, phiến lá dày, láng ở mặt trên, mặt dưới xanh nhạt hơn mặt trên, vò có mùi thơm.

Vi phẫu
Gân lá hai mặt lồi. Phần gân chính gồm có biểu bì trên và biểu bì dưới, kế tiếp là lớp mô dày góc. Có 4 bó libe-gỗ xếp thành hình vòng cung. Mỗi bó có 1 vòng mô cứng bao bên ngoài. Bó libe-gỗ có cấu tạo gồm gỗ ở trên, libe ở giữa, đám mô cứng ở dưới và bao quanh bó libe-gỗ. Lớp mô giậu ở dưới biểu bì trên và biểu bì dưới của lá.

Bột
Bột có màu xanh lục đậm, mùi thơm, vị chua hơi mặn. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì mang lỗ khí. Lông che chở đa bào một dãy gồm 3 đến 5 tế bào cong queo. Mảnh mạch vạch, mạch điểm.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Thân còn sót lại: Không quá 2,0 %.
Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 3,5 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hái quanh năm. Cắt các cành mang lá non về rửa sạch, dùng tươi hoặc cắt đoạn phơi khô.

Bảo quản
Để nơi khô, tránh mốc.

Tính vị, quy kinh
Khổ, vị hàn. Vào các kinh can, đởm.

Công năng, chủ trị
Phát tán phong nhiệt, giải uất. Chủ trị: Ngoại cảm phong nhiệt phát sốt, hơi rét, nhức đầu, khát nước, tức ngực, khó chịu.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 8 g đến 20 g, dạng thuốc sắc hay hoàn tán. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Hư hỏa không nên dùng.

LỨC (Rễ)
Radix Plucheae pteropodae
Hải sài

Rễ phơi hay sấy khô của cây Lức (*Pluchea pteropoda* Hemsl.), họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả
Rễ nguyên hay đã chặt thành đoạn, đường kính 0,5 cm đến 2 cm, đoạn dài 1 cm đến 3 cm (nếu còn nguyên có thể dài đến 20 cm). Vỏ ngoài màu nâu xám, có nhiều nếp nhăn dọc và có vết tích của rễ con hay đoạn rễ con còn sót lại. Mặt cắt ngang có màu trắng đến trắng ngà. Chất giòn, dễ bẻ gãy.

Vi phẫu
Lớp bần tương đối mỏng, tế bào xếp khá đều đặn. Mô mềm vỏ gồm tế bào hình nhiều cạnh, rải rác có nhiều chất tiết. Trụ bì hóa mô cứng nằm rải rác sát nội bì. Nội bì rõ. Libe cấp 1 thường nằm tương ứng với đám mô cứng. Libe cấp 2 khá liên tục nhưng không nhìn rõ được tế bào. Tầng phát sinh libe-gỗ khá liên tục. Gỗ cấp 2 gồm mạch gỗ to và mô mềm gỗ chiếm tâm, có những tia ruột chạy qua vùng gỗ và loe rộng ra ở vùng libe.

Soi bột
Bột có màu vàng nâu nhạt, mùi thơm, vị nhạt. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh bần gồm các tế bào xếp đồng tâm và xuyên tâm khá đều đặn, đôi khi không đều. Mảnh mô mềm có chứa ống tiết (đôi khi còn chất tiết). Tế bào mô cứng có thành mỏng thường tập trung thành đám. Mảnh mạch điểm rất nhiều, mạch mạng.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Thân còn sót lại: Không quá 2,0 %.
Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Chế biến
Đào lấy rễ, bỏ rễ con, rửa sạch đất cát, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản
Để nơi khô, tránh mốc.

Tính vị, quy kinh
Khổ, vị hàn. Vào các kinh can, đởm.

Công năng, chủ trị
Phát tán phong nhiệt, giải uất. Chủ trị: Ngoại cảm phong nhiệt phát sốt, hơi rét, nhức đầu, khát nước, tức ngực, khó chịu.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 8 g đến 20 g, dạng thuốc sắc hay hoàn tán. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Hư hỏa không nên dùng.

MA HOÀNG
Herba Ephedrae

Bộ phận trên mặt đất đã phơi hoặc sấy khô của cây Thảo ma hoàng (*Ephedra sinica* Staff.), Mộc tặc ma hoàng (*Ephedra equisetina* Bunge.), Trung gian ma hoàng (*Ephedra intermedia* Schrenk. et C. A. Meyer); họ Ma hoàng (Ephedraceae).

Mô tả

Thảo ma hoàng: Là những nhánh hình trụ tròn, đường kính 1 mm đến 2 mm, ít phân nhánh. Mặt ngoài màu xanh lá cây nhạt đến xanh vàng, có nhiều rãnh dọc, hơi ráp tay. Thân chia thành nhiều đốt và đóng rõ, mỗi đóng dài 2,5 cm đến 3 cm; lá hình vảy nhỏ, dài 3 mm đến 4 mm, mọc đối ít khi mọc vòng, phía trên đầu lá nhọn và cong. Thể chất giòn, dễ gãy, vết bẻ có xơ, ruột có màu nâu đỏ. Mùi thơm nhẹ. Vị hơi đắng, chát.

Mộc tặc ma hoàng: Thân có đường kính 1 mm đến 1,5 mm, không ráp tay, thường phân nhánh nhiều. Giống dài 1 cm đến 3 cm. Lá là những vảy hình tam giác, dài 1 mm đến 2 mm, màu trắng xám, đầu lá không cuộn lại; ruột có màu đỏ nâu đến nâu đen.

Trung gian ma hoàng: Đường kính 1,5 mm đến 3 mm, thường phân nhánh, ráp tay, đóng dài 2 cm đến 6 cm. Lá là vảy dài 2 mm đến 3 mm, thường mọc vòng, đầu lá nhọn.

Vi phẫu

Thảo Ma hoàng: Biểu bì ngoằn ngoèo, có lớp cutin dày, lỗ khí thường ở những chỗ lõm. Tại các góc lồi nằm sát biểu bì có những bó sợi thành rất dày không hóa gỗ. Vùng mô mềm vỏ khá rộng, có những bó sợi nhỏ nằm rải rác. Trụ bì có hình uốn khúc và ở dưới những góc lồi có những bó sợi. Vòng libe-gỗ gồm 8 đến 15 bó, mỗi bó có libe ở phía ngoài, gỗ ở phía trong (mạch gỗ chưa phân hóa). Mô mềm ruột chứa những khối có màu nằm rải rác, đôi khi có những đám sợi.

Mộc tặc ma hoàng: Có 8 đến 10 bó sợi ở vùng trụ bì. Tầng sinh libe-gỗ là một vòng liên tục. Không có sợi trong ruột.

Trung gian ma hoàng: Có 12 đến 15 bó sợi nằm ở vùng trụ bì. Tầng sinh libe-gỗ có dạng tam giác. Sợi trong mô mềm ruột nằm rải rác, riêng lẻ hay thành bó.

Bột

Màu vàng xanh hay vàng nâu vị hơi đắng. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì thân mang lỗ khí, lớp cutin có u lồi. Sợi dài có vách dày nằm riêng lẻ hay chụm thành bó. Mảnh mô mềm gồm có những tế bào hình chữ nhật, thành mỏng. Mảnh mang màu nâu, nâu đen. Mảnh mạch vạch có kích thước nhỏ.

Định tính

A. Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 5 ml *nước* và vài giọt *dung dịch acid hydrocloric 5 % (TT)*, đun sôi 2 min đến 3 min. Lọc. Chuyển dịch lọc vào một bình gạn, thêm vài giọt *amoniac (TT)* để kiềm hóa, rồi chiết với 5 ml *cloroform (TT)*. Gạn dịch cloroform vào hai ống nghiệm.

Ống 1: Thêm *dung dịch đồng (II) clorid (TT)* và *carbon disulfid (TT)*, mỗi loại 5 giọt, lắc đều và để yên, lớp cloroform có màu vàng đậm.

Ống 2: Dùng để làm ống kiểm chứng, thêm 5 giọt *cloroform (TT)* thay cho carbon disulfid, lắc đều và để yên, lớp cloroform không có màu hay có màu vàng rất nhạt.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - amoniac (20 : 5 : 0,5).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thấm ẩm bằng vài giọt *amoniac (TT)*, thêm 10 ml *cloroform (TT)*, đun hồi lưu 1 h, lọc. Bốc hơi dịch lọc tới cắn, thêm 2 ml *methanol (TT)* vào cắn rồi khuấy đều. Lọc, được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan ephedrin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch ninhydrin (TT)* và sấy ở 105 °C khoảng 5 min. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu sắc và giá trị R_f với vết ephedrin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Tỷ lệ vụn nát

Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.12).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 5 g bột dược liệu (qua rây số 355) cho vào bình Soxhlet, thêm 3 ml *amoniac (TT)*, 10 ml *ethanol (TT)* và 20 ml *ether (TT)*, trộn đều. Để yên 24 h, thêm *ether (TT)* và đun hồi lưu trên cách thủy trong 4 h. Chuyển dịch chiết vào một bình gạn, rửa bình chiết bằng một lượng nhỏ *ether (TT)*. Gộp dịch chiết và dịch rửa, lắc dịch chiết thu được với *dung dịch acid hydrocloric 0,5 M (TT)* lần đầu 20 ml, sau đó lắc tiếp 4 lần, mỗi lần 10 ml. Gộp dịch chiết acid lại, kiềm hóa bằng *dung dịch natri hydroxyd 40 % (TT)*, bão hòa bằng *natri clorid (TT)*, lắc với *ether (TT)* lần đầu 20 ml và 4 lần tiếp theo mỗi lần 10 ml. Gộp các dịch ether lại, rửa 3 lần, mỗi lần với 5 ml *dung dịch natri clorid bão hòa (TT)*. Gộp các nước rửa lại và lắc với 10 ml *ether (TT)*. Gộp các dịch ether lại, thêm chính xác 30 ml *dung dịch acid sulfuric 0,02 N (CĐ)*, lắc đều, để yên cho cho phân lớp; lấy riêng lớp acid cho vào bình nón 250 ml, dịch ether được rửa 3 lần, mỗi lần với 5 ml *nước*. Gộp nước rửa vào bình nón đựng lớp acid ở trên, đun cách thủy đuổi hết ether và để nguội, chuẩn độ acid thừa bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)*, dùng 2 giọt *đỏ methyl (TT)* làm chất chỉ thị màu. 1 ml *dung dịch acid sulfuric 0,02 N (CĐ)* tương đương với 3,305 mg ephedrin ($C_{10}H_{15}NO$).

Dược liệu phải chứa không dưới 0,8 % alcaloid toàn phần tính theo ephedrin ($C_{10}H_{15}NO$).

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, khi thân còn hơi xanh, cắt về, phơi khô, bó lại thành từng bó.

Bào chế
Ma hoàng: Bỏ phần gốc thân hóa gỗ, rễ còn sót và tạp chất, cắt đoạn, phơi khô.
Mật ma hoàng: Lấy Ma hoàng, thêm mật ong và ít nước sôi, tẩm đều, ủ một lúc rồi sao nhỏ lửa cho đến khi sờ không dính tay, lấy ra để nguội. Cứ 100 kg Ma hoàng dùng 20 kg mật ong.

Bảo quản
Để nơi khô, thoáng, tránh ẩm.

Tính vị, quy kinh
Tân, vi khổ, ôn. Vào các kinh phế, bàng quang.

Công năng, chủ trị
Phát hãn giải biểu hàn, chỉ ho, bình suyễn, lợi thủy. Chủ trị: Cảm mạo phong hàn, dương thủy; ngực tức, ho suyễn, hen phế quản, phù thũng.
Ma hoàng chích mật: Nhuận phế giảm ho; thường dùng trong trường hợp biểu chứng đã giải song vẫn còn ho suyễn.
Sinh ma hoàng: Phát hãn giải biểu.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 4 g đến 12 g, dạng thuốc sắc, thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Dương hư tự ra mồ hôi, không nên dùng.

MÃ ĐỀ (Hạt)

Semen Plantaginis
Xa tiền tử

Hạt đã phơi hay sấy khô của cây Mã đề (*Plantago major* L.), họ Mã đề (Plantaginaceae).

Mô tả
Hạt rất nhỏ, hình bầu dục, hơi dẹt, dài rộng khoảng 1 mm. Mặt ngoài màu nâu hay tím đen. Nhìn gần thấy trên mặt hạt có chấm nhỏ màu trắng khá rõ. Nhìn qua kính lúp thấy những vân lăn tăn trên bề mặt hạt. Rốn hạt lõm.

Bột
Bột màu nâu xám, có chất nhầy. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh vỏ ngoài gồm những tế bào đa giác hoặc hình chữ nhật, thành tương đối dày, chứa chất dự trữ màu vàng xám. Mảnh nội nhũ gồm những tế bào hình đa giác thành rất dày và trong suốt, giữa tế bào có chất dự trữ lổn nhổn màu vàng nâu. Nhiều giọt dầu. Hạt tinh bột tròn và nhiều cạnh.

Độ ẩm
Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất
Hạt lép: Không quá 2,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Chỉ số trương nở
Không ít hơn 5 (Phụ lục 12.19).

Chế biến
Hái quả già, giũ lấy hạt, phơi hay sấy khô.

Bảo quản
Để nơi khô ráo, mát.

Bào chế
Lấy hạt Mã đề sạch, sao cho đến khi nổ giòn, phun dung dịch muối ăn và sao khô. Dùng 2 kg muối ăn cho 100 kg dược liệu, thêm nước vừa đủ để thấm ẩm dược liệu.
Dược liệu sau khi chế có mặt ngoài màu nâu tối hoặc nâu vàng, mùi hơi thơm, vị mặn.

Tính vị, quy kinh
Cam, lương. Vào các kinh can, phế, thận, tiểu trường, bàng quang.

Công năng, chủ trị
Thanh thấp nhiệt, trừ đờm, chỉ ho, lợi tiểu, thông lâm, chỉ huyết. Chủ trị: Ho nhiều đờm, viêm phế quản, viêm thận, bàng quang, sỏi tiết niệu, tiểu tiện ra máu, chảy máu cam.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 16 g đến 20 g, dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ
Phụ nữ có thai dùng thận trọng.

MÃ ĐỀ (Lá)

Folium Plantaginis

Lá đã phơi hay sấy khô của cây Mã đề (*Plantago major* L.), họ Mã đề (Plantaginaceae).

Mô tả
Lá nhăn nheo, nhàu nát, giống như cái thìa, đỉnh tù, đáy thuôn hẹp, dài 7 cm đến 10 cm, rộng 5 cm đến 7 cm. Mặt trên lá màu lục sẫm, mặt dưới màu lục nhạt. Phiến lá dày, nhẵn. Mép nguyên có 3 đến 5 gân hình cung, lồi nhiều về phía mặt dưới lá. Cuống dài 5 cm đến 10 cm, rộng ra về phía gốc.

Vi phẫu
Biểu bì trên và dưới gồm một lớp tế bào hình gần vuông, xếp đều đặn có chứa lỗ khí và lông tiết. Lớp mô dày góc dưới gân lá xếp sát biểu bì, gồm những tế bào hình nhiều cạnh. Mô mềm gồm những tế bào hình tròn hoặc nhiều cạnh, thành mỏng và hơi uốn lượn, có khoảng gian bào hình nhiều cạnh. Bó libe-gỗ hình tròn xếp giữa gân lá gồm: vòng nội bì bao bọc xung quanh, cung libe xếp sát cung mô dày dưới, gỗ ở trên libe, mạch gỗ xếp nối nhau thành dãy thẳng hàng.

Bột
Màu xám nâu nhạt, vị hơi chát, hơi đắng, hơi mặn. Soi kính hiển vi thấy mảnh biểu bì trên và dưới gồm tế bào thành mỏng ngoằn ngoèo mang lỗ khí và lông tiết. Lỗ khí có tế bào bạn hình dạng thay đổi, biểu bì trên có nhiều hơn biểu bì dưới. Lông tiết có đầu 2 tế bào, chân đa bào đính trên tế bào tròn, thành mỏng, xung quanh có nhiều đường vân tỏa ra, có khi lông đã rụng để lại vết tích của chân lông. Mảnh cuống lá gồm tế bào hình nhiều cạnh mang lông tiết đầu 2 tế bào. Mảnh mạch.

Định tính
A. Lấy 1 g bột dược liệu, tiến hành vi thăng hoa (Phụ lục 12.2), soi kính hiển vi thấy có tinh thể hình kim.
B. Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 5 ml nước, đun sôi 1 min rồi để nguội, lọc. Lấy 1 giọt dịch lọc nhỏ lên phiến kính, hơ nhẹ trên đèn cồn cho khô, đem soi kính hiển vi thấy có tinh thể hình vuông và hình chữ nhật.
C. Dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 366 nm, bột dược liệu phát quang màu nâu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.8).

Chế biến
Hái lá lúc cây sắp ra hoa hay đang ra hoa, rửa sạch, phơi hay sấy khô ở 40 °C đến 50 °C.

Bảo quản
Để nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh
Cam, hàn. Vào các kinh can, phế, thận, tiểu trường, bàng quang.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt trừ đờm, lợi tiểu thông lâm, chỉ huyết. Dùng trị ho viêm amidan, viêm phế quản; viêm thận, viêm bàng quang, bí tiểu tiện; chảy máu cam, nôn ra máu.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 16 g đến 20 g, dạng thuốc sắc, cao thuốc. Dùng ngoài để chữa bỏng (lấy bông nhúng vào cao thuốc đắp lên chỗ bỏng, băng lại, mỗi ngày thay một lần).

Kiêng kỵ
Phụ nữ có thai dùng phải thận trọng. Người già thận kém, đái đêm nhiều không nên dùng.

MÃ TIỀN (Hạt)
Semen Strychni

Hạt đã phơi hay sấy khô lấy từ quả chín của cây Mã tiền *(Strychnos nux-vomica L.)* hoặc một số loài thuộc chi *Strychnos* khác có chứa strychnin, họ Mã tiền (Loganiaceae).

Mô tả
Loài *Strychnos nux-vomica L.*: Hạt hình đĩa dẹt, hơi dày lên ở mép; một số hạt hơi méo mó, cong không đều, đường kính 1,2 cm đến 2,5 cm, dày 0,4 cm đến 0,6 cm, màu xám nhạt đến vàng nhạt. Mặt hạt phủ một lớp lông tơ bóng mượt mọc ngả theo chiều từ tâm hạt tỏa ra xung quanh. Rốn hạt là một lỗ chồi nhỏ ở giữa một mặt hạt. Sống noãn hơi lồi chạy từ rốn hạt đến lỗ noãn (là một điểm nhỏ cao lên ở trên mép hạt). Hạt có nội nhũ sừng màu vàng nhạt hay hơi xám, rất cứng. Cây mầm nhỏ nằm trong khoảng giữa nội nhũ phía lỗ noãn. Hạt không mùi, vị rất đắng.

Vi phẫu
Vỏ hạt có các tế bào biến đổi thành lông che chở đơn bào, thon dài, ngả theo chiều từ tâm hạt ra ngoài, gốc lông phình to. Lớp tế bào mô cứng dẹt, thành rất dày. Nội nhũ gồm những tế bào hình nhiều cạnh.

Bột
Rất nhiều lông che chở đơn bào dài và mảnh, thường bị gãy thành nhiều đoạn. Mảnh gốc lông phình to, thành dày. Mảnh tế bào mô cứng có ống trao đổi rõ. Mảnh nội nhũ gồm những tế bào hình nhiều cạnh thành dày, một vài tế bào chứa dầu và hạt aleuron.

Định tính
A. Trên mặt cắt ngang của dược liệu, nhỏ 1 giọt *acid nitric (TT)*, mặt cắt sẽ nhuộm màu đỏ cam. Trên mặt cắt khác, nhỏ một giọt *dung dịch amoni vanadat 1 % trong acid sulfuric (TT)*, mặt cắt sẽ có màu tím.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Toluen - aceton - ethanol - amoniac đậm đặc (4 : 5 : 0,6 : 0,4).
Dung dịch thử: Cho 0,5 g bột dược liệu vào bình nón nút mài, thêm 5 ml hỗn hợp *cloroform - ethanol* (10 : 1) và 0,5 ml *amoniac đậm đặc (TT)*, đậy nắp và lắc trong 5 min, để yên trong 1 h, thỉnh thoảng lắc đều. Lọc, được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch strychnin và brucin chuẩn có nồng độ mỗi chất 2 mg/ml trong *cloroform (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *thuốc thử Dragendorff (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 3,5 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Hạt lép và đen: Không quá 3,5 %.
Các tạp chất khác: Không quá 0,2 %.

Định lượng
Cân chính xác 0,4 g bột dược liệu (qua rây số 355) vào bình nón nút mài 100 ml. Thêm chính xác 20 ml *cloroform (TT)* và 0,3 ml *amoniac (TT)*. Đậy kín bình và cân. Đun hồi lưu trên cách thủy trong 3 h, hoặc chiết trong bể siêu âm 45 min. Cân lại và bổ sung *cloroform (TT)* để được khối lượng ban đầu. Lắc đều, lọc nhanh vào bình nón. Lấy chính xác 10 ml dịch lọc cho vào bình gạn 50 ml. Chiết 4 lần mỗi lần 10 ml *dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT)*. Lọc dịch acid qua giấy lọc đã thấm ướt trước bằng *dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT)* vào một bình định mức 50 ml. Rửa giấy lọc bằng một lượng nhỏ *dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT)*, gộp dịch rửa vào bình định mức và thêm cùng dung môi tới vạch, lắc kỹ. Hút chính xác 10 ml dung dịch thu được cho vào bình định mức 50 ml và thêm *dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Đo độ hấp thụ của dung dịch ở bước sóng 262 nm và 300 nm (Phụ lục 4.1). Cốc đo dày 1 cm, mẫu trắng là *dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT)*.
Hàm lượng phần trăm strychnin trong dược liệu (Y) được tính theo công thức sau:

$$Y = \frac{5 \times (0{,}32\,a - 0{,}467\,b)}{m \times (1 - X)}$$

Trong đó:
a là độ hấp thụ ở 262 nm;
b là độ hấp thụ ở 300 nm;
m là khối lượng mẫu thử (g);
X là độ ẩm của dược liệu (g).
Hàm lượng strychnin ($C_{21}H_{22}N_2O_2$) trong dược liệu không ít hơn 1,2 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Bảo quản
Để nơi khô ráo, tránh mốc mọt.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa đông, hái những quả già, bổ ra lấy hạt, loại bỏ cơm quả, hạt lép, non, phơi nắng hay sấy ở nhiệt độ 50 °C đến 60 °C đến khô.

Bào chế
Lấy hạt mã tiền sạch, sao với cát sạch cho phồng đến khi có màu nâu thẫm hoặc màu hạt dẻ sẫm. Khi ngoài vỏ có đường tách nẻ thì đổ hạt và cát ra; rây bỏ hết cát, cho hạt vào máy rây cho sạch lông nhung đã bị cháy.
Hạt Mã tiền tẩm dầu vừng: Cho hạt Mã tiền sạch vào nước hoặc nước vo gạo, ngâm một ngày đêm; hay cho hạt Mã tiền vào nước đun sôi, lấy ra, lại ngâm nước rồi lại lấy ra vài lần như vậy cho đến khi thấy mềm. Lấy hạt, cạo bỏ vỏ hạt, bỏ cây mầm thái mỏng, sấy khô, tẩm dầu vừng (mè) một đêm, lấy ra sao đến màu vàng, để nguội cho vào lọ đậy kín.

Bảo quản
Để nơi khô ráo, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Khổ, hàn, có đại độc. Vào các kinh can, tỳ.

Công năng, chủ trị
Thông kinh hoạt lạc giảm đau, mạnh gân cốt, tán kết tiêu sưng. Chủ trị: Phong thấp, tê, bại liệt; đau khớp dạng phong thấp, nhức mỏi chân tay, đau dây thần kinh, sưng đau do sang chấn, nhọt độc sưng đau.

Cách dùng, liều lượng
Dùng Mã tiền chế.
Người lớn 0,05 g/lần, 3 lần trong 24 h, liều tối đa 0,10 g/lần, 3 lần trong 24 h. Trẻ em từ 2 tuổi trở xuống không được dùng. Trẻ em từ 3 tuổi trở lên, dùng 0,005 g cho mỗi tuổi. Dùng dưới dạng thuốc sắc hay thuốc bột. Không dùng quá liều quy định.
Dùng quá liều có thể ngộ độc: Chân tay máy động, kinh giật khó thở, nặng thì có thể hôn mê.

Kiêng kỵ
Không dùng cho phụ nữ có thai, cho con bú.

MẠCH MÔN (Rễ)
Radix Ophiopogonis japonici

Rễ củ đã phơi hay sấy khô của cây Mạch môn đông [*Ophiopogon japonicus* (L.f.) Ker-Gawl], họ Mạch môn đông (Convallariaceae).

Mô tả
Rễ hình thoi, hai đầu hơi nhỏ lại, dài 1,5 cm đến 3,5 cm, đường kính phần giữa từ 0,2 cm đến 0,8 cm. Mặt ngoài có màu vàng nâu hoặc trắng ngà và nhiều nếp nhăn dọc nhỏ; trong mờ; một đầu thấy lõi giữa nhỏ. Chất mềm dẻo; Mặt cắt ngang có lớp vỏ mỏng màu nâu nhạt, phần ruột trắng ngà, có lõi nhỏ ở chính giữa. Mùi thơm nhẹ, vị hơi ngọt sau đó hơi đắng. Dính răng khi nhai.

Vi phẫu
Lớp bần mỏng cấu tạo bởi những tế bào có thành dày, có những chỗ bị rách bong ra. Hạ bì gồm vài lớp tế bào nhỏ thành hơi dày. Vùng mô mềm vỏ rộng gấp 3 đến 4 lần vùng mô mềm tủy. Các tế bào mô mềm có thành mỏng, hình tròn hay nhiều cạnh ở phần ngoài, tế bào kéo dài theo hướng xuyên tâm ở phần trong; rải rác có tinh thể calci oxalat hình kim đôi khi là hình cầu gai. Tế bào nội bì có thành dày ở phía trong và hai bên như hình chữ U. Trụ bì gồm 1 lớp tế bào có thành mỏng. Các bó gỗ cấp 1 xếp thành dãy, mạch lớn phía trong và mạch nhỏ phía ngoài xếp xen kẽ với bó libe cấp 1. Vùng mô mềm ruột hẹp gồm các tế bào có thành mỏng, kích thước nhỏ hơn tế bào mô mềm vỏ, rải rác có tế bào chứa bó tinh thể calci oxalat hình kim thường nhỏ hơn các tế bào xung quanh.

Bột
Mảnh bần gồm những tế bào nhiều cạnh có thành dày. Mảnh mô mềm gồm tế bào có thành mỏng, hình tròn hoặc nhiều cạnh, có chứa tinh thể calci oxalat hình kim dài 40 µm đến 70 µm, rộng 2 µm đến 4 µm, đứng riêng rẽ hay xếp thành từng bó. Tế bào mô cứng hình chữ nhật có thành dày, khoang rộng, có ống trao đổi rõ, thường xếp thành từng đám, có nhiều tinh bột.

Định tính
A. Quan sát mặt cắt ngang của dược liệu dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm thấy có phát quang màu xanh nhạt sáng, mạnh nhất ở vùng lõi và giảm dần ở vùng vỏ.
B. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 15 ml *ethanol 70 % (TT)*, đun hồi lưu trên bếp cách thủy 15 min, lọc. Lấy khoảng 1 ml dịch lọc pha loãng với *nước cất* thành 10 ml. Lắc mạnh 15 s, có bọt bền.
C. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 15 ml *nước*, đun trong cách thủy 15 min, lọc. Lấy 1 ml dịch lọc thêm 1 ml *thuốc thử Fehling (TT)*, đun sôi, có kết tủa đỏ gạch.
D. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi khai triển: *Dicloromethan - methanol - nước* (8 : 2 : 0,3).
Dung dịch thử: Lấy khoảng 5,0 g bột dược liệu vào bình cầu cổ mài 250 ml, thêm 100 ml *methanol (TT)*. Đun hồi lưu trên cách thủy 60 min. Để nguội, lọc. Rửa bã dược liệu bằng 10 ml *methanol (TT)*. Gộp dịch lọc và dịch rửa. Cất thu hồi dung môi tới cắn. Hòa cắn và chuyển hỗn hợp thu được vào bình chiết dung tích 100 ml bằng 25 ml *nước*. Thêm 25 ml *nước bão hòa n-butanol (TT)*. Lắc kỹ. Lấy dịch chiết n-butanol và bay hơi trên cách thủy đến cắn. Hòa tan cắn trong 3 ml *methanol (TT)* được dung dịch chấm sắc ký.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Lấy khoảng 5,0 g bột Mạch môn (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan ophiopogonin D chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 4 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch acid suluric 10 % trong ethanol (TT)*, sấy ở 120 °C cho đến khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu hoặc phải có vết cùng giá trị R_f và màu sắc với vết của ophiopogonin D trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 18,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric
Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất
Không quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không được ít hơn 60,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10). Dùng *nước* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa hạ. Đào lấy rễ củ, rửa sạch, phơi nắng và xếp đống nhiều lần cho gần khô (khô khoảng 70 % đến 80 %), loại bỏ rễ tua, phơi hay sấy nhẹ đến khô.

Bào chế
Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, đập dẹt, rút bỏ lõi, phơi khô.

Bảo quản
Để nơi khô mát, tránh mốc.

Tính vị, quy kinh
Cam, vi khổ, vi hàn. Vào các kinh tâm, phế, vị.

Công năng, chủ trị
Dưỡng vị sinh tân, nhuận phế thanh tâm. Chủ trị: Phế nhiệt do âm hư, ho khan, ho lao, tân dịch thương tổn, tâm phiền mất ngủ, tiêu khát, táo bón.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 12 g. Dạng thuốc sắc. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Tỳ vị hư hàn, ăn uống chậm tiêu, ỉa chảy không nên dùng.

MẠCH NHA
Fructus Hordei germinatus

Quả chín này mầm phơi khô của cây lúa Đại mạch (*Hordeum vulgare* L.), họ Lúa (Poaceae).

Mô tả
Mạch nha hình thoi dài 8 mm đến 12 mm, đường kính 3 mm đến 4 mm, mặt ngoài màu vàng nhạt, trên lưng có mày bao quanh với 5 đường gân và râu dài đã gãy rụng. Phía bụng được bao trong mày hoa, bóc bỏ vỏ ngoài thấy mặt bụng có một rãnh dọc, phần dưới mọc ra mầm non và rễ con, mầm non dài dạng mũi mác, dài 0,5 cm với vài sợi rễ nhỏ cong queo. Chất cứng, mặt bẻ gãy màu trắng có tinh bột. Không mùi, vị hơi ngọt.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng : *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Toluen – cloroform – ethyl acetat* (10 : 10 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 5 g bột dược liệu vào bình nón 100 ml, thêm 30 ml *ethanol (TT)*, siêu âm trong 40 min, lọc. Thêm vào dịch lọc 1,5 ml *dung dịch kali hydroxyd 50 % (TT)*,

đun hồi lưu trong cách thủy 15 min, làm nguội bằng cách để trong cách thủy đá 5 min. Chuyển vào một bình chiết, rửa bình nón 2 lần mỗi lần với 20 ml *nước* và gộp nước rửa vào bình chiết. Chiết với *ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (TT)* 3 lần, mỗi lần 10 ml. Gộp dịch chiết ether dầu hỏa, để bay hơi đến khô. Hòa tan cặn trong 1 ml *ethyl acetat (TT)* được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 5 g bột Mạch nha (mẫu chuẩn). Tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí. Phun *dung dịch acid nitric 15 % trong ethanol*. Sấy ở 100 °C đến khi xuất hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang có cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Tỷ lệ mọc mầm

Lấy 10 g hạt lúa đại mạch (theo phương pháp lấy mẫu dược liệu, Phụ lục 12.1), chia làm 2 phần. Mỗi phần trải trên một nửa bề mặt phẳng, có đường ngăn chéo. Đếm số hạt mọc mầm trên tổng số hạt đem thử, tính ra tỷ lệ phần trăm số hạt mọc mầm. Tỷ lệ mọc mầm của dược liệu không được dưới 85 %.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Chế biến

Lấy hạt đại mạch đã nhặt sạch, ngâm nước 2 h đến 3 h. Vớt ra, bỏ vào rá, đậy kín. Mỗi ngày vẩy nước 1 lần, giữ độ ẩm cho đến khi hạt lúa nứt mầm dài độ 0,5 cm, lấy ra phơi khô gọi là sinh mạch nha.

Bào chế

Mạch nha sao: Lấy sinh mạch nha sạch, rang nhỏ lửa, sao đến màu vàng nâu, lấy ra để nguội, sẩy sạch bụi tro vụn là được.

Tiêu mạch nha: Lấy mạch nha sạch, cho vào nồi, đun to lửa, sao cho vàng sém, lấy ra để khô, sẩy hết tro bụi.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, trong bao bì kín, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, bình. Vào các kinh tỳ, vị.

Công năng, chủ trị

Kiện tỳ tiêu thực, tiêu sưng thông sữa. Chủ trị: Thực tích bụng đầy trướng, ăn kém, tiêu hóa kém, làm mất sữa hoặc vú sưng đau do sữa ứ lại, vú tức đau khi căng sữa.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 15 g. Làm mất sữa: 60 g, dạng thuốc sắc. Thường phối hợp với các loại thuốc khác.

Kiêng kỵ

Phụ nữ có thai, hoặc đang thời kỳ cho con bú không nên dùng.

MAI MỰC

Os Sepiae

Ô tặc cốt

Mai rửa sạch phơi hay sấy khô của con Cá mực (*Sepia esculenta* Hoyle), họ Mực nang (Sepiidae).

Mô tả

Mai mực hình bầu dục dài 13 cm đến 23 cm, rộng 6,5 cm đến 8 cm và dẹt, mép mỏng. Lưng cứng, màu trắng hay trắng ngà, hai bên có rìa màu vàng đậm hơn. Trên mặt lưng có u hạt nổi lên, xếp thành những đường vân hình chữ U mờ. Mặt bụng màu trắng, xốp, có những đường vân ngang nhỏ, dày đặc, tựa như những làn sóng gợn, có 1 rãnh dọc nông ở giữa mặt bụng. Mép như sừng của phần đuôi mở rộng dần và uốn cong về phía bụng, tận cùng phần đuôi có gai như chất xương, thường bị gẫy và rơi rụng. Trừ phần lưng và mép bụng, có thể chất cứng, còn toàn bộ mai mực có thể dùng móng tay nghiền dễ dàng thành bột mịn. Vị hơi mặn và chát. Mùi hơi tanh.

Bột

Phần nhiều màu trắng, dưới kính hiển vi thấy: Đa số ở dưới dạng phiến mỏng trong suốt, không đều, một số có gợn nhỏ. Những mảnh vỡ không đều, mặt có hình vân lưới hay đốm nổi gợn lên.

Định tính

Lấy khoảng 0,5 bột dược liệu, thêm 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)*, sẽ có sủi bọt và tan gần hết.

Độ ẩm

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Mực bắt về loại bỏ thịt, giữ lại mai, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Rửa sạch, phơi khô, thái thành miếng nhỏ hoặc tán thành bột mịn.

Bảo quản

Nơi khô, mát.

Tính vị, quy kinh

Hàm, ôn. Quy vào can, thận.

Công năng, chủ trị
Thông huyết mạch, trừ hàn thấp, chỉ huyết. Chủ trị: Thổ huyết, nục huyết, cam tẩu mã, băng lậu, đới hạ, đau loét dạ dày và hành tá tràng, âm nang lở ngứa.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 5 g đến 9 g, dạng thuốc bột hoặc phối ngũ trong các bài thuốc.
Dùng ngoài: Tán mịn, đắp lượng thích hợp vào chỗ lở loét.

Kiêng kỵ
Kỵ Bạch cập, Bạch liễm, Phụ tử.

MẠN KINH TỬ
Fructus Viticis trifoliae
Quan âm biển

Quả chín đã phơi hay sấy khô của cây Mạn kinh (*Vitex trifolia* L.) hay cây Mạn kinh lá đơn (*Vitex rotundifolia* L. f.), họ Cỏ roi ngựa (Verbenaceae).

Mô tả
Quả hình cầu, đường kính 4 mm đến 6 mm, mặt ngoài màu xám đen hoặc nâu đen, phủ lông nhung màu xám nhạt như sương, có 4 rãnh dọc nông, đỉnh hơi lõm, đáy có đài tồn tại màu xám nhạt và cuống quả ngắn. Lá đài bao bọc 1/3 đến 2/3 quả, có 5 răng, trong đó có 2 răng xẻ tương đối sâu, được phủ kín lông tơ mượt. Chất nhẹ và cứng, khó đập vỡ. Mặt cắt ngang quả có 4 ô, mỗi ô có một hạt. Mùi thơm đặc biệt, vị nhạt, hơi cay.

Vi phẫu
Vỏ quả ngoài gồm 2 lớp: Biểu bì và hạ bì. Biểu bì có 1 lớp cutin khá dày, rải rác có lông tiết hình cầu. Hạ bì gồm các tế bào dài, dẹt, thành cùng tương đối dày.
Vỏ quả giữa: Phía ngoài tế bào không đều, hình nhiều cạnh, bầu dục hoặc tròn, thành mỏng; phía trong tế bào dài xếp dọc, thành dày hơn.
Vỏ quả trong: Cấu tạo bởi tế bào mô cứng hình chữ nhật hoặc bầu dục, thành rất dày, càng vào phía trong thành tế bào càng dày.
Vỏ hạt cấu tạo bởi 1 đến 2 lớp tế bào hình mạng.
Nội nhũ gồm 1 đến 4 lớp tế bào hình bầu dục, trong có những hạt lổn nhổn.

Bột
Màu nâu xám, tế bào biểu bì của lá đài hình hơi tròn, thành tế bào thường lượn sóng. Lông che chở có 2 đến 3 tế bào, tế bào ở đỉnh lớn hơn, có hình bướu. Tế bào vỏ quả ngoài hình nhiều cạnh, có đường vân kẻ của cutin và vết tích lông đã rụng, có lông tiết và lông che chở. Lông tiết có 2 loại, loại lông đơn bào ở đầu và 1 đến 2 tế bào ở chân và loại lông có 2 đến 6 tế bào ở đầu và 1 tế bào ở chân. Lông che chở có 2 đến 4 tế bào, dài 14 µm đến 68 µm, thường cong thành núm lồi. Tế bào vỏ quả giữa hình hơi tròn hay bầu dục, thành hơi hóa gỗ, có lỗ rõ. Tế bào tiết thường bị vỡ, có chứa các chất tiết, tế bào kề bên chứa giọt dầu màu vàng nhạt. Tế bào mô cứng của vỏ quả trong hình bầu dục hay hình vuông, đường kính 10 µm đến 35 µm. Tế bào vỏ hạt hình tròn hoặc hơi tròn, đường kính 35 µm đến 42 µm, thành có vân lưới, hóa gỗ.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G.*
Dung môi khai triển: *Cyclohexan - ethyl acetat* (8 : 2).
Dung dịch thử: Cất tinh dầu từ 40 g dược liệu bằng phương pháp cất kéo bằng hơi nước. Pha một giọt tinh dầu trong 1 ml *ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (TT).*
Dung dịch đối chiếu: Cất tinh dầu từ 40 g Mạn kinh tử (mẫu chuẩn) bằng phương pháp cất kéo bằng hơi nước. Pha một giọt tinh dầu trong 1 ml *ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (TT).*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên cùng bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi khai triển, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí rồi phun *thuốc thử vanilin - acid sulfuric (TT),* sấy bản mỏng ở 110 °C trong 10 min. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 11,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Tỷ lệ quả non, quả lép: Không quá 5,0 %.
Tạp chất khác: Không quá 0,5 %.

Chất chiết được trong dược liệu
Chất chiết được trong *nước:* Không dưới 11,0 % tính theo dược liệu khô kiệt. Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *nước* làm dung môi.
Chất chiết được trong *ethanol:* Không được dưới 7,0 % tính theo dược liệu khô kiệt. Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa thu, hái quả chín, loại bỏ tạp chất, phơi hay sấy khô.

Bào chế
Mạn kinh tử sống: Loại bỏ tạp chất.
Mạn kinh tử sao: Cho mạn kinh tử vào cháo, sao nhỏ lửa cho đến khi khô thơm. Giã dập khi dùng.

Bảo quản
Nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh
Khổ, tân, vi hàn. Vào kinh can, phế, bàng quang, vị.

Công năng, chủ trị
Sơ tán phong nhiệt, khu phong thắng thấp. Chủ trị: Cảm mạo, nhức đầu do phong nhiệt, sưng đau răng lợi, đau mắt

kèm chảy nhiều nước mắt, hoa mắt, chóng mặt, phong thấp, cân mạch co rút.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 5 g đến 9 g, thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Huyết hư không nên dùng.

MĂNG CỤT (Vỏ quả)
Pericarpium Garciniae mangostanae

Vỏ quả chín phơi hay sấy khô của quả cây Măng cụt (*Garcinia mangostana* L.), họ Măng cụt (Clusiaceae).

Mô tả
Mảnh vỏ quả màu đỏ nâu, hơi cong queo, kích thước từ 3 cm đến 5 cm. Vỏ quả ngoài có màu nâu sậm, khá nhẵn, vỏ quả giữa có màu đỏ nâu, vết bẻ ở phần này cho thấy có những ống tiết chứa chất nhựa màu vàng hay vàng cam. Vỏ quả trong màu nâu nhạt, nhẵn, nhìn thấy rõ những mạch dẫn nhựa nhỏ và những vết hằn của múi. Đôi khi còn sót lại những lá đài đồng trưởng có hình gần như tròn, đính trên cuống.

Bột
Màu nâu, không mùi, vị hơi chát. Soi kính hiển vi: tế bào mô cứng đa dạng, có kích thước không đều, thành rất dày, lỗ trao đổi rõ. Mảnh mô mềm gồm những tế bào có thành mỏng, mang chất màu (đỏ nâu). Khối nhựa có màu (cam, đỏ cam, nâu). Tinh thể calci oxalat hình cầu gai (nhỏ, ít).

Định tính
A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 30 ml *nước*, đun trong cách thủy sôi 15 min. Lọc qua 1 đến 2 lớp giấy lọc được dung dịch A.
Phản ứng 1: Cho vào hai ống nghiệm, mỗi ống 2 ml dung dịch A.
Ống 1: Thêm 1 giọt đến 2 giọt *thuốc thử gelatin - natri clorid (TT)*, xuất hiện tủa trắng đục.
Ống 2: Thêm 1 giọt đến 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 1 % (TT)*, dung dịch có màu xanh rêu.
Phản ứng 2: Cho vào hai ống nghiệm, mỗi ống 2 ml dung dịch A.
Ống 1: Thêm 3 giọt *thuốc thử Stiasny (TT)*, đun nóng trong cách thủy 10 min, xuất hiện tủa vón màu đỏ gạch.
Ống 2: Thêm 1 đến 2 giọt *nước brom (TT)*, xuất hiện tủa ngả.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* $G60F_{254}$.
Dung môi khai triển: *Cloroform - ethyl acetat - acid formic* (5 : 4 : 1).
Dung dịch thử: Lấy khoảng 2 g bột dược liệu, thêm 20 ml hỗn hợp dung môi *cloroform - ethyl acetat - acid formic* (5 : 4 : 1), siêu âm trong 30 min, lọc, lấy dịch lọc bốc hơi trên cách thủy đến cắn. Hòa cắn trong 2 ml hỗn hợp dung môi trên được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 2 g bột Măng cụt (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát huỳnh quang cùng màu và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric
Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất
Không quá 2,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 10,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch khi vỏ quả đã chuyển sang màu đỏ hoặc màu tím. Bỏ phần thịt quả và hạt, lấy vỏ dùng tươi hay phơi khô.

Bảo quản
Bao bì kín, nơi khô ráo.

Tính vị, quy kinh
Vị chát, tính ấm. Vào kinh đại tràng.

Công năng, chủ trị
Sát trùng chỉ lỵ, thu liễm săn da. Chủ trị: Đau bụng ỉa chảy, lỵ, khí hư bạch đới.

Cách dùng, liều dùng
Ngày dùng từ 20 g đến 60 g, dưới dạng thuốc sắc, hoặc dịch chiết thụt rửa âm đạo trị bạch đới.

MÂM XÔI (Quả)
Fructus Rubi
Dùm dũm

Quả chín đã phơi hay sấy khô của cây Mâm xôi (*Rubus alceaefolius* Poir.), họ Hoa hồng (Rosaceae).

Mô tả
Dược liệu là quả tụ hình cầu, thường đính với cuống, gồm nhiều quả hạch nhỏ xếp sít nhau thành cụm hình mâm xôi. Quả chín khô màu đỏ thẫm, đường kính khoảng 0,5 cm đến 1,0 cm. Quả hạch nhỏ mang nhiều tua dài, uốn theo

nhiều phía, bên trong chứa hạch hình thận. Đầu quả lồi tròn, gốc quả lõm gắn vào cuống và 5 lá đài. Phía trong lá đài có nhiều chỉ nhị màu nâu đen, rời nhau. Quả có vị chua, hơi ngọt.

Bột
Bột màu nâu đỏ, soi kính hiển vi thấy nhiều lông che chở đơn bào, thành dày, màu nâu nhạt, thuôn nhọn hoặc hơi uốn lượn đường kính khoảng 7 µm đến 12 µm, dài khoảng 70 µm đến 300 µm. Mảnh mang màu đỏ hoặc vàng. Mảnh biểu bì gồm các tế bào hình đa giác hoặc tế bào dài và dẹt. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai đường kính 15 µm đến 25 µm, nằm trong đám mô mềm hoặc rải rác. Rải rác có các mảnh mạch màu vàng nhạt hay nâu đỏ.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G.*
Dung môi khai triển: *Cloroform - methanol* (9 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột thô dược liệu, thêm 15 ml *ethyl acetat (TT)*, ngâm trong 1 h, thỉnh thoảng lắc, lọc. Bốc hơi dịch lọc trên cách thủy tới cạn. Hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol 96 % (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Mâm xôi (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 15 µl mỗi dung dịch trên, triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*, sấy ở 110 °C đến khi rõ vết. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Chế biến
Vào tháng 5 đến 7, khi quả chín, hái về, loại bỏ tạp chất, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Cam, toan, ôn. Vào kinh can, thận.

Công năng, chủ trị
Ích thận, cố tinh. Chủ trị: Tiểu nhiều lần, tiểu không cầm, hoặc thận hư dẫn đến tảo tiết, di tinh, liệt dương.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dưới dạng thuốc sắc hoặc hoàn.

MẬT ONG
Mel

Mật ong là mật của con Ong mật gốc châu Á (*Apis cerana* Fabricus) hay Ong mật gốc châu Âu (*Apis mellifera* L.), họ Ong mật (Apidae).

Mô tả
Chất lỏng đặc sánh, hơi trong và dính nhớt, có màu trắng đến màu vàng nhạt hoặc vàng cam đến nâu hơi vàng. Khi để lâu hoặc để lạnh sẽ có những tinh thể dạng hạt dần dần tách ra. Mùi thơm, vị rất ngọt.

Tỷ trọng
Ở 20 °C: Không dưới 1,38 (Phụ lục 6.5).
Nếu chế phẩm có đường kết tinh cần đun nóng trên cách thủy ở nhiệt độ không quá 60 °C cho tan hết đường, trộn đều, để nguội và tiến hành đo tỷ trọng bằng phương pháp dùng picnomet hay cân thủy tĩnh.

Độ acid
Hòa tan 10 g chế phẩm với 100 ml nước cất mới đun sôi để nguội, thêm 2 giọt *dung dịch phenolphtalein (TT)* và 4 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*, xuất hiện màu hồng bền vững trong 10 s.

Tinh bột và dextrin
Đun 2 g chế phẩm với 10 ml *nước cất*, để nguội, thêm 1 giọt *thuốc thử iod*, không được có màu xanh hoặc màu đỏ.
Cách pha thuốc thử iod: Hòa tan 26,0 g *iod (TT)* và 72 g *kali iodid (TT)* trong 100 ml *nước*, thêm 6 giọt *acid hydrocloric (TT)* và pha loãng với *nước* đến vừa đủ 500 ml, trộn đều và lọc qua phễu lọc thủy tinh xốp.

Tạp chất
Trộn đều 1 g chế phẩm với 2,0 ml *nước cất*, ly tâm. Gạn lấy phần cặn đem soi dưới kính hiển vi, ngoài hạt phấn hoa ra, không được có tạp chất khác.

Tro toàn phần
Không quá 0,4 % (Phụ lục 9.8).

Tro sulfat
Từ 0,1 đến 0,4 % (Phụ lục 9.9).

Clorid
Không quá 0,02 % (Phụ lục 9.4.5).
Dung dịch A: Hòa tan 4,0 g chế phẩm trong *nước*, thêm *nước* vừa đủ 40,0 ml và lọc.
Lấy 2,5 ml dung dịch A để tiến hành thử.

Calci
Không quá 0,06 %.
Lấy 1,0 ml dung dịch A, pha loãng với *nước cất* thành 10,0 ml. Dung dịch thu được không được chứa calci nhiều hơn 6,0 ml *dung dịch calci mẫu 10 phần triệu Ca (TT)* thêm *nước* vừa đủ 10,0 ml (Phụ lục 9.4.3).

Sulfat
Không quá 0,02 %.
Lấy 7,5 ml dung dịch A để tiến hành thử (Phụ lục 9.4.14).

Chất nhầy tổng hợp
Không được xuất hiện tủa do chất nhầy tổng hợp.
Pha loãng chế phẩm khoảng 8 lần với *nước cất* đun nóng. Nếu có chất nhầy tổng hợp sẽ xuất hiện tủa. Tủa này có khuynh hướng tan lại khi để nguội. Tủa tạo thành khi đun nóng, đem lọc, hòa tan tủa trong *nước cất* và thêm *dung dịch fuchsin (TT)*, dung dịch sẽ chuyển sang màu hồng. Làm bão hòa dung dịch bằng *natri sulfat khan (TT)*, sẽ cho tủa bông màu đỏ đậm.

Sacarin
Phương pháp chuyển sacarin thành acid salicylic:
Acid hóa 50 ml chế phẩm với *dung dịch acid hydrocloric 16 % (TT)*. Chiết 3 lần, mỗi lần với 5 ml *ether (TT)*. Gộp các dịch chiết ether rồi rửa với 5 ml *nước cất*. Bốc hơi ether. Hòa tan cắn trong một ít *nước* nóng, thêm *nước cất* cho vừa đủ 10 ml, thêm 2 giọt *dung dịch acid sulfuric 38 % (TT)*. Đun sôi, thêm từng giọt *dung dịch kali permanganat 5 % (TT)* (cho quá thừa 1 giọt đến khi có màu hồng). Để nguội, hòa tan 1 g *natri hydroxyd (TT)* vào dung dịch, lọc vào một chén sứ, đun cách thủy đến khô rồi đem nung ở 210 °C đến 215 °C trong 20 min.
Hòa cắn trong *nước cất* và acid hóa bằng *dung dịch acid hydrocloric 16 % (TT)*, chiết với *ether (TT)* và bốc hơi ether. Nhỏ vào cắn 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 1 % (TT)*, không được xuất hiện màu tím.

Đường tráo nhân tạo hoặc chất tạo màu với resorcin
Lắc 5 g chế phẩm với 20 ml *ether etylic (TT)*. Lọc lấy dịch ether vào một ống nghiệm. Thêm 2 ml thuốc thử Fischer [Hòa tan 1 g *resorcin (TT)* trong *acid hydrocloric đậm đặc (TT)* vừa đủ 100 ml]. Lắc mạnh, quan sát màu của lớp dung dịch phía dưới, không được có màu đỏ cánh sen rõ rệt trong vòng 20 min.

Vết rỉ sắt
Lấy 1 ml chế phẩm, thêm 4 ml *nước cất* và 4 giọt *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*, lắc đều. Nhỏ vài giọt *dung dịch kali ferocyanid 5 % (TT)*, không được xuất hiện màu xanh.

Định lượng
Thuốc thử Fehling: Là dung dịch đồng thể tích của dung dịch Fehling A và dung dịch Fehling B.

Dung dịch Fehling A:	
Đồng sulfat tinh thể (TT)	34,66 g
Dung dịch acid sulfuric 15 % (TT)	2 đến 3 giọt
Nước cất vừa đủ	500 ml
Dung dịch Fehling B:	
Natri kali tartrat (TT)	173 g
Natri hydroxyd (TT)	50 g
Nước cất vừa đủ	500 ml

Dung dịch glucose chuẩn 1 %: Cân chính xác khoảng 1 g glucose chuẩn (đã sấy ở 100 °C đến 105 °C đến khối lượng không đổi) cho vào bình định mức 100 ml, thêm *nước* để hòa tan và pha loãng với *nước* đến vạch, lắc đều.
Xác định độ chuẩn T: Lấy chính xác 10,0 ml *dung dịch Fehling A*, 10,0 ml *dung dịch Fehling B* và 5 ml *dung dịch kali ferocyanid 5 %* cho vào một bình nón. Đun sôi dung dịch thu được rồi chuẩn độ bằng dung dịch glucose chuẩn 1 % (nhỏ từng giọt) cho đến khi chuyển màu từ xanh lơ sang nâu xám. Thời gian từ khi bắt đầu chuẩn độ cho đến khi kết thúc là 4 min và luôn giữ cho dung dịch sôi đều trong suốt quá trình định lượng.
Tính độ chuẩn T [lượng glucose khan (g) tương đương với 1 ml thuốc thử Fehling đã dùng].
Thông thường độ chuẩn T từ 0,00345 g đến 0,00375 g (tương đương với 6,9 ml đến 7,5 ml dung dịch glucose chuẩn 1 %).
Tiến hành định lượng: Cân chính xác khoảng 2 g chế phẩm cho vào bình định mức 100 ml. Thêm *nước* để hòa tan và pha loãng với *nước* vừa đủ đến vạch, lắc đều (dung dịch chế phẩm 2 %).
Tiến hành định lượng như phần xác định độ chuẩn T, bắt đầu từ "Lấy chính xác 10,0 ml dung dịch Fehling..." nhưng dùng dung dịch chế phẩm 2 % để chuẩn độ thay cho dung dịch glucose chuẩn 1 %.
Tính hàm lượng (%) đường khử tự do trong chế phẩm theo công thức sau:

$$X\% = \frac{T \times 20 \times 100 \times 100}{V \times P}$$

Trong đó:
T là lượng glucose khan (g) tương ứng với 1 ml thuốc thử Fehling đã chuẩn độ;
V là thể tích dung dịch chế phẩm 2 % đã tiêu thụ (ml);
P là khối lượng chế phẩm đem thử (g).
Hàm lượng đường khử tự do trong chế phẩm tính theo glucose khan không được dưới 64 % (kl/kl).

Bảo quản
Trong bình, lọ, chai nút kín, không đựng trong thùng sắt. Để nơi mát, tránh ẩm thấp, tránh côn trùng (ruồi, bọ, chuột...).

Tính vị, quy kinh
Cam, bình. Vào các kinh phế, tỳ, đại trường.

Công năng, chủ trị
Bổ trung, nhuận táo, chỉ thống, giải độc. Chủ trị: Tỳ vị hư nhược, đau thượng vị, ho, táo bón, giải độc Ô đầu, điều hòa các vị thuốc.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 15 g đến 30 g. Dùng ngoài điều trị mụn nhọt không thu miệng, bỏng nước, bỏng lửa, liều lượng thích hợp.

Kiêng kỵ
Sôi bụng, ỉa chảy hay đầy bụng, không nên dùng.

MẪU ĐƠN BÌ (Vỏ rễ)

Cortex Radicis Paeoniae suffruticosae

Vỏ rễ phơi khô của cây Mẫu đơn (*Paeonia suffruticosa* Andr.), họ Mẫu đơn (Paeoniaceae).

Mô tả

Mẫu đơn bì hình ống hoặc nửa hình ống, có khe nứt dọc, hai mép thường cuộn cong vào trong hoặc mở ra, dài 5 cm đến 20 cm, đường kính 0,5 cm đến 1,2 cm, dày 0,1 cm đến 0,4 cm. Mặt ngoài màu nâu hay vàng nâu, có nhiều lỗ bì nằm ngang và vết sẹo rễ nhỏ, nơi tróc vỏ bần, có màu phấn hồng. Mặt trong của vỏ màu vàng tro hoặc nâu nhạt, có vân dọc nhỏ, rõ, thường có nhiều tinh thể nhỏ sáng. Chất cứng giòn, dễ bẻ gãy. Mặt gãy gần phẳng, có tinh bột, màu phớt hồng. Vị hơi đắng và se. Mùi thơm đặc biệt.

Bột

Màu nâu đỏ nhạt, hạt tinh bột rất nhiều, hạt đơn loại hình tròn hoặc hình đa giác, đường kính 3 µm đến 16 µm, rốn có dạng điểm hoặc vạch hoặc hình chữ V, hạt kép 2 đến 6. Những bó tinh thể calci oxalat có đường kính 9 µm đến 45 µm, đôi khi các tế bào chứa các tinh thể này lại đứng liền nhau, xếp thành các cụm bó tinh thể, có khi một tế bào lại chứa nhiều bó calci oxalat. Tế bào bần hình chữ nhật, thành hơi dày màu đỏ nhạt.

Định tính

A. Lắc 0,15 g bột dược liệu với 25 ml *ethanol (TT)* trong vài phút rồi lọc. Pha loãng 1 ml dịch lọc với *ethanol (TT)* thành 25 ml dung dịch. Đo quang phổ hấp thụ (Phụ lục 4.1), dung dịch thu được phải có cực đại hấp thụ ở bước sóng 274 nm ± 1 nm.

B. Lắc 0,5 g bột dược liệu với 5 ml *ether ethylic (TT)* trong 10 min, lọc; bốc hơi dịch lọc trên cách thủy đến khô, hòa cắn trong 3 ml *ethanol (TT)*, thêm 1 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, xuất hiện màu tía đỏ.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cyclohexan - ethyl acetat (3 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ether ethylic (TT)*, lắc kỹ, để yên 10 min, lọc. Bốc hơi dịch lọc trên cách thủy đến khô, thêm 2 ml *aceton (TT)* để hòa tan cắn, được dung dịch thử.

Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan paeonol chuẩn trong *aceton (TT)* để được dung dịch có nồng độ 5 mg/ml.

Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có paeonol, lấy 1 g bột Mẫu đơn bì (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, rồi phun *dung dịch sắt (III) clorid 5 % trong ethanol (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu sắc và giá trị R_f với vết trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu. Hoặc có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tỉ lệ gỗ lẫn: Không quá 5,0 %.

Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 0,2 g bột dược liệu (qua rây số 355) cho vào trong bình cầu, cất kéo hơi nước cho đến khi dịch cất ra được khoảng 450 ml, thêm *nước* vừa đủ 500 ml, lắc đều. Đo độ hấp thụ của dung dịch thu được (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 274 nm. Tính hàm lượng paeonol trong dược liệu theo A (1 %, 1 cm). Lấy 862 là giá trị A (1 %, 1 cm) của paeonol ở bước sóng 274 nm.

Dược liệu phải chứa paeonol ($C_9H_{10}O_3$) không dưới 1,2 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu. Đào lấy rễ, loại bỏ rễ nhỏ và đất, bóc lấy vỏ rễ, phơi khô.

Bào chế

Rửa sạch nhanh vỏ rễ, ủ mềm, thái đoạn, phơi khô.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô, mát.

Tính vị, quy kinh

Khổ, tân, vi hàn. Vào các kinh tâm, can, thận.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt lương huyết, hoạt huyết hóa ứ. Chủ trị: Phát ban, khái huyết, nục huyết, sốt hư lao, cốt chưng, vô kinh, bế kinh, nhọt độc sưng đau, sang chấn.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc hay hoàn tán, thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ

Không dùng cho người tỳ vị hư hàn, ỉa chảy, kinh nguyệt ra nhiều, phụ nữ có thai.

MẪU LỆ

Concha Ostreae

Vỏ hàu, vỏ hà

Vỏ đã phơi khô của một số loại Hàu như: Hàu ống (*Ostrea gigas* Thunberg), Hàu sông (*Ostrea rivularis* Gould) hay Hàu Đại liên (*Ostrea talienwhanensis* Crosse), họ Hàu (Ostreidae).

Mô tả

Hàu ống (O. gigas): Dược liệu có hình dạng phiến thon dài, hai vỏ, gân ở lưng và bụng hầu hết song song, dài

10 cm đến 50 cm, dày 4 cm đến 15 cm. Vỏ bên trái lớn hơn vỏ bên phải; vỏ bên phải tương đối nhỏ, vẩy cứng, dày, xếp thành lớp hoặc tầng vân đều đặn, mặt ngoài vỏ phẳng hoặc có một vài chỗ lõm màu tía nhạt, trắng xám, hoặc nâu vàng; mặt trong màu trắng sứ. Hai cạnh của vỏ không có răng cưa nhỏ. Vỏ trái lõm rất sâu, vân thô và to hơn vỏ bên phải. Mặt gắn ở đỉnh nhỏ. Chất cứng nặng, mặt gãy có dạng tầng, màu trắng tinh, không mùi, vị hơi mặn.

Hàu sông (O. rivularis): Thường dài 15 cm đến 25 cm, hình tròn trứng hoặc hình tam giác, vỏ trái lớn hơn vỏ phải, vỏ phải phẳng hơn. Mặt ngoài vỏ bên phải hơi gồ ghề, có màu xám, tía, nâu, vàng. Có vảy đồng tâm, vảy non mỏng, giòn, vảy sinh trưởng đã lâu năm nhiều tầng, mặt trong màu trắng, mép có khi có màu tía nhạt.

Hàu Đại liên (O. talienwhanensis): Hình tam giác, mép lưng, bụng có hình chữ V. Mặt ngoài vỏ bên phải có màu vàng nhạt, có vảy đồng tâm thưa, gợn sóng lên xuống, mặt trong màu trắng bóng; vỏ bên trái, vảy đồng tâm, dày, cứng; từ bộ phận đỉnh vỏ, tỏa ra tia sườn rõ rệt, mặt trong lõm có dạng của một cái hộp, mặt khớp nối nhỏ.

Độ ẩm
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến
Có thể thu hoạch quanh năm, loại bỏ thịt, lấy vỏ rửa sạch, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế
Mẫu lệ khô, khi dùng rửa sạch, làm khô, tán vụn thành bột hoặc nung rồi mới tán bột.
Mẫu lệ nung (Đoạn mẫu lệ): Lấy mẫu lệ đã rửa sạch, đặt trên lò than, nung đến khi thành màu trắng tro xốp, lấy ra để nguội, nghiền nhỏ.

Bảo quản
Để nơi khô.

Tính vị, quy kinh
Hàm, vi hàn. Vào các kinh can, đởm, thận.

Công năng, chủ trị
Mẫu lệ: Trọng trấn an thần, tư âm tiềm dương, làm mềm chất rắn, tán kết khối, thu liễm cố sáp. Chủ trị: Đánh trống ngực, mất ngủ, chóng mặt, ù tai, tràng nhạc, đờm hạch.
Đoạn mẫu lệ: Cố sáp. Chủ trị: Tự hãn, đạo hãn, di tinh, băng huyết, đới hạ, đau dạ dày ợ chua.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 9 g đến 30 g, dạng thuốc sắc (cho vào túi vải mà sắc mẫu lệ trước), dạng thuốc tán.

Kiêng kỵ
Nếu âm hư mà không có hỏa và ỉa chảy thuộc hàn khí thì cấm dùng.

MIẾT GIÁP
Carapax Trionycis
Mai ba ba

Mai đã phơi hay sấy khô của con Ba ba (*Trionyx sinensis* Wiegmann), họ Ba ba (Trionychidae).

Mô tả
Miết giáp hình bầu dục hoặc hình trứng, mặt lưng cong lên, dài 10 cm đến 15 cm, rộng 9 cm đến 14 cm, mặt ngoài màu nâu đen hoặc lục sẫm, hơi sáng óng ánh, có vân lưới nhỏ, đốm màu vàng xám hoặc màu tro, dọc sống có đường gờ. Đốt sống cổ cong vào phía trong. Có 8 đôi xương sườn xếp 2 bên đốt sống thẳng ra mép. Chất cứng, mùi hơi tanh, vị mặn.

Độ ẩm
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 5,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 50 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Ba ba bắt được quanh năm, phần lớn thu hoạch vào mùa thu và mùa đông. Mổ lấy phần cứng ở trên lưng, cho vào nước sôi, đun 1 h đến 2 h cho đến khi lớp da trên mai có thể bong ra. Vớt lấy mai, bóc hết thịt còn dính lại, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế
Miết giáp: Lấy miết giáp khô, cho vào nồi đồ khoảng 45 min, lấy ra để vào nước nóng, lập tức dùng bàn chải cứng chải sạch da thịt còn sót lại, rửa sạch, phơi khô.
Thổ miết giáp (chế dấm): Lấy cát sạch cho vào nồi rang cho tới khi cát tơi ra, cho Miết giáp vào, sao tới khi mặt ngoài hơi vàng. Lấy ra, loại bỏ cát, ngâm qua dấm, để khô, khi dùng giã nát. Cứ 10 kg mai Ba ba dùng 2 L dấm.

Bảo quản
Để nơi khô, tránh sâu, mọt, thỉnh thoảng đem phơi lại.

Tính vị, quy kinh
Hàm, vi hàn. Vào các kinh can, thận.

Công năng, chủ trị
Tư âm tiềm dương, nhuyễn kiên, thoái nhiệt, trừ trưng hà.
Chủ trị: Dùng điều trị âm hư phát sốt, lao nhiệt nóng trong xương, hư phong nội động, phụ nữ kinh bế, trưng hà, sốt rét lâu ngày có báng, gan lách to.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 9 g đến 24 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các loại thuốc khác.

Kiêng kỵ
Hư mà không nhiệt, vị yếu hay nôn mửa, tỳ hư có tiết tả, phụ nữ có thai không nên dùng.

MÒ HOA TRẮNG
Herba Clerodendri philippini
Mấn trắng, Lẹo trắng, Mò mâm xôi

Thân, cành mang lá đã phơi hay sấy khô của cây Mò hoa trắng (*Clerodendrum philippinum* Schauer), họ Cỏ roi ngựa (Verbenaceae).

Mô tả
Dược liệu còn nguyên: Đoạn thân non vuông, đoạn thân già tròn, dài 20 cm đến 40 cm, đường kính 0,3 cm đến 0,8 cm, có lông vàng nhạt. Thân chia thành nhiều đóng dài 4 cm đến 7 cm, quanh mấu có một vòng lông tơ mịn. Lá mọc đối, gốc tròn hoặc hình tim, đầu nhọn, dài 10 cm đến 20 cm, rộng 8 cm đến 15 cm, mép nguyên hoặc có răng cưa rất nhỏ, có ít lông cứng và ở mặt dưới thường có tuyến nhỏ tròn, màu vàng, gân lá nổi rõ, gân phụ có hình mạng lưới, cuống lá phủ nhiều lông. Lá vò có mùi hăng đặc biệt. Cụm hoa do các xim nhỏ tập hợp thành chùy ở đỉnh thân, phủ đầy lông màu hung, dài 11 cm đến 15 cm. Lá bắc hình trái xoan hoặc hình mũi mác. Hoa màu trắng hoặc vàng ngà. Nhị và vòi nhụy thò dài. Quả hạch hình cầu, đen bóng, có lá đài tồn tại màu đỏ.
Dược liệu đã cắt đoạn: Đoạn thân, cành lá được cắt thành đoạn dài khoảng 1 cm.

Vi phẫu
Lá: Biểu bì trên và dưới mang lông che chở đa bào, có 3 đến 8 tế bào. Lông tiết đa bào nằm sâu trong biểu bì, chân ngắn, đầu to, tròn, gồm 6 đến 8 tế bào xếp xoè ra, ngoài có lớp cutin bao bọc, phồng lên hình đầu. Tuyến tiết đa bào to, hình đĩa, nằm sát biểu bì. Mặt dưới gân chính lồi nhiều hơn. Hai đám mô dày ở 2 chỗ lồi của gân chính. Có 9 đến 11 bó libe-gỗ xếp thành một vòng tròn ở gân giữa. Libe ở bên ngoài, gần như nối liền nhau. Tinh thể calci oxalat hình khối chữ nhật, thường ở mô mềm ruột của gân giữa. Mô giậu gồm một hàng tế bào.

Bột
Màu lục xám, mảnh lông che chở, lông tiết đa bào nhìn thẳng từ trên xuống có hình tròn, nhìn nghiêng đầu to, chân bé, tuyến tiết hình đĩa đa bào, có khi vỡ thành từng mảnh. Mảnh biểu bì dưới có nhiều lỗ khí gồm 2 đến 4 tế bào kèm, có khi có cả lông tiết và vết tích lông che chở. Lỗ khí bị tách riêng. Tinh thể calci oxalat hình khối vuông hoặc hình chữ nhật. Mảnh mô mềm gân lá gồm các tế bào hình chữ nhật.

Định tính
Lấy 3 g bột dược liệu cho vào bình nón có nút mài, dung tích 100 ml. Thêm 1 ml *dung dịch amoniac 10 % (TT)*. Trộn đều. Thêm vào bình 20 ml *cloroform (TT)*, lắc nhẹ 10 min, để yên trong 1 h, lọc dịch chiết vào một bình gạn, thêm 3 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*, lắc nhẹ vài phút, để lắng. Gạn lấy lớp dung dịch acid cho vào ống nghiệm, nhỏ vài giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)* sẽ có kết tủa màu vàng cam.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không quá 8,0 % (Phụ lục 9.8).

Chế biến
Thu hái cành lá quanh năm, tốt nhất vào lúc cây sắp ra hoa hoặc đang ra hoa, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế
Khi dùng thái nhỏ, sao vàng, sắc uống. Có thể nấu cao đặc.

Bảo quản
Để nơi khô.

Tính vị, quy kinh
Vị đắng, mát. Vào các kinh tâm, tỳ, can, thận.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt giải độc, khu phong, tiêu viêm. Chủ trị: Khí hư, bạch đới, kinh nguyệt không đều, mụn nhọt, lở ngứa, vàng da, gân xương đau nhức, lưng mỏi, huyết áp cao.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 12 g đến 16 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các loại thuốc khác.

MỎ QUẠ (Lá)
Folium Maclurae cochinchinensis

Lá tươi hay đã phơi hoặc sấy khô của cây Mỏ quạ (*Maclura cochinchinensis* (Lour.) Corn.), họ Dâu tằm (Moraceae).

Mô tả
Lá hình bầu dục thuôn, dài 6 cm đến 9 cm, rộng 2,5 cm đến 3 cm, gốc hẹp, đầu nhọn hoặc hơi tù, mặt trên nhẵn bóng, mặt dưới nhạt.

Vi phẫu
Gân lá: Mặt trên phẳng, mặt dưới lồi nhiều. Biểu bì trên và biểu bì dưới cấu tạo bởi những tế bào nhỏ, tròn, xếp đều đặn. Sát biểu bì có các mô dày cấu tạo bởi các tế bào nhỏ thành dày. Bó libe-gỗ của gân chính có vòng libe bao quanh, trong vòng libe có cung gỗ cấu tạo bởi các mạch gỗ xếp sát nhau, có nhiều ống mạch lớn. Cung gỗ phía trên cấu tạo bởi các mạch gỗ nhỏ. Trong phần libe và mô mềm sát libe có các tinh thể calci oxalat hình khối. Phía ngoài vòng libe rải rác có sợi riêng lẻ hay xếp thành từng bó.

Phiến lá: Có biểu bì trên là một hàng tế bào chữ nhật xếp đứng, có mặt ngoài hóa cutin. Dưới biểu bì trên có 3 đến 4 hàng tế bào mô giậu. Mô mềm phiến lá cấu tạo bởi những tế bào hình tròng, thành mỏng. Biểu bì dưới gồm các tế bào hình chữ nhật xếp ngang, giữa biểu bì dưới và mô giậu là mô khuyết.

Bột
Bột có màu xanh lục đậm, mùi đặc biệt, soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì mang lỗ khí, mảnh phiến lá mang tinh thể calci oxalat hình khối, mảnh mạch xoắn, sợi thành dày riêng lẻ hay xếp thành bó.

Độ ẩm (đối với dược liệu khô)
Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Thân sót lại: Không quá 2 %.
Tạp chất khác: Không quá 1 %.

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 7,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hái quanh năm, cắt cành, rửa sạch, tách lá dùng tươi hoặc phơi khô.

Bảo quản
Để nơi khô ráo, chống ẩm, mốc.

Tính vị, quy kinh
Vị hơi đắng, tính mát.

Công năng, chủ trị
Hoạt huyết khu phong, thư cân hoạt lạc.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 12 g đến 40 g dạng thuốc sắc. Dùng ngoài không kể liều lượng, thường dùng phối hợp với các vị thuốc khác.

MỘC HOA TRẮNG

Cortex Holarrhenae

Mực hoa trắng, Thừng mực lá to

Vỏ cây đã phơi hoặc sấy khô của cây Mộc hoa trắng [*Holarrhena pubescens* (Buch. - Ham.) Wall. ex G. Don., Syn. *Holarrhena antidysenteria* (Roxb. ex Flem.) A. DC.], họ Trúc đào (Apocynaceae).

Mô tả
Miếng vỏ hơi cong, dài ngắn không nhất định, dày 0,2 cm đến 1,5 cm. Mặt ngoài màu nâu sẫm, rải rác có những đám màu trắng xám, có nhiều nốt sần nhỏ, dễ tách ra. Mặt trong nhẵn, màu vàng nhạt hay vàng nâu. Dễ bẻ gãy, mặt bẻ lởm chởm, nhìn thấy rõ nhiều lớp chồng lên nhau. Mặt cắt có mô mềm mỏng, màu nâu đỏ thẫm, libe dày màu vàng nhạt, có nhiều lớp và lồn nhồn như có sạn. Không mùi, vị rất đắng.

Vi phẫu
Lớp bần gồm 3 hàng đến 5 hàng tế bào hình chữ nhật. Mô mềm vỏ màu nâu đỏ thẫm. Lớp libe cấp 2 rất dày, trong có xen kẽ nhiều đám mô cứng xếp thành nhiều tầng có các ống nhựa mủ. Bên cạnh mỗi đám sợi có nhiều tinh thể calci oxalat hình khối. Tia ruột gồm một đến hai tế bào chạy dài theo hướng xuyên tâm, thành tế bào mỏng. Trong cùng là tầng sinh libe-gỗ.

Bột
Mảnh mô mềm gồm những tế bào hình đa giác thành mỏng. Mảnh bần màu nâu nhạt. Tế bào mô cứng đứng rời hay xếp thành từng đám có màu vàng nhạt, hình nhiều cạnh, thành dày, khoang rộng có ống trao đổi rõ. Tinh thể calci oxalat hình khối chữ nhật dài khoảng 40 µm, rộng khoảng 30 µm. Mảnh mạch. Hạt tinh bột hình trứng dài có rốn rõ.

Định tính
A. Lấy 1 g bột dược liệu, thấm ẩm bằng *amoniac (TT)*, thêm 10 ml *cloroform (TT)*, lắc đều, đậy kín, ngâm trong 12 h. Lọc, lấy dịch lọc cho vào bình gạn, thêm 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*, lắc kỹ. Gạn lấy lớp acid cho vào 3 ống nghiệm:
Ống 1: Thêm 2 giọt đến 3 giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, xuất hiện tủa trắng.
Ống 2: Thêm 2 giọt đến 3 giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)*, xuất hiện tủa đỏ cam.
Ống 3: Thêm 2 giọt đến 3 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)*, xuất hiện tủa nâu.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Cloroform - methanol - dung dịch amoniac 10 %* (50 : 9 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 5 g bột dược liệu, thấm ẩm bằng *amoniac (TT)*, đậy kín, để yên 12 h, sau đó cho dược liệu vào bình nón nút mài, thêm 20 ml *cloroform (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 15 min, để nguội, lọc. Bay hơi dịch lọc trên cách thủy tới cắn. Hòa cắn trong 1 ml *cloroform (TT)* dùng làm dung dịch thử.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan conessin chuẩn trong *methanol (TT)* để có dung dịch nồng độ 1 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có conessin chuẩn thì dùng 5 g vỏ Mộc hoa trắng (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *thuốc thử Dragendorff (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng thường. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng giá trị R_f và màu sắc với vết conessin trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu. Hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric
Không quá 5,5 % (Phụ lục 9.7).

Kim loại nặng
Không quá: 10 phần triệu Pb; 2 phần triệu Cd; 0,5 phần triệu Hg; 3 phần triệu As (Phụ lục 9.4.11).

Định lượng
Cân chính xác khoảng 5 g bột dược liệu (qua rây số 355), thấm ẩm bằng 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, để yên 1 h, sau đó trải dược liệu ở chỗ thoáng cho khô. Chiết tiếp bằng hỗn hợp dung môi *ethanol - cloroform* (1 : 3) trong bình Soxhlet cho đến kiệt alcaloid (kiểm tra bằng *thuốc thử Mayer*). Lấy dịch chiết lắc 5 lần với *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* mỗi lần với 20 ml, 20 ml, 10 ml, 10 ml và 10 ml. Tập trung các dịch chiết acid và kiềm hóa từ từ bằng *amoniac đậm đặc (TT)* cho đến pH 9 đến 10. Chiết lại bằng cách lắc 5 lần với 20 ml, 20 ml, 10 ml, 10 ml và 10 ml *cloroform (TT)*. Trước khi chiết lần cuối cùng thêm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)* vào dịch nước. Lấy 10 ml *nước cất* cho vào bình gạn, rửa lần lượt từng dịch chiết cloroform, rửa như vậy 2 lần. Gộp các dịch chiết cloroform, thêm chính xác 20 ml *dung dịch acid sulfuric 0,1 N (CĐ)* và lắc kỹ 5 min. Chuyển dịch acid vào bình nón, rửa dịch cloroform 2 lần, mỗi lần với 10 ml *nước cất* và gộp các nước rửa vào dịch acid trong bình nón. Thêm 3 giọt dung dịch chỉ thị hỗn hợp (xem ghi chú) và chuẩn độ acid thừa bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* cho đến khi dung dịch chuyển màu xanh nhạt. Song song tiến hành một mẫu trắng như sau: Lấy chính xác 20 ml *dung dịch acid sulfuric 0,1 N (CĐ)*, thêm 20 ml *nước* và 3 giọt dung dịch chỉ thị hỗn hợp, chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* cho đến khi dung dịch chuyển màu xanh nhạt.
1 ml *dung dịch acid sulfuric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 0,017829 g alcaloid toàn phần.
Hàm lượng phần trăm (kl/kl) alcaloid toàn phần của dược liệu tính theo công thức:

$$\frac{(n' - n) \times 1,7829)}{P}$$

Trong đó:
n' là số ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* dùng cho mẫu trắng;
n là số ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* dùng cho mẫu thử;
P là khối lượng dược liệu tính bằng g (đã trừ độ ẩm).
Dược liệu phải chứa ít nhất 1,0 % alcaloid toàn phần tính theo conessin ($C_{24}H_{10}O_2$) và tính theo dược liệu khô kiệt.
Ghi chú: Trộn 13 ml dung dịch xanh methylen [hòa tan 0,15 g *xanh methylen (TT)* trong 100 ml *ethanol (TT)*] với dung dịch đỏ methyl [(hòa tan 0,04 g *đỏ methyl (TT)* trong 70 ml *ethanol (TT)* và 25 ml *nước*] cho đủ 100 ml.

Chế biến
Lúc trời khô ráo, bóc lấy vỏ thân cây, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản
Để nơi khô ráo, thoáng mát, tránh mốc mọt.

MỘC HƯƠNG (Rễ)
Radix Saussureae lappae

Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Mộc hương, còn gọi là Vân mộc hương, Quảng mộc hương [*Saussurea lappa* (DC) C. B. Clarke], họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả
Rễ hình trụ tròn hoặc hình chùy, dài 5 cm đến 15 cm, đường kính 0,5 cm đến 5 cm. Mặt ngoài màu vàng nâu đến nâu nhạt. Có vết nhăn và rãnh dọc khá rõ, đôi khi có vết tích của rễ con. Thể chất hơi cứng, khó bẻ, vết bẻ không phẳng, màu vàng nâu hoặc nâu xám. Mùi thơm hắc đặc biệt.

Vi phẫu
Lớp bần gồm vài lớp tế bào hình chữ nhật. Mô mềm vỏ ngoài mỏng gồm các tế bào phần nhiều hình đa giác, thành mỏng. Dải libe cấp 2 rời nhau, ngoằn ngoèo, xếp thành dãy xuyên tâm. Trong và ngoài các dải libe rải rác có các túi tiết tinh dầu. Tầng sinh libe-gỗ gồm một vòng tế bào. Gỗ cấp 2 xếp thành dãy xuyên tâm, hợp thành từng dải ứng với mỗi dải libe. Tia ruột gồm 6 đến 10 hàng tế bào thành mỏng.

Bột
Màu vàng nâu, vị cay hơi đắng. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh bần màu nâu vàng. Mảnh mô mềm chứa những hạt inulin màu hơi vàng. Mảnh mạch vạch, mạch xoắn và mạch mạng. Sợi hợp thành từng bó hoặc đứng riêng lẻ, túi tiết tinh dầu hình tròn, chứa chất tiết màu vàng. Ngoài ra có nhiều hạt inulin hình khối, hình chuông, màu hơi vàng, có vân mờ, có kích thước khác nhau.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Toluen - ethyl acetat (95 : 5).
Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ethanol (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy trong 10 min, lọc. Lấy dịch lọc làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột Mộc hương (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun hỗn hợp gồm 0,5 ml *anisaldehyd (TT)* được trộn lần lượt với 10 ml *acid acetic khan (TT)*, 85 ml *methanol (TT)* và 5 ml *acid sulfuric (TT)*. Sấy bản mỏng ở 80 °C đến khi xuất hiện vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ

của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 15,0 % (Phụ lục 12.13). Dùng 10 g bột thô dược liệu.

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không quá 4,5 % (Phụ lục 9.8).

Định lượng
Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Dùng 30,0 g bột thô dược liệu, thêm 300 ml *nước*, cất trong 3 h. Hàm lượng tinh dầu không ít hơn 0,4 %.

Chế biến
Đào lấy rễ, rửa sạch, bỏ rễ con và thân lá còn sót lại hoặc bỏ cả vỏ ngoài (lớp bần) rồi cắt thành khúc dài 5 cm đến 15 cm, phơi trong bóng râm hoặc sấy ở nhiệt độ thấp đến khô.

Bảo quản
Để nơi khô, mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Khổ, tân, ôn. Vào các kinh tỳ vị, đại tràng, can.

Công năng, chủ trị
Hành khí chỉ thống, kiện tỳ hòa vị. Chủ trị: Khí trệ, ngực bụng đầy trướng, đau bụng, nôn mửa, lỵ, ỉa chảy.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc, bột.

Kiêng kỵ
Các chứng bệnh do khí hư, huyết hư mà táo thì không dùng.

MỘC QUA (Quả)
Fructus Chaenomelis

Quả chín đã chế biến, phơi hay sấy khô của cây Mộc qua [*Chaenomeles speciosa* (Sweet) Nakai], họ Hoa hồng (Rosaceae).

Mô tả
Quả thuôn dài, bổ dọc thành hai nửa đối nhau, dài 4 cm đến 9 cm, rộng 2 cm đến 5 cm, dày 1 cm đến 2,5 cm. Mặt ngoài màu đỏ tía hoặc nâu đỏ, có nếp nhăn sâu, không đều; mép mặt bổ cong vào phía trong, cùi quả màu nâu đỏ, phần giữa lõm xuống, màu vàng nâu. Hạt dẹt hình tam giác dài, thường rơi ra ngoài; mặt ngoài hạt nhẵn bóng. Chất cứng, mùi thơm nhẹ, vị chua, hơi chát.

Bột
Bột màu nâu tía. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì tế bào hình chữ nhật. Mảnh mô mềm gồm các tế bào hình nhiều cạnh, rải rác có tế bào mô cứng đứng riêng hay họp thành từng đám, màu vàng, hình trái xoan, thành dày, có ống trao đổi rõ. Mảnh mạch mạng. Tinh thể calci oxalat hình khối chữ nhật.

Định tính
A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ethanol 70 % (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 1 h, lọc, được dịch lọc A dùng để làm các phản ứng sau:
Lấy 2 ml dịch lọc A, bốc hơi trên cách thủy đến cắn khô, thêm 1 ml *anhydrid acetic (TT)* và 1 ml *cloroform (TT)*, khuấy kỹ và lọc vào một ống nghiệm khô. Cho thận trọng dọc theo thành ống nghiệm khoảng 1 ml *acid sulfuric (TT)*, ở giữa hai lớp dung dịch sẽ xuất hiện vòng màu đỏ tím, lớp dung dịch phía trên có màu xanh lục.
Nhỏ vài giọt dịch lọc A lên một miếng giấy lọc, để khô rồi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm sẽ thấy vết huỳnh quang xanh nhạt sáng.
Nhỏ chồng lên vết dịch lọc này 1 giọt đến 2 giọt *dung dịch nhôm clorid 1 % trong methanol (TT)*, để khô rồi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm sẽ thấy vết huỳnh quang xanh lục sáng.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Ethyl acetat - acid formic - nước* (8 : 1,5 : 1).
Dung dịch thử: Lấy khoảng 1 ml dịch lọc A, cô trên cách thủy đến cắn khô, thêm vào cắn 1 ml *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Dùng 1 g bột Mộc qua (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt bản mỏng lên 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí. Phun *dung dịch nhôm clorid 1 % trong methanol (TT)*. Để khô bản mỏng và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết cùng màu và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ acid
Lấy 5 g bột dược liệu, thêm 50 ml *nước*, lắc mạnh, để lắng 1 h, lọc lấy dịch lọc, tiến hành thử độ pH (Phụ lục 6.2), pH phải từ 3 đến 4.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 15,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa hạ hoặc mùa thu. Hái lấy quả màu vàng hơi xanh lục, luộc đến khi vỏ ngoài chuyển thành màu trắng hơi xám, vớt ra bổ đôi dọc quả và phơi khô.

Bào chế
Rửa sạch, ủ mềm hay đồ kỹ rồi thái lát mỏng và phơi khô.

Bảo quản
Nơi khô, tránh ẩm và mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Toan, ôn. Vào các kinh tỳ, vị, can, phế.

Công năng, chủ trị
Bình can dương, thư cân, hòa vị, hóa thấp. Chủ trị: Phong hàn thấp tý, thắt lưng gối nặng nề đau nhức, cân mạch co rút, hoắc loạn, chuột rút, cước khí.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 9 g, thường phối hợp với các vị thuốc khác.

MỘC TẶC
Herba Equiseti debilis

Phần trên mặt đất đã phơi hay sấy khô của cây Mộc tặc (*Equisetum debile* Roxb.), họ Mộc tặc (Equisetaceae).

Mô tả
Nhiều đoạn thân và cành hình ống dài 7 cm đến 15 cm, có khi tới 30 cm, đường kính 1 mm đến 2 mm, màu nâu sẫm. Cành màu lục nhạt, hơi vàng hay xám tro, có nhiều rãnh dọc song song, có nhiều đốt. Mỗi mấu mang một vòng lá nhỏ, hình sợi màu nâu, dẹt ở gốc và dính liền nhau thành một bẹ màu lục nhạt, có răng cưa nâu ôm lấy cành. Ở mỗi mấu có nhiều nhánh con mọc vòng, màu nâu. Chất giòn, dễ bẻ gãy. Mặt ngoài cành sờ ráp tay do biểu bì có chất silic. Bẻ đôi cành thấy giống rỗng, mấu gần đặc.

Vi phẫu
Biểu bì có một lớp tế bào xếp đều đặn, tầng cutin dày. Vòng mô dày liên tục sát biểu bì, phát triển nhiều ở những chỗ lồi, tế bào thành dày đều. Mô mềm vỏ chia làm 2 phần: Phần ngoài gồm các tế bào hình nhiều cạnh, hơi kéo dài theo hướng xuyên tâm, thành mỏng, chứa nhiều lạp lục; phần trong có các bó libe-gỗ xếp theo một vòng xen kẽ với các mô khuyết. Mỗi bó libe-gỗ gồm: Vòng nội bì, libe xếp giữa 2 dãy mạch gỗ, một khuyết nhỏ sát bên trong bó libe. Khuyết trung tâm rộng, chiếm khoảng 2/3 thiết diện vi phẫu.

Bột
Màu lục nhạt, vị hơi ngọt, hơi đắng chát. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì ở phần gốc thân màu da cam, tế bào hình chữ nhật dài, thành lượn sóng đều đặn. Mảnh quản bào hình thang. Mảnh mô dày gồm những tế bào hình chữ nhật thành dày khi nhìn trên bề mặt hoặc hình gần tròn khi nhìn ở mặt bên. Mảnh biểu bì ở phần giữa thân màu lục nhạt, tế bào hình chữ nhật ngắn hoặc gần vuông. Mảnh biểu bì thân với các lỗ khí đặc biệt. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm, bột Mộc tặc phát quang lấm tấm vàng.

Định tính
A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 15 ml *ethanol 70 % (TT)*, đun nhẹ trên cách thủy trong 5 min, thỉnh thoảng lắc, lọc, cô dịch lọc còn khoảng 2 ml rồi cho vào ống nghiệm, thêm 10 ml *nước*, lắc mạnh trong 1 min (30 lần lắc), xuất hiện bọt bền trong 30 min.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cyclohexan - ethyl acetat - acid formic (8 : 4 : 0,4).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 25 ml *methanol 75 %* và 1 ml *acid hydrocloric (TT)*, đun hồi lưu trong 1 h, lọc, cô dịch lọc trên cách thủy đến cắn. Hòa tan cắn trong 10 ml *nước*, chiết 2 lần với *ethyl acetat (TT)*, mỗi lần 10 ml, cô dịch chiết ethyl acetat đến cắn. Hòa tan cắn trong 1 ml *methanol (TT)* để dùng làm dung dịch thử.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan kaempferol chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có kaempferol, lấy 1 g bột Mộc tặc (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch thử, dung dịch dược liệu đối chiếu và 2 µl dung dịch chất đối chiếu. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra để khô trong không khí rồi phun *dung dịch nhôm clorid 5 % trong ethanol*. Quan sát ngay dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết phát quang cùng màu sắc và giá trị R_f với vết kaempferol trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không được dưới 4,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa hạ và mùa thu, cắt lấy phần trên mặt đất, loại bỏ tạp chất, phơi âm can đến khô.

Bào chế
Loại bỏ thân héo và gốc rễ còn sót lại, phun nước, ủ mềm, cắt đoạn và phơi khô.

Bảo quản
Nơi khô ráo.

Tính vị, quy kinh
Cam, vi khổ, bình. Quy vào kinh can, đởm, phế.

Công năng, chủ trị
Tán phong nhiệt, trừ mắt có màng (thoái ế). Chủ trị: Đau mắt đỏ do phong nhiệt, ra gió chảy nước mắt, mắt kéo màng.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 9 g, phối hợp trong các bài thuốc.

MỘT DƯỢC (Gôm nhựa)

Myrrha

Chất gôm nhựa của cây Một dược [*Commiphora myrrha* (Nees) Engl.] và cây *Balsamodendron chrenbergianum* Berg., họ Trám (Burseraceae).

Mô tả
Một dược thiên nhiên: Có dạng khối, cục, hạt không đều, cục lớn dài 6 cm. Mặt ngoài màu nâu vàng hoặc nâu đỏ, có khi trong mờ. Một số có khối màu nâu đen, nhiều dầu, trên phủ bụi phấn màu vàng. Chất cứng, giòn. Mặt bị vỡ không phẳng. Có mùi thơm đặc biệt. Vị đắng hơi cay. Loại có màu nâu vàng, mặt vỡ hơi trong, tinh dầu nhuận, hương thơm nồng, vị đắng, không có tạp là tốt.

Định tính
Lấy vài hạt nhỏ chế phẩm, cho thêm *dung dịch vanilin trong acid hydrocloric (TT)*, lắc đều, sẽ có màu đỏ thắm.

Độ ẩm
Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.6, 1,000 g, 105 °C, 2 h).

Tạp chất
Vỏ cây còn sót lại không quá 2,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.8).

Chế biến
Thu hoạch từ tháng 7 đến 9 là tốt nhất, khi đó lượng Một dược nhiều, chất lượng tốt. Năm sau, từ tháng 1 đến 3 lại có thể thu hoạch được. Nhựa cây được chảy ra từ vết nứt tự nhiên của cây Một dược. Để thu hoạch được nhiều, người ta có thể khía sâu vào vỏ thân và cành to. Nhựa mới chảy ra thành giọt sền sệt như dầu đặc, màu trắng hoặc vàng nhạt, dần dần biến thành khối cục cứng trong không khí, có màu vàng sẫm, nâu vàng hoặc có khi đỏ nhạt, cuối cùng là màu đỏ sẫm. Thu lấy nhựa, loại bỏ tạp chất.

Bào chế
Bột Một dược: Lấy Một dược sạch, giã vụn, sao qua với Đăng tâm thảo, tán bột mịn. Cứ 40 g Một dược dùng 1 g Đăng tâm thảo.
Bột Một dược thủy phi: Cho ít rượu vào Một dược, nghiền nát, cho nước vào thủy phi đến bột mịn, phơi khô.
Cách khác: Lấy Một dược sạch, cho vào chảo sao nhỏ lửa đến mặt ngoài hơi tan, lấy ra, để nguội hoặc sao đến mặt ngoài hơi tan thì phun dấm, tiếp tục sao đến khi mặt ngoài sáng bóng, lấy ra để nguội. Cứ 100 kg Một dược dùng 6 L dấm.

Bảo quản
Để nơi khô, mát, tránh ẩm, trong bao bì kín.

Tính vị, quy kinh
Khổ, bình. Vào các kinh can, tâm, tỳ.

Công năng, chủ trị
Hoạt huyết, khứ ứ, chỉ thống tiêu sưng, sinh cơ, thông kinh. Chủ trị: Kinh bế, thống kinh, đau thượng vị, nhọt độc sưng đau, sưng đau do sang chấn, trĩ, mục trướng (đục thủy tinh thể). Dùng ngoài để thu miệng, lên da non, vết loét lâu lành.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 4 g đến 12 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Dùng ngoài tán bột để bôi, đắp.

Kiêng kỵ
Phụ nữ có thai, mụn nhọt đã vỡ không nên dùng.

MƠ MUỐI

Fructus Armeniacae praeparatus
Diêm mai, Bạch mai

Quả già màu vàng đã chế muối của cây Mơ (*Prunus armeniaca* L. Syn. *Armeniaca vulgaris* Lam.), họ Hoa hồng (Rosaceae).

Mô tả
Quả hạch hình cầu dẹt, to nhỏ không đều, đường kính 1 cm đến 3 cm. Mặt ngoài màu nâu nhạt có nhiều nếp nhăn. Đáy có vết cuống quả hình tròn lõm sâu. Thịt quả mềm dính muối, thịt quả bị rách để lộ vỏ quả trong cứng rắn, màu nâu nhạt. Hạt hình trứng dẹt, màu vàng nhạt. Vị chua, mặn.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Cyclohexan - cloroform - ethyl acetat - acid formic* (20 : 5 : 8 : 0,1).
Dung dịch thử: Lấy 5 g bột chế phẩm (phần thịt quả), thêm 30 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm trong 30 min, để nguội và lọc. Bay hơi dịch lọc tới khô, hòa tan cắn trong 20 ml nước và chuyển vào bình gạn; chiết với *ether (TT)* hai lần, mỗi lần 20 ml, gộp dịch chiết và bay hơi dịch chiết tới khô. Ngâm cắn thu được trong 15 ml *ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (TT)* loại bỏ lớp ether dầu hỏa, làm như vậy 2 lần, trong khoảng 2 min. Hòa tan cắn còn lại trong 2 ml *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 5 g Mơ muối (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí. Phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)* và sấy ở 105 °C cho đến khi xuất hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Chế biến
Diêm mai (Bạch mai): Hái quả Mơ gần chín vàng, không bị rụng, phơi héo, dùng nước rửa sạch, để ráo, sau đó cho vào vại sành, muối như muối cà (không đổ nước). Được 3 ngày, 3 đêm, vớt ra, phơi khô tại tái rồi lại cho vào vại muối lần thứ 2 một ngày một đêm nữa. Sau đó lấy ra, phơi, sấy đến độ ẩm dưới 15 %, trên quả Mơ muối kết tinh thành lớp màu trắng là được.

Bảo quản
Để nơi khô, tránh ẩm.

Tính vị, quy kinh
Toan, hàm, ôn. Vào các kinh can, tỳ, phế, đại trường.

Công năng, chủ trị
Nhuận phế, sinh tân dịch, sáp trường, sát trùng. Chủ trị: Ho lâu ngày phế hư, hư hỏa tiêu khát, ỉa chảy, lỵ mạn tính, đau bụng, hồi quyết (đau bụng do giun đũa).

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 10 g, dạng thuốc sắc. Thường phối hợp với các loại thuốc khác. Có thể dùng thịt quả bỏ hạch cứng, dùng sắc thuốc thì không cần bỏ hạch cứng.

Kiêng kỵ
Bệnh cần phát tán không nên dùng.

MUỒNG TRÂU (Lá)
Folium Senna alatae

Lá chét phơi hay sấy khô của cây Muồng trâu [*Senna alata* (L.) Roxb. Syn. *Cassia alata* L.], họ Đậu (Fabaceae).

Mô tả
Lá kép hình lông chim, dài 30 cm đến 40 cm, gồm 8 đến 12 đôi lá chét hình trứng hoặc hình bầu dục hẹp tròn ở hai đầu, lá chét dài 5 cm đến 13 cm, rộng 2,5 cm đến 7 cm, to dần về phía ngọn. Cuống ngắn hơi phình to ở gốc. Gân lá hình lông chim. Mặt trên lá màu xanh đậm, mặt dưới lá màu xanh nhạt hơn, hai mặt nhẵn. Mép lá nguyên.

Vi phẫu
Gân giữa của lá có mặt trên phẳng, mặt dưới lồi. Biểu bì trên và biểu bì dưới của phần gân lá và phần phiến lá có lông che chở đơn bào ngắn, đầu nhọn, mặt dưới lá mật độ lông dày hơn. Riêng phần phiến lá có u lồi cutin và lỗ khí ở cả hai mặt. Các tế bào mô dày góc xếp thành đám nằm sát biểu bì ở phần gân lá. Một cung libe-gỗ nằm giữa gân lá, hai đầu cung cuộn vào phía trong nhưng không giáp nhau. Libe nằm thành từng đám nhỏ liên tục, gồm những tế bào nhỏ thành nhăn nheo, xen kẽ với các đám libe là mô mềm libe gồm những tế bào to hơn, tròn, vách mỏng. Gỗ tập trung thành một đám dày gồm những tế bào có thành hóa gỗ ở vùng mặt trên cuống lá và tạo một vòng cung gồm những bó gỗ hình tam giác ở mặt dưới vùng cuống lá. Phía ngoài cung libe-gỗ có một vòng mô cứng bao quanh thành một vòng kín hình tim ở vùng gân lá, gồm những tế bào có thành dày. Phía trong cung libe-gỗ có mô mềm đặc gồm những tế bào thành mỏng hình đa giác. Tinh thể calci oxalat hình lập phương nằm trong những tế bào mô mềm ven theo cung mô cứng.
Phần mô mềm gồm những tế bào to, thành mỏng, vùng phiến lá có những khuyết hình xoan.
Phần phiến lá có hai lớp mô giậu, chiếm 1/2 bề dày của phiến lá.

Bột
Bột màu xanh, chất xốp nhẹ. Soi kính hiển vi thấy: mảnh biểu bì trên và biểu bì dưới của lá có tế bào thành mỏng mang lông che chở đơn bào ngắn, đầu nhọn, lỗ khí kiểu song bào và u lồi cutin. Mảnh biểu bì của cuống lá và gân lá có mang lông che chở đơn bào. Mảnh lông đơn bào bị gãy, mảnh mô mềm. Sợi kèm tinh thể calci oxalat hình khối lập phương riêng lẻ. Mảnh mạch điểm, mạch mạng, mạch xoắn và mạch vạch.

Định tính
A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml *dung dịch acid sulfuric 25 % (TT)* đun sôi trong 2 min, để nguội, lọc vào bình gạn. Cho vào dịch lọc 5 ml *cloroform (TT)*, lắc. Để lắng, gạn lấy lớp cloroform, thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, lắc, để lắng, lớp kiềm có màu hồng hoặc đỏ.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *n-Hexan – ethylacetat* (5 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu đun trên cách thủy với 20 ml *ethanol 96 % (TT)* trong 30 min, để nguội, lọc, để bay hơi dịch lọc đến cắn khô. Thêm vào cắn 10 ml *nước* và 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)* đun trong cách thủy 30 min, để nguội sau đó lắc với 20 ml *ether ethylic (TT)*, bay hơi dịch chiết ether đến còn 2 ml làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Pha dung dịch chrysophanol chuẩn 0,1 % trong *ethanol 96 % (TT)*. Nếu không có chất đối chiếu, dùng 2 g bột lá Muồng trâu (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm và đặt bản mỏng trong hơi amoniac. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5h).

Tro toàn phần
Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric
Không quá 0,7 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất
Không quá 0,5 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng
Cân chính xác khoảng 0,5 g bột dược liệu (qua rây số 355) cho vào bình nón 100 ml. Thêm 5 ml *acid acetic băng (TT)*. Đun hỗn hợp trong 20 min dưới ống sinh hàn ngược trong cách thủy sôi. Để nguội, thêm vào bình nón 40 ml *ether ethylic (TT)* và đun hồi lưu trên cách thủy 15 min. Để nguội, lọc qua bông vào một bình gạn 250 ml, rửa bông bằng 10 ml *ether ethylic (TT)*. Cho bông trở lại vào bình nón, lặp lại cách chiết như trên 2 lần, mỗi lần dùng 10 ml *ether ethylic (TT)* và đun hồi lưu cách thủy có sinh hàn ngược được làm lạnh bằng nước đá trong 10 min. Để nguội, lọc qua bông. Tráng bình nón bằng 10 ml *ether ethylic (TT)*, lọc qua bông trên. Tập trung các dịch lọc ether ethylic vào bình gạn trên.
Thêm cẩn thận 50 ml *dung dịch kiềm - amoniac* (xem ghi chú) vào dịch chiết ether ethylic đựng trong bình gạn, lắc trong 5 min. Sau khi hỗn hợp đã phân lớp hoàn toàn, gạn lớp nước màu đỏ trong suốt vào bình định mức 250 ml. Tiếp tục chiết lớp ether 3 lần, mỗi lần với 40 ml *dung dịch kiềm - amoniac*. Tập trung các dịch chiết kiềm vào bình định mức và thêm *dung dịch kiềm - amoniac* tới vạch.
Hút 25 ml dung dịch thu được cho vào một bình nón và đun nóng 15 min trong cách thủy với ống sinh hàn ngược. Để nguội, đo mật độ quang ở bước sóng 520 nm (Phụ lục 4.1), so sánh với mẫu trắng là *dung dịch kiềm - amoniac*.
Nồng độ anthranoid trong dung dịch cần đo được biểu thị bằng 1,8-dihydro anthraquinon và xác định bằng đường cong chuẩn.
Xây dựng đường cong chuẩn: Pha một dãy dung dịch cobalt clorid ($CoCl_2.6H_2O$) có nồng độ từ 0,2 % đến 5 % và đo mật độ quang các dung dịch này ở bước sóng 520 nm (Phụ lục 4.1). Trên trục tung ghi mật độ quang đo được. Trên trục hoành ghi nồng độ dẫn chất anthranoid tương ứng với nồng độ cobalt clorid, tính ra mg trong 100 ml.
Theo quy ước, mật độ quang của dung dịch cobalt clorid 1 % bằng mật độ quang của 0,36 mg 1,8-dihydro anthraquinon trong 100 ml *dung dịch kiềm - amoniac*.
Hàm lượng phần trăm dẫn chất anthranoid trong dược liệu tính theo công thức:

$$X\% = \frac{250 \times c}{10 \times a(100 - h)}$$

Trong đó:
c là nồng độ dẫn chất anthranoid bằng mg/100 ml tính theo đường cong chuẩn;
a là khối lượng dược liệu (g);
h là độ ẩm dược liệu (%).
Dược liệu phải chứa ít nhất 0,2 % dẫn chất anthranoid biểu thị bằng 1,8-dihydro anthraquinon tính theo dược liệu khô kiệt.

Ghi chú: Dung dịch kiềm - amoniac: Lấy 5 g *natri hydroxyd (TT)* thêm 2 ml *amoniac (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa hạ, hái lấy lá, phơi âm can, hoặc sấy nhẹ hay sao đến khô.

Bảo quản
Để nơi khô, mát, tránh ánh sáng.

Tính vị, quy kinh
Tân, ôn. Vào các kinh can, đại trường.

Công năng, chủ trị
Nhuận tràng, lợi gan mật, tiêu độc, tiêu viêm, sát trùng, chỉ ngứa. Chủ trị: Táo bón (dùng sống), viêm gan, da vàng (dùng dược liệu đã sao khô).
Dùng ngoài chữa hắc lào, viêm da thần kinh, ngứa lở.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 4 g đến 5 g (nhuận tràng), dạng thuốc sắc.
Dùng ngoài: Lượng thích hợp, rửa sạch, giã nát lá, lấy nước cốt bôi, một ngày 2 lần, hoặc lấy lá tươi vò, chà sát vào chỗ bị hắc lào.

Kiêng kỵ
Phụ nữ có thai không nên dùng.

MƯỚP ĐẮNG (Quả)

Fructus Momordicae charantiae
Khổ qua

Quả xanh còn tươi hoặc quả xanh đã phơi hay sấy khô của cây Mướp đắng (*Momordica charantia* L.), Họ Bí (Cucurbitaceae).

Mô tả
Quả hình thoi dài 12 cm đến 18 cm, đường kính 3 cm đến 5 cm, gốc và đầu quả thuôn nhọn, mặt ngoài màu xanh có nhiều gai tù, thịt quả dày, vị đắng, trong quả chứa nhiều hạt dẹt dài 13 mm đến 15 mm, rộng 4 mm đến 8 mm, có màng bao quanh hạt.
Sau khi chế biến, dược liệu đã phơi hay sấy khô là những phiến mỏng hình lưỡi liềm, hình gần tròn, thường rỗng ở giữa, có viền màu vàng nâu bên ngoài của vỏ quả, màu trắng hơi vàng bên trong (thịt quả), phiến dày từ 3 mm đến 5 mm, rộng từ 0,7 cm đến 1,5 cm, dài từ 5 cm đến 8 cm. Mùi thơm nhẹ.

Bột
Thịt quả phơi sấy khô, tán thành bột mịn, quan sát dưới kính hiển vi thấy: Nhiều hạt tinh bột hình tròn, bầu dục to nhỏ không đều; bó sợi, mô mềm, mạch xoắn, mạch vạch.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silicagel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol (10 : 1).

Dung dịch thử: Cho 5 g bột thịt quả đã sấy khô tán nhỏ vào bình nón có dung tích 100 ml, thêm 50 ml *ethanol 20 % (TT)*, trộn đều rồi để qua đêm. Lọc, thêm 10 ml *dung dịch chì acetat 10 % (TT)* vào dịch lọc, lắc đều, lọc. Loại chì thừa trong dịch lọc bằng cách thêm 3 ml *dung dịch natri sulfat bão hòa (TT)*, lắc kỹ, lọc bỏ tủa, chuyển dịch lọc vào bình gạn, lắc dịch lọc 3 lần, mỗi lần với 10 ml hỗn hợp *ethanol - cloroform* (1 : 3), gạn lấy lớp dưới, loại nước bằng *natri sulfat khan (TT)*, bốc hơi dịch chiết trên cách thủy đến khô, hòa tan cặn bằng 2 ml *ethanol 90 % (TT)* được dung dịch thử (dung dịch A).

Dung dịch đối chiếu: Lấy 5 g bột thịt quả Mướp đắng (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi khai triển, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm, có các vết phát quang màu xanh lơ. Tiếp tục phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid phosphoric (TT)*, sấy bản mỏng ở 100 °C đến khi xuất hiện các vết. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Lấy 1 ml dung dịch A cho vào ống nghiệm nhỏ, thêm 2 giọt *dung dịch thymol 20 % trong ethanol (TT)* và thêm 1 ml *acid sulfuric (TT)*, xuất hiện màu đỏ.

Độ ẩm (đối với dược liệu khô)
Không quá 10 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không được quá 8,0 % (Phụ lục 9.8).
Dùng 1,0 g dược liệu khô.

Tạp chất (đối với dược liệu khô)
Không được quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 20,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 90 % (TT)* làm dung môi. Sử dụng 10 g dược liệu khô đã được tán thành bột thô.

Chế biến
Thu hái quả trưởng thành, còn xanh, loại bỏ chỗ sâu, rửa sạch để ráo nước, bổ đôi và bỏ hạt, có thể dùng tươi hay thái lát mỏng theo chiều vuông góc với quả, dày 3 mm đến 5 mm, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế
Sao nhỏ lửa đến khi toàn bộ bề mặt phiến thuốc có màu hơi vàng, mùi thơm.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Đắng, tính hàn. Vào các kinh tỳ, phế, thận.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt, nhuận tràng, giải háo khát, lợi tiểu. Chủ trị: Ho do tính nhiệt, sốt, táo bón, tiểu buốt, dắt, tiểu đường. Dùng ngoài tắm, rửa khi bị mụn nhọt, lở ngứa.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 12 g đến 16 g (dược liệu khô). Dạng thuốc sắc, hãm.
Dùng ngoài với lượng thích hợp.

Kiêng kỵ
Tỳ vị hư hàn, đau bụng, ỉa chảy không dùng.

NÁNG HOA TRẮNG (Lá)
Folium Crini asiatici

Lá đã phơi hay sấy ở 50 °C đến 60 °C đến khô của cây Náng hoa trắng (*Crinum asiaticum* L.), họ Thủy tiên (Amaryllidaceae).

Mô tả
Lá khô màu nâu nhạt hoặc vàng nhạt, hơi mỏng, nhẹ, phần giữa lá dày, càng ra mép lá càng mỏng, có nhiều đường gân song song với sống lá. Tại những chỗ lá rách có nhiều những sợi tơ màu trắng. Lá nguyên thuôn hình mác, dài khoảng 70 cm đến 120 cm, có khi dài hơn, rộng khoảng 10 cm đến 18 cm.

Bột
Bột màu nâu sáng, không mùi, vị hơi đắng. Soi dưới kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì mang lỗ khí kiểu hỗn bào. Rất nhiều tinh thể calci oxalat hình kim, hai đầu nhọn, dài khoảng 100 µm đến 110 µm, đường kính khoảng 2 µm đến 3 µm, đơn lẻ hoặc tụ lại thành bó. Mảnh biểu bì lá cấu tạo bởi các tế bào hình thoi hoặc hình đa giác có chứa những tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Nhiều mảnh mạch xoắn.

Định tính
A. Lấy 3 g bột dược liệu. Thêm 2 ml *amoniac (TT)*, trộn cho thấm đều. Thêm 20 ml *cloroform (TT)*, lắc 30 min, để yên 1 h. Lọc vào bình gạn. Thêm 10 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*, lắc kỹ, để yên cho dung dịch phân thành 2 lớp. Gạn lấy phần dịch acid ở phía trên chia vào 3 ống nghiệm để làm các phản ứng sau:
Ống 1: Nhỏ một giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, xuất hiện tủa trắng.
Ống 2: Nhỏ một giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)*, xuất hiện tủa vàng cam.
Ống 3: Nhỏ một giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)*, xuất hiện tủa nâu.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* $60F_{254}$.
Dung môi triển khai: *Cloroform - methanol - amoniac* (70 : 10 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 1 g dược liệu đã được cắt nhỏ, Thêm 10 ml *ethanol (TT)*, chiết siêu âm 20 min, gạn, lọc. Lấy dịch lọc làm dung dịch chấm sắc ký.

Dung dịch dược liệu đối chiếu: Lấy khoảng 1 g bột Náng hoa trắng (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Dung dịch chất đối chiếu: Hoà tan lycorin chuẩn trong *ethanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 0,25 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 366 nm hoặc phun *thuốc thử Dragendorff (TT)* rồi phun tiếp *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu và có một vết cùng màu sắc và cùng giá trị R_f với lycorin trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu.

Độ ẩm
Không được quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không được quá 12,0 % (Phụ lục 9.8).
Dùng 1 g dược liệu.

Tạp chất
Không được quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Acetonitril (TT).
Pha động B: Dung dịch đệm kali dihydrophosphat 0,02 M - triethylamin (100 : 0,3) đã được điều chỉnh tới pH 3 bằng *acid phosphoric (TT).*
Dung dịch chuẩn: Hòa tan lycorin chuẩn trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,15 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 1 g bột dược liệu (qua rây số 250) cho vào bình nón nút mài dung tích 100 ml, làm ẩm bằng 1 ml *amoniac (TT)*, đậy kín, để yên 15 min. Thêm 50 ml *ethanol (TT)*, lắc siêu âm 30 min, để nguội, gạn lấy dịch chiết. Bã được chiết như trên 4 lần nữa, mỗi lần với 30 ml *ethanol (TT)*. Gộp dịch chiết, cô trên cách thủy đến cạn. Dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* để hòa tan và chuyển toàn bộ cắn vào bình định mức 25 ml, thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* đến vạch, lắc đều, lọc qua giấy lọc thường rồi lọc tiếp qua màng lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 290 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min, điều chỉnh nếu cần thiết.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 10	10	90
10 - 11	10 → 40	90 → 60
11 - 21	40	60
21 - 22	40 → 10	60 → 90
22 - 30	10	90

Tiêm 6 lần dung dịch chuẩn vào hệ thống sắc ký, tiến hành sắc ký theo điều kiện đã nêu trên, ghi sắc ký đồ. Độ lệch chuẩn tương đối tính theo diện tích pic lycorin không được quá 2,0 %.
Tiêm riêng biệt dung dịch chuẩn, dung dịch thử. Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{17}NO_4$ trong lycorin chuẩn, tính hàm lượng của lycorin ($C_{16}H_{17}NO_4$) trong dược liệu.
Dược liệu phải chứa ít nhất 0,4 % lycorin ($C_{16}H_{17}NO_4$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hái lá bánh tẻ, loại bỏ lá vàng úa, cắt thành đoạn dài từ 2 cm đến 5 cm, phơi trong râm hoặc sấy ở 40 °C đến 50 °C đến khô.

Bảo quản
Để nơi khô, mát.

Công năng, chủ trị
Náng hoa trắng được dùng ngoài để trị các vết tụ máu do sang chấn, gây đau đớn, sai gân, bong gân do té ngã, khớp xương sưng đau, hoặc xoa bóp khi bị tê thấp, nhức mỏi chân tay, cơ nhục.
Các nghiên cứu gần đây cho thấy náng hoa trắng còn có tác dụng làm giảm kích thước khối phì đại tuyến tiền liệt.

Cách dùng, liều lượng
Dùng ngoài: Hơ lá tươi vừa đủ nóng, rồi bóp nhẹ vào nơi bị bệnh. Cũng có thể thái nhỏ, xào nóng để bó vào nơi đau. Lượng thích hợp.

NÂN NGHỆ (Thân rễ)
Rhizoma Dioscoreae collettii

Thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Nần nghệ (*Dioscorea collettii* Hook. f.), họ Củ nâu (Dioscoreaceae).

Mô tả
Thân rễ không có hình dạng nhất định, thường phân nhánh và thắt thành từng đoạn không đều nhau, chiều dài từ 5 cm đến 8 cm, dày 2 cm đến 3 cm, tạo thành khối. Ở tận cùng các nhánh có những lớp bần tụ thành từng đám vảy màu đen. Vỏ ngoài có màu nâu vàng hoặc xám, xù xì, lồi lõm, mang rất nhiều rễ con nhỏ dạng sợi cứng, phần sát với thân rễ có vết tích của lớp bần bị bong ra, tạo thành những ống ôm lấy rễ con. Rễ con tự rụng đi khi thân rễ già làm cho bề mặt thân rễ nhẵn hơn, có màu vàng nâu rõ hơn. Mặt cắt màu vàng tươi, nhẵn, chắt cứng và dai.

Vi phẫu

Phần vỏ: Phần vỏ tương đối mỏng so với toàn bộ cấu tạo của thân rễ. Bần có 2 phần, phần ngoài gồm 5 đến 7 lớp tế bào, có kích thước lớn, sắp xếp một cách lộn xộn, dễ bị bong ra khỏi thân rễ; phần trong gồm những tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn thành những vòng đồng tâm và dãy xuyên tâm. Mô mềm vỏ gồm 8 đến 10 dãy tế bào hình đa giác hoặc hình trứng dài nằm ngang, giữa các tế bào này có các tế bào mô khuyết; đặc biệt sát lớp bần có 2 đến 3 hàng tế bào hình thoi dài, kích thước nhỏ, xếp sát nhau hầu như không có khoảng gian bào, các tế bào này dần dần hóa bần.

Phần trụ giữa: Chiếm phần lớn trong toàn bộ cấu tạo thân rễ, bao gồm:

Trụ bì có 1 đến 2 hàng tế bào hình chữ nhật, xếp thành dãy không đều nhau, các dãy cũng không rõ ràng.

Libe-gỗ: thường gặp các bó libe-gỗ là những bó chồng, libe ở ngoài, gỗ ở trong; có thiết diện tròn, đôi khi có những bó có thiết diện dài hoặc gấp khúc (những bó này được tạo ra do cắt vát vi phẫu), sắp xếp một cách lộn xộn trong mô mềm ruột. Ở ngoài là những bó có thiết diện nhỏ, vào trong các bó libe-gỗ to và nhiều hơn. Bó libe gồm những tế bào mảnh, nhỏ, thành mỏng.

Mô mềm ruột: gồm 2 phần tế bào, phần ngoài là những tế bào hình đa giác dài, xếp thành dãy dọc và không theo một trật tự nào, đôi chỗ có thể thấy chúng xếp thành dãy xuyên tâm khá đều đặn, những tế bào này xếp sát nhau, hầu như không có khoảng gian bào, kích thước khá lớn; phần trong gồm những tế bào hình đa giác tròn, thành mỏng, sắp xếp lộn xộn tạo ra khoảng gian bào khá nhỏ.

Bột

Bột màu vàng, lốm đốm nâu, vị đắng, mùi thơm nhẹ. Quan sát dưới kính hiển vi thấy: Rất nhiều hạt tinh bột có hình dạng và kích thước đa dạng, phần lớn là hình trứng, bóng, không rõ vân, ngoài ra còn có các hạt tinh bột hình quạt, hình trụ dài và nhỏ có rốn hạt phân thành hai nhánh chạy dọc hạt, xếp rải rác hoặc tụ thành từng đám. Tinh thể calci oxalat hình kim xếp thành từng đám hoặc riêng rẽ, bóng và sáng. Các tế bào mô cứng hình chữ nhật, đứng riêng lẻ có thành dày xù xì, hiếm gặp. Các tế bào mô mềm hình chữ nhật hoặc hình đa giác, tròn, đôi khi chứa tinh bột. Các mảnh mạch mạng.

Định tính

A. Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 5 ml *ethanol 70 % (TT)*, đun sôi trong cách thủy 15 min. Để nguội, lọc, được dịch lọc (dịch lọc A). Lấy 2 ống nghiệm bằng nhau, cho vào ống thứ nhất 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, cho vào ống thứ hai 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*. Thêm vào mỗi ống 2 đến 3 giọt dịch lọc A. Bịt miệng ống nghiệm, lắc mạnh cả hai ống trong 15 s, để yên 15 min sẽ thấy cột bọt trong ống kiềm cao hơn và bền hơn cột bọt trong ống acid; cột bọt trong ống acid gần tan hết sau 15 min tính từ khi lắc.

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

Bản mỏng: *Silica gel* F_{254}.

Dung môi khai triển: *Cloroform - aceton* (95 : 5).

Dung dịch thử: Lấy 100 ml dung dịch thử thu được trong phần Định lượng, cất thu hồi dung môi đến còn khoảng 5 ml dùng làm dịch chấm sắc ký.

Dung dịch dược liệu đối chiếu: Lấy khoảng 2,0 g bột thân rễ Nần nghệ (mẫu chuẩn), chiết như mô tả trong phần Dung dịch thử của mục Định lượng.

Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan diosgenin chuẩn trong *methanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*. Sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng giá trị R_f và cùng màu với vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu. Hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng giá trị R_f và cùng màu với vết trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu.

Độ ẩm

Không được quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 7,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không được có đất, cát, sỏi (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Không được nhỏ hơn 5,0 % tính theo dược liệu khô kiệt. Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol (TT)* làm dung môi.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Methanol (TT)*.

Dung dịch thử: Lấy chính xác khoảng 2 g bột dược liệu (qua rây số 355) vào bình cầu nút mài, thêm 25 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*, đun hồi lưu trong cách thủy 5 h. Lọc qua hai lớp giấy lọc, rửa bã dược liệu bằng *nước cất* cho tới khi nước rửa trung tính (thử bằng giấy chỉ thị) và sấy khô ở 60 °C, cho vào bình Soxhlet, thêm 100 ml *methanol (TT)*, đun trên cách thủy trong 5 h. Chuyển dịch chiết thu được vào bình định mức 200 ml, dùng *methanol (TT)* tráng rửa bình chiết và gộp dịch rửa vào bình định mức, thêm *methanol (TT)* đến vạch, trộn đều. Lọc qua màng lọc 0,45 µm.

Dung dịch chuẩn: Pha dãy dung dịch diosgenin chuẩn trong *methanol (TT)* có nồng độ lần lượt khoảng 0,15 mg/ml; 0,20 mg/ml; 0,25 mg/ml; 0,35 mg/ml; 0,70 mg/ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (150 mm × 4,6 mm) nhồi pha tĩnh C (5 µm) (cột Hypersil ODS là thích hợp).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 203 nm.

Tốc độ dòng: 0,5 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Thời gian sắc ký: 20 min.

Cách tiến hành:
Tiêm 6 lần dung dịch chuẩn có nồng độ 0,35 mg/ml vào hệ thống sắc ký. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic diosgenin của các lần tiêm không được lớn hơn 2,0 %.
Tiêm lần lượt các dung dịch chuẩn. Ghi sắc ký đồ. Vẽ đồ thị biểu thị sự tương quan tuyến tính giữa diện tích pic và nồng độ dung dịch diosgenin chuẩn.
Tiêm dung dịch thử. Dựa vào diện tích pic diosgenin trên sắc ký đồ thu được và đường chuẩn đã lập, tính nồng độ diosgenin trong dung dịch thử và hàm lượng diosgenin trong dược liệu.
Dược liệu phải chứa không được ít hơn 2,5 % diosgenin ($C_{27}H_{42}O_3$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Nhổ lấy thân rễ vào lúc cây đang ra hoa (tháng 5 - 6). Rửa sạch, thái lát phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô, mát.

Tính vị, quy kinh
Vị khổ, tính bình. Vào kinh can, thận.

Công năng, chủ trị
Công năng: Giải độc, tiêu thũng, tán ứ chỉ thống, khu phong trừ thấp. Chủ trị: Đau xương khớp do phong thấp, đau lưng gối, viêm đường tiết niệu, bạch đới, rắn cắn. Còn có tác dụng hạ cholesterol máu, hạ huyết áp.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 9 g đến 12 g, dạng hãm, sắc. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

NGA TRUẬT (Thân rễ)
Rhizoma Curcumae zedoariae
Tam nại, Nghệ đen, Ngải tím

Thân rễ đã chế biến phơi hay sấy khô của cây Nga truật [*Curcuma zedoaria* (Berg.) Roscoe], họ Gừng (Zingiberaceae).

Mô tả
Thân rễ hình trứng, dài 4 cm đến 6 cm, đường kính 2,5 cm đến 4 cm, mặt ngoài màu nâu, vàng xám đến màu nâu xám, có những mấu nhô lên, hình vòng, các đốt dài khoảng 5 mm đến 8 mm có những vân nhăn dọc nhỏ, những vết sẹo của rễ đã loại đi và vết nhô ra của nhánh ngang. Nhìn qua kính lúp, thấy mặt ngoài thân rễ phủ những lông thô. Chất rắn như sừng, khó cắt. Mặt cắt ngang màu nâu xám, có một vòng nâu xám nhạt ở giữa, phân cách trụ dày với phần vỏ dày 2 mm đến 5 mm. Mùi thơm nhẹ, đặc biệt, vị mát lạnh, hăng, cay, đắng.

Vi phẫu
Mặt cắt ngang thân rễ: Một số lớp vỏ bao (chu bì), lớp vỏ rộng, hóa gỗ, có những bó mạch nhỏ và to nằm rải rác. Lớp tương tự nội bì gồm các tế bào thành mỏng. Kế tiếp là một đám những bó mạch không đều, tập trung sát trung trụ gần như tạo thành vòng tròn. Trong mô mềm rải rác có những tế bào chứa tanin và những ống dầu to, dễ thấy. Tế bào mô mềm chứa đầy những hạt tinh bột đơn, hạt tinh bột có rốn dạng điểm lệch tâm.

Bột
Màu vàng nâu, mùi thơm nhẹ, vị hăng, cay, đắng. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh mô mềm gồm những tế bào có thành mỏng chứa các hạt tinh bột đã bị hồ hóa. Nhiều hạt tinh bột đơn bị hồ hóa không còn nhìn rõ vân và rốn. Mảnh mạch xoắn, mạch vạch. Bó sợi nhỏ.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).
Dùng 10 g bột dược liệu.

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Gốc thân, vảy lá còn sót lại: Không quá 1,0 %.
Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Tro toàn phần
Không quá 7,0 % (Phụ lục 9.8).

Định lượng
Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Hàm lượng tinh dầu không được ít hơn 1,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa đông, khi phần trên mặt đất khô héo. Đào lấy thân rễ, rửa sạch, đồ chín đến thấu lõi, rồi phơi khô hoặc sấy khô ở nhiệt độ thấp, sau đó loại bỏ rễ con và tạp chất.

Bào chế
Nga truật: Lấy Nga truật khô, ngâm qua, rửa sạch, đồ mềm, thái lát mỏng, phơi hay sấy khô.
Thố Nga truật (chế dấm): Lấy lát Nga truật sạch, tẩm dấm một đêm, 600 g Nga truật ngâm trong 160 ml dấm, 160 ml nước, đun đến thấu lõi (cạn chất lỏng), sao đến khô.

Bảo quản
Để nơi khô, tránh mọt.

Tính vị, quy kinh
Khổ, tân, ôn. Vào các kinh can, tỳ.

Công năng, chủ trị
Hành khí, phá huyết, chỉ thống, tiêu tích. Chủ trị: Kinh nguyệt huyết khối, bế kinh, đau bụng kinh, bụng đầy trướng đau do thực tích khí trệ.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 9 g, dạng thuốc sắc hay hoàn tán. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Phụ nữ có thai không nên dùng.
Cơ thể hư yếu sau khi sinh có tích trệ không nên dùng, muốn dùng phải phối hợp với Nhân sâm, Bạch truật.

NGẢI CỨU

Herba Artemisiae vulgaris

Ngọn thân đã phơi hay sấy khô của cây Ngải cứu (*Artemisia vulgaris* L.), họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả

Ngọn thân dài không quá 30 cm, có khía dọc, màu vàng nâu hay nâu xám, có lông tơ. Lá mọc so le, có cuống hoặc không, thường nhăn nheo, cuộn vào nhau. Lá có nhiều dạng: Lá trên ngọn nguyên, hình mác; lá phía dưới xẻ một hoặc hai lần hình lông chim. Mặt trên lá màu xám đến xanh đen, nhẵn hay có rất ít lông tơ, mặt dưới lá màu tro trắng, có rất nhiều lông tơ trắng như mạng nhện nằm dẹp. cụm hoa đầu, gồm nhiều hoa hình ống.

Vi phẫu

Lá: Phần gân lá: Gân chính lồi lõm ở cả 2 phía trên và dưới. Biểu bì trên và biểu bì dưới gồm một hàng tế bào hình trứng và đều mang 2 loại lông che chở đa bào: lông đa bào một dãy và lông đa bào hình chữ T (đầu lông có 1 tế bào hình thoi nằm ngang, chân lông đa bào đính vào giữa tế bào hình thoi). Sát lớp biểu bì là đám mô dày gồm 2 hàng đến 3 hàng tế bào có thành dày ở góc. Mô mềm gồm các tế bào hình gần tròn hoặc hình nhiều cạnh, thành mỏng, tương đối đều. Có 3 đến 5 bó libe-gỗ rời nhau xếp thành hình cung cân đối: bó ở giữa to nhất, các bó hai bên nhỏ dần (cấu tạo libe-gỗ chồng kép). Libe gồm những tế bào nhỏ hình đa giác xếp bao lấy gỗ, các mạch gỗ xếp thành hàng tương đối đều đặn.

Phần phiến lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới gồm một hàng tế bào có kích thước lớn hơn tế bào ở phần gân lá, mang lông che chở đa bào. Biểu bì dưới mang lỗ khí nhô hẳn ra ngoài biểu bì. Dưới lớp biểu bì trên có mô giậu gồm một hàng tế bào hình chữ nhật, xếp vuông góc với biểu bì, kế đến là mô khuyết.

Thân: Mặt cắt ngang có hình gần như đa giác do có nhiều chỗ lồi, từ ngoài vào trong có: Biểu bì gồm 1 hàng tế bào nhỏ hình trứng, mang lông che chở đa bào 1 dãy và lông đa bào hình chữ T. Đám mô dày tập trung ở các chỗ lồi. Mô mềm vỏ gồm các tế bào thành mỏng xen kẽ giữa các đám mô dày. Từng đám mô cứng hình thoi (hai đầu nhỏ, ở giữa phình to) nằm úp lên phần libe của các bó libe-gỗ. Tầng phát sinh libe-gỗ và libe tạo thành vòng. Gỗ và đám mô cứng phía ngoài libe tạo thành bó tròn, tập trung nhiều ở các chỗ lồi. Mô mềm ruột cấu tạo bởi những tế bào thành mỏng, các tế bào phía ngoài hình tròn hay đa giác; ở giữa bị kéo dài ra, phần trung tâm các tế bào tròn và to hơn.

Bột

Lông che chở (bị gãy hoặc còn nguyên) đa bào hoặc đa bào hình chữ T (đầu đơn bào hình thoi, chân lông đa bào một dãy). Lông tiết: đầu có một tế bào, chân có 3 tế bào. Mảnh biểu bì thân gồm tế bào hình chữ nhật. Mảnh biểu bì lá gồm tế bào có thành mỏng, nhăn nheo. Lỗ khí thường tách rời khỏi biểu bì và đứng riêng lẻ. Sợi dài, thành hơi dày, đứng riêng lẻ hoặc tụ họp thành từng đám. Tế bào mô cứng hình trái xoan thành dày, khoang rộng, có ống trao đổi rõ. Mảnh mạch điểm, mạch vạch, mạch xoắn.

Định tính

A. Lấy 5 g dược liệu đã cắt nhỏ cho vào bình nón có nút mài dung tích 50 ml, thêm khoảng 30 ml *nước*, đun sôi 3 min đến 5 min. Gạn lấy dịch chiết nước vào chén sứ, cô còn khoảng 1 ml. Thêm 5 ml *ethanol 96 % (TT)*, lọc qua giấy lọc được dung dịch A để làm các phản ứng sau:

Phản ứng 1: Nhỏ vào 3 lỗ của khay sứ trắng, mỗi lỗ 3 giọt dung dịch A, lần lượt làm như sau:

Lỗ 1: Thêm 1 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, dung dịch chuyển màu xanh đen.

Lỗ 2: Thêm 1 giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, xuất hiện tủa màu vàng, tủa tan trong lượng thừa thuốc thử.

Lỗ 3: Thêm 1 giọt *thuốc thử Diazo (TT)* và 2 giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, xuất hiện màu đỏ tươi.

Phản ứng 2: Nhỏ 2 giọt đến 3 giọt dung dịch A lên một tờ giấy lọc, để khô. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm, thấy huỳnh quang vàng lục. Tiếp xúc với hơi amoniac, xuất hiện màu vàng tươi.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Toluen - ethyl acetat - aceton - acid formic (15 : 2 : 2 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 2 g dược liệu đã cắt nhỏ, thêm 30 ml *ethyl acetat (TT)*, lắc đều, ngâm trong 1 h. Gạn lấy dịch chiết ethyl acetat, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa cặn trong 1 ml *ethanol 96 % (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g Ngải cứu (mẫu chuẩn) đã cắt nhỏ, tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 25 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun hỗn hợp *dung dịch acid boric 10 % - dung dịch acid oxalic 10 %* (2 : 1), sấy bản mỏng ở 100 °C trong 5 min rồi quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 1,5 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tỷ lệ thân và cành: Không quá 35,0 %.

Tạp chất khác: Không quá 0,5 %.

Tỷ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 5 % (Phụ lục 12.12).

Định lượng
Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Dùng 40 g dược liệu đã cắt nhỏ, thêm 200 ml *nước*, cất trong 3 h. Hàm lượng tinh dầu không ít hơn 0,25 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thường thu hái vào tháng 5 đến 6 (lúc cây chưa ra hoa), chặt lấy đoạn cành dài không quá 40 cm, mang nhiều lá, loại bỏ tạp chất, phơi âm can hay sấy nhẹ tới khô.

Bào chế
Ngải cứu khô: Loại bỏ tạp chất và cành, rây bỏ chất vụn, thu được Ngải diệp, rửa qua nước cho mềm, thái ngắn, phơi khô.
Ngải thán (hoặc Thổ Ngải thán): Chọn Ngải diệp sạch cho vào nồi sao to lửa đến khi đa phần (khoảng 7 phần 10) chuyển thành màu đen, trộn đều với dấm, sao khô hoặc lấy ra phơi ở chỗ mát 2 ngày đến 3 ngày cho khô. Cứ 100 kg lá Ngải cứu dùng 15 L dấm.
Ngải nhung dùng để (châm) cứu: Lá Ngải cứu sạch phơi khô, sao qua, để cho mềm, cho vào cối giã kỹ, khi nào mịn như nhung là được, bỏ xơ và bột vụn.

Bảo quản
Để nơi khô, thoáng mát.

Tính vị, quy kinh
Khổ, tân, ôn. Vào các kinh can, tỳ, thận.

Công năng, chủ trị
Chỉ huyết, trừ hàn thấp, điều kinh, an thai. Chủ trị: Kinh nguyệt không đều, băng huyết, rong huyết, thổ huyết, khí hư bạch đới, động thai, viêm ruột, lỵ.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc.
Dùng ngoài trị đau do sang chấn: Lấy Ngải cứu tươi, rửa sạch, giã, đắp nơi đau với liều thích hợp.

Kiêng kỵ
Âm hư huyết nhiệt, không nên dùng.

NGÀNH NGẠNH (Lá)

Folium Cratoxyli pruniflori
Đỏ ngọn, Co kín lang

Lá phơi hay sấy khô của cây Ngành ngạnh (*Cratoxylum pruniflorum* Kurtz), họ Ban (Hypericaceae).

Mô tả
Lá hình mác hoặc bầu dục, gốc thuôn, đầu nhọn, dài 6 cm đến 11 cm, rộng 2,5 cm đến 3,5 cm, mặt trên có lông nhỏ, dày hơn ở mặt dưới; cuống lá ngắn.

Vi phẫu
Gân lá: Mặt trên lõm, mặt dưới lồi. Biểu bì trên và biểu bì dưới gồm 1 hàng tế bào thành dày mang lông che chở đa bào. Mô mềm gồm các tế bào hình đa giác, thành mỏng. Libe-gỗ xếp thành hình cung sát mô mềm. Bao quanh bó libe-gỗ là các bó sợi xếp thành hình vòng cung. Nhiều tinh thể calci oxalat hình cầu gai rải rác trong mô mềm.
Phiến lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới gồm 1 hàng tế bào mang nhiều lông che chở đa bào. Mô giậu gồm 1 lớp tế bào hình chữ nhật, xếp vuông góc với biểu bì.

Bột
Bột màu nâu vàng, mùi thơm, vị hơi chua chát. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì gồm những tế bào hình chữ nhật mang lông che chở và nhiều lỗ khí kiểu song bào đứng riêng lẻ. Rải rác có lông che chở đa bào. Sợi dài, thành dày, tập trung thành từng bó. Mảnh mô mềm gồm các tế bào hình đa giác thành mỏng. Các tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Mảnh mạch xoắn, mạch vạch.

Định tính
A. Lấy khoảng 10 g bột dược liệu, đun hồi lưu trên cách thủy với 30 ml *ether (TT)* khoảng 5 min, lọc, loại dịch chiết ether. Bã dược liệu để bay hết ether ở nhiệt độ phòng, thêm 30 ml *ethanol (TT)*, đun sôi trên cách thủy 10 min, lọc, dịch lọc dùng làm các phản ứng sau:
Lấy 1 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm, thêm một ít bột *magnesi (TT)*, 3 giọt *acid hydrocloric (TT)*, đun nóng nhẹ, dung dịch chuyển từ vàng sang nâu đỏ.
Lấy 1 ml dịch lọc vào ống nghiệm, thêm 3 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, xuất hiện màu xanh đen.
Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 3 giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, xuất hiện tủa màu vàng. Thêm 1 ml nước tủa tan, màu vàng của dung dịch tăng lên.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Toluen - ethyl acetat - acid formic (5 : 4 : 1).
Dung dịch thử: Lấy khoảng 10 g bột dược liệu cho vào túi giấy lọc, đặt túi vào bình Soxhlet, chiết bằng 50 ml *n-hexan (TT)* đến khi dịch chiết không màu. Loại bỏ dịch chiết n-hexan, lấy bã dược liệu để bay hơi hết dung môi, chiết tiếp bằng 50 ml *methanol (TT)* trong 1 h. Lấy dịch chiết methanol, cất thu hồi dung môi đến cắn. Hòa tan cắn vào 20 ml *nước cất*, đun trong cách thủy cho tan hết, lọc qua giấy lọc. Chiết dịch lọc bằng *ethyl acetat (TT)* 3 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp dịch chiết, cất thu hồi ethyl acetat đến cắn. Hòa tan cắn bằng 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*, lọc, acid hóa dịch lọc đến pH 3 bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, lọc thu tủa. Để tủa khô ở nhiệt độ phòng rồi hòa tan trong 10 ml *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 10 g bột nửa thô lá Ngành ngạnh (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng, hiện màu bằng hơi *amoniac (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng giá trị R_f và cùng màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (6 vết màu vàng đến vàng nâu, trong đó các vết 2, 3 có màu vàng đậm nhất).

Độ ẩm
Không được quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tỉ lệ vụn nát
Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 3,0 % (Phụ lục 12.12).

Tạp chất
Không quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 20,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Lá thu hái quanh năm, ủ, rồi phơi hay sấy khô.

Bảo quản
Để nơi khô ráo, thoáng mát, tránh mốc.

Tính vị, quy kinh
Vị đắng chát, tính mát.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt, giải độc, lợi tiêu hóa. Chủ trị: Sốt, ra mồ hôi trộm, chân tay mỏi; cảm sốt, viêm ruột, tiêu chảy, khản cổ, ho mất tiếng.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 15 g đến 30 g, dạng thuốc sắc. Thường phối hợp với một số vị thuốc khác.

NGHỆ (Thân rễ)

Rhizoma Curcumae longae
Khương hoàng, Uất kim

Thân rễ đã phơi khô hay đồ chín rồi phơi hoặc sấy khô của cây Nghệ vàng (*Curcuma longa* L.), họ Gừng (Zingiberaceae).

Mô tả
Thân rễ hình trụ, thẳng hoặc hơi cong, đôi khi phân nhánh ngắn dạng chữ Y, dài 2 cm đến 5 cm, đường kính 1 cm đến 3 cm. Mặt ngoài màu xám nâu, nhăn nheo, có những đường vòng ngang sít nhau, đôi khi còn vết tích của các nhánh và rễ. Mặt cắt ngang thấy rõ 2 vùng vỏ và trụ giữa; trụ giữa chiếm gần 2/3 đường kính. Chất chắc và nặng. Mặt bẻ bóng, có màu vàng cam. Mùi thơm hắc, vị hơi đắng, hơi cay.

Vi phẫu
Tiêu bản mới cắt, chưa nhuộm tẩy thấy rõ lớp bần dày, gồm nhiều hàng tế bào dẹt, trong đó rải rác có những tế bào màu vàng hoặc xanh xám, phía ngoài rải rác còn có lông đơn bào dài. Mô mềm vỏ gồm những tế bào tròn to, thành mỏng, chứa hạt tinh bột (dược liệu đã đồ chín thì tinh bột ở trạng thái hồ) và rải rác trong mô mềm còn có tế bào tiết tinh dầu màu vàng và các bó libe-gỗ nhỏ. Nội bì và trụ bì rõ. Mô mềm ruột có cấu tạo giống mô mềm vỏ. Trong mô mềm ruột có những bó libe-gỗ rải rác nhiều hơn, một số bó tập trung sát trụ bì, gần như tạo thành một vòng tròn.

Bột
Mảnh mô mềm gồm những tế bào thành mỏng chứa các hạt tinh bột. Nhiều hạt tinh bột hình trứng dài 12 µm đến 50 µm, rộng 8 µm đến 21 µm, có vân đồng tâm và rốn lệch tâm. Tế bào chứa tinh dầu và nhựa tạo thành những đám lớn nhỏ màu vàng. Mảnh mạch mạng và mạch vạch.

Định tính
A. Lắc 0,5 g bột dược liệu với 3 ml *ethanol 90 % (TT)*, để lắng. Nhỏ 3 đến 4 giọt dịch chiết ethanol lên giấy lọc. Để khô, trên giấy lọc còn lại vết màu vàng. Tiếp tục nhỏ từng giọt *dung dịch acid boric 5 % (TT)* rồi *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*, làm như vậy vài lần và hơ nóng nhẹ cho khô, vết vàng sẽ chuyển thành màu đỏ. Sau đó thêm 3 giọt *dung dịch amoniac 10 % (TT)*, sẽ tiếp tục chuyển sang màu xanh đen.
B. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại 366 nm, bột dược liệu có huỳnh quang màu vàng tươi.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi triển khai: *Cloroform - acid acetic* (9 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 0,1 g bột dược liệu cho vào cốc thủy tinh, thêm 5 ml *methanol (TT)*, đun tới sôi rồi để nguội, lọc, lấy dịch lọc làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan curcumin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch nồng độ khoảng 0,3 mg/ml. Nếu không có curcumin chuẩn, dùng 0,1 g bột Nghệ (mẫu chuẩn) chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 25 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun hỗn hợp gồm 15 ml *dung dịch acid boric 3 % (TT)* và 5 ml *dung dịch acid oxalic 10 % (TT)*, đã trộn kỹ. Quan sát dưới ánh sáng thường.
Trên sắc ký đồ, dung dịch thử phải có các vết (3 vết) cùng màu sắc và giá trị R_f với 3 vết của curcumin chuẩn hoặc có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Tỷ lệ non, xốp: Không quá 1,0 %.
Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Tro toàn phần
Không quá 8,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 12,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 50 % (TT)* làm dung môi.

Định lượng
A. Định lượng tinh dầu (Phụ lục 12.7).
Lấy chính xác khoảng 30 g dược liệu đã tán thành bột thô vào bình cầu có dung tích 500 ml của bộ dụng cụ dùng định lượng tinh dầu trong dược liệu. Thêm 150 ml *nước*, tiến hành cất trong 3 h. Hàm lượng tinh dầu không ít hơn 4,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
B. Định lượng curcuminoid:
Phương pháp đo quang phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến (Phụ lục 4.1).
Dung dịch chuẩn gốc: Hòa tan curcumin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 400 µg/ml.
Lập đường chuẩn: Từ dung dịch chuẩn gốc tiến hành pha dãy dung dịch curcumin chuẩn trong *methanol (TT)* có nồng độ lần lượt là 0,8; 1,6; 2,0; 2,4 và 3,2 µg/ml. Đo độ hấp thụ của các dung dịch trên tại bước sóng 420 nm, dùng mẫu trắng là *methanol (TT)*. Từ kết quả thu được lập đường chuẩn biểu thị sự liên quan giữa nồng độ curcumin và độ hấp thụ.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 300 mg bột thô dược liệu, cho vào bình định mức 10 ml, thêm *tetrahydrofuran (TT)*, trộn đều và pha loãng tới vạch bằng cùng dung môi. Để ở nhiệt độ phòng trong 24 h, thỉnh thoảng lắc. Để lắng, lấy chính xác 1 ml dịch trong ở phía trên vào bình định mức 25,0 ml, thêm *methanol (TT)* đến vạch, lắc đều. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng *methanol (TT)* và đo độ hấp thụ của dung dịch tại bước sóng 420 nm, mẫu trắng là *methanol (TT)*. Dựa vào đường chuẩn đã lập ở trên và kết quả thu được, tính hàm lượng curcumin trong dung dịch thử và trong dược liệu.
Dược liệu phải chứa không ít hơn 5,0 % curcuminoid tính theo curcumin, tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Đào lấy thân rễ, phơi khô, cũng có thể đồ hoặc hấp trong 6 h đến 12 h rồi đem phơi hoặc sấy khô.

Bào chế
Rửa sạch, ngâm 2 h đến 3 h, ủ mềm, thái lát mỏng, phơi khô. Ngâm trong đồng tiện 3 ngày 3 đêm (ngày thay đồng tiện một lần), thái lát, phơi khô, sao vàng (hành huyết).

Bảo quản
Để nơi khô, trong bao bì kín, tránh bay mất tinh dầu. Cần phơi sấy luôn để tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Tân, khổ, ôn. Vào các kinh can tỳ.

Công năng, chủ trị
Hành khí, phá huyết, chỉ thống, sinh cơ. Chủ trị: Kinh nguyệt không đều, bế kinh, đau tức sườn ngực, khó thở. Phụ nữ đau bụng sau đẻ do máu xấu không sạch, kết hòn cục, hoặc ứ huyết do sang chấn; viêm loét dạ dày; vết thương lâu liền miệng.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc hoặc bột.
Dùng ngoài dưới dạng dịch tươi bôi vào vết thương để chóng lên da non.

Kiêng kỵ
Cơ thể suy nhược, không có ứ trệ, không nên dùng.

NGỌC TRÚC (Thân rễ)

Rhizoma Polygonati odorati

Thân rễ đã phơi khô của cây Ngọc trúc [*Polygonatum odoratum* (Mill.) Druce], họ Mạch môn đông (Convallariaceae).

Mô tả
Dược liệu hình trụ tròn, hơi dẹt, ít phân nhánh, dài 4 cm đến 18 cm, đường kính 0,3 cm đến 1,6 cm. Mặt ngoài màu trắng hơi vàng hoặc hơi vàng nâu, trong mờ, có vân nhăn dọc và vòng đốt tròn hơi lồi, có vết sẹo của rễ con dạng điểm tròn, màu trắng và vết thân khí sinh dạng đĩa tròn. Chất cứng giòn hoặc hơi mềm, dễ bẻ gãy, mặt bẻ tựa như sừng. Mùi nhẹ, vị hơi ngọt, nhai có cảm giác nhớt dính.

Vi phẫu
Tế bào bần, dẹt ở hai đầu, hoặc hình chữ nhật nén dẹt, thành ngoài hơi dày lên, chất như sừng. Nhiều tế bào chứa chất nhày rải rác trong mô mềm, đường kính 80 µm đến 140 µm, có chứa tinh thể calci oxalat hình kim. Rải rác có các bó mạch xếp đối xứng, một vài bó mạch gỗ bao quanh libe.

Độ ẩm
Không quá 16,0 % (Phụ lục 9.6, 2 g, 100 °C - 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 3,0 % (Phụ lục 9.8).

Định lượng
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 60 mg glucose khan (mẫu chuẩn) (đã sấy khô ở 105 °C đến khối lượng không đổi) cho vào bình định mức 100 ml. Hòa tan trong *nước* và pha loãng với cùng dung môi tới vạch, lắc kỹ (1 ml dung dịch chứa 0,6 mg glucose khan).
Lập đường chuẩn: Lấy chính xác 1,0 ml; 1,5 ml; 2,0 ml; 2,5 ml; 3,0 ml dung dịch chuẩn cho vào bình định mức 50 ml riêng biệt, thêm *nước* vừa đủ tới vạch, trộn kỹ. Lấy chính xác lần lượt mỗi 2 ml của từng dung dịch trên cho vào các ống nghiệm có nắp, thêm vào mỗi ống 1 ml *dung dịch phenol 4 %*, lắc kỹ, thêm nhanh 7,0 ml *acid sulfuric*

(TT), lắc, giữ trong cách thủy ở 40 °C trong 30 min, rồi làm lạnh trong nước đá khoảng 5 min. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 490 nm (Phụ lục 4.1), dùng hỗn hợp dung môi tương ứng làm mẫu trắng. Lập đường chuẩn biểu diễn sự tương quan giữa độ hấp thụ và nồng độ dung dịch.

Tiến hành: Cân chính xác khoảng 1 g bột dược liệu thô cho vào bình cầu đáy tròn, thêm 100 ml *nước*, đun hồi lưu 1 h, lọc qua bông lấy dịch lọc. Chiết như trên 1 lần nữa. Gộp các dịch lọc, bay hơi bớt dung môi rồi chuyển dịch chiết vào bình định mức 100 ml, pha loãng với nước tới vạch, lắc kỹ. Lấy chính xác khoảng 2 ml dung dịch trên, thêm 10 ml *ethanol 96 % (TT)*, quấy và ly tâm, hòa tan tủa vào *nước*, rồi chuyển vào bình định mức 50 ml, pha loãng với cùng dung môi tới vạch. Lấy chính xác khoảng 2 ml dung dịch trên, tiến hành như đã mô tả ở phần Dung dịch chuẩn bắt đầu từ "thêm 1 ml *dung dịch phenol 4 %*" và đo độ hấp thụ, tính lượng glucose (mg) của mẫu thử dựa vào đường chuẩn đã lập ở trên và tính hàm lượng phần trăm polysacharid.

Hàm lượng polysacharid trong dược liệu không ít hơn 6,0 %, tính theo lượng glucose ($C_6H_{12}O_6$), tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, đào lấy thân rễ, loại bỏ rễ con, rửa sạch, phơi cho mềm, đem ra lăn và phơi, cứ làm như vậy, lăn đi lăn lại rồi phơi đến khi không còn lõi cứng, phơi khô là được hoặc đem đồ Ngọc trúc tươi, rồi vừa lăn vừa phơi đến khi trong mờ thì phơi khô là được.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái lát dày hoặc cắt đoạn và phơi khô.

Dạng thái phiến: Lấy dược liệu đã phơi khô, thái phiến vát dài 3 cm đến 5 cm, dày 2 mm đến 5 mm.

Ngọc trúc chế mật ong: Ngọc trúc đã thái phiến đem tẩm với mật ong (tỷ lệ: 1 đến 1,5 kg mật ong/10 kg dược liệu), ủ 30 min đến 60 min, sấy se, rồi dùng lửa nhỏ sao đến khi có màu vàng, mùi thơm, sờ không dính tay là được.

Dạng chưng: Ngọc trúc rửa sạch, đồ 6 h đến 8 h, ủ 1 ngày 1 đêm; tiếp tục làm như vậy 2 đến 3 lần đến khi vị thuốc có màu đen, thái khúc dài 2 cm đến 3 cm.

Ngọc trúc chế rượu: Ngọc trúc rửa sạch, ủ mềm, đồ 8 h cho mềm, thái khúc, thêm rượu (tỷ lệ: 1,5 kg rượu/10 kg Ngọc trúc), chưng 4 h. Đựng dược liệu vào dụng cụ bằng đồng hoặc bằng nhôm.

Bảo quản

Để nơi khô, thoáng mát, tránh mốc, sâu mọt.

Tính vị, quy kinh

Vị ngọt, tính mát. Vào các kinh phế, vị.

Công năng, chủ trị

Dưỡng âm, nhuận táo, sinh tân, chỉ khát. Chủ trị: Trị ho khan, họng khô miệng khát, sốt nóng âm ỉ về đêm, mồ hôi trộm, vị âm hư gây kém ăn, khó tiêu, hoặc vị nhiệt gây ăn nhiều chóng đói.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ

Người dương suy âm thịnh, tỳ hư đờm thấp không nên dùng.

NGOI (Lá)

Folium Solani erianthi

Cà ngoi

Lá đã phơi hay sấy khô của cây Ngoi (*Solanum erianthum* D. Don), họ Cà (Solanaceae).

Mô tả

Lá đã phơi hay sấy khô có màu xanh xám. Cuống lá phủ một lớp lông mịn hình sao, dài 1,5 cm đến 5,5 cm. Phiến lá thuôn hình trứng hay elip, dài 10 cm đến 29 cm, rộng từ 4 cm đến 12 cm. Mùi hắc, khai; vị đắng, cay.

Vi phẫu

Vi phẫu lá có thiết diện đối xứng qua trục giữa. Cấu tạo gồm có các phần:

Gân lá: Mặt trên hơi lồi, mặt dưới rất lồi. Biểu bì gồm các tế bào hình chữ nhật xếp thành một lớp. Tế bào biểu bì mang lông che chở đa bào hình sao (5 đến 11 tế bào) và lông tiết đầu đa bào (4 đến 6 tế bào), chân đa bào (2 tế bào). Mô dày gồm 5 đến 7 dãy tế bào thành dày. Bó libe-gỗ hình cung xếp giữa gân lá, gồm cung libe bao quanh cung gỗ. Mô mềm gồm các tế bào hình tròn hay nhiều cạnh, thành mỏng, nằm giữa mô dày và bó libe, tế bào chứa tinh thể calci oxalat dạng cát nằm rải rác.

Phiến lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới gồm một lớp tế bào mang lông che chở đa bào và lông tiết đa bào. Nằm sát lớp biểu bì trên là mô giậu, cấu tạo bởi các tế bào hình chữ nhật xếp đứng cạnh nhau. Dưới mô giậu là mô mềm cấu tạo bởi các tế bào không đều, thành mỏng.

Bột

Bột có màu xanh xám, rất xốp. Quan sát dưới kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì mang lỗ khí; mảnh mạch xoắn; tinh thể calci oxalat hình cầu gai; lông che chở đa bào; lông tiết chân 2 tế bào, đầu đa bào.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - methanol (10 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 5 g bột dược liệu, thêm 70 ml *dung dịch acid acetic 5 %*, ngâm qua đêm. Lọc dịch chiết qua giấy lọc. Kiềm hoá dịch lọc bằng *amoniac (TT)* đến pH 9,5 - 10, chiết 3 lần với *cloroform (TT)*, mỗi lần 30 ml. Gộp dịch chiết cloroform, thu hồi dung môi đến cắn, hoà tan cắn trong 1 ml *methanol (TT)* được dung dịch chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 5 g bột lá Ngoi (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng

ra để khô trong không khí, phun *thuốc thử Dragendorff (TT)*. Sắc ký đồ của dung dịch thử quan sát dưới ánh sáng thường phải có 7 vết chính, có màu từ xanh đến xanh tím, cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không được quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 4 h).

Tạp chất
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ vụn nát
Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không được quá 5 % (Phụ lục 12.12).

Tro toàn phần
Không được quá 14,0 % (Phụ lục 9.8).

Định lượng
Phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến (Phụ lục 4.1).
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 0,05 g solasodin chuẩn, cho vào bình định mức 100 ml, thêm một ít *methanol (TT)*, lắc cho tan hết solasodin, thêm tiếp *methanol (TT)* đến vạch và lắc đều.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 1,0 g bột dược liệu (qua rây 1,25 mm), đun hồi lưu trong cách thủy 3 h với 50 ml *dung dịch acid acetic 5 % trong methanol*. Để nguội, lọc, rửa bã dược liệu 2 lần, mỗi lần bằng 30 ml *dung dịch acid acetic 5 % trong methanol*. Gộp dịch lọc và dịch rửa, thu hồi dung môi và cô trong chân không ở 50 °C tới khô. Dùng *methanol (TT)* để hòa tan và chuyển toàn bộ cắn vào bình định mức 25 ml, thêm *methanol (TT)* đến vạch. Đậy nút và lắc đều. Lọc.
Cách tiến hành:
Lần lượt cho vào 3 bình gạn dung tích 50 ml các dung dịch sau:

Dung dịch sử dụng	Bình 1	Bình 2	Bình 3
	Dung dịch chuẩn (ml)	Dung dịch thử (ml)	Mẫu trắng (ml)
Dung dịch đệm phosphat 0,1 M pH 8,0 (TT)	5	5	5
Dung dịch xanh bromothymol 0,2 % (Hoà tan 0,2 g *xanh bromthymol (TT)* trong *ethanol 20 % (TT)*, thêm cùng dung môi để vừa đủ 100 ml).	0,5	0,5	0,5
Dung dịch solasodin chuẩn (0,5 mg/ml)	0,5	0	0
Dung dịch thử	0	0,5	0
Methanol (TT)	0	0	0,5
Cloroform (TT)	10	10	10

Lắc kỹ 3 bình trên trong 15 min, sau đó để yên khoảng 30 min cho phân lớp. Gạn lấy lớp cloroform vào 3 bình gạn khác. Lắc lớp cloroform với 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,05 M (TT)*. Để yên 30 min cho phân lớp. Gạn lấy dung dịch kiềm màu xanh.
Đo độ hấp thụ ở bước sóng 616 nm của các dung dịch kiềm thu được.
Tính hàm lượng glycoalcaloid trong mẫu thử theo solasodin dựa vào độ hấp thụ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{27}H_{43}NO_2$ trong solasodin chuẩn.
Hàm lượng glycoalcaloid toàn phần trong dược liệu không được ít hơn 0,45 % tính theo solasodin ($C_{27}H_{43}NO_2$) và theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hái lá quanh năm, phơi hay sấy khô ở nhiệt độ 50 °C đến 60 °C. Có thể dùng tươi.

Bảo quản
Để nơi khô, thoáng mát.

Tính vị, quy kinh
Vị đắng, cay, tính ấm, có độc.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt tiêu thũng, sát trùng, chỉ huyết, hành khí chỉ thống, sinh cơ thu liễm. Chủ trị: Đau dạ dày, phong thấp tê bại, mụn nhọt ung độc, đòn ngã tổn thương, gẫy xương, bệnh bạch cầu hạt mạn tính.
Dùng ngoài trị viêm da có mủ, lòi dom, hắc lào, lao hạch.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 10 g đến 15 g, dạng thuốc sắc.
Dùng ngoài: Lượng thích hợp, rửa sạch, đập dập, sao nóng, đắp vào chỗ đau.

NGÔ CÔNG
Scolopendra

Ngô công là cơ thể khô của loài Rết (*Scolopendra morsitans* Linnaeus), họ Rết (Scolopendridae).

Mô tả
Cơ thể rết thường nhỏ dài 7 cm đến 13 cm. Thân dẹt bao gồm khoảng 20 đốt, các đốt thân gần giống nhau, mỗi đốt mang một đôi chân. Rết có một đôi râu ngắn. Đầu ngắn do 6 đến 7 đốt hợp lại. Hai bên đầu có nhiều mắt đơn. Miệng nằm giữa 2 hàm trên. Đôi chân thứ nhất biến đổi thành chân hàm có móc chứa nọc độc, hướng thẳng về phía trước. Tuyến độc nằm trong gốc hàng hay sâu hơn nữa. Hai đốt cuối thường không có chân. Đôi chân cuối cùng thường dài và duỗi về phía sau. Kết cấu mỏng manh dễ gãy theo đường nứt. Mùi hơi khó chịu đặc trưng, nếm thấy có vị hăng cay, hơi mặn.

Độ ẩm
Không được quá 15,0 % (Phụ lục 9.6, 2 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được
Không được dưới 20,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 50 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Rễ dùng làm thuốc được bắt vào mùa xuân hoặc mùa hè, được duỗi thẳng bằng que nứa xuyên từ đầu đến đuôi đem phơi hoặc sấy khô.

Bào chế
Loại bỏ que nứa, rửa sạch sao nóng nhẹ đến khí có màu vàng, cắt thành miếng nhỏ.

Bảo quản
Nơi khô mát tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Tân, ôn, có độc. Quy vào kinh can.

Công năng, chủ trị
Trừ kinh phong, giải rắn độc cắn. Chủ trị: Trẻ con kinh phong, uốn ván, phong thấp, rắn độc cắn.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 3 g đến 5 g trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ
Không dùng cho phụ nữ có thai.

NGÔ THÙ DU (Quả)

Fructus Evodiae rutaecarpae

Quả gần chín, phơi khô của cây Ngô thù du [*Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. hoặc *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. var. *officinalis* (Dode) Huang hoặc *Evodia rutaecarpa* (Juss.) Benth. var. *bodinieri* (Dode) Huang], họ Cam (Rutaceae).

Mô tả
Quả hình cầu hoặc hình cầu dẹt, đường kính 0,2 cm đến 0,5 cm, mặt ngoài màu lục vàng thẫm đến màu nâu, thô, xù xì. Có nhiều điểm chấm dầu nhỏ lên hoặc trũng xuống. Đỉnh quả có kẽ nứt hình sao 5 cánh, chia quả thành 5 mảnh. Gốc quả còn sót lại cuống phủ lông tơ vàng. Chất cứng, giòn. Mặt cắt ngang quả thấy rõ 5 ô, mỗi ô chứa 1 hạt đến 2 hạt màu vàng nhạt. Mùi thơm ngát, vị cay, đắng.

Bột
Bột màu nâu. Lông che chở đa bào gồm 2 đến 6 tế bào, dài 140 µm đến 350 µm, vách ngoài có mấu bướu rõ rệt. Một số khoang tế bào chứa các chất màu vàng nâu đến đỏ nâu. Lông tiết có đầu hình bầu dục, gồm 7 đến 14 tế bào thường chứa chất tiết màu vàng và chân có 2 đến 5 tế bào. Cụm tinh thể calci oxalat hình cầu gai hoặc hình lăng trụ, đường kính 10 µm đến 25 µm. Tế bào mô cứng hình gần tròn hoặc hình chữ nhật, thành dày và có ống trao đổi rõ, đường kính 35 µm đến 70 µm, khoang rộng. Mảnh mô mềm có chứa tinh thể calci oxalat hình cầu gai, hình lăng trụ. Đôi khi còn thấy các mảnh vỡ màu vàng của các khoang dầu.

Định tính
A. Lấy 0,5 g bột dược liệu, cho vào ống nghiệm, thêm 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 % (TT)*, lắc mạnh vài phút, lọc. Lấy dịch lọc làm các phản ứng sau:
Lấy 2 ml dịch lọc, thêm 1 giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, lắc đều, sẽ có tủa màu trắng ngà.
Lấy 1 ml dịch lọc, thêm từ từ 2 ml *dung dịch p-dimethyl aminobenzaldehyd (TT)*, đun nóng trên cách thủy, giữa hai lớp dung dịch sẽ hình thành vòng nâu đỏ.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa (60 °C đến 90°C) - ethyl acetat - triethylamin (7 : 3 : 0,1).
Dung dịch thử: Lấy 0,4 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol 96 % (TT)*, siêu âm 30 min ở nhiệt độ phòng, lọc, dịch lọc được dùng làm dung dịch chấm sắc ký.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan riêng biệt rutaecarpin chuẩn và evodiamin chuẩn trong *ethanol 96 % (TT)* để được dung dịch có nồng độ chất chuẩn lần lượt là 0,2 mg/ml và 1,5 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có các chất chuẩn trên, lấy 0,4 g bột Ngô thù du (mẫu chuẩn) tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với với vết rutaecarpin và evodiamin trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu hoặc có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm
Không được quá 15,0 % (Phụ lục 9.6, 2 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không được quá 10,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất
Cuống quả đã tách rời và tạp chất khác: Không quá 7,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không được dưới 30,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 50 % (TT)* làm dung môi.

Định lượng
Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu (Phụ lục 12.7). Dùng 100 g dược liệu. Hàm lượng tinh dầu không ít hơn 0,25 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Ngô thu hoạch từ tháng 8 đến tháng 11, khi quả chưa nứt, cắt cành có quả, phơi hoặc sấy khô ở nhiệt độ thấp (40 °C đến 50 °C), loại bỏ cành, cuộng, lá, cuống quả và tạp chất khác.

Bào chế
Ngô thù du chế: Giã hoặc tán thô Cam thảo và sắc với đồng lượng nước, lọc bỏ bã, cho Ngô thù du sống vào dụng cụ có nắp, trộn với nước sắc Cam thảo và ủ cho thấm hết, sao se, lấy ra phơi khô. Dùng 6 kg Cam thảo cho 100 kg Ngô thù du.

Bảo quản
Để nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh
Tân, ôn, khổ, tiểu độc. Quy vào kinh tỳ, vị, can, thận.

Công năng, chủ trị
Ôn trung, tán hàn, chỉ thống, giáng nghịch, chỉ ẩu. Chủ trị: Quyết âm đầu thống, hàn sán đau bụng, hàn thấp, cước khí, thượng vị đau trướng kèm nôn, ợ chua, ngũ canh tả.
Dùng ngoài: Hòa dấm đắp huyệt dũng tuyền, chữa loét miệng lưỡi, huyễn vựng.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 1,5 g đến 4,5 g, phối ngũ trong các bài thuốc. Dùng ngoài với lượng thích hợp.

Kiêng kỵ
Không dùng kéo dài và cho người âm hư nội nhiệt.

NGŨ BỘI TỬ
Galla chinensis

Tổ đã phơi hay sấy khô của ấu trùng sâu Ngũ bội tử [*Melaphis chinensis* (Bell.) Baker = *Schlechtendalia chinensis* Bell.], ký sinh trên cây Muối, tức cây Diêm phu mộc (*Rhus chinensis* Muell.), họ Đào lộn hột (Anacardiaceae).

Mô tả
Túi hình trứng (Đỗ bội) hoặc hình củ ấu (Giác bội), phân nhánh nhiều hay ít, nguyên hoặc vỡ đôi, vỡ ba.
Đỗ bội: Hình trứng, hoặc hình thoi, dạng nang, dài 2,5 cm đến 9 cm, đường kính 1,5 cm đến 4 cm. Mặt ngoài màu nâu xám, hơi có lông tơ mềm. Chất cứng giòn, dễ vỡ vụn. Mặt gãy có dạng chất sừng, sáng bóng, dày 0,2 cm đến 0,3 cm; mặt trong phẳng, trơn, khoang rỗng có chứa xác chết của ấu trùng, màu nâu đen, và chất bột bài tiết ra, màu xám. Mùi đặc biệt, vị se.
Giác bội: hình củ ấu, phân nhánh, không đều, dạng sừng, mặt ngoài có lông tơ mềm rõ rệt, vách tổ tương đối mỏng.

Vi phẫu
Biểu bì có nhiều lông che chở, thành dày. Mô mềm chứa hạt tinh bột nhỏ và tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Bó libe-gỗ rải rác, đôi khi có ống nhựa đi kèm.

Bột
Màu vàng nâu, vị chát. Soi kính hiển vi thấy lông che chở cấu tạo bởi 1 đến 2 tế bào, dài 70 µm đến 350 µm. Mảnh mô mềm chứa hạt tinh bột, đường kính 10 µm. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai, đường kính khoảng 25 µm; ống nhựa ít gặp. Mảnh mạch xoắn.

Định tính
A. Lấy khoảng 0,5 g bột dược liệu, thêm 4 ml *nước*, đun nóng nhẹ, lọc. Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, sẽ có tủa đen lơ.
Lấy 1 ml dịch lọc trên, thêm 2 giọt *dung dịch kali stibi tartrat (TT)*, sẽ có tủa trắng.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Cloroform - ethyl acetat - acid formic (5 : 5 : 1).
Dung dịch thử: Lấy khoảng 0,5 g bột dược liệu thô, thêm 2 ml *methanol (TT)*, siêu âm 15 min. Lấy dịch lọc làm dung dịch thử.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan acid galic chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 1 mg/ml
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Lấy 0,5 g Ngũ bội tử (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch thử trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho có vết cùng màu sắc và cùng giá trị R_f với vết của acid galic trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu. Hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 11,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Mảnh lá, mẩu cành: không quá 0,5 %.

Tỷ lệ vụn nát (Phụ lục 12.12)
Vỡ đôi, vỡ ba: Không quá 50 %.
Mảnh dưới 2 mm: Không quá 5 %.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - dung dịch acid phosphoric 0,1 % (15 : 85), điều chỉnh tỷ lệ nếu cần thiết.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,5 g bột dược liệu (qua rây số 355) cho vào bình nón nút mài khô, thêm chính xác 50 ml *dung dịch acid hydrocloric 4 M (TT)*, cân xác định khối lượng, đun trên cách thủy trong 3,5 h (để thủy phân), để

nguội, cân lại và thêm *dung dịch acid hydrocloric 4 M (TT)* để được khối lượng ban đầu. Trộn đều, lọc. Lấy chính xác 1 ml dịch lọc cho vào bình định mức 100 ml, pha loãng với *methanol 50 % (TT)* tới vừa đủ thể tích, trộn đều.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan acid galic chuẩn trong *methanol 50 % (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,04 mg/ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 273 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min đến 2,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm dung dịch chuẩn, tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột tính trên pic acid galic phải không được dưới 3000.

Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_7H_6O_5$ của acid galic chuẩn, tính hàm lượng acid galic trong dược liệu.

Dược liệu phải chứa không được ít hơn 50,0 % acid galic ($C_7H_6O_5$) được tạo ra khi thủy phân, tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, lấy về, luộc qua hoặc đồ cho đến khi mặt ngoài có màu trơ, diệt chết nhộng sâu, lấy ra, phơi hoặc sấy khô. Dựa vào hình dạng bên ngoài mà chia ra Đỗ bội hay Giác bội.

Bào chế

Đập vỡ Ngũ bội tử, loại bỏ tạp chất, đem dùng.

Bảo quản

Để nơi khô, tránh dập vỡ vụn nát.

Tính vị, quy kinh

Toan, sáp, hàm, bình. Vào các kinh phế, đại tràng, thận.

Công năng, chủ trị

Sáp trường chỉ tả, chỉ huyết, liễm sang, giải độc, liễm phế.

Chủ trị: Tiêu chảy lâu ngày, lỵ lâu ngày, mồ hôi trộm, tiện huyết, nôn ra máu, trĩ chảy máu, ngoại thương xuất huyết, nhọt độc, sang độc, ngoài da loét do thấp, phế hư ho lâu ngày, phế nhiệt ho có đờm.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 4 g đến 12 g, dạng thuốc sắc. Dùng ngoài lượng thích hợp.

NGŨ GIA BÌ CHÂN CHIM (Vỏ thân, vỏ cành)

Cortex Schefflerae heptaphyllae

Vỏ thân và vỏ cành đã phơi hay sấy khô của cây Ngũ gia bì chân chim [*Schefflera heptaphylla* (L.) Frodin], họ Nhân sâm (Araliaceae).

Mô tả

Mảnh vỏ hơi cong kiểu hình máng, dài 20 cm đến 50 cm, rộng 3 cm đến 10 cm, dày khoảng 0,3 cm đến 1 cm. Dược liệu đã được cạo lớp bần, có màu nâu nhạt, lốm đốm vết xám trắng nhạt. Mặt cắt ngang gồm lớp ngoài lồn nhồn như có sạn, lớp trong có sợi xốp và dễ tách dọc. Vỏ nhẹ và giòn. Mùi thơm nhẹ, vị hơi đắng.

Vi phẫu

Lớp bần còn sót lại gồm khoảng 10 hàng tế bào hình chữ nhật nằm ngang, thành hơi dày, xếp chồng lên nhau thành dãy xuyên tâm đều đặn.

Tầng sinh bần-lục bì gồm một lớp tế bào hình chữ nhật nằm ngang, xếp đều đặn. Tế bào mô cứng thành rất dày, hình chữ nhật hay hình nhiều cạnh, nằm ngang, khoang hẹp, xếp thành vòng liên tục sát tầng sinh bần-lục bì.

Mô mềm vỏ gồm các tế bào thành mỏng, hẹp và kéo dài theo hướng tiếp tuyến, trong mô mềm vỏ có các ống tiết rải rác. Vòng libe cấp 2 dày chiếm 2/3 chiều dày vỏ thân, tế bào libe thành mỏng. Sợi libe xếp thành đám, xen kẽ thành nhiều tầng trong libe. Tế bào sợi tròn thành dày. Cạnh đám sợi có tinh thể calci oxalat, tia tủy hẹp gồm 3 dãy tế bào đi xuyên qua vùng libe cấp 2, theo hướng xuyên tâm.

Bột

Nhiều tế bào mô cứng hình chữ nhật hoặc hình nhiều cạnh màu vàng nhạt, thành rất dày, có ống trao đổi rõ, đứng riêng lẻ hay tụ họp thành từng đám. Sợi thành dày, có ống trao đổi rõ. Mảnh bần gồm tế bào chữ nhật, xếp đều đặn, thành dày. Mảnh mô mềm gồm các tế bào hình nhiều cạnh, thành mỏng. Tinh thể calci oxalat hình chữ nhật, hình lập phương, rộng khoảng 40 µm. Hạt tinh bột nhỏ, đường kính 4 µm, đôi khi tới 16 µm.

Định tính

A. Lấy 5 g bột dược liệu cho vào bình nón, thêm 20 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun sôi, lắc, để nguội rồi lọc. Lấy 1 ml dịch lọc, cho vào ống nghiệm, thêm 5 giọt *anhydrid acetic (TT)*, thêm từ từ theo thành ống nghiệm 0,5 ml *acid sulfuric (TT)*. Lớp phân cách giữa hai dung dịch có vòng màu đỏ nâu.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Hệ dung môi khai triển: Cloroform - methanol - nước (65 : 35 : 10), lắc đều, lấy lớp dưới.

Dung dịch thử: Lấy khoảng 2 g dược liệu đã được xay nhỏ, thêm 25 ml hỗn hợp *methanol* và *nước* (tỷ lệ 4 : 1), đun sôi hồi lưu trên cách thủy trong 30 min, lọc, cô dịch lọc trên cách thủy đến cắn khô. Hòa cắn trong 2 ml *methanol (TT)* làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g Ngũ gia bì chân chim (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid phosphoric 50 % (TT)*. Sấy bản mỏng ở 120 °C

trong 5 min. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần
Không quá 4,5 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến
Vỏ thân, vỏ cành thu hái quanh năm, chủ yếu vào mùa xuân và mùa thu; lúc trời khô ráo, bóc lấy vỏ cây theo kích thước quy định, rửa sạch, bỏ lõi, cạo bỏ lớp bần ở ngoài, phơi trong bóng râm, ủ với lá chuối 7 ngày (thỉnh thoảng đảo cho đều, để nổi mùi hương) rồi lấy ra phơi hoặc sấy nhẹ (50 °C đến 60 °C) cho khô.

Bào chế
Vỏ rửa sạch, cắt thành từng đoạn ngắn, đồ mềm, thái miếng phơi khô.

Bảo quản
Để nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Khổ, sáp, lương. Vào các kinh can, thận.

Công năng, chủ trị
Khu phong, trừ thấp, mạnh gân cốt. Chủ trị: Đau lưng, đau xương cốt do hàn thấp, gân xương co rút, sưng đau, hoặc sưng đau do sang chấn.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 10 g đến 20 g vỏ khô, dạng thuốc sắc hoặc rượu thuốc.

NGŨ GIA BÌ GAI (Vỏ rễ, vỏ thân)
Cortex Acanthopanacis trifoliati

Vỏ rễ và vỏ thân đã phơi hay sấy khô của cây Ngũ gia bì gai [*Acanthopanax trifoliatus* (L.) Merr.], họ Nhân sâm (Araliaceae).

Mô tả
Mảnh vỏ cuộn hình lòng máng, dài 10 cm đến 20 cm, chiều rộng 0,5 cm đến 1 cm, dày khoảng 1mm đến 3 mm. Mặt ngoài có lớp bần mỏng, màu vàng nâu nhạt có một số đoạn rách nứt, để lộ lớp trong màu nâu thẫm. Mặt cắt ngang lởm chởm. Chất nhẹ, giòn, hơi xốp. Mùi thơm nhẹ.

Vi phẫu
Lớp bần gồm một số hàng tế bào hình chữ nhật, xếp chồng lên nhau thành dãy xuyên tâm đều đặn. Tầng phát sinh bần lục bì gồm một lớp tế bào hình chữ nhật. Mô mềm gồm những tế bào thành mỏng, hình dạng méo mó. Trong mô mềm vỏ rải rác có ống tiết và tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Sợi mô cứng xếp thành từng đám rải rác theo một vòng không liên tục giữa ranh giới mô mềm và libe. Vùng libe dày có các tia tủy xuyên tâm. Tầng sinh libe-gỗ.

Bột
Nhiều tế bào mô cứng hình chữ nhật hoặc hình nhiều cạnh màu vàng nhạt, thành rất dày, ống trao đổi rõ, đứng riêng lẻ hoặc tụ lại từng đám. Sợi thành dày, có ống trao đổi rõ. Mảnh bần với tế bào hình nhiều cạnh, thành dày, màu vàng nhạt. Tế bào mô mềm hình nhiều cạnh, thành mỏng, chứa nhiều hạt tinh bột nhỏ hình nhiều cạnh, đơn hoặc kép. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai, có đường kính 12 µm đến 40 µm.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *n - Butanol - ethanol - dung dịch amoniac* (7 : 2 : 5).
[Dung dịch amoniac: Trộn 1 thể tích *amoniac đậm đặc (TT)* với 3 thể tích *nước*].
Dung dịch thử: Ngâm 0,5 g bột dược liệu với 5 ml *ethanol 80 % (TT)*, đun trong cách thủy khoảng 15 min, lọc lấy phần dịch trong.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan acid oleanolic chuẩn trong *cloroform (TT)* để được dung dịch chứa 0,5 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl dung dịch thử và 10 µl dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch vanilin 1 % (TT)* trong hỗn hợp đồng thể tích *methanol (TT)* và *acid phosphoric (TT)*. Sấy bản mỏng ở 120 °C khoảng 5 min. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử xuất hiện 3 vết màu tím trong đó có 1 vết cùng giá trị màu và cùng R_f với vết của acid oleanolic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).
Dùng 10 g dược liệu đã cắt nhỏ.

Tro toàn phần
Không quá 6,5 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 4,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến
Thu hoạch vỏ rễ, vỏ thân vào mùa hạ, mùa thu. Ủ cho thơm, phơi trong bóng râm, chỗ thoáng gió hoặc sấy nhẹ ở 50 °C đến khô.

Bảo quản
Để nơi khô, mát.

Tính vị, quy kinh
Tân, khổ, ôn. Vào các kinh can, thận.

Công năng, chủ trị
Khu phong, chỉ thống, dưỡng huyết. Chủ trị: Đau lưng gối xương khớp co duỗi khó khăn, khí huyết hư, di tinh, liệt dương, tiểu tiện bí gây phù nề.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc hoặc ngâm rượu.

NGŨ GIA BÌ HƯƠNG (Vỏ rễ, Vỏ thân)
Cortex Acanthopanacis gracilistyli

Vỏ rễ và vỏ thân đã phơi hay sấy khô của cây Ngũ gia bì hương (*Acanthopanax gracilistylus* W. W. Smith), họ Nhân sâm (Araliaceae).

Mô tả
Mảnh vỏ cuộn hình lòng máng, kích thước không cố định, thường dài từ 3 cm đến 7 cm, rộng 0,3 cm đến 1 cm, dày khoảng 1 mm đến 2 mm. Mặt ngoài có lớp bần mỏng, màu nâu nhạt. Mặt gẫy ngang lởm chởm. Chất nhẹ, giòn, hơi xốp. Mùi thơm nhẹ.

Vi phẫu
Mặt cắt ngang vỏ thân có hình chữ nhật, từ ngoài vào trong có: Lớp biểu bì hoá bần gồm nhiều hàng tế bào hình chữ nhật xếp thành dãy đồng tâm và xuyên tâm. Lớp mô dày ở sát biểu bì, gồm các tế bào hình trứng hay hình bầu dục, thành rất dày. Mô mềm vỏ gồm các tế bào thành mỏng, hình đa giác. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai rải rác trong mô mềm vỏ. Libe rộng, có các vết nứt ở phía ngoài; tia tủy xuyên tâm rộng, gồm 1 đến 5 hàng tế bào; các ống tiết rõ, xung quanh có 4 đến 11 tế bào tiết.

Bột
Bột màu vàng nhạt. Soi dưới kính hiển vi thấy: Mảnh bần là những tế bào hình chữ nhật hay hình đa giác, thành dày, màu vàng nâu. Mảnh mô mềm gồm các tế bào to, hình đa giác, thành mỏng. Rất nhiều tế bào mô cứng hình chữ nhật, hình gần tròn hay hình nhiều cạnh, không phân nhánh, màu vàng nhạt, thành dày, đứng riêng lẻ hoặc tụ thành đám lớn. Tế bào mô cứng hình chữ nhật dài từ 40 µm đến 110 µm, rộng từ 30 µm đến 50 µm, trên thành có những vạch khía ngang rõ; tế bào mô cứng hình gần tròn có kích thước từ 30 µm đến 40 µm. Sợi đứng riêng lẻ hoặc tập trung thành bó, thành dày, khoang hẹp. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai có đường kính khoảng 10 µm đến 38 µm. Mạch điểm.

Định tính
A. Lấy 5 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun sôi trên cách thủy hồi lưu 15 min, để nguội rồi lọc. Lấy 1 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm, thêm 5 giọt *anhydrid acetic (TT)*, thêm từ từ theo thành ống nghiệm 0,5 ml *acid sulphuric (TT)*. Lớp phân cách giữa hai dung dịch có vòng màu nâu đỏ.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* $60F_{254}$
Dung môi triển khai: *Cloroform - methanol - nước* (7,5 : 2,5 : 0,5).
Dung dịch thử: Lấy khoảng 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml hỗn hợp *methanol - nước* (4 : 1), siêu âm 15 min, lọc, dịch lọc dùng chấm sắc ký.
Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 1 g bột Ngũ gia bì hương (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử hoặc hoà tan siringin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 0,1 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt trên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)* và sấy ở nhiệt độ 105 °C trong 5 min. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng thường hoặc dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết cùng màu sắc và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không được quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không được quá 12,0 % (Phụ lục 9.8).
Dùng 1 g dược liệu.

Tạp chất
Không được quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 3,5 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Acetonitril (TT).
Pha động B: Dung dịch natri dihydrophosphat 0,05 M (TT).
Dung dịch chuẩn: Hoà tan siringin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,02 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,5 g bột dược liệu (qua rây có đường kính mắt rây 0,25 mm) cho vào bình nón nút mài dung tích 100 ml, thêm chính xác 50 ml hỗn hợp *methanol - nước* (70 : 30), cân, siêu âm 30 min, để nguội, cân lại và bổ sung lượng dung môi đã mất bằng cùng hỗn hợp dung môi, lọc qua giấy lọc. Lấy dịch lọc thu được lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 265 nm.
Tốc độ dòng: 0,5 ml/min, điều chỉnh nếu cần.
Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 50	10 → 30	90 → 70
50 - 60	30 → 100	70 → 0

Tiêm 6 lần dung dịch chuẩn, tiến hành sắc ký theo điều kiện đã nêu trên, ghi sắc ký đồ. Độ lệch chuẩn tương đối tính theo diện tích pic siringin không được quá 2,0 %.
Tiêm riêng biệt dung dịch chuẩn, dung dịch thử. Dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{17}H_{24}O_9$ của siringin chuẩn, tính hàm lượng siringin trong dược liệu.
Dược liệu phải chứa không ít hơn 0,15 % siringin ($C_{17}H_{24}O_9$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Vào mùa hạ và mùa thu, tiến hành bóc lấy vỏ thân hoặc vỏ của các cành to, cạo bỏ lớp vỏ ngoài, phơi khô hoặc sấy khô ở nhiệt độ dưới 60 °C. Trước khi dùng, rửa sạch, để ráo nước, cắt đoạn 5 cm đến 7 cm, phơi khô, hoặc sấy khô ở nhiệt độ trên. Đối với vỏ rễ, sau khi đào lấy rễ, rửa sạch, bóc lấy vỏ, cạo bỏ lớp vỏ ngoài, rồi cũng chế biến như vỏ thân, vỏ cành.

Bảo quản
Bảo quản trong các bao bì chống ẩm, để nơi khô ráo, phòng tránh nấm, mốc.

Tính vị, quy kinh
Vị cay, đắng, tính ôn, vào kinh can, thận.

Công năng, chủ trị
Trừ phong thấp, cường gân cốt, bổ can thận. Chủ trị: Phong hàn thấp tý, đau khớp, đau lưng, đau xương, cước khí thủy thũng, âm nang sưng đau, trẻ em sức khỏe yếu, chậm biết đi.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 4 g đến 12 g, dạng thuốc sắc, rượu thuốc, hoàn tán. Có thể dùng riêng hoặc phối hợp với các vị thuốc khác.

NGŨ VỊ TỬ
Fructus Schisandrae chinensis

Quả chín phơi hoặc sấy khô của cây Ngũ vị bắc [*Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill], họ Ngũ vị (Schisandraceae).

Mô tả
Quả hình cầu không đều hoặc hình cầu dẹt, đường kính 5 mm đến 8 mm. Mặt ngoài màu đỏ, đỏ tía hoặc đỏ thẫm, nhăn nheo, có dầu, thịt quả mềm. Có trường hợp mặt ngoài màu đỏ đen hoặc phủ lớp phấn trắng. Có 1 hạt đến 2 hạt hình thận, mặt ngoài màu vàng nâu, sáng bóng. Vỏ hạt mỏng, giòn. Thịt quả mùi nhẹ, vị chua. Sau khi dập vỡ, nhân hạt màu trắng, có mùi thơm, vị cay, hơi đắng.

Vi phẫu
Vỏ quả ngoài gồm một hàng tế bào hình vuông hoặc hình chữ nhật, thành hơi dày, bên ngoài phủ lớp cutin, rải rác có tế bào dầu.
Vỏ quả giữa có 10 hàng tế bào mô mềm hoặc hơn, chứa hạt tinh bột, rải rác có những bó mạch chống chất, nhỏ.
Vỏ quả trong gồm 1 hàng tế bào mô mềm hình vuông nhỏ.
Lớp ngoài của vỏ hạt có 1 hàng tế bào mô cứng, gồm các tế bào xếp xuyên tâm kéo dài, thành dày, có các lỗ nhỏ dày đặc và các ống. Ngay bên dưới lớp ngoài của vỏ hạt có vài hàng tế bào mô cứng gồm các tế bào hình gần tròn, hình tam giác, hoặc hình đa giác có lỗ lớn hơn. Bên dưới lớp tế bào mô cứng có vài hàng tế bào mô mềm.
Phần sống noãn của hạt có các bó mạch; có một hàng tế bào hình chữ nhật chứa các giọt dầu màu vàng nâu, dưới nữa là 3 hàng đến 5 hàng tế bào nhỏ.
Tế bào vỏ trong của hạt nhỏ, thành hơi dày, xếp thành hàng. Tế bào nội nhũ chứa giọt dầu béo và hạt aleuron.

Bột
Màu tía thẫm, tế bào mô cứng của vỏ hạt có hình đa giác hoặc đa giác kéo dài khi nhìn trên bề mặt, đường kính 18 µm đến 50 µm, thành dày với các ống lỗ nhỏ, sít nhau; các khoang chứa chất dầu màu nâu sẫm. Tế bào mô cứng của lớp trong vỏ hạt có hình đa giác, hình tròn hoặc các dạng hình không đều, đường kính tới 83 µm, thành hơi dày với lỗ to. Tế bào vỏ quả ngoài hình đa giác khi nhìn trên bề mặt, thành tế bào phía ngoài lồi lên tạo thành dạng chuỗi hạt, phủ lớp vân cutin; rải rác có tế bào dầu. Tế bào vỏ quả giữa nhăn nheo, chứa chất màu nâu và hạt tinh bột.

Định tính
A. Lấy 1 g dược liệu thô, cho vào ống nghiệm, thêm 10 ml *nước*, ngâm 10 min, thỉnh thoảng lắc đều, lọc. Cô bốc hơi dịch lọc đến còn 2 ml đến 3 ml, cho thêm 10 ml đến 15 ml *ethanol 96 % (TT)*, lắc mạnh trong 5 min, lọc. Bốc hơi hết ethanol, thêm *nước* đến 10 ml, thêm 1 ít bột than hoạt, lắc đều, lọc. Lấy 2 ml dịch lọc, trung hòa bằng *dung dịch natri hydroxyd 5 % (TT)*, thêm 1 giọt *dung dịch đồng sulfat (TT)*, đun sôi, lọc, thêm 1 giọt *dung dịch kali permanganat (TT)*, màu tím biến mất, xuất hiện kết tủa trắng.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi khai triển: Lấy lớp trên của hỗn hợp *ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) - ethyl format - acid formic* (15 : 5 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu thêm 20 ml *cloroform (TT)*. Đun hồi lưu cách thủy khoảng 30 min, lọc, bốc hơi dịch lọc tới cắn. Hòa tan cắn trong 1 ml *cloroform (TT)* được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan deoxyschisandrin chuẩn trong *cloroform (TT)* để được dung dịch có nồng độ 1 %. Nếu không có chất đối chiếu thì dùng 1 g Ngũ vị tử (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng rồi quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung

dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần
Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tỉ lệ vụn nát
Quả có đường kính dưới 0,5 cm: Không quá 5 % (Phụ lục 12.12).

Chất chiết được trong dược liệu
Không được dưới 19,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol* 96 % *(TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa thu, hái lấy quả chín, phơi khô hoặc sau khi đồ chín, phơi khô, loại bỏ cuộng và tạp chất.

Bào chế
Ngũ vị tử sống: Loại bỏ tạp chất, giã vụn khi dùng.
Thố Ngũ vị tử (chế dấm): Lấy Ngũ vị tử trộn với một lượng đủ dấm, cho vào cooing kín, đồ đến có màu đen, lấy ra, phơi hay sấy khô, khi dùng giã dập. Cứ 100 kg Ngũ vị tử cần 20 L dấm, nếu cần pha loãng thêm. Sau khi chế mặt ngoài ngũ vị tử có màu đen, nhuận do có tinh dầu, hơi sáng bóng, thịt quả mềm, dính. Mặt ngoài vỏ quả trong có màu nâu đỏ, sáng bóng. Hạt màu đỏ nâu, sáng bóng.

Bảo quản
Để nơi khô mát, tránh mốc.

Tính vị, quy kinh
Toan, hàm, ôn. Quy vào kinh phế, thận.

Công năng, chủ trị
Liễm phế chỉ ho, sinh tân chỉ hàn, bổ thận cố tinh, chỉ tả, an thần. Chủ trị: Ho lâu ngày và hư suyễn, mộng tinh, di tinh, hoạt tinh, đái dầm, niệu tần, tiêu chảy kéo dài, tự hãn, đạo hãn, tân dịch hao tổn, háo khát, mạch hư, nội nhiệt, tiêu khát, đánh trống ngực và mất ngủ.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 1,5 g đến 6 g, phối hợp trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ
Dang cảm sốt cao, lên sởi, sốt phát ban.

NGƯU BÀNG (Quả)
Fructus Arctii lappae
Ngưu bàng tử

Quả chín phơi khô của cây Ngưu bàng (*Arctium lappa* L.), họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả
Quả hình trứng ngược dài, hơi dẹt, hơi cong, dài 5 mm đến 7 mm, rộng 2 mm đến 3 mm. Mặt ngoài màu nâu hơi xám, có đốm màu đen, có vài gân dọc, thường có 1 đến 2 gân giữa tương đối rõ. Đỉnh tròn tù, hơi rộng, có vòng tròn ở đỉnh và vết vòi nhụy nhọn còn sót lại ở chính giữa. Đáy quả hơi hẹp lại. Vỏ quả tương đối cứng, khi nứt ra, trong có một hạt. Vỏ hạt mỏng, hai lá mầm màu trắng hơi vàng, có dầu. Không mùi, vị đắng, hơi cay và tê lưỡi.

Bột
Màu nâu hơi xanh lục; tế bào đá của vỏ quả trong hơi dẹt, hình thoi thon nhỏ dần, hình bầu dục dài hoặc hình trứng thon dần khi nhìn trên bề mặt. Nhìn từ phía bên, tế bào đá có hình gần chữ nhật hoặc thon dài, hơi cong, dài 70 µm đến 224 µm, rộng 13 µm đến 70 µm; thành tế bào dày tới 20 µm, hóa gỗ, có các lỗ trao đổi. Nhìn trên mặt cắt ngang, tế bào vân lưới của vỏ quả giữa có hình đa giác, thành tế bào nhiều lớp chồng chất uốn lượn có chỗ dày lên. Nhìn trên mặt cắt dọc, thấy tế bào thon dài, thành tế bào có vân nhỏ, dày đặc, đan chéo. Tinh thể calci oxalat hình lăng trụ có đường kính 3 µm đến 9 µm, có nhiều trong tế bào mô mềm màu vàng của vỏ quả giữa, đường viền của các tế bào đá nhìn không rõ. Các tế bào lá mầm chứa đầy hạt aleuron, một số tế bào chứa những cụm tinh thể calci oxalat và những giọt dầu nhỏ.

Định tính
A. Quan sát bột dược liệu dưới ánh sáng tử ngoại (366 nm) thấy có huỳnh quang màu lục.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - nước (40 : 8 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol 96 % (TT)*, chiết siêu âm 30 min, lọc. Bốc hơi dịch lọc tới cắn, hòa cắn trong 2 ml *methanol (TT)* được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,5 g bột Ngưu bàng (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*. Sấy bản mỏng đến khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 7,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 14,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Dùng 2,5 g dược liệu. Tiến hành theo phương pháp ngâm lạnh (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 50 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa thu, hái lấy chùm quả chín, phơi khô, đập nhẹ lấy quả, loại bỏ tạp chất rồi lại phơi khô.

Bào chế
Ngưu bàng tử: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, phơi khô, khi dùng đập thành từng mảnh.
Ngưu bàng tử sao: Cho Ngưu bàng tử sạch vào nồi, sao nhỏ lửa đến khi hơi phồng lên, hơi có mùi thơm. Khi dùng giã nát.

Bảo quản
Để nơi khô, mát.

Tính vị, quy kinh
Tân, khổ, hàn. Vào các kinh phế, vị.

Công năng, chủ trị
Giải biểu nhiệt, tuyên phế, thấu chẩn, giải độc, thông lợi hầu họng. Chủ trị: Cảm mạo phong nhiệt, ho đờm nhiều, sởi, hầu họng sưng đau, quai bị, ngứa, mụn nhọt, đơn độc, nhọt độc sưng lở.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc.

NGƯU TẤT (Rễ)

Radix Achyranthis bidentatae

Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Ngưu tất (*Achyranthes bidentata* Blume), họ Rau giền (Amaranthaceae).

Mô tả
Rễ hình trụ, dài 20 cm đến 30 cm, đường kính 0,5 cm đến 1,0 cm. Đầu trên mang vết tích của gốc thân, đầu dưới thuôn nhỏ. Mặt ngoài màu vàng nâu, có nhiều nếp nhăn dọc nhỏ và vết tích của rễ con.

Vi phẫu
Mặt cắt rễ gần tròn, từ ngoài vào trong có: Lớp bần gồm các tế bào nhỏ, dẹt, xếp thành hàng đồng tâm và dãy xuyên tâm, phần ngoài có nhiều chỗ bị bong ra. Mô mềm vỏ cấu tạo từ những tế bào hình nhiều cạnh, thành mỏng, xếp lộn xộn. Libe-gỗ xếp thành từng bó, mỗi bó có libe phía ngoài, mạch gỗ ở phía trong. Các bó libe-gỗ xếp rải rác thành bốn vòng đồng tâm, ở tâm các bó libe-gỗ có hình tam giác cân xếp sát nhau tạo thành những hình quạt.

Bột
Bột màu nâu nhạt, mùi hơi hắc, vị ngọt sau đắng. Soi dưới kính hiển vi thấy: Mảnh bần, mảnh mô mềm thành mỏng, nhiều mảnh mạch điểm, tinh thể calci oxalat hình cầu gai kích thước 30 µm đến 40 µm và những mảnh vỡ hình khối của các tinh thể này.

Định tính
A. Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 50 ml *dung dịch natri clorid 1 % (TT)*, đun sôi nhẹ, lọc, cho dịch lọc vào ống nghiệm, lắc, xuất hiện nhiều bọt bền vững (saponin).
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol (40 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol (TT)*, đun cách thủy hồi lưu trong 40 min, rồi để yên. Lấy 10 ml dung dịch ở phía trên, thêm 10 ml *acid hydrocloric (TT)*, đun hồi lưu trong 1 h, cô dịch chiết còn khoảng 5 ml, rồi thêm 5 ml *nước*, chiết với 20 ml *cloroform (TT)*. Bốc hơi dịch chiết cloroform tới cắn, hòa cắn trong 2 ml *ethanol (TT)* được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch acid oleanolic chuẩn 0,1 % trong *ethanol (TT)*. Nếu không có acid oleanolic chuẩn có thể dùng 2 g bột rễ Ngưu tất (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl dung dịch đối chiếu và 10 µl đến 20 µl dung dịch thử. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí rồi phun thuốc thử hiện màu là *dung dịch acid phosphomolypdic 5 % trong ethanol (TT)*, sấy ở 120 °C trong 5 min. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu và giá trị R_f với vết của acid oleanolic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Nếu dùng Ngưu tất để chiết dung dịch đối chiếu thì trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - nước - acid formic (7 : 3 : 0,5 : 0,05).
Dung dịch thử: Lấy 4 g bột dược liệu, thêm 50 ml *methanol 80 % (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy trong 3 h, để nguội, lọc, cất thu hồi dung môi và cô dịch lọc tới cắn, hòa cắn trong 15 ml *nước* và chuyển dung dịch thu được vào cột (đường kính trong 1,5 cm, dài 15 cm) đã được nhồi nhựa macroporous D101, rửa giải lần lượt bằng 100 ml *nước*, 100 ml *ethanol 20 % (TT)*, 100 ml *ethanol 80 % (TT)*. Bỏ dịch rửa nước và ethanol 20 %, thu lấy dịch rửa ethanol 80 % và bay hơi đến cắn khô. Hòa tan cắn trong 1 ml *methanol 80 % (TT)* được dung dịch chấm sắc ký.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan riêng biệt β-ecdysteron và ginsenosid Ro chuẩn trong *methanol (TT)* để được hai dung dịch có nồng độ khoảng 1 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có các chất chuẩn trên, dùng 4 g bột rễ Ngưu tất (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 4 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô trong không khí, phun *dung dịch vanilin 5 % trong acid sulfuric (TT)* và sấy ở 105 °C đến khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung

dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu, hoặc có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6, 2 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Tỉ lệ gốc thân còn sót lại: Không quá 1,0 %.
Tạp chất khác: Không quá 0,5 %.

Kim loại nặng
Không quá 3 phần triệu Pb; 0,8 phần triệu Cd; 1 phần triệu Hg, 2,0 phần triệu As (Phụ lục 9.4.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không dưới 6,5 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *n-butanol đã bão hòa nước (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa đông, khi thân và lá khô héo, đào lấy rễ, chọn loại rễ to, cắt bỏ rễ con, loại bỏ đất, buộc thành bó nhỏ, phơi đến khi héo, khô nhăn, xông lưu huỳnh 2 lần cho mềm. Cắt bằng phần đầu, phơi khô.

Bảo quản
Để nơi khô mát, tránh ẩm và mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Khổ, toan, bình. Vào các kinh can, thận.

Công năng, chủ trị
Hoạt huyết thông kinh, mạnh gân cốt, bổ can thận. Chủ trị: Dùng trị đau lưng gối, mỏi gân xương; bế kinh, kinh nguyệt không đều, tăng huyết áp.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 8 g đến 12 g, dưới dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ
Phụ nữ có thai, băng huyết không dùng.

NHA ĐẢM TỬ
Fructus Bruceae javanicae
Xoan rừng, Sầu đâu cứt chuột

Quả chín đã phơi hay sấy khô của cây Sầu đâu cứt chuột [*Bruceajavanica* (L.) Merr.], họ Thanh thất (Simarubaceae).

Mô tả
Quả nhỏ hình trứng hay trái xoan, dài 6 mm đến 10 mm, đường kính 4 mm đến 7 mm. Mặt ngoài màu đen hoặc nâu. Trên mặt vỏ quả có những nếp nhăn hình mạng với các ô có hình đa giác không đều, cả hai mặt đều có gân rõ, đỉnh quả nhọn, đáy có vết cuống quả, vỏ cứng và giòn. Hạt hình trứng, dài 5 mm đến 6 mm, đường kính 3 mm đến 5 mm, mặt ngoài màu trắng hoặc trắng ngà, có vân lưới, vỏ hạt cứng mỏng, mặt trong vỏ hạt màu vàng, nhẵn bóng, nhân hạt (gồm nội nhũ và cây mầm) màu trắng kem, có dầu. Không mùi, vị rất đắng.

Vi phẫu
Ngoài cùng là lớp biểu bì dày, tiếp theo là mô mềm của vỏ quả giữa gồm một số hàng tế bào dẹt hình đa giác, trong có các mạch gỗ. Vòng mô cứng được tạo bởi các tế bào đa giác đều đặn, có thành dày. Trong cùng là mô mềm của nội nhũ, gồm các tế bào đa giác hoặc hơi tròn.

Bột
Bột vỏ quả: Màu nâu, tế bào biểu bì hình đa giác, chứa chất màu nâu, tế bào mô mềm hình đa giác, chứa cụm tinh thể calci oxalat hình lăng trụ đường kính tới 30 µm. Tế bào đá hình tròn hoặc hình đa giác, đường kính 14 µm đến 38 µm.
Bột hạt: Màu trắng ngà, tế bào vỏ hạt cứng hình đa giác, hơi kéo dài. Tế bào nội nhũ và lá mầm chứa hạt aleuron.

Định tính
A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 15 ml *dung dịch natri clorid 1 % (TT)*, đun sôi nhẹ, lắc, lọc. Dịch lọc cho vào ống nghiệm, lắc mạnh theo chiều dọc ống nghiệm trong 15 s, xuất hiện bọt bền ít nhất trong 60 min, cột bọt không được dưới 1 cm.
B. Lấy 0,2 g bột dược liệu, thêm 2 ml *cloroform (TT)*, lắc đều, để yên 2 min, lọc, cô dịch lọc tới cắn, hòa cắn vào 1 ml *anhydrid acetic (TT)* rồi cho vào ống nghiệm, cẩn thận thêm từ từ dọc theo thành ống 0,5 ml *acid sulfuric (TT)*. Mặt ngăn cách giữa hai lớp sẽ có màu nâu đỏ, lớp dung dịch phía trên có màu xanh rêu.
C. Lấy 5 g bột dược liệu, thêm 2 ml *amoniac đậm đặc (TT)*, trộn cho thấm đều, để yên 15 min, thêm 15 ml *cloroform (TT)*, lắc, đun hồi lưu trên bếp cách thủy 15 min, lọc. Cho dịch lọc vào bình gạn, thêm 10 ml *dung dịch acid sulfuric 2 % (TT)*, lắc trong 1 min, để yên cho dung dịch tách thành 2 lớp, gạn lấy phần acid, lọc trong để làm các phản ứng sau:
Lấy 1 ml dịch chiết acid, thêm 2 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)*, dung dịch đục sau 5 min.
Lấy 1 ml dịch chiết acid, thêm 6 giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, xuất hiện tủa màu nâu (sau khoảng 5 min).

Độ ẩm
Không quá 8,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Tỷ lệ quả có màu nâu nhạt: Không quá 50,0 %.
Tỷ lệ quả non lép: Không quá 5,0 %.
Cành, cuống quả: Không quá 1,0 %.

Tro toàn phần
Không được quá 6,5 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu
Không dưới 16,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 96 %* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa thu, hái quả chín, loại bỏ tạp chất, phơi hay sấy khô.

Bào chế
Loại bỏ vỏ cứng và các tạp chất, tách lấy hạt.

Bảo quản
Nơi khô, mát.

Tính vị, quy kinh
Khổ, hàn, hơi độc. Quy vào kinh đại tràng.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt, giải độc, triệt ngược, chỉ lỵ, hủ thực. Chủ trị: Lỵ amip, sốt rét. Dùng ngoài chữa hạt cơm, chai chân.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 0,5 g đến 2 g, dùng dạng nang hoặc bọc trong Long nhãn để nuốt, có thể ép bớt dầu để tránh bị nôn. Dùng ngoài với lượng thích hợp, giã nát hoặc ép lấy dầu bôi.

Kiêng kỵ
Không dùng quá liều và kéo dài vì có thể gây đau bụng, nôn mửa, ỉa chảy, kém ăn, người mệt, không dùng cho người suy nhược, tỳ vị hư hàn.

NHÀU (Quả)
Fructus Morindae citrifoliae

Quả già hay quả chín, tươi hoặc khô của cây Nhàu (*Morinda citrifolia* L.) họ Cà phê (Rubiaceae).

Mô tả
Quả tụ do nhiều quả đơn dính sát nhau tạo thành. Quả có hình bầu dục hơi thuôn dài, kích thước dài 4 cm đến 8 cm, rộng 2,5 cm đến 5 cm; cuống dài khoảng 0,5 cm đến 1 cm, dễ rụng khi chín. Quả già màu xanh lục, thể chất cứng chắc, mặt ngoài sần sùi có nhiều mắt hình đa giác, mỗi "mắt" là một quả đơn gồm có lớp cơm mềm bao quanh một hạt hình trứng. Khi chín, quả có màu trắng hoặc vàng nhạt, thể chất mềm, dễ rã ra, mùi khai. Mặt cắt ngang có màu trắng, mọng nước, gồm nhiều ô dính quanh một giá ở trung tâm, mỗi ô chứa một hạt; để lâu ngoài không khí chuyển thành màu nâu đen.
Lát cắt khô có hình gần như tròn hay bầu dục, màu nâu đen, thể chất dai, cứng, khó bẻ. Hạt hình trứng, dài khoảng 0,5 cm đến 1 cm, vỏ ngoài màu nâu bóng, nhân hạt màu trắng, có chứa nhiều dầu béo.

Vi phẫu
Thịt quả: Ngoài cùng là biểu bì có mang lỗ khí, kế đến là lớp mô mềm gồm các tế bào đa giác hơi tròn, thành mỏng, rải rác có tế bào chứa tinh thể calci oxalat hình kim tụ thành bó. Thỉnh thoảng có bó mạch bị cắt ngang hoặc cắt dọc hay xéo. Hạt bị cắt ngang cho thấy lớp vỏ hạt gồm các tế bào hình chữ nhật xếp đứng sát nhau như mô giậu; kế đến là phôi nhũ gồm các tế bào hình đa giác, bên trong chứa rất nhiều giọt dầu béo.

Bột
Bột quả có màu xám đen (quả già) hoặc màu nâu đen (quả chín), không có xơ, mùi hăng, vị the.
Mảnh vỏ quả ngoài có mang lỗ khí; mảnh mô mềm của vỏ quả giữa thường có chứa tinh thể calci oxalat hình kim; tinh thể calci oxalat hình kim rời hay tụ thành bó rất nhiều; giọt dầu béo tròn, chiết quang; mảnh mạch vạch, mạch điểm rất ít; mảnh vỏ hạt gồm các tế bào có dạng giống sợi dài xếp song song, dính thành đám nhiều hay ít; mảnh phôi nhũ gồm tế bào hình đa giác chứa nhiều giọt dầu béo.

Định tính
A. Dùng phần dịch lọc còn lại trong phần xác định hàm lượng chất chiết được để làm phản ứng định tính.
Nhỏ vài giọt dịch lọc lên giấy lọc, để khô, nhỏ tiếp vài giọt dịch lọc, để khô. Soi dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm, vết dịch lọc có phát quang màu xanh dương.
Lấy khoảng 2 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm, cô cách thủy còn khoảng 1 ml, thêm vài giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, xuất hiện màu đỏ nâu.
Lấy 2 ml dịch lọc, thêm khoảng 2 ml *acid hydrocloric (TT)* nhẹ nhàng trên thành ống nghiệm để tạo thành hai lớp. Nhúng ống nghiệm vào nước nóng hơn 95 °C khoảng 30 s, xuất hiện vòng màu xanh lá ở mặt phân cách, loang dần lên lớp trên.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel $G60F_{254}$.
Dung môi khai triển: Benzen - ethyl acetat - acid formic (80 : 19 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 5 g bột dược liệu khô, thêm 30 ml *ethanol 96 % (TT)* hoặc 20 g dược liệu tươi đã nghiền nhỏ, thêm 80 ml *ethanol 96 % (TT)*. Đun hồi lưu cách thủy trong 10 min. Lọc lấy dịch lọc. Cô cách thủy đến cắn, hòa cắn trong *benzen (TT)* để được khoảng 1 ml dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 3 g bột quả Nhàu khô (mẫu chuẩn), thêm 20 ml *ethanol 96 % (TT)* hoặc lấy 20 g quả nhàu tươi (mẫu chuẩn) đã nghiền nhỏ, thêm 80 ml *ethanol 96 % (TT)*. Tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng khoảng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí ở nhiệt độ phòng. Phun lên bản mỏng *dung dịch vanilin - acid sulfuric (TT)*. Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong khoảng 5 min. Quan sát dưới ánh sáng thường.
Trên sắc đồ của dung dịch thử phải có nhiều hơn 5 vết màu tím hay xanh tím, trong đó có hai vết khá to, màu tím đậm có giá trị R_f ứng với khoảng 0,4 ± 0,05; 0,8 ± 0,05 và phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.
Tỷ lệ hạt: Không quá 30,0 %.

Chất chiết được trong dược liệu
Không được ít hơn 17,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Sử dụng *ethanol* 96 % *(TT)* làm dung môi. Dùng 5 g dược liệu; sấy cắn ở 100 °C đến khối lượng không đổi.

Chế biến
Thu hoạch quả quanh năm, khi quả già hoặc sắp chín, rửa sạch, cắt thành từng khoanh tròn dầy khoảng 3 mm đến 5 mm, phơi trong bóng râm, nơi thoáng gió hoặc sấy nhẹ đến khô.

Bảo quản
Để nơi khô, mát, trong bao bì kín.

Tính vị, quy kinh
Vị chát. Vào kinh thận, đại tràng.

Công năng, chủ trị
Nhuận tràng, lợi tiểu, điều kinh, hoạt huyết. Chủ trị: Táo bón, tiểu tiện không thông, điều kinh, hạ sốt, chữa ho, hen; còn dùng với tính chất tăng cường miễn dịch, tăng sức đề kháng cho cơ thể.

Liều lượng, cách dùng
Ngày dùng từ 12 g đến 16 g, dạng thuốc sắc (chữa cao huyết áp), hoặc ngâm rượu.

NHÀU (Rễ)
Radix Morindae citrifoliae

Rễ cắt ngắn hoặc thái phiến phơi hay sấy khô của cây Nhàu (*Morinda citrifolia* L.), họ Cà phê (Rubiaceae).

Mô tả
Dược liệu là từng đoạn rễ dài ngắn, to nhỏ không đều. Mặt ngoài màu vàng nâu nhạt có nhiều nếp nhăn dọc và lớp bần bong ra. Mặt bẻ lởm chởm không đều, mặt cắt ngang có màu vàng. Cũng có thể là phiến mỏng màu vàng sẫm.

Vi phẫu
Mặt cắt ngang rễ hình tròn, từ ngoài vào trong có: lớp bần gồm 2 đến 3 hàng tế bào hình chữ nhật xếp thành dãy đồng tâm. Mô mềm gồm những tế bào thành mỏng hình nhiều cạnh không đều. Trong mô mềm có tế bào chứa tinh thể calci oxalat hình kim và có những đám sợi. Libe tạo thành vòng bao quanh gỗ. Tầng phát sinh libe-gỗ, mạch gỗ nằm rải rác trong mô gỗ.

Bột
Bột có màu vàng sẫm. Quan sát dưới kính hiển thấy: mảnh bần, hạt tinh bột đứng riêng lẻ, có hạt kép đôi, kép ba. Sợi đứng riêng lẻ hay tụ lại thành bó. Tinh thể calci oxalat hình kim. Mảnh mạch điểm, mạch mạng.

Định tính
A. Lấy 0,2 g bột dược liệu cho vào ống nghiệm, thêm 10 ml *cloroform (TT)*, lắc mạnh trong 2 min, lọc vào bình gạn nhỏ, thêm 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, lắc đều, để yên, lớp dung dịch kiềm phía trên có màu tím đỏ.
B. Lấy khoảng 0,5 g bột dược liệu cho vào một chén sứ, hơ nóng nhẹ trên ngọn lửa đèn cồn và đảo đều cho bay hết hơi nước. Sau đó đậy lên chén sứ một phiến kính và đặt lên phiến kính ít bông đã thấm nước lạnh rồi đốt mạnh trong 5 min. Lấy tấm kính ra soi dưới kính hiển vi, sẽ thấy những tinh thể hình kim màu vàng. Nhỏ lên tinh thể một giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, sẽ xuất hiện màu hồng tím.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Benzen - ethyl acetat - acid formic (75 : 25 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu vào ống nghiệm, thêm 5 ml *cloroform (TT)*, lắc mạnh trong 2 min, lọc lấy dịch lọc đem cô trên cách thủy tới cắn khô, hòa tan cắn trong 1 ml *cloroform (TT)* dùng làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,5 g bột rễ Nhàu (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô tự nhiên ở nhiệt độ phòng, hiện màu bằng hơi *amoniac đậm đặc (TT)*. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến
Đào rễ về rửa sạch đất cát, chặt thành khúc nhỏ đem phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản
Để nơi khô, tránh ẩm, mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Vị chát, tính bình. Vào kinh thận, đại tràng.

Công năng, chủ trị
Trừ phong thấp, nhuận tràng, bình can giáng nghịch. Chủ trị: Đau nhức xương khớp, huyết áp cao, phụ nữ sau khi sinh yếu mệt; còn dùng với tính chất tăng cường miễn dịch, tăng sức đề kháng cho cơ thể.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 30 g đến 40 g. Dạng thuốc sắc, ngâm rượu.

NHÂN SÂM (Thân rễ và Rễ)

Rhizoma et Radix Ginseng

Thân rễ và Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Nhân sâm (*Panax ginseng* C.A.Mey), họ Nhân sâm (Araliaceae). Sâm trồng gọi là viên sâm, sâm mọc hoang gọi là sơn sâm.

Mô tả
Viên sâm: Sâm trồng, phơi hoặc sấy khô; rễ cái có hình thoi hoặc hình trụ tròn, dài khoảng 3 cm đến 15 cm, đường kính 1 cm đến 2 cm, mặt ngoài màu vàng hơi xám, phần trên hoặc toàn bộ rễ có nếp nhăn dọc rõ, có khía vân ngang, thô, không liên tục, rải rác và nông, phần dưới có 2 đến 3 rễ nhánh và nhiều rễ con nhỏ, dài, thường có mấu dạng củ nhỏ không rõ. Thân rễ (Lô đầu) sát ở đầu rễ, dài 1 cm đến 4 cm, đường kính 0,3 cm đến 1,5 cm, thường cong và co lại, có rễ phụ (gọi là Đinh) và có vết sẹo thân, tròn, lõm, thưa (gọi là Lô uyển). Chất tương đối cứng, mặt bẻ màu trắng hơi vàng, có tinh bột rõ; tầng phát sinh vòng tròn, màu vàng hơi nâu; vỏ có ống tiết nhựa, dạng điểm, màu vàng nâu và những kẽ nứt dạng xuyên tâm. Mùi thơm đặc trưng, vị hơi đắng và ngọt.
Hồng sâm: Hấp, sấy và phơi khô rễ viên sâm thu được Hồng sâm.
Sơn sâm: Nhân sâm mọc hoang, phơi hay sấy khô. Dược liệu là rễ cái, dài bằng hoặc ngắn hơn thân rễ; có hình chữ V, hình thoi hoặc hình trụ, dài 2 cm đến 10 cm; mặt ngoài màu vàng hơi xám, có vân nhăn dọc, đầu trên có các vòng vân ngang, trũng sâu, dày đặc; thường có 2 rễ nhánh; các rễ con trông rõ ràng, mảnh dẻ, nhỏ sắp xếp có thứ tự; có mấu nổi lên rõ gọi là "mấu hạt trân châu". Thân rễ mảnh dẻ, nhỏ, dài; bộ phận trên có các vết sẹo thân, dày đặc, các rễ phụ tương đối dày đặc, trông tựa như hình hạt táo.

Vi phẫu
Mặt cắt ngang: Tầng bần có một số hàng tế bào. Vỏ hẹp; phía ngoài libe có khe nứt, phía trong libe có tế bào mô mềm, sắp xếp tương đối dày hoặc rải rác, với những ống nhựa chứa chất tiết màu vàng. Tầng phát sinh hình vòng tròn; tia gỗ rộng, các mạch rải rác, đơn hoặc tụ họp lại, xếp thành dãy xuyên tâm, gián đoạn, đôi khi có kèm theo các sợi không hóa gỗ; tế bào mô mềm có chứa những cụm tinh thể calci oxalat.

Bột
Bột viên sâm: Màu trắng hơi vàng, mảnh vụn ống nhựa dễ nhìn thấy, chứa chất tiết dạng khối, màu vàng. Cụm tinh thể calci oxalat có góc nhọn đường kính từ 20 µm đến 68 µm. Tế bào bần gần hình vuông, hoặc hình nhiều cạnh, thành mỏng, hơi nhăn. Các mạch hình vân lưới và hình thang, đường kính 10 µm đến 56 µm. Khá nhiều hạt tinh bột, hạt đơn gần hình cầu, hình bán nguyệt hoặc hình nhiều cạnh, không đều; đường kính 4 µm đến 20 µm, rốn dạng điểm hoặc dạng khe; hạt kép do 2 hạt đến 6 hạt đơn hợp thành.
Vi phẫu và bột của Hồng sâm: Giống như đã mô tả ở trên, trừ đặc điểm hạt tinh bột.

Định tính
A. Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 5 ml *ethanol 96 % (TT)*, lắc 5 min; lọc. Lấy một ít dịch lọc, bốc hơi đến cắn khô; nhỏ giọt vào cắn *dung dịch cloroform bão hòa stibi tricloric (TT)*, rồi bốc hơi đến khô, sẽ có màu tím.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cloroform - ethyl acetat - methanol - nước (15 : 40 : 22 : 10), lắc kỹ, để tách lớp và lấy lớp dưới.
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 40 ml *cloroform (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 1 h, loại bỏ dịch cloroform, làm khô bã dược liệu. Làm ẩm bã dược liệu bằng 0,5 ml *nước*, sau đó thêm 10 ml *n-butanol bão hòa nước (TT)*, lắc siêu âm 30 min; gạn lấy dịch chiết butanol, thêm 3 thể tích *amoniac đậm đặc (TT)*, lắc đều rồi để yên cho tách lớp. Gạn lấy lớp trên, bốc hơi đến khô, hòa tan cắn trong 1 ml *methanol (TT)* được dung dịch thử.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Lấy 1 g bột Nhân sâm (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan các chuẩn ginsenosid Rb_1, Re, Rf và Rg_1 trong *methanol (TT)* để được dung dịch chuẩn hỗn hợp có nồng độ mỗi chất khoảng 2 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl đến 2 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*. Sấy bản mỏng ở 105 °C trong vài phút, quan sát dưới ánh sáng thường và dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết hoặc các vết phát quang cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết hoặc các vết phát quang trên sắc ký đồ của các dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.7).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril (TT) và *nước* theo chương trình dung môi.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 1 g bột dược liệu (qua rây số 250) vào túi giấy lọc rồi đặt vào bình chiết Soxhlet, thêm 40 ml *cloroform (TT)*, đun 3 h hồi lưu trên cách thủy, để nguội, loại bỏ lớp cloroform, để bay hơi hoàn toàn dung môi ra khỏi cặn. Chuyển cặn và túi giấy lọc đựng cặn sang bình nón 100 ml. Thêm chính xác 50 ml *n-butanol đã bão hòa nước (TT)*, đậy nút và để yên qua đêm, lắc siêu âm trong 30 min, lọc. Lấy chính xác 25 ml dịch lọc, bốc hơi đến khô, hòa tan cặn trong *methanol (TT)* rồi chuyển vào bình định mức 5 ml, thêm *methanol (TT)* vừa đủ và trộn đều.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác các chuẩn ginsenosid Rg_1, Re, Rf và Rb_1 và hòa tan trong *methanol (TT)* để được dung dịch chuẩn hỗn hợp có nồng độ mỗi chất chuẩn khoảng 0,2 mg/ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 203 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Acetonitril (% tt/tt)	Nước (% tt/tt)
0 - 35	19	81
35 - 55	19 → 29	81 → 71
55 - 70	29	71
70 - 100	29 → 40	71 → 60

Tiêm dung dịch chuẩn, tiến hành sắc ký và tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột tính trên pic ginsenosid Rg_1 phải không được dưới 6000.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch đối chiếu và dung dịch thử. Dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng của các chuẩn, tính hàm lượng của các ginsenosid Rg_1, Re, và Rb_1 trong dược liệu. Dược liệu phải chứa không dưới 0,3 % tổng hàm lượng của ginsenosid Rg_1 ($C_{42}H_{72}O_{14}$) và ginsenosid Re ($C_{48}H_{82}O_{18}$); và không dưới 0,2 % hàm lượng ginsenosid Rb_1 ($C_{54}H_{92}O_{23}$), tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thường thu hoạch Nhân sâm vào mùa thu (tháng 9 đến tháng 10), ở những cây trồng từ 4 năm trở lên, rửa sạch, phơi nắng nhẹ, hoặc sấy nhẹ đến khô. Cũng có khi chế bằng cách đồ rồi ép để được hồng sâm.

Bào chế

Viên sâm: Ủ mềm, thái phiến mỏng, phơi khô.

Sơn sâm: Khi dùng tán thành bột hoặc giã nát, hay phân ra thành miếng nhỏ.

Bảo quản

Đựng trong hộp kín, để nơi khô, mát, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, khổ, bình. Vào kinh tỳ, phế, tâm.

Công năng, chủ trị

Đại bổ nguyên khí, ích huyết, kiện tỳ ích phế, sinh tân, an thần ích trí. Chủ trị: Khí hư muốn thoát, chân tay lạnh, mạch vi, tỳ hư, kém ăn, phế hư ho suyễn; tân dịch thương tổn, miệng khát nước, nội nhiệt tiêu khát, đái tháo, bệnh lâu ngày gầy yếu, tâm hồi hộp, suy tim kiệt sức, hay choáng ngất.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 4 g đến 10 g. Dạng thuốc hãm hoặc lấy dịch chiết bằng cách: Thái lát mỏng cho vào chén sứ, thêm ít nước, đậy nắp, đun cách thủy đến khi chiết hết mùi vị.

Kiêng kỵ

Không được dùng phối hợp với Lê lô, Ngũ linh chi.

NHÂN TRẦN

Herba Adenosmatis caerulei

Thân, cành mang lá và hoa đã phơi hay sấy khô của cây Nhân trần (*Adenosma caeruleum* R.Br.), họ Hoa mõm chó (Scrophulariaceae).

Mô tả

Thân hình trụ, rỗng ruột, màu nâu đen, có lông nhỏ, mịn. Lá mọc đối, nhăn nheo, hình trái xoan, dài 3,5 cm đến 4,5 cm, rộng 2 cm đến 3 cm. Mặt trên lá màu nâu sẫm, mặt dưới màu nâu nhạt, hai mặt đều có lông. Mép lá khía răng cưa tù. Gân lá hình lông chim. Cuống lá dài 0,3 cm đến 0,5 cm. Cụm hoa chùm hoặc bông ở kẽ lá. Cánh hoa thường rụng, còn sót lá bắc và đài xẻ 5 thuỳ. Quả nang, nhiều hạt nhỏ (ít gặp). Dược liệu có màu tím nâu, mùi thơm nhẹ, vị cay mát, hơi đắng, hơi ngọt.

Vi phẫu

Lá: Gân lá phía trên hơi lõm, phía dưới lồi. Biểu bì trên và dưới gồm một lớp tế bào hình chữ nhật không đều mang lông che chở đa bào và lông tiết chân đơn bào, đầu đa bào. Mô dậy góc nằm sát biểu bì trên của phần gân giữa. Mô mềm gồm những tế bào hình nhiều cạnh, thành mỏng to nhỏ không đều. Bó libe-gỗ hình cung nằm giữa gân lá, gồm cung libe bao bọc quanh gỗ, tế bào libe nhỏ dài, không đều thành mỏng xếp khít nhau. Dưới bó libe-gỗ có mô cứng (từng đám 3 đến 6 tế bào hay từng tế bào riêng lẻ). Mô giậu gồm một lớp tế bào hình chữ nhật xếp dọc dưới lớp biểu bì trên.

Thân: Mặt cắt thân tròn, đôi khi vuông. Thân rỗng. Biểu bì gồm một lớp tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn, mang lông che chở đa bào. Mô mềm vỏ gồm những tế bào thành mỏng hình trứng xếp lộn xộn. Vòng libe mỏng gồm các tế bào thành mỏng xếp thành vòng liên tục. Trong libe rải rác có đám sợi 2 đến 3 tế bào. Mạch gỗ hình nhiều cạnh thành dãy xếp thành dãy xuyên tâm. Mô mềm ruột gồm tế bào hình gần tròn, thành mỏng.

Bột

Bột dược liệu màu nâu sẫm, mùi thơm nhẹ, vị cay mát, hơi đắng, hơi ngọt. Quan sát đặc điểm vi học dưới kính hiển vi

cho thấy: Mảnh biểu bì lá gồm tế bào thành mỏng ngoằn nghèo, mang lông che chở, lông tiết và lỗ khí. Lông che chở đa bào còn nguyên, hoặc lông bị cắt ngắn còn 1 đến 2 tế bào, đầu lông nhọn gốc phình to, tế bào giữa đôi khi thắt lại. Lông tiết cũng gồm hai loại, loại đơn bào hình trái xoan hay hình phễu, chân đa bào một dãy và loại đầu đa bào hình cầu thường là 8 tế bào, chân ngắn đơn bào. Mảnh biểu bì thân gồm tế bào hình chữ nhật thành mỏng, có vân, mang lông che chở đa bào hoặc lông tiết. Tế bào mô cứng hình chữ nhật, thành dày, khoang rộng, có ống trao đổi rõ. Tế bào sợi dài, thành hơi dày, khoang rộng, ống trao đổi rõ, đứng riêng lẻ hay tập trung thành từng bó. Mảnh mạch xoắn, mảnh mạch điểm. Mảnh mô mềm gồm các tế bào thành mỏng, hình nhiều cạnh xếp khít nhau. Mảnh đài hoa gồm các tế bào thành mỏng ngoằn ngoèo, cũng mang hai loại lông tiết.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel F_{254}.

Dung môi khai triển: Toluen - ethyl aceat - aceton - acid formic (5 : 2 : 2 : 1).

Dung dịch thử: Lấy khoảng 3 g dược liệu, cho vào bình Shoxlet, chiết loại tạp bằng *ether dầu hỏa (40 °C đến 60 °C) (TT)* cho đến khi dịch chiết chỉ còn màu vàng nhạt (khoảng 12 h). Lấy bã dược liệu để bay hơi hết ether dầu hỏa, chiết tiếp như trên bằng 100 ml *methanol (TT)* khoảng 8 h, gạn lấy dịch chiết methanol, cô trên cách thủy đến còn khoảng 5 ml được dung dịch chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan apigenin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 2 µg/ml. Nếu không có apigenin chuẩn, lấy 3 g bột Nhân trần (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, phun hỗn hợp *dung dịch acid boric 10 % - dung dịch acid oxalic 10 %* (2 : 1), sấy bản mỏng ở 105 °C trong 5 min. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu và giá trị R_f với vết của apigenin hoặc có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4). Định tính cineol trong tinh dầu.

Bản mỏng: Silica gel $60F_{254}$.

Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa - toluen - ethyl acetat (100 : 15 : 5).

Dung dịch thử: Pha loãng lượng tinh dầu cất được trong phần Định lượng với 10 ml *cloroform (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan cineol chuẩn trong *cloroform (TT)* để được dung dịch có nồng độ 2 µg/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*, sấy bản mỏng ở 105 °C trong 5 min. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có 4 vết chính có màu từ hồng đến hồng tím, trong đó có một vết cùng màu và giá trị R_f với vết của cineol trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 5 % (Phụ lục 12.12).

Tro toàn phần

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Định lượng

A. Định lượng tinh dầu.

Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Dùng 40 g dược liệu đã cắt nhỏ. Cất kéo hơi nước với 200 ml *nước* trong 3 h. Hàm lượng tinh dầu không ít hơn 0,35 % tính theo dược liệu khô kiệt.

B. Định lượng flavonoid toàn phần.

Cân chính xác khoảng 50 g bột dược liệu (qua rây số 355) đã xác định độ ẩm, thêm 350 ml *ethanol 70 % (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 1 h, gạn, lọc lấy dịch chiết. Chiết tương tự như trên thêm 2 lần nữa, gộp các dịch chiết, cất thu hồi dung môi đến khi còn khoảng 50 % thể tích thì đem cô cách thủy cho đến khi hết ethanol, thêm nước cất cho vừa đủ 30 ml, trộn đều, lắc với *cloroform (TT)* 5 lần, mỗi lần 30 ml, gạn bỏ dịch cloroform, tiếp tục lắc với *ethyl acetat (TT)* 5 lần, mỗi lần 30 ml. Gộp các dịch chiết ethyl acetat, cô trên cách thủy đến khô, sấy cắn ở 60 °C đến khối lượng không đổi, cân, rồi tính hàm lượng chất chiết được trong ethyl acetat (flavonoid toàn phần) trong dược liệu. Hàm lượng flavonoid toàn phần trong dược liệu không được ít hơn 0,17 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hái khi cây đang ra hoa, phơi trong bóng râm hay sấy ở 40 °C đến 50 °C đến khô. Tránh sấy quá nóng làm bay mất tinh dầu.

Bảo quản

Để nơi khô, thoáng mát.

Tính vị, quy kinh

Khổ, tân, vi hàn. Vào các kinh can đởm.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt lợi thấp, thoái hoàng. Chủ trị: Chủ trị: Viêm gan vàng da, viêm túi mật, tiểu vàng, tiểu đục ít, phụ nữ sau sinh ăn chậm tiêu.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng 10 g đến 15 g, dạng thuốc sắc.

Dùng ngoài: Lượng thích hợp, sắc lấy nước rửa hoặc giã nhỏ đắp nơi đau.

NHÂN TRẦN TÍA

Herba Adenosmatis bracteosi

Thân, cành mang lá và hoa đã phơi hay sấy khô của cây Nhân trần tía (còn gọi là Nhân trần Tây Ninh) (*Adenosma bracteosum* Bonati), họ Hoa mõm chó (Scrophulariaceae).

Mô tả

Thân mảnh có 4 cánh ở 4 góc, nhẵn, màu tía. Lá thuôn dài 2 cm đến 4 cm, rộng 0,6 cm đến 0,9 cm mép lá có răng cưa, đầu lá nhọn. Lá mỏng thường cuộn lại và dễ rụng. Cụm hoa là chùm, đặc, dài 1,5 cm đến 5 cm. Cánh hoa màu tím nhạt, thường rụng, chỉ còn lại lá bắc và đài. Quả nang dài 2 mm, hạt nhỏ li ti màu đen hay màu nâu tía.
Dược liệu có mùi thơm nồng, vị cay mát và hơi đắng.

Định tính

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G.*
Dung môi khai triển: *Ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) - toluen - ethyl acetat* (100 : 15 : 5).
Dung dịch thử: Đun sôi 5 g dược liệu đã được cắt nhỏ với 50 ml *nước*, cất kéo hơi nước trong bộ cất tinh dầu khoảng 2 h, hứng lấy 10 ml dịch chiết. Để nguội, lắc với 2 ml *toluen (TT)*, gạn lấy phần dịch chiết toluen làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 5 g Nhân trần tía (mẫu chuẩn) tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên, sau khi triển khai sắc ký lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, phun *dung dịch vanilin trong ethanol 96 % (TT)* (chỉ pha trước khi dùng), sấy bản mỏng ở 105 °C trong 5 min. Quan sát dưới ánh sáng thường. Sắc ký đồ dung dịch thử phải có các vết màu từ xanh đến xanh tím, có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).
Dùng 10 g dược liệu đã cắt nhỏ để thử.

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 5 % (Phụ lục 12.12).

Định lượng tinh dầu

Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Dùng 40 g dược liệu đã cắt nhỏ, thêm 200 ml *nước*, cất trong 3 h. Hàm lượng tinh dầu không ít hơn 0,25 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hái khi cây đang ra hoa, phơi hoặc sấy ở 40 °C đến 50 °C đến khô.

Bảo quản

Để nơi khô ráo, thoáng mát.

Tính vị, quy kinh; Công năng, chủ trị; Liều lượng, cách dùng

Xem chuyên luận Nhân trần.

NHŨ HƯƠNG (Gôm nhựa)

Gummi resina Olibanum

Chất gôm nhựa lấy từ các cây Nhũ hương (*Boswellia carterii* Birdw.), họ Trám (Burseraceae).

Mô tả

Nhựa cây khô có dạng hạt hình cầu nhỏ, dạng giọt nước hoặc khối nhỏ không đều dài 0,5 mm đến 3 mm, có khi dính thành cục, màu vàng nhạt và thường có pha màu lục nhạt, màu lam hoặc màu đỏ nâu, trong mờ, mặt ngoài có một tầng bụi phấn màu trắng, sau khi bỏ lớp bụi phấn mặt ngoài vẫn không sáng bóng. Chất cứng giòn, mặt gãy dạng sáp không sáng bóng, cũng có một số nhỏ mặt gãy sáng bóng dạng pha lê. Mùi thơm nhẹ, vị hơi đắng. Nhai dược liệu lúc đầu vỡ vụn, sau đó nhanh chóng mềm thành khối keo, nước bọt thành dạng sữa và có cảm giác cay thơm nhẹ.

Định tính

Khi gặp nhiệt dược liệu mềm ra, đốt có mùi thơm nhẹ (nhưng không được có mùi tùng hương), bốc khói đen và để lại tro màu đen. Hòa trong nước, nhũ hương cho một dịch lỏng đục như sữa, nhũ hương tan trong một phần ethanol, ether, cloroform.
Phân biệt Nhũ hương thật với chất giả mạo, lẫn tinh dầu thông, côlôphan: Hòa nhũ hương vào *acid acetic (TT)*, thêm vài giọt *acid sulfuric (TT)*, không được có màu đỏ.

Tro toàn phần

Không quá 3,0 % (Phụ lục 9.8).

Chế biến

Vào mùa xuân hoặc mùa hạ có thể thu gom Nhũ hương, tốt nhất là mùa xuân. Thu hoạch Nhũ hương bằng cách: rạch các vết dọc theo cây từ dưới lên, rạch sâu thì lấy được nhựa nhiều, hứng lấy nhựa, lúc nhựa khô lấy về. Nếu nhựa khô rơi xuống đất thường dính tạp chất, phẩm chất kém.

Bào chế

Lấy Nhũ hương sạch, tán bột với Đăng tâm thảo. Dùng 1 g Đăng tâm thảo cho 40 g Nhũ hương.
Lấy Nhũ hương sạch, sao nhỏ lửa cho mặt ngoài chảy ra có màu hơi vàng lấy ra để nguội.
Thổ Nhũ hương (chế dấm): Lấy Nhũ hương sạch cho vào chảo sao nhỏ lửa cho mặt ngoài chảy ra, phun dấm và tiếp tục sao đến khi mặt ngoài sáng trong, lấy ra để nguội. Dùng 0,6 L dấm cho 10 kg Nhũ hương.

Bảo quản

Trong bao bì kín để nơi khô ráo, tránh mất mùi thơm.

Tính vị, quy kinh
Tân, khổ, ôn mùi thơm. Vào kinh tâm, can, tỳ.

Công năng, chủ trị
Hoạt huyết, khứ ứ, chỉ thống, tiêu sưng, sinh cơ. Chủ trị: Khí huyết ngưng trệ gây kinh bế, hành kinh đau bụng, huyết ứ sau sinh đau bụng, ung nhọt, ẩn chẩn (mày đay) do phong hàn.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 6 g, thường phối hợp với các vị thuốc khác. Dùng ngoài với lượng bột mịn thích hợp đắp vào vết thương.

Kiêng kỵ
Không dùng cho phụ nữ có thai, mụn nhọt đã vỡ, người không có ứ trệ.

NHỤC ĐẬU KHẤU (Hạt)
Semen Myristicae

Hạt đã phơi khô của cây Nhục đậu khấu (*Myristica fragrans* Houtt.), họ Nhục đậu khấu (Myristicaceae).

Mô tả
Hạt hình trứng hoặc hình bầu dục, dài 2 cm đến 3 cm, đường kính 1,5 cm đến 2,5 cm. Mặt ngoài màu nâu tro hoặc vàng xám, có khi phủ phấn trắng, có rãnh dọc, mờ nhạt và nếp nhăn hình mạng lưới không đều. Có rốn ở đầu tù (rốn ở vị trí rễ mầm) là một điểm lồi tròn, màu nhạt. Hợp điểm lõm và tối, noãn nhăn dọc nối hai đầu hạt. Ngoài cùng là lớp vỏ hạt rồi đến lớp ngoại nhũ sát lớp vỏ hạt. Cây mầm nằm trong một khoang rộng. Chất cứng, mặt gãy có vân hoa đá màu vàng nâu, đầu tù. Có thể thấy phôi nhăn, khô, nhiều dầu, mùi thơm nồng, vị cay.

Vi phẫu
Ngoài cùng là lớp vỏ hạt, tế bào có thành hơi dày. Lớp ngoại nhũ sát lớp vỏ hạt, tế bào nhỏ có chứa chất màu nâu và xếp kéo dài theo hướng tiếp tuyến. Rải rác có những bó mạch, những tinh thể calci oxalat hình nhiều cạnh trong phần vỏ. Phần ngoại nhũ ăn sâu vào nội nhũ, phần nội nhũ gồm các tế bào to nhỏ không đều, chứa hạt tinh bột, giọt dầu và giọt aleuron. Hạt tinh bột đơn có đường kính 10 µm đến 20 µm, có rốn rõ, thường tụ lại thành đám 2 hạt đến 6 hạt, đường kính 25 µm đến 30 µm.

Bột
Màu nâu đỏ đến nâu xám, mùi thơm hắc, vị cay dắng. Có nhiều mảnh nội nhũ có chứa hạt tinh bột, giọt dầu và hạt aleuron. Mảnh vỏ hạt đôi khi có chứa tinh thể calci oxalat hình nhiều cạnh, Rải rác có tinh thể calci oxalat tách rời. Giọt dầu. Mảnh tế bào ngoại nhũ chứa chất màu nâu. Mảnh mạch ít gặp. Tinh bột đa số là hạt đơn, đường kính 25 µm đến 30 µm, điểm rốn rõ.

Định tính
A. Cắt vi phẫu rồi nhuộm bằng *dung dịch iod (TT)*, nhỏ *glycerin (TT)* lên vi phẫu, quan sát ngay dưới kính hiển vi, thấy hạt aleuron tương đối lớn giữa các hạt tinh bột màu xanh lam. Nếu thay *glycerin (TT)* bằng *cloral hydrat (TT)*, quan sát thấy dầu béo hiện ra dưới dạng khối phiến, dạng lát vầy, hơ nóng lập tức biến thành giọt dầu.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Cyclohexan - ethyl acetat* (8 : 2).
Dung dịch thử: Hòa tan tinh dầu của dược liệu thu được ở phần định lượng trong *cloroform (TT)* để được dung dịch chứa 0,2 ml tinh dầu trong 1 ml.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tinh dầu của Nhục đậu khấu (mẫu chuẩn) trong *cloroform (TT)* để được dung dịch chứa 0,2 ml tinh dầu trong 1 ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin - acid sulfuric (TT)*. Sấy ở 105 °C cho đến khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng thường. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).

Tỷ lệ vụn nát
Qua rây có kích thước mắt rây 3,150 mm: Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.12).

Định lượng
Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Dùng 20 g bột dược liệu. Dược liệu phải chứa ít nhất 6,0 % tinh dầu tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hái vào mùa hè và mùa thu, hái quả nở, bóc bỏ vỏ, tách riêng phần thịt quả và hạt. Hạt phơi và sấy khô, đập lấy nhân hạt.

Bào chế
Nhục đậu khấu sống: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô.
Nhục đậu khấu lùi (ổi Nhục đậu khấu): Lấy bột mỳ hòa vào lượng nước thích hợp, cho Nhục đậu khấu vào khuấy đều để tạo lớp áo hoặc tẩm ẩm Nhục đậu khấu cho vào nồi bao, vừa quay nồi bao vừa cho bột mỳ vừa phun nước và đun nóng nhẹ để tạo 3 lớp đến 4 lớp bao bột mỳ. Cho Nhục đậu khấu đã được bao ở trên vào cháo cát hoặc Hoạt thạch nóng, sao cho đến khi lớp bột mỳ có màu xém, sàng bỏ cát hoặc Hoạt thạch, bỏ vỏ bột mỳ và để nguội. Dùng 50 kg Hoạt thạch cho 100 kg Nhục đậu khấu.

Bảo quản
Nơi khô, mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Tân, ôn. Quy vào kinh tỳ, vị, đại tràng.

Công năng, chủ trị
Ôn trung, hành khí, sáp trường, chỉ tả. Chủ trị: Cưu lỵ (ỉa chảy lâu ngày) do tỳ vị hư hàn, đau trướng bụng và đau thượng vị, biếng ăn, nôn mửa.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 6 g, thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Nhiệt tả, nhiệt lỵ không dùng.

NHỤC THUNG DUNG (Thân)
Herba Cistanches

Thân thảo, nạc, có chất thịt, có vảy, đã phơi khô của cây Nhục thung dung (*Cistanche deserticola* Y.C.Ma, hoặc *Cistanche tubulosa* (Schrenk) Wight), họ Lệ dương (Orobanchaceae).

Mô tả
Cistanche deserticola: Dược liệu hình trụ dẹt, hơi cong, dài 3 cm đến 15 cm, đường kính 2 cm đến 8 cm. Mặt ngoài màu nâu sẫm hoặc nâu xám, phủ đầy những phiến vảy, sắp xếp như ngói lợp, đỉnh vảy nhọn thường bị gãy. Chất thịt và hơi dẻo, thể nặng, khó bẻ gãy, mặt gãy màu nâu sẫm có những đốm nâu nhạt của những bó mạch xếp theo vòng lượn sóng. Mùi nhẹ, vị ngọt hơi đắng.
Cistanche tubulosa: Gần như hình thoi, hình thoi dẹt và hình trụ dẹt, hơi cong, dài 5 cm đến 25 cm, đường kính 2,5 cm đến 9 cm. Mặt ngoài màu nâu sẫm. Mặt gãy trông giống như hạt, màu nâu xám có những đốm với những bó mạch xếp rải rác.
Dược liệu thái lát: Những lát dày, không đều. Mặt ngoài màu nâu đến nâu xám, đôi khi mang các vảy thịt. Bề mặt phiến có các nốt bó mạch màu hơi nâu hoặc vàng nâu, xếp thành vòng ngoằn ngoèo. Mùi nhẹ, vị ngọt hơi đắng.

Định tính
A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 8 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,5 % trong ethanol (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 10 min, lọc nóng. Trung hòa dịch lọc bằng *dung dịch amoniac 10 % (TT)* và bốc hơi dịch lọc đến khô. Hòa tan cắn trong 3 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 % (TT)*, lọc. Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 giọt đến 2 giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)*, sẽ có kết tủa đỏ cam hay nâu đỏ.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Bản mỏng có pha tĩnh polyamid.
Dung môi khai triển: Methanol - acid acetic - nước (2 : 1 : 7).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 20 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm 15 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến vừa cạn. Hòa cắn trong 2 ml *methanol (TT)* làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan riêng biệt echinacosid chuẩn và verbascosid chuẩn trong *methanol (TT)* để được 2 dung dịch, mỗi dung dịch có nồng độ khoảng 1 mg/ml. Hoặc lấy 1 g bột Nhục thung dung (mẫu chuẩn) chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên lớp phim mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng rồi soi dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với vết của echinacosid và verbascosid, hoặc có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của các dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 8,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 1,5 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 35,0 % (đối với *Cistanche deserticola*); không ít hơn 25,0 % (đối với *Cistanche tubulosa*) tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 50 % (TT)* làm dung môi.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Methanol (TT).
Pha động B: Dung dịch acid formic 0,1 %.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan echinacosid chuẩn và verbascosid chuẩn trong *methanol 50 % (TT)* để được dung dịch chuẩn hỗn hợp có nồng độ mỗi chuẩn chính xác khoảng 0,2 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 1 g bột dược liệu (qua rây số 250) vào một bình định mức màu nâu 100 ml, thêm chính xác 50 ml *methanol 50 % (TT)*, đậy bình, lắc đều, cân và để ngâm 30 min. Lắc siêu âm trong 30 min, để nguội, cân lại. Bổ sung khối lượng mất đi bằng *methanol 50 % (TT)*, lắc đều, để yên, lọc dung dịch phía trên được dung dịch thử.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 330 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 17	26,5	73,5
17 - 20	26,5 → 29,5	73,5 → 70,5
20 - 27	29,5	70,5

Tiến hành sắc ký dung dịch chuẩn và tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột tính trên pic echinacosid phải không dưới 3000.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng echinacosid và verbascosid trong dược liệu dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{35}H_{46}O_{20}$ của echinacosid chuẩn và hàm lượng $C_{29}H_{36}O_{15}$ của verbascosid chuẩn.
Dược liệu phải chứa không dưới 0,3 % (đối với *Cistanche deserticola*) và không dưới 1,5 % (đối với *Cistanche tubulosa*) tổng hàm lượng echinacosid ($C_{35}H_{46}O_{20}$) và verbascosid ($C_{29}H_{36}O_{15}$), tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa xuân, lấy dược liệu về, loại bỏ hoa và tạp chất, rửa sạch, cắt khúc, phơi khô.
Dược liệu thái lát: Lấy Nhục thung dung đã cắt khúc phơi khô, rửa sạch, ủ mềm, thái lát dày, phơi khô.
Tửu thung dung (Chế rượu): Lấy Nhục thung dung thái lát, thêm rượu, trộn đều, cho vào trong bình thích hợp, đậy kín, nấu cách thủy hoặc đồ cho ngấm hết rượu, lấy ra, phơi khô. Cứ 10 kg Nhục thung dung dùng 3 L rượu.

Bảo quản
Để nơi khô, mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Cam, hàn, ôn. Vào các kinh thận, đại trường.

Công năng, chủ trị
Bổ thận dương, ích tinh huyết, nhuận tràng thông tiện. Chủ trị: Liệt dương, di tinh, khó thụ thai, thắt lưng đầu gối đau mỏi, gân xương vô lực, táo bón ở người già, huyết hư tân dịch không đủ.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 9 g, dạng thuốc sắc. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Thận hỏa vượng, táo bón do thực nhiệt, ỉa lỏng do dương hư không nên dùng.

NÚC NÁC (Vỏ thân)
Cortex Oroxyli

Vỏ thân đã phơi hay sấy khô của cây Núc nác [*Oroxylon indicum* (L.) Vent.], họ Núc nác (Bignoniaceae).

Mô tả
Vỏ cuộn lại thành hình ống hay hình cung, dày 0,6 cm đến 1,3 cm, dài ngắn không nhất định. Mặt ngoài màu vàng nâu nhạt, nhăn nheo, có nhiều đường vân dọc, ngang. Mặt trong nhẵn, màu vàng xám hay vàng lục. Mặt bẻ ngang có lớp bần mỏng. Mô mềm vỏ lốn nhốn như có nhiều sạn, trong cùng có lớp sợi dễ tách theo chiều dọc.

Vi phẫu
Lớp bần rất dày, gồm 30 lớp đến 40 lớp tế bào hình chữ nhật xếp tương đối đều đặn theo hướng tiếp tuyến, có nhiều chỗ lớp bần nứt rách rất sâu. Mô mềm vỏ gồm các tế bào thành mỏng, hơi kéo dài theo hướng tiếp tuyến, rải rác có nhiều đám mô cứng. Libe cấp 2 rất dày, libe bị các tia tủy cắt ra thành từng nhánh. Tế bào libe thành mỏng xếp đều đặn và bị bẹp từng vòng theo hướng tiếp tuyến. Nhiều đám sợi, tế bào thành dày hóa gỗ, rõ rệt, kết tầng trong libe. Tia ruột rộng, từ 3 đến 5 dãy tế bào hình chữ nhật, xếp theo hướng xuyên tâm, chạy từ tầng sinh libe-gỗ đến mô mềm và tinh thể calci oxalat hình kim rải rác khắp mô mềm vỏ và libe. Tầng sinh libe-gỗ.

Bột
Màu vàng, vị đắng. Soi kính hiển vi thấy: Nhiều sợi dài, màu vàng nhạt, thành dày, thành sợi đôi khi có chỗ lồi đều, có ống trao đổi rõ. Tế bào mô cứng màu vàng, hình nhiều cạnh, thành hơi dày, khoang rộng, ống trao đổi rõ. Rất nhiều tinh thể calci oxalat hình kim, hai đầu thuôn nhọn hoặc vuông đường kính 2 µm đến 4 µm nằm rải rác hoặc tập trung thành bó. Mảnh bần gồm tế bào hình nhiều cạnh thành dày. Mảnh mô mềm hình đa giác, thường chứa tinh thể calci oxalat hình kim.

Định tính
Lấy 0,5 g bột thô dược liệu vào ống nghiệm, thêm 5 ml *ethanol (TT)*, lắc. Đun cách thủy 5 min đến 10 min, lọc. Lấy dịch lọc làm các phản ứng sau:
Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 3 giọt *acid hydrocloric (TT)*, thêm một ít bột *magnesi (TT)*, sẽ có màu vàng cam.
Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, dung dịch sẽ có màu xanh nâu hay xanh đen.
Lấy 1 ml dịch lọc, thêm từ từ theo thành ống 0,5 ml *acid sulfuric (TT)*, sẽ thấy chia làm 2 lớp, lớp phía dưới có màu nâu, để yên màu nâu càng rõ.

Độ ẩm
Không quá 14,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 4 h).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 10,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hái quanh năm, đẽo lấy phần vỏ phơi hoặc sấy khô.

Bào chế
Loại bỏ tạp chất, cạo bỏ lớp bần, rửa sạch, thái phiến dài 2 cm đến 5 cm, phơi khô, hoặc sao nhỏ lửa cho đến khi bề mặt dược liệu có màu vàng.

Bảo quản
Nơi khô ráo, thoáng mát.

Tính vị, quy kinh
Khổ, hàn. Quy vào các kinh, bàng quang, tỳ.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt, lợi thấp. Chủ trị: Hoàng đản, mẩn ngứa dị ứng, viêm họng, đái buốt, đái đục, đái đỏ do bàng quang thấp nhiệt.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 2 g đến 3 g, dạng thuốc bột hoặc từ 8 g đến 16 g dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ
Người hư hàn gây đau bụng, đầy bụng tiêu chảy không dùng.

Ô ĐẦU (Rễ củ)
Radix Aconiti

Ô đầu là rễ củ chính đã phơi hay sấy khô của cây Ô đầu (*Aconitum fortunei* Hemsl., hoặc *Aconitum carmichaeli* Debx.), họ Hoàng liên (Ranunculaceae).

Mô tả
Rễ củ hình củ ấu hay hình con quay, dài 3 cm đến 5 cm, đường kính 1 cm đến 2,5 cm, phía trên củ có vết tích của gốc thân. Mặt ngoài màu nâu hay nâu đen, có nhiều nếp nhăn dọc và vết tích của rễ con đã cắt. Chất cứng chắc, rắn và dai, khó bẻ, vết cắt màu nâu xám nhạt. Vị nhạt, sau hơi chát và hơi tê lưỡi.

Vi phẫu
Cắt ngang phần chóp củ thấy có: Lớp bần màu nâu. Mô mềm vỏ gồm 3 đến 4 hàng tế bào thành mỏng, hình nhiều cạnh, dẹt, nằm ngang. Nội bì gồm 1 hàng tế bào rõ. Trụ bì gồm 2 đến 3 hàng tế bào xếp đều đặn, sát với nội bì. Trong mô mềm rải rác có nhiều đám mạch rây và cả hạt tinh bột. Libe khá phát triển và bị các tia ruột chia cắt ra thành từng dãy xuyên tâm. Tầng sinh libe-gỗ gồm 1 đến 2 hàng tế bào nhỏ. Gỗ cấp 2 xếp thành những hình chữ V. Tia ruột rộng và mô mềm ruột phát triển.

Bột
Mảnh bần màu nâu, thành dày. Mảnh mô mềm gồm tế bào hình nhiều cạnh, thành mỏng, trong chứa các hạt tinh bột. Các hạt tinh bột nhỏ, hình đĩa, hình chuông hay hình đa giác, đường kính 2 µm đến 25 µm, đứng riêng lẻ hay kép đôi, kép ba. Mảnh mạch mạng, mạch vạch. Tế bào mô cứng thành dày. Rải rác có tinh thể calci oxalat hình kim hay hình khối. Sợi dài.

Định tính
A. Cho khoảng 2 g bột dược liệu vào một bình nón có dung tích 50 ml, có nút mài, thấm ẩm bằng *amoniac đậm đặc (TT)*. Sau 10 min thêm 20 ml *ether (TT)*, lắc đều, nút kín và để yên 30 min, thỉnh thoảng lắc. Gạn lấy lớp ether, làm khan bằng *natri sulfat khan (TT)*, lọc và bốc hơi dịch lọc trên cách thủy tới khô. Hòa tan cắn với 5 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)*, được dung dịch A.
Lấy 1 ml dung dịch A, thêm 2 giọt *thuốc thử Mayer (TT)* sẽ xuất hiện tủa trắng.
Lấy 1 ml dung dịch A, thêm 2 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)* sẽ xuất hiện tủa nâu.
Lấy 1 ml dung dịch A, thêm 2 giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)* sẽ xuất hiện tủa đỏ cam.
Lấy 2 ml dung dịch A, đun trong cách thủy sôi 5 min, thêm vài tinh thể *resorcin (TT)*, tiếp tục đun trong 20 min sẽ xuất hiện màu đỏ với huỳnh quang xanh.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Cloroform - methanol* (9 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thấm ẩm bằng *amoniac đậm đặc (TT)*, để yên 20 min, chiết bằng *cloroform (TT)* trong bình Soxhlet trong khoảng 30 min. Lấy dịch chiết, cất thu hồi dung môi. Cắn còn lại hòa tan trong 2 ml *ethanol (TT)*, được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan aconitin chuẩn trong *ethanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để bay hết hơi dung môi ở nhiệt độ phòng. Phun *thuốc thử Dragendorff (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu và cùng giá trị R_f với vết aconitin của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng
Cân chính xác khoảng 10 g bột dược liệu (qua rây số 355) đã xác định độ ẩm, cho vào bình nón có nút mài dung tích 250 ml. Thêm 50 ml hỗn hợp *ether - cloroform* (3 : 1) và 4 ml *amoniac đậm đặc (TT)*. Đậy nút, lắc kỹ, để qua đêm, gạn, lấy dịch lọc. Cho vào bã 50 ml hỗn hợp *ether - cloroform* (3 : 1), lắc kỹ, để 1 h, lọc, thu dịch lọc. Rửa bã 4 lần, mỗi lần với 15 ml hỗn hợp *ether - cloroform* (3 : 1), thu dịch rửa. Gộp dịch lọc và dịch rửa. Bốc hơi cách thủy ở nhiệt độ 50 °C đến 60 °C đến cắn. Hòa tan cắn bằng 5 ml *ethanol (TT)*. Thêm chính xác 15 ml *dung dịch acid sulfuric 0,02 N (CĐ)* và 15 ml *nước cất* mới đun sôi để nguội, 3 giọt *đỏ methyl (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)* đến khi xuất hiện màu vàng.
1 ml *dung dịch acid sulfuric 0,02 N (CĐ)* tương đương với 12,9 mg alcaloid toàn phần tính theo aconitin ($C_{34}H_{47}O_{11}N$).
Hàm lượng phần trăm alcaloid toàn phần (X %) của dược liệu khô kiệt tính theo công thức:

$$X\ \% = \frac{(15 - n) \times 12,9}{p}$$

Trong đó:
p là khối lượng dược liệu khô kiệt (g);
n là số ml *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)* đã dùng.
Dược liệu phải chứa ít nhất 0,6 % alcaloid toàn phần tính theo aconitin ($C_{34}H_{47}O_{11}N$).

Chế biến
Thu hoạch từ tháng 6 đến tháng 8, trước khi hoa nở, đào lấy rễ củ, bỏ rễ con, rễ tua, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản
Để nơi khô ráo, tránh sâu mọt.

Tính vị, quy kinh
Tân, khổ, nhiệt, rất độc. Vào 12 kinh, chủ yếu các kinh tâm can, thận tỳ.

Công năng, chủ trị
Khu phong, trừ thấp tý, ôn kinh chỉ thống. Chủ trị: Dùng trị đau khớp, tê mỏi cơ.

Cách dùng, liều lượng
Dùng ngoài xoa bóp dưới dạng thuốc ngâm rượu. Không được uống.

Kiêng kỵ
Phụ nữ có thai, trẻ em không được dùng.

Ô DƯỢC (Rễ)
Radix Linderae

Rễ phơi hay sấy khô của cây Ô dược [*Lindera aggregata* (Sims) Kosterm.], họ Long não (Lauraceae).

Mô tả
Hình thoi, hơi cong, có chỗ phình to ở giữa, hai đầu hơi lõm vào thành hình chuỗi hạt, dài 6 cm đến 15 cm, đường kính chỗ phình to 1 cm đến 3 cm, mặt ngoài màu vàng nâu, có vết nhăn dọc, nhỏ và còn lại một ít vết tích của rễ con. Chất cứng.
Ô dược phiến: Lát dày 2 mm đến 3 mm, mặt cắt ngang có màu trắng vàng hay vàng nâu nhạt, có tia gỗ tỏa ra, có thể nhìn thấy các vòng gỗ hàng năm, màu gỗ phần trung tâm thẫm hơn. Mùi thơm, vị hơi đắng, cay, cảm giác mát lạnh.

Bột
Màu trắng vàng, có nhiều hạt tinh bột, hạt đơn hình cầu hoặc hình trứng, đường kính 4 µm đến 39 µm, rốn hình chữ V, chữ Y hoặc dạng khe; hạt tinh bột kép do 2 hạt đến 4 hạt đơn ghép thành. Sợi gỗ màu vàng nhạt, phần lớn xếp thành bó, đường kính 20 µm đến 30 µm, thành dày khoảng 5 µm có nhiều lỗ. Sợi libe hầu như không có màu, hình thoi dài, phần nhiều rải rác và đơn lẻ, đường kính 15 µm đến 17 µm, thành rất dày, với các thành ống có lỗ không rõ rệt. Những mạch có lỗ ở bờ cạnh, đường kính khoảng 68 µm xếp thành hàng dày sít nhau. Thành tế bào của sợi gỗ hơi dày lên và có lỗ dày đặc. Tế bào dầu hình chữ nhật, chứa chất tiết màu nâu.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel H.
Dung môi khai triển: Toluen - ethyl acetat (15 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu thô, ngâm 30 min trong 30 ml *ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (TT)*, siêu âm 10 min (duy trì ở nhiệt độ dưới 30 °C trong bình cách thủy). Lọc. Bay hơi dịch lọc đến cắn. Hòa tan cắn trong 1 ml *ethyl acetat (TT)* được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan linderalacton chuẩn trong *ethyl acetat (TT)* để được dung dịch có chứa 0,75 mg/ml. Nếu không có linderalacton thì dùng 0,5 g Ô dược (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 4 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*. Sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho vết có cùng màu sắc và cùng giá trị R_f với các vết (hoặc với vết của linderalacton) trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Rễ già xơ cứng không quá 3,0 %.
Tạp chất khác: Không quá 0,5 %.

Tro toàn phần
Không quá 4,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu
Không dưới 12,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10).
Dùng *ethanol 70 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch rễ Ô dược quanh năm tốt nhất vào vụ thu đông hay đầu mùa xuân.
Rễ đào về, loại bỏ tạp chất, bỏ rễ con, rửa sạch, phân loại to nhỏ, ngâm nước khoảng 1 ngày rồi ủ mềm, thái lát dày 2 mm đến 3 mm, phơi hoặc sấy khô gọi là ô dược phiến.

Bào chế
Phiến *Ô dược sao vàng:* Ô dược phiến được sao cho đến khi có màu vàng.
Ô dược sao cám: Rang cám đến khi có mùi thơm thì cho Ô dược đã thái phiến vào sao cho đến khi phiến ô dược có màu vàng nhạt. Hoặc có thể tẩm mật ong vào Ô dược phiến

rồi đem sao với cám đến khi có màu vàng, mùi thơm, rây bỏ cám.
Ô dược chích rượu (Ô dược 10 kg, rượu 2 kg): Tẩm rượu vào Ô dược đã được thái phiến, để yên 30 min cho hút hết rượu rồi sao với cám đến khi bề mặt phiến thuốc có màu vàng, rây bỏ cám.
Ô dược chích muối (Ô dược 10 kg, muối ăn 160 g): Ô dược đã thái phiến, tẩm dung dịch nước muối 5 %, để 30 min cho hút hết nước muối rồi sao với cám đến khi bề mặt phiến thuốc có màu vàng nhạt, rây bỏ cám.

Bảo quản
Để nơi khô, mát, tránh mọt.

Tính vị, quy kinh
Tân, ôn. Vào các kinh phế, tỳ, thận, bàng quang.

Công năng, chủ trị
Hành khí, chỉ thống, kiện vị tiêu thực, ôn thận, tán hàn. Chủ trị: Bụng trướng đau, đầy bụng, khí nghịch phát suyễn, bụng dưới đau do bàng quang lạnh, di niệu, sán khí, hành kinh đau bụng.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán.

Kiêng kỵ
Khí hư, nội nhiệt không nên dùng.

Ổi (Lá)
Folium Psidii guajavae

Lá đã phơi hoặc sấy khô của cây Ổi (*Psidium guajava* L.), họ Sim (Myrtaceae).

Mô tả
Lá đơn, nguyên, phiến lá hình bầu dục dài 9 cm đến 11 cm, rộng 3 cm đến 6 cm, gốc tròn, đầu hơi nhọn, mặt trên màu lục sẫm, mặt dưới màu nhạt hơn và có gân nổi rõ.

Vi phẫu
Gân chính: Lồi ở mặt dưới, mặt trên hơi lõm. Biểu bì trên và biểu bì dưới cấu tạo bởi một lớp tế bào tròn nhỏ, xếp đều đặn, có lông che chở đơn bào. Rải rác có túi tiết nằm sát lớp biểu bì. Sau biểu bì là lớp mô dày góc. Mô mềm gồm những tế bào tròn to, thành mỏng, kích thước không đều. Trong mô mềm rải rác có các tinh thể calci oxalat hình cầu gai và hình khối. Sợi xếp thành vòng gần như liên tục bao quanh các bó libe-gỗ. Bó libe-gỗ hình cung nằm giữa gân lá có thể nối với 1 - 2 cung libe-gỗ nhỏ hơn ở mỗi bên, libe xếp thành vòng liên tục bao quanh gỗ, trong libe có nhiều tinh thể calci oxalat hình khối. Gỗ gồm các mạch gỗ xếp thành dãy.
Phiến lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới cấu tạo bởi một lớp tế bào hình chữ nhật nhỏ, xếp đều đặn, có nhiều lông che chở đơn bào. Dưới lớp biểu bì là hạ bì, cấu tạo bởi lớp tế bào thành mỏng có kích thước tương đối lớn. Mô giậu gồm 2 đến 3 hàng tế bào hình chữ nhật xếp vuông góc với mặt lá. Trong mô giậu và mô khuyết có tinh thể calci oxalat hình cầu gai nằm rải rác.

Bột
Bột màu nâu thẫm, mùi thơm nhẹ, vị hơi chát. Soi dưới kính hiển vi thấy: Lông che chở đơn bào, mảnh biểu bì mang lông che chở, mảnh biểu bì mang lỗ khí. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai, hình khối. Bó sợi, mảnh phiến lá mang túi tiết, mảnh mạch.

Định tính
A. Sử dụng dung dịch thử thu được từ Định tính B (dung dịch A) để làm các phản ứng sau đây:
Lấy 1 ml dung dịch A, thêm 2 giọt *acid hydrocloric (TT)* và một ít bột *magnesi (TT)*, lắc nhẹ, xuất hiện màu nâu đỏ.
Lấy 1 ml dung dịch A, thêm 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, dung dịch phải chuyển thành màu xanh đen.
Lấy 1 ml dung dịch A, thêm vài giọt *dung dịch gelatin 1 % (TT)*, xuất hiện tủa bông trắng.
Lấy 1 ml dung dịch A, thêm vài giọt *dung dịch chì acetat 10 % (TT)*, xuất hiện tủa bông.
Nhỏ 2 giọt dung dịch A lên giấy lọc, để khô rồi đặt lên miệng lọ *amoniac (TT)* vừa mở nắp, sẽ thấy màu vàng ở vết đậm lên.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Butyl acetat – acid formic – nước (7 : 2,5 : 2,5).
Dung dịch thử: Lấy khoảng 2 g bột dược liệu, thêm 50 ml *ethanol 90 % (TT)*, lắc đều, đun trên cách thủy sôi trong 10 min, lọc, cô dịch lọc tới khô, cho 20 ml *nước* nóng vào cắn, khuấy đều, gạn dịch chiết vào bình gạn, cắn được chiết lặp lại thêm 2 lần nữa, mỗi lần với 10 ml *nước* nóng, để nguội, lắc dịch chiết thu được với *ethyl acetat (TT)* 3 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp dịch chiết ethyl acetat, bốc hơi tới khô, hòa tan cắn bằng 6 ml *ethanol 90 % (TT)* được dung dịch chấm sắc ký (dung dịch A).
Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột Lá ổi (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Hiện màu bằng hơi *amoniac (TT)* hoặc phun lên bản mỏng *dung dịch sắt (III) clorid 5 % trong ethanol (TT)*. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không được quá 10,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không được ít hơn 15,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10) dùng *ethanol 90 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hái lá bánh tẻ, loại bỏ tạp chất, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản
Để nơi khô, thoáng mát, tránh mốc.

Tính vị, quy kinh
Vị đắng, chát, hơi chua, tính ấm. Vào kinh đại tràng, vị.

Công năng, chủ trị
Sáp trường chỉ tả, sát trùng. Chủ trị: Đau bụng tiêu chảy, lỵ. Dùng ngoài: Nấu nước rửa vết thương, mụn nhọt lở loét với lượng thích hợp.

Liều lượng, cách dùng
Ngày dùng 15 g đến 20 g, dạng thuốc sắc, hoặc hãm; thường phối hợp với các vị thuốc khác.

PHÒNG KỶ (Rễ)

Radix Stephaniae tetrandrae

Phòng kỷ bắc, Phấn phòng kỷ

Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Phấn phòng kỷ (*Stephania tetrandra* S. Moore), họ Tiết dê (Menispermaceae).

Mô tả
Rễ hình trụ không đều, hoặc hình nửa trụ, thường cong queo, dài 5 cm đến 10 cm, đường kính 1 cm đến 5 cm. Mặt ngoài màu vàng, nơi uốn cong thường có rãnh ngang, trũng sâu, có mấu và mắt gỗ. Thể chất nặng, rắn chắc, mặt bẻ gẫy phẳng, màu trắng xám, rải rác có tinh bột. Mùi nhẹ, vị đắng.

Vi phẫu
Lớp bần đôi khi còn sót lại. Trong phần vỏ rải rác có nhóm tế bào đá xếp theo hướng tiếp tuyến. Dải libe tương đối rộng. Tầng phát sinh libe-gỗ là 1 vòng. Gỗ chiếm đại bộ phận với các tia gỗ rộng; mạch thưa, xếp theo hướng xuyên tâm, bên cạnh các mạch có kèm theo các sợi gỗ. Tế bào mô mềm chứa đầy hạt tinh bột và tinh thể calci oxalat hình que nhỏ.

Định tính
A. Lấy khoảng 2 g bột dược liệu, thêm 20 ml *dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT)*, đun nóng trong 10 min, lọc. Điều chỉnh dịch lọc đến pH 9 bằng *amoniac (TT)*. Chiết dịch lọc với 25 ml *benzen (TT)*. Lấy 5 ml dịch chiết benzen, bốc hơi đến khô, cho thêm vài giọt *thuốc thử sulfomolybdic (TT)* vào cắn khô sẽ hiện ra màu tím, chuyển dần thành màu lục, màu lục bền rồi thẫm lại.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cloroform - aceton - methanol (6 : 1 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 15 ml *ethanol (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy trong 1 h, để nguội, lọc và bốc hơi dịch lọc tới khô. Hòa tan cắn trong 5 ml *ethanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g Phòng kỷ (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng rồi phun *thuốc thử Dragendorff (TT)*. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Loại xơ nhiều, nhẹ xốp, ít bột, xám đen: Không quá 2,0 %.
Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Tro toàn phần
Không quá 4,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu
Không dưới 5,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *methanol (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa thu, đào lấy rễ, rửa sạch, cạo bỏ vỏ ngoài, phơi tái, cắt khúc 5 cm đến 20 cm, rễ nhỏ để nguyên, rễ to bổ dọc, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế
Loại bỏ tạp chất, ngâm nước cho mềm, rửa sạch, thái lát dày, phơi khô.

Bảo quản
Để nơi khô, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Khổ, hàn. Vào các kinh bàng quang, thận tỳ.

Công năng, chủ trị
Lợi thủy tiêu thũng, khu phong chỉ thống. Chủ trị: Thủy thũng, thấp cước khí, tiểu tiện không thông lợi, thấp chẩn, nhọt độc, phong thấp tê đau.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 10 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các loại thuốc khác.

Kiêng kỵ
Suy nhược hàn tính không nên dùng.

PHÒNG PHONG (Rễ)

Radix Saposhnikoviae divaricatae

Rễ đã được phơi khô của cây Phòng phong [*Saposhnikovia divaricata* (Turcz.) Schischk.], họ Hoa tán (Apiaceae).

Mô tả
Rễ có hình nón hay hình trụ dài, dần thắt nhỏ lại về phía dưới, hơi ngoằn ngoèo, dài 15 cm đến 30 cm, đường kính

0,5 cm đến 2 cm. Mặt ngoài màu nâu xám, sần sùi với những vân ngang, lớp vỏ ngoài thường bong tróc ra, nhiều nốt bì không trắng và những u lồi do vết rễ con để lại. Phần đầu rễ mang nhiều vân lồi hình vòng cung, đôi khi là những túm gốc cuống lá dạng sợi có màu nâu, dài 2 cm đến 3 cm. Thể chất nhẹ, dễ gãy, vết gãy không đều, vỏ ngoài màu nâu và có vết nứt, lõi màu vàng nhạt. Mùi thơm, vị đặc trưng, hơi ngọt.

Dược liệu sau khi đã thái lát: Các lát hình tròn hoặc hình clip. Bên ngoài màu nâu xám có các nếp nhăn dọc, sần sùi, đôi khi có các u lồi ngang kéo dài giống các lỗ vỏ, các lát đầu rễ có mang các gốc cuống lá dạng sợi. Mặt cắt màu nâu nhạt và phần vỏ bị nứt, khe nứt màu vàng nhạt, phần gỗ có các tia xuyên tâm. Mùi thơm, vị hơi ngọt.

Vi phẫu

Lớp bần gồm 5 đến 40 lớp tế bào hình chữ nhật, dài 15 µm đến 50 µm, rộng 7 µm đến 12 µm, thành mỏng. Mô mềm lục bì hẹp gồm 5 đến 7 lớp tế bào chữ nhật dài, có nhiều ống tiết hình bầu dục. Vùng các bó libe có rất nhiều ống tiết có đường kính 35 µm đến 75 µm, ống tiết có hình tròn hay bầu dục, mỗi ống tiết có 4 đến 10 tế bào tiết bao quanh, ống tiết chứa chất tiết màu vàng; các tia libe thường uốn lượn và bị dồn ép ở phần ngoài. Tầng phát sinh libe-gỗ liên tục. Mạch gỗ nhiều, xếp thành tia. Tủy vẫn còn mô mềm với ít ống tiết hay gỗ chiếm tâm.

Bột

Bột có màu nâu nhạt. Soi kính hiển vi thấy: Ống tiết đường kính 17 µm đến 60 µm, chứa chất tiết vàng nâu. Các bó libe-gỗ của gốc cuống lá thường đi kèm các bó sợi. Mảnh mạch mạng đường kính 10 µm đến 40 µm. Tế bào mô cứng màu vàng lục, hình bầu dục hay dạng chữ nhật có thành dày.

Định tính

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

Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.

Dung môi khai triển: *Cloroform - methanol* (4 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 20 ml *aceton (TT)*, siêu âm 20 min, lọc, cô dịch lọc trong cách thủy đến cắn, hòa cắn trong 1 ml *ethanol 96 % (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Phòng phong (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử hoặc hòa tan 5-*O*-methylvisamminosid chuẩn và prim-*O*-glucosylcimifugin chuẩn trong *ethanol 96 % (TT)* để được dung dịch chuẩn hỗn hợp có nồng độ mỗi chất chuẩn 1 mg/1 ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.6, 2 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không được quá 6,5 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không được quá 1,5 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu

Không dưới 13,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: *Methanol - nước* (40 : 60).

Dung dịch thử: Lấy chính xác khoảng 0,25 g bột dược liệu (qua rây có cỡ mắt rây 0,180 mm) vào bình nón nút mài, thêm chính xác 10 ml *methanol 50 % (TT)*. Đậy nút và cân. Đun hồi lưu trên cách thủy 2 h. Để nguội và cân lại. Bổ sung *methanol (TT)* để được khối lượng ban đầu, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan riêng biệt 5-*O*-methylvisamminosid chuẩn và prim-*O*-glucosylcimifugin chuẩn trong *methanol (TT)* để được hai dung dịch chuẩn có nồng độ mỗi chất chuẩn chính xác khoảng 60 µg/ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Thể tích tiêm: 5 µl.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký dung dịch chuẩn. Tính số đĩa lý thuyết của cột theo pic của prim-*O*-glucosylcimifugin. Số đĩa lý thuyết của cột không được nhỏ hơn 2000.

Tiến hành sắc ký lần lượt với các dung dịch chuẩn, dung dịch thử. Tính hàm lượng 5-*O*-methylvisamminosid chuẩn và prim-*O*-glycosylcimifugin trong dược liệu dựa vào diện tích pic 5-*O*-methylvisamminosid chuẩn và prim-*O*-glycosylcimifugin trên sắc ký đồ của dung dịch thử, sắc ký đồ dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{22}H_{28}O_{10}$ trong 5-*O*-methylvisamminosid chuẩn và hàm lượng $C_{22}H_{28}O_{11}$ trong prim-*O*-glycosylcimifugin chuẩn.

Dược liệu phải chứa không ít hơn 0,24 % tổng hàm lượng prim-*O*-glucosylcimifugin ($C_{22}H_{28}O_{11}$) và 5-*O*-methylvisamminosid ($C_{22}H_{28}O_{10}$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa xuân hay mùa thu khi cây có hoa, đào lấy rễ, loại vỏ rễ con và đất, phơi khô.

Bào chế

Loại vỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái lát dày và phơi khô.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh mọt.

Tính vị, quy kinh
Tân, cam, ôn. Vào kinh can, phế, vị, bàng quang.

Công năng, chủ trị
Giải biểu trừ phong hàn, trừ phong thấp, trừ co thắt. Chủ trị: Đau đầu do hàn, mày đay, phong thấp tê đau, uốn ván.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 5 g đến 12 g, thường phối hợp trong các bài thuốc.

PHỤ TỬ
Radix Aconiti lateralis

Phụ tử là rễ củ nhánh đã phơi hay sấy khô của cây Ô đầu (*Aconitum fortunei* Hemsl. hoặc *Aconitum carmichaeli* Debx.), họ Hoàng liên (Ranunculaceae).

Mô tả
Rễ củ hình con quay, dài 3,5 cm đến 5 cm, phía trên to, đường kính 1,5 cm đến 2,5 cm, có vết nối với củ chính, không có vết của thân cây, phía dưới nhỏ dần. Mặt ngoài màu nâu đen, có nhiều nếp nhăn dọc, vòng quanh phần trên củ có một số nhánh lồi lên như cái bướu. Chất cứng chắc, khó bẻ. Vết cắt màu nâu xám. Vị nhạt, sau hơi chát và hơi tê lưỡi.

Vi phẫu
Lớp bần màu nâu xám. Mô mềm vỏ gồm 3 đến 4 hàng tế bào thành mỏng. Nội bì gồm một hàng tế bào rõ. Trụ bì gồm 2 đến 3 hàng tế bào đều đặn sát với nội bì. Trong mô mềm rải rác có những đám mạch rây. Tầng phát sinh libe-gỗ gồm 2 hàng tế bào xếp thành vòng khá rõ. Libe khá phát triển, những bó gỗ cấp 2 và cấp 1 xếp thành hình chữ V rộng. Tia ruột rộng và mô mềm ruột phát triển.

Bột
Mảnh bần tế bào hình chữ nhật, thành dày. Mảnh mô mềm tế bào gần tròn hoặc hơi dài, thành mỏng, chứa các hạt tinh bột. Rất nhiều hạt tinh bột hình đĩa, hình chuông, hình nhiều cạnh, đường kính 2 µm đến 25 µm, có nhiều hạt kép đôi, kép ba. Mảnh mạch mạng, mạch vạch.

Định tính
A. Cho khoảng 2 g bột dược liệu vào một bình nón có nút mài, dung tích 50 ml, thấm ẩm bằng *amoniac đậm đặc (TT)*. Sau 10 min thêm 20 ml *ether (TT)*, lắc đều, nút kín và để yên 30 min, thỉnh thoảng lắc. Gạn lấy lớp ether, làm khan bằng *natri sulfat khan (TT)*, lọc và bốc hơi trên cách thủy tới khô. Hòa tan cắn với 5 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)*. Dùng dịch chiết này để làm các phản ứng sau:
Lấy 1 ml dịch chiết, thêm 2 giọt *thuốc thử Mayer (TT)* sẽ xuất hiện tủa trắng.
Lấy 1 ml dịch chiết, thêm 2 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)* sẽ xuất hiện tủa nâu.
Lấy 1 ml dịch chiết, thêm 2 giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)* sẽ xuất hiện tủa đỏ cam.

B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol (9 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thấm ẩm bằng *amoniac đậm đặc (TT)*, để yên 20 min, chiết bằng *cloroform (TT)* trong bình Soxhlet trong khoảng 30 min. Cất thu hồi dung môi. Cắn còn lại hòa tan trong 2 ml *methanol (TT)* dùng làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan aconitin trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *thuốc thử Dragendorff (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử có 7 vết, trong đó phải có vết cùng màu và cùng giá trị R_f với vết aconitin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Kim loại nặng
Không quá 1 phần triệu Pb; 0,1 phần triệu Cd; 0,2 phần triệu Hg, 3,0 phần triệu As (Phụ lục 9.4.11).

Định lượng
Cân chính xác khoảng 10 g bột dược liệu (qua rây số 355) đã xác định độ ẩm, cho vào bình nón có nút mài dung tích 250 ml. Thêm 50 ml hỗn hợp *ether - cloroform* (3 : 1) và 4 ml *amoniac đậm đặc (TT)*. Đậy nút, lắc kỹ, để qua đêm, gạn, lấy dịch lọc. Cho vào bã 50 ml hỗn hợp *ether - cloroform* (3 : 1), lắc kỹ, để 1 h, lọc, thu dịch lọc. Rửa bã 4 lần, mỗi lần với 15 ml hỗn hợp *ether - cloroform* (3 : 1), thu dịch rửa. Gộp dịch lọc và dịch rửa. Bốc hơi cách thủy ở nhiệt độ 50 °C đến 60 °C. Hòa tan cắn bằng 5 ml *ethanol (TT)*. Thêm chính xác 15 *ml dung dịch acid sulfuric 0,02 N (CĐ)* và 15 ml nước cất mới đun sôi để nguội, 3 giọt *đỏ methyl (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)* đến khi xuất hiện màu vàng.
1 ml *dung dịch acid sulfuric 0,02 N (CĐ)* tương đương với 12,9 mg alcaloid toàn phần tính theo aconitin ($C_{34}H_{47}O_{11}N$).
Hàm lượng phần trăm alcaloid toàn phần (X %) của dược liệu khô kiệt tính theo công thức:

$$X\ (\%) = \frac{(15 - n) \times 12,9}{p}$$

Trong đó:
p là khối lượng dược liệu khô kiệt (g);
n là số ml *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)* đã dùng.
Dược liệu phải chứa ít nhất 0,6 % alcaloid toàn phần tính theo aconitin ($C_{34}H_{47}O_{11}N$).

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, khi trời nắng ráo, đào về, loại bỏ rễ củ chính và rễ tua, thu lấy rễ củ nhánh (Phụ tử), rửa sạch để chế thành Diêm phụ tử, Hắc phụ tử, Bạch phụ tử.

Bào chế

A. Diêm phụ tử (còn gọi là Sinh phụ tử): Rễ củ con loại to, rửa sạch bỏ vào vại, thêm magnesi clorid, muối ăn và nước (cứ 100 kg Phụ tử dùng 40 kg magnesi clorid, 30 kg muối ăn, 60 L nước), ngâm 10 ngày, lấy ra phơi khô rồi lại cho vào vại. Cứ thế, ngày phơi, tối ngâm (nước ngâm phải sâm sấp trên củ) cho đến khi muối thấm tới phần giữa củ và củ trở nên cứng chắc, mặt ngoài củ thấy muối kết tinh trắng là được. Trong quá trình ngâm thỉnh thoảng thêm magnesi clorid, muối ăn, nước để đảm bảo nồng độ ban đầu. Trước khi dùng thái lát mỏng 5 mm, rửa nước đến hết vị cay tê, đem phơi hoặc sấy khô.

Dược liệu chưa thái lát có hình nón, dài 3,5 cm đến 5 cm, đường kính 1,5 cm đến 2,5 cm. Bên ngoài màu xám đen được phủ một lớp bột muối nhỏ, đỉnh có vết sẹo lõm, bao quanh là các rễ con ngắn hoặc các vết sẹo của rễ con. Chắc chắn. Mặt cắt ngang có màu nâu xám, viền ngoài có các đường nứt chứa đầy bột muối nhỏ và vòng phát sinh libe-gỗ nhiều cạnh, trong vòng phát sinh libe-gỗ có các bó mạch gỗ tập hợp thành đám không đều. Mùi nhẹ, vị mặn, cay, tê.

Đạm phụ phiến: Lấy Diêm phụ tử, ngâm nước, mỗi ngày thay nước 2 - 3 lần để tẩy hết muối, nấu kỹ cùng với Cam thảo, Đậu đen và nước cho đến khi không còn lõi trắng và bổ ra nếm không thấy tê cay thì thôi. Lấy dược liệu ra, loại bỏ Cam thảo, Đậu đen, thái lát, phơi khô (100 kg Diêm phụ tử dùng 5 kg Cam thảo, 10 kg Đậu đen).

B. Hắc phụ tử: Rễ củ con loại trung bình, rửa sạch, cho vào vại, thêm magnesi clorid, nước ngâm vài ngày (100 kg Phụ tử dùng 40 kg magnesi clorid, 20 L nước). Sau đó luộc chín không còn lõi trắng, lấy ra rửa sạch, để cả vỏ, thái lát mỏng theo chiều dọc, dày khoảng 5 mm. Lại ngâm với magnesi clorid và rửa bằng nước một lần nữa. Cuối cùng thêm đường đỏ và dầu hạt cải để tẩm đến khi lát mỏng có màu nước chè đặc. Sau đó rửa bằng nước đến hết vị cay, phơi hoặc sấy khô.

Dược liệu là các lát cắt dọc rộng ở phía trên, hẹp dần về phía dưới, dài 1,7 cm đến 5 cm, rộng 0,9 cm đến 3 cm, dày 0,2 cm đến 0,5 cm. Vỏ ngoài màu nâu đen, mặt cắt màu vàng sẫm, có dầu và bóng láng, trong mờ và có các bó mạch chiều dọc. Chất cứng và dễ gãy. Mặt gãy như sừng, mùi nhẹ, vị nhạt.

C. Bạch phụ tử: Rễ củ con loại nhỏ, rửa sạch cho vào vại, ngâm trong nước magnesi clorid (pha như trên) vài ngày. Sau đó đun tới chín đến giữa củ, lấy ra bóc vỏ bỏ. Thái lát mỏng theo chiều dọc, dày khoảng 3 mm, rửa hết vị cay tê, hấp chín, phơi khô, xông hơi diêm sinh, rồi phơi đến khô. Dược liệu là các lát dày khoảng 3 mm, không có vỏ ngoài, màu trắng vàng, trong mờ.

D. Phụ phiến sao: Lấy cát rang nóng, cho Hắc phụ tử và Bạch phụ tử vào sao cho đến khi phồng lên và hơi biến màu. Lấy ra sàng bỏ cát, để nguội.

Các dược liệu đã bào chế phải đáp ứng phép thử giới hạn aconitin như sau:

Giới hạn aconitin

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

Bản mỏng: Nhôm oxyd kiềm.

Dung môi khai triển: n - Hexan - ethyl acetat (1 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 20 g bột thô Hắc phụ tử, Bạch phụ tử hoặc Đạm phụ phiến cho vào một bình nón, thêm 150 ml *ether (TT)*, lắc 10 min, thêm 10 ml *dung dịch amoniac* [lấy 400 ml *amoniac đậm đặc (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 100 ml], lắc 30 min, để yên 1 h đến 2 h. Tách lấy lớp dịch chiết ether và làm bay hơi dung môi đến cắn. Hòa tan cắn trong 2 ml *ethanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan aconitin trong *ethanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 2 mg/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 6 µl dung dịch thử và 5 µl dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun dung dịch là hỗn hợp đồng thể tích của dung dịch kali iodid (hòa tan 16,5 g *kali iodid (TT)* trong vừa đủ 1000 ml *nước*) và *thuốc thử Dragendorff (TT)*. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng ban ngày. Kích thước của vết trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được lớn hơn vết aconitin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu hoặc không có vết nào xuất hiện trên sắc ký đồ của dung dịch thử.

Bảo quản

Để nơi khô mát, trong bình kín, tránh ẩm.

Tính vị, quy kinh

Tân, cam, đại nhiệt, có độc. Vào các kinh tâm, thận, tỳ.

Công năng, chủ trị

Hồi dương cứu nghịch, bổ hỏa trợ dương, tán hàn, chỉ thống.

Chủ trị: Chứng vong dương, thoát dương; chân tay lạnh, đau nhức xương khớp, lưng gối đau lạnh, chân tay phù nề.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng 4 g đến 12 g dược liệu đã bào chế đạt tiêu chuẩn giới hạn aconitin, dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ

Phụ nữ có thai, âm hư nội nhiệt, trẻ em dưới 15 tuổi không được dùng. Không nên phối hợp với Bán hạ, Qua lâu, Bối mẫu, Bạch cập, Bạch liễm.

PHỤC LINH

Poria

Bạch linh

Thể quả nấm đã phơi hay sấy khô của nấm Phục linh [*Poria cocos* (Schw.) Wolf], họ Nấm lỗ (Polyporaceae), mọc ký sinh trên rễ một số loài Thông.

Mô tả

Thể quả nấm Phục linh khô: Hình cầu, hình thoi, hình cầu dẹt hoặc hình khối không đều, lớn, nhỏ không đồng nhất.

mặt ngoài màu nâu đến nâu đen, có nhiều vết nhăn rõ và lồi lõm. Thể nặng, rắn chắc. Mặt bẻ sần sùi và có vết nứt, lớp viền ngoài màu nâu nhạt, phần trong màu trắng, số ít có màu hồng nhạt. Có loại bên trong còn mấy đoạn rễ thông (Phục thần). Nấm phục linh không mùi, vị nhạt, cắn dính răng.

Phục linh bì: Là lớp ngoài Phục linh tách ra, lớn, nhỏ, không đồng nhất. Mặt ngoài từ nâu đến nâu đen, mặt trong màu trắng hoặc nâu nhạt. Chất tương đối xốp, hơi có tính đàn hồi.

Phục linh khối: Sau khi tách lớp ngoài, phần còn lại được thái, cắt thành phiến hay miếng, lớn nhỏ không đồng nhất, màu trắng, hồng nhạt hoặc nâu nhạt.

Xích phục linh: Là lớp thứ hai sau lớp ngoài, hơi hồng hoặc nâu nhạt.

Bạch phục linh: Là phần bên trong, màu trắng.

Phục thần: Là phần nấm Phục linh ôm đoạn rễ thông bên trong.

Bột

Màu trắng tro. Soi kính hiển vi thấy: Có những khối sợi nấm dạng hạt không đều và những khối phân nhánh, không màu, sợi nấm không màu hoặc màu nâu nhạt, mảnh dẻ, nhỏ, dài, hơi cong, phân nhánh, đường kính 3 µm đến 8 µm, ít khi có sợi nấm đường kính tới 16 µm.

Ngâm bột dược liệu trong *dung dịch cloral hydrat* khoảng 30 min, sẽ thấy bột tan dần (bột có hiện tượng trong dần).

Định tính

A. Lấy 1,0 g bột dược liệu, thêm 5 ml *aceton (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 5 min, thỉnh thoảng lắc, lọc. Bốc hơi dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa tan cặn trong 0,5 ml *anhydrid acetic (TT)*, thêm 1 giọt *acid sulfuric (TT)*, xuất hiện màu đỏ nhạt, sau chuyển thành màu xanh.

B. Nhỏ 1 giọt *dung dịch iod-iodid (TT)* lên bột dược liệu sẽ có màu đỏ thẫm.

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

Bản mỏng: *Silica gel G.*

Dung môi khai triển: *Toluen - ethyl acetat - acid formic* (20 : 5 : 0,5).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 50 ml *ether (TT)*, siêu âm 10 min, lọc, bay hơi dịch lọc đến cắn, hòa cắn trong 1 ml *methanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Phục linh (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng khoảng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch vanilin 2 % trong hỗn hợp acid sulfuric - ethanol* (4 : 1), sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng thường. Các vết trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không được quá 2,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ vụn nát

Tỷ lệ qua rây có kích thước mắt rây 3,150 mm: Không quá 5 % (Phụ lục 12.12).

Chất chiết được trong dược liệu

Không dưới 2,5 %, tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch từ tháng 7 đến tháng 9, loại bỏ đất cát, chất đống cho ra mồ hôi rồi rải ra chỗ thoáng gió cho se bề mặt, tiếp tục chất đống, ủ vài lần cho đến khi khô nước và bề mặt nhăn nheo, phơi âm can đến khô. Trước khi dùng ngâm Phục linh vào nước, rửa sạch, đồ thêm cho mềm, gọt vỏ, thái miếng hoặc thái lát lúc đang mềm và phơi hoặc sấy khô.

Hoặc khi Phục linh còn tươi, thái miếng và phơi âm can nơi thoáng gió đến khô.

Tuỳ theo các phần thái và màu sắc của Phục linh mà có tên gọi khác nhau: Bạch phục linh, Phục linh bì, Xích phục linh, Phục linh khối, Phục linh phiến.

Bảo quản

Nơi khô mát tránh ẩm, vụn nát.

Tính vị, quy kinh

Cam, đạm, bình. Quy vào kinh tâm, phế, thận, tỳ, vị.

Công năng, chủ trị

Lợi thủy, thẩm thấp, kiện tỳ hòa trung, ninh tâm an thần.

Chủ trị: Thủy thũng kèm tiểu sẻn, đánh trống ngực, mất ngủ, kém ăn, phân lỏng, tiết tả.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 15 g, thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ

Âm hư thấp nhiệt không nên dùng.

QUA LÂU (Hạt)

Semen Trichosanthis

Qua lâu tử

Hạt đã phơi hay sấy khô của cây Qua lâu (*Trichosanthes kirilowii* Maxim.) hoặc cây Song biên qua lâu (*Trichosanthes rosthornii* Harms), họ Bí (Cucurbitaceae).

Mô tả

Hạt qua lâu hình bầu dục dẹt, phẳng, dài 12 mm đến 15 mm, rộng 6 mm đến 10 mm, dày 3,5 mm. Mặt ngoài màu nâu nhạt

mặt ngoài màu nâu đến nâu đen, có nhiều vết nhăn rõ và lồi lõm. Thể nặng, rắn chắc. Mặt bẻ sần sùi và có vết nứt, lớp viền ngoài màu nâu nhạt, phần trong màu trắng, số ít có màu hồng nhạt. Có loại bên trong còn mấy đoạn rễ thông (Phục thần). Nấm phục linh không mùi, vị nhạt, cắn dính răng.

Phục linh bì: Là lớp ngoài Phục linh tách ra, lớn, nhỏ, không đồng nhất. Mặt ngoài từ nâu đến nâu đen, mặt trong màu trắng hoặc nâu nhạt. Chất tương đối xốp, hơi có tính đàn hồi.

Phục linh khối: Sau khi tách lớp ngoài, phần còn lại được thái, cắt thành phiến hay miếng, lớn nhỏ không đồng nhất, màu trắng, hồng nhạt hoặc nâu nhạt.

Xích phục linh: Là lớp thứ hai sau lớp ngoài, hơi hồng hoặc nâu nhạt.

Bạch phục linh: Là phần bên trong, màu trắng.

Phục thần: Là phần nấm Phục linh ôm đoạn rễ thông bên trong.

Bột

Màu trắng tro. Soi kính hiển vi thấy: Có những khối sợi nấm dạng hạt không đều và những khối phân nhánh, không màu, sợi nấm không màu hoặc màu nâu nhạt, mảnh dẻ, nhỏ, dài, hơi cong, phân nhánh, đường kính 3 µm đến 8 µm, ít khi có sợi nấm đường kính tới 16 µm.

Ngâm bột dược liệu trong *dung dịch cloral hydrat* khoảng 30 min, sẽ thấy bột tan dần (bột có hiện tượng trong dần).

Định tính

A. Lấy 1,0 g bột dược liệu, thêm 5 ml *aceton (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 5 min, thỉnh thoảng lắc, lọc. Bốc hơi dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa tan cặn trong 0,5 ml *anhydrid acetic (TT)*, thêm 1 giọt *acid sulfuric (TT)*, xuất hiện màu đỏ nhạt, sau chuyển thành màu xanh.

B. Nhỏ 1 giọt *dung dịch iod-iodid (TT)* lên bột dược liệu sẽ có màu đỏ thẫm.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Toluen - ethyl acetat - acid formic (20 : 5 : 0,5).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 50 ml *ether (TT)*, siêu âm 10 min, lọc, bay hơi dịch lọc đến cắn, hòa cắn trong 1 ml *methanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Phục linh (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng khoảng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch vanilin 2 % trong hỗn hợp acid sulfuric - ethanol* (4 : 1), sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng thường. Các vết trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng về màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không được quá 2,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ vụn nát

Tỷ lệ qua rây có kích thước mắt rây 3,150 mm: Không quá 5 % (Phụ lục 12.12).

Chất chiết được trong dược liệu

Không dưới 2,5 %, tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch từ tháng 7 đến tháng 9, loại bỏ đất cát, chất đống cho ra mồ hôi rồi rải ra chỗ thoáng gió cho se bề mặt, tiếp tục chất đống, ủ vài lần cho đến khi khô nước và bề mặt nhăn nheo, phơi âm can đến khô. Trước khi dùng ngâm Phục linh vào nước, rửa sạch, đồ thêm cho mềm, gọt vỏ, thái miếng hoặc thái lát lúc đang mềm và phơi hoặc sấy khô.

Hoặc khi Phục linh còn tươi, thái miếng và phơi âm can nơi thoáng gió đến khô.

Tuỳ theo các phần thái và màu sắc của Phục linh mà có tên gọi khác nhau: Bạch phục linh, Phục linh bì, Xích phục linh, Phục linh khối, Phục linh phiến.

Bảo quản

Nơi khô mát tránh ẩm, vụn nát.

Tính vị, quy kinh

Cam, đạm, bình. Quy vào kinh tâm, phế, thận, tỳ, vị.

Công năng, chủ trị

Lợi thủy, thẩm thấp, kiện tỳ hòa trung, ninh tâm an thần. Chủ trị: Thủy thũng kèm tiểu sẻn, đánh trống ngực, mất ngủ, kém ăn, phân lỏng, tiết tả.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 15 g, thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ

Âm hư thấp nhiệt không nên dùng.

QUA LÂU (Hạt)

Semen Trichosanthis

Qua lâu tử

Hạt đã phơi hay sấy khô của cây Qua lâu (*Trichosanthes kirilowii* Maxim.) hoặc cây Song biên qua lâu (*Trichosanthes rosthornii* Harms), họ Bí (Cucurbitaceae).

Mô tả

Hạt qua lâu hình bầu dục dẹt, phẳng, dài 12 mm đến 15 mm, rộng 6 mm đến 10 mm, dày 3,5 mm. Mặt ngoài màu nâu nhạt

đến nâu thẫm, trơn nhẵn. Xung quanh mép hạt có rãnh tròn. Đỉnh hạt tương đối nhọn, có rốn hình điểm, lõm xuống. Đáy hạt tròn tù. Vỏ hạt ngoài cứng, vỏ hạt trong là màng mỏng, màu lục xám, bọc lấy 2 lá mầm dày, màu trắng ngà, chứa nhiều dầu. Mùi nhẹ. Vị hơi ngọt dịu, hơi đắng.

Hạt Song biển qua lâu tương đối to hơn hạt Qua lâu và dẹp hơn, dài 15 mm đến 25 mm, rộng 8 mm đến 14 mm, dày 2,5 mm đến 3,5 mm. Mặt ngoài màu nâu. Mép hạt có rãnh rõ, tương đối sâu vào trong. Đỉnh hạt rộng và phẳng hơn.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Cyclohexan - ethyl acetat (5 : 1).

Dung dịch thử: Cho 1 g dược liệu vào bình nón, chiết siêu âm trong 10 min với 10 ml *ether dầu hoả (60 °C đến 90 °C) (TT)*, lọc. Lấy dịch lọc làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột quả Qua lâu (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm, xuất hiện ít nhất 3 vết tắt quang tương đương với các vết ở sắc đồ của dung dịch đối chiếu. Các vết này chuyển sang màu nâu xám khi tiếp tục phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT).*

Tạp chất

Tỷ lệ hạt thối lép: Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.11).

Độ ẩm

Không quá 10,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không được quá 3,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu

Không dưới 20,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt (Phụ lục 12.10).

Cân chính xác khoảng 4 g dược liệu. Tiến hành theo phương pháp ngâm lạnh. Dùng *ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C) (TT)* làm dung môi. Dịch thu được đem cô ở áp suất giảm đến cắn có khối lượng không đổi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, hái quả chín, bổ quả, lấy hạt, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Qua lâu tử: Loại bỏ tạp chất và hạt lép hỏng, rửa sạch, phơi khô, giã nát khi dùng.

Qua lâu tử sao: Lấy Qua lâu tử sạch, cho vào chảo, sao nhỏ lửa đến khi hạt phồng lên, lấy ra để nguội. Khi dùng giã vụn.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, khổ, hàn. Vào các kinh phế, vị, đại tràng.

Công năng, chủ trị

Nhuận phế, hóa đàm và nhuận tràng. Chủ trị: Ho có đờm dính, táo bón, mụn nhọt, sữa ít.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 15 g, phối hợp trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ

Phản Ô đầu, Phụ tử, và Thiên hùng.

QUA LÂU (Quả)

Fructus Trichosanthis

Quả chín đã bỏ hạt được phơi hay sấy khô của cây Qua lâu (*Trichosanthes kirilowii* Maxim.), hoặc cây Song biên qua lâu (*Trichosanthes rosthornii* Harms), họ Bí (Cucurbitaceae).

Mô tả

Quả hình bầu dục rộng hoặc hình cầu, dài 7 cm đến 15 cm, đường kính 6 cm đến 10 cm. Mặt ngoài màu đỏ cam hoặc vàng cam, nhăn nheo hoặc nhẵn bóng. Đỉnh quả còn sót lại gốc vòi nhụy. Đáy quả hơi nhọn với cuống quả còn sót lại. Quả nặng nhẹ khác nhau không đồng nhất. Chất xốp, dễ vỡ. Mặt trong màu trắng vàng, có các xơ hình mắt lưới màu vàng đỏ. Ruột quả màu vàng cam, dính đặc sệt, có nhiều hạt kết dính lại thành đám. Có mùi như mùi đường cháy.

Qua lâu thái lát hoặc cắt miếng: Những lát hoặc miếng không đều, cuộn lại, dài 6 đến 12 cm. Mặt ngoài màu đỏ cam hoặc vàng cam, bị co lại hoặc tương đối mịn; mặt trong màu trắng ngà, có các sợi dạng lưới màu vàng đỏ. Chất giòn, dễ bẻ gãy. Có mùi như mùi đường cháy. Vị hơi chua và ngọt.

Bột

Màu nâu vàng. Nhiều tế bào đá tụ thành đám hoặc rải rác, màu lục vàng hoặc vàng nhạt, hình vuông hoặc hình đa giác tròn, thành có ống trao đổi nhỏ, dày đặc.Tế bào biểu bì vỏ quả hình gần vuông hoặc hình gần đa giác, thành dày lồi lên uốn lượn. Tế bào biểu bì vỏ hạt hình gần đa giác hoặc không đều, thành hơi lượn sóng, có các vạch cutin thẳng. Tế bào mô cứng tương đối lớn, đơn lẻ, màu nâu, hình dạng khác nhau. Mảnh mạch xoắn, mạch lưới.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - methanol - acid formic - nước (12 : 1 : 0,1 : 0,1).

Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 20 ml *methanol (TT)*, siêu âm trong 20 min, lọc. Bốc hơi dịch lọc đến khô. Hòa tan cắn trong 5 ml *nước*. Lắc dung dịch thu được với *n-butanol bão hòa nước (TT)* bốn lần, mỗi lần 5 ml, gộp dịch chiết n-butanol và bốc hơi đến khô. Hòa tan cắn trong 2 ml *methanol (TT)* được dung dịch chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột quả Qua lâu (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 4 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*. Sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi các vết hiện rõ. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 366 nm, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết huỳnh quang cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 16,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 7,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu
Không được dưới 31,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10). Dùng *nước* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa thu, hái lấy quả chín, cắt và loại bỏ cơm quả và hạt, hong khô nơi thoáng mát và phơi âm can hoặc sấy nhẹ đến khô.
Qua lâu thái lát hoặc cắt miếng: Lau sạch, dát mỏng, thái lát hay cắt thành miếng.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Cam, vi khổ, hàn. Vào các kinh phế, vị, đại tràng.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt, trừ đàm, nhuận táo, tán kết. Chủ trị: Ho đờm do phế nhiệt, đau thắt ngực, kết hung đầy bĩ ngực và thượng vị, nhũ ung, phế ung, trường ung, đại tiện bí kết.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 9 g đến 15 g, phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Phản Ô đầu, Phụ tử và Thiên hùng. Không dùng cho người tỳ hư gây ỉa lỏng.

QUẾ (Cành)
Ramulus Cinnamomi
Quế chi

Cành phơi hay sấy khô của cây Quế (*Cinnamomum cassia* Presl.) hoặc một số loài Quế khác (*Cinnamomum zeylanicum* Blume, *Cinnamomum loureirii* Nees.), họ Long não (Lauraceae).

Mô tả
Cành hình trụ tròn, thường chặt khúc dài 2 cm đến 4 cm, đường kính 0,3 cm đến 1 cm. Mặt ngoài màu nâu đến màu nâu đỏ, có nhiều vết nhăn dọc nhỏ và các vết sẹo cành, sẹo của chồi và nhiều lỗ vỏ. Chất cứng giòn, dễ gãy. Trên bề mặt vết cắt thấy: lớp vỏ màu nâu, bên trong có gỗ màu vàng nhạt tới nâu vàng, ruột gần tròn. Mùi thơm nhẹ, vị ngọt và hơi cay.

Vi phẫu
Mặt cắt hình tròn từ ngoài vào trong có: Biểu bì có một hàng tế bào, mang lông che chở đơn bào. Với cành già ngoài cùng là lớp bần. Mô mềm vỏ có từ 3 đến 5 lớp tế bào, một số tế bào có thành dày lên về một phía; các tế bào chứa tinh dầu và các tế bào mô cứng nằm rải rác trong mô mềm vỏ. Nhóm các tế bào mô cứng sắp xếp thành vòng không liên tục, đi kèm với các bó sợi. Với cành già hơn tế bào cứng tạo thành vòng liên tục. Libe tạo thành bó hay vòng. Tầng phát sinh libe-gỗ. Các mạch gỗ xếp thành hàng hướng tâm. Trong cùng là mô mềm ruột. Các tinh thể calci oxalat hình kim tập trung ở tia ruột và mô mềm ruột.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *n-Hexan - cloroform - ethyl acetat* (4 : 1 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 2,0 g bột dược liệu (qua rây số 250), thêm 10 ml *ether (TT)*, lắc trong 3 min, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch aldehyd cinnamic 0,1 % trong *ether (TT)*, hoặc lấy 2,0 g bột cành Quế (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun lên bản mỏng *dung dịch 2,4-dinitrophenyl hydrazin (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng thường.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có 5 vết màu da cam, trong đó có một vết có cùng màu và giá trị R_f với vết aldehyd cinnamic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Nếu dùng cành Quế để chuẩn bị dung dịch đối chiếu thì trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần
Không quá 3,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 4,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hái vào mùa xuân và mùa hè, bỏ lá lấy cành phơi hoặc sấy khô, hoặc nhân lúc tươi chặt đoạn dài 2 cm đến 4 cm, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản
Để nơi khô, mát; trong bình kín.

Tính vị, quy kinh
Tân, cam, ôn. Vào kinh phế, tâm, bàng quang.

Công năng, chủ trị
Giải biểu hãn, thông dương khí, ôn thông kinh mạch, hóa khí. Chủ trị: Cảm mạo phong hàn, khí huyết ứ trệ, phù, đái không thông lợi.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Âm hư hỏa vượng và phụ nữ có thai không dùng.

QUẾ (Vỏ thân, vỏ cành)
Cortex Cinnamomi

Vỏ thân hoặc vỏ cành đã chế biến và phơi khô của cây Quế *Cinnamomum cassia* Presl. hoặc một số loài quế khác (*Cinnamomum zeylanicum* Blume, *Cinnamomum loureirii* Nees.) họ Long não (Lauraceae).

Mô tả
C. cassia: Mảnh vỏ thường được cuộn tròn thành ống, dài 5 cm đến 50 cm, ngang 1,5 cm đến 10 cm, dày 1 mm đến 8 mm. Mặt ngoài màu nâu đến nâu xám, có các lỗ vỏ và vết cuống lá (không nhìn thấy ở vỏ đã hóa bần dày). Mặt trong màu nâu đỏ đến nâu sẫm, nhẵn hoặc hơi gồ ghề. Chất cứng và giòn, dễ bẻ gãy; mặt bẻ không nhẵn, có xơ. Mặt cắt ngang có hai lớp: lớp ngoài màu vàng nâu, hơi thô ráp, lớp trong màu nâu đỏ, có xơ ngắn; Có một vòng màu nâu hơi vàng giữa hai lớp. Mùi thơm, vị cay ngọt, sau tê nhẹ.
Ở loài quế *C. zeylanicum*, vỏ thường mỏng hơn vỏ của loài *C. cassia*, lớp trong màu nâu vàng, mùi thơm nhẹ.
Ở loài quế *C. loureirii*, lớp bần màu nâu ngoài cùng có thể bị cạo bỏ nên chỉ còn một lớp màu nâu hơi đỏ hay nâu sẫm, mùi rất thơm, thể chất giòn, dễ bẻ, vết bẻ có xơ.

Vi phẫu
Ngoài cùng là bần gồm nhiều lớp tế bào xếp thành hàng, khá dày, có nhiều chỗ bị bong ra hoặc nứt rách. Mô mềm vỏ gồm các tế bào hình nhiều cạnh hoặc có dạng chữ nhật nằm ngang, thành mỏng chứa hạt tinh bột rất nhỏ. Rải rác trong mô mềm có tế bào tiết tinh dầu, tế bào tiết chất nhầy, tinh thể calci oxalat hình kim nhỏ. Sát lớp bần có tế bào mô cứng xếp riêng lẻ hay các đám mô cứng xếp thành từng cụm, tế bào hình nhiều cạnh hoặc thuôn dài với thành dày đều đặn. Một số tế bào mô cứng có thành dày theo hình chữ U. Sát libe là vòng mô cứng gần như liên tục với tế bào có thành dày, khoang hẹp. Lớp libe cấp 2 phát triển nhiều, gồm tế bào thành mỏng xen lẫn với một số tế bào biến thành sợi có thiết diện vuông hoặc hơi tròn, thành dày, nằm rải rác. Libe cấp 2 bị tia tủy gồm từ 1 đến 5 dãy tế bào chia cắt thành từng cụm, nhiều tia tủy phát triển rộng ra đến mô mềm vỏ, chứa tinh thể calci oxalat hình kim. Rải rác trong libe còn có tế bào tiết tinh dầu, tế bào tiết chất nhầy, tế bào chứa tinh bột như trong mô mềm vỏ.

Bột
Bột màu vàng nâu hoặc nâu sẫm, mùi thơm, vị cay, hơi ngọt. Nhiều sợi màu vàng nhạt, dài 200 µm đến 400 µm, đường kính 20 µm đến 50 µm, thành dày, khoang hẹp. Tế bào mô cứng gồm hai loại: một loại hình trái xoan hay chữ nhật, thành dày, khoang rộng hay hẹp, có ống trao đổi rõ; một loại tế bào có thành dày lên hình chữ U, khoang hẹp hơn, ống trao đổi rõ. Các tế bào mô cứng thường đứng riêng rẽ hoặc tụ thành từng đám, dài 60 µm đến 120 µm, rộng 30 µm đến 50 µm. Mảnh mô mềm, tế bào thành mỏng, trong chứa hạt tinh bột. Hạt tinh bột nhỏ, hình nhiều cạnh hoặc hơi tròn, đường kính 6 µm đến 15 µm, đứng riêng rẽ hoặc kép đôi, kép ba. Tinh thể calci oxalat hình kim thường bị gãy thành đoạn ngắn. Mảnh bần màu vàng nâu, gồm tế bào hình nhiều cạnh, thành khá dày.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: n-Hexan - cloroform - ethyl acetat (4 : 1 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 2,0 g bột dược liệu (qua rây số 250), thêm 10 ml *ether (TT)*, lắc trong 3 min, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch aldehyd cinnamic chuẩn có nồng độ 0,1 % trong *ether (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, phun lên bản mỏng *dung dịch 2,4-dinitrophenyl hydrazin (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng thường.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có 5 vết màu đa cam, trong đó có một vết có cùng màu và giá trị R_f với vết aldehyd cinnamic của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 14,0 % (Phụ lục 12.13).
Dùng 10 g bột thô dược liệu.

Tro toàn phần
Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng
Định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7).
Cân chính xác khoảng 20 g dược liệu khô đã xay nhỏ (qua rây số 355) vào bình cầu dung tích 500 ml của bộ dụng cụ

định lượng tinh dầu trong dược liệu. Thêm 200 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (TT)*. Cho 0,5 ml *xylen (TT)* vào ống hứng tinh dầu có khắc vạch, tiến hành cất trong 3 h với tốc độ 2,5 ml đến 3,5 ml/min.
Dược liệu phải chứa ít nhất 1,0 % tinh dầu tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Vào tháng 4 đến tháng 5 và tháng 9 đến tháng 10, chọn những cây quế sống 5 năm trở lên để bóc vỏ (cây sống càng lâu càng tốt). Trước khi bóc, lấy lạt buộc quanh thân và cành to, cách khoảng 40 cm đến 50 cm buộc một vòng để cắt cho đều. Dùng dao nhọn cắt đứt phân nửa thân hoặc cành, rồi cắt dọc từng đoạn. Mỗi lần lấy vỏ, chỉ lấy một nửa bên, để lại nửa bên cho cây tái sinh. Sau đó lấy que nứa đã vót nhọn và mỏng lách vào khe, tách vỏ quế ra, để riêng từng loại. Chú ý khi bóc vỏ quế không được làm sót lại gỗ vì như vậy quế sẽ giảm giá trị.
Vỏ quế to dày phải ủ, ngâm nước một ngày, rửa sạch, để ráo nước. Lấy lá chuối tươi, hơ mềm lót quanh sọt dày độ 5 cm, xếp vỏ quế vào đầy sọt, đậy bằng lá chuối (cũng dày 5 cm). Buộc chặt để 3 ngày (mùa nóng) hoặc 7 ngày (mùa lạnh), hàng ngày đảo trên xuống dưới, dưới lên trên cho nóng đều. Dỡ quế ở sọt ra, đem ngâm nước 1 h nữa. Vớt ra đặt lên phên nứa, lấy một phên nứa khác đè lên, ép cho phẳng, để chỗ khô mát đến khi quế se. Lấy từng thanh quế, buộc ép vào ống nứa tròn thẳng (để cho dáng thẳng và đẹp), trong thời gian buộc ép như vậy, hàng ngày mở ra hai lần, lau chùi mặt trong cho bóng, rồi lại buộc vào. Cứ làm như vậy hàng ngày cho đến khi khô là được. Thời gian ủ quế đến khi hoàn tất phải mất 15 ngày đến 16 ngày (mùa nóng) hoặc 1 tháng (mùa mưa) và có khi hơn.

Bào chế
Loại bỏ tạp chất, gọt bỏ lớp bần, nếu làm thuốc hoàn tán thì giã nát, tán thành bột; với thuốc thang thì mài với nước thuốc để uống.

Bảo quản
Để nơi khô, mát; trong bình kín.
Để tránh làm mất hương vị của quế, lấy sáp ong miết vào hai đầu của thanh quế, bọc giấy polyetylen, cho vào thùng kín để nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh
Tân, cam, đại nhiệt. Vào các kinh thận, tỳ, tâm, can.

Công năng, chủ trị
Bổ hỏa trợ dương tán hàn, chỉ thống, hoạt huyết thông kinh. Chủ trị: Lưng gối đau lạnh, bụng đau lạnh, nôn mửa, tiêu chảy, bế kinh, đau bụng kinh, phù thũng, tiểu tiện rối loạn (đái không thông lợi, đái nhiều lần).

Cách dùng, liều dùng
Ngày dùng từ 1 g đến 4 g, dạng thuốc hãm, hoặc thuốc hoàn tán.

Kiêng kỵ
Âm hư hỏa vượng, phụ nữ có thai không dùng.

QUI GIÁP VÀ QUI BẢN
Carapax et Plastrum Testudinis
Mai rùa và yếm rùa

Mai và yếm đã phơi khô của con Rùa đen (Ô quy) (*Chinemys reveesii* Gray), họ Rùa (Emydidae).

Mô tả
Mai và yếm rùa liền nhau nhờ các cầu xương. Mai hơi dài hơn yếm.
Mai có hình bầu dục hẹp, khum khum, dài 7,5 cm đến 22 cm, rộng 6 cm đến 18 cm, phần phía trước hơi hẹp hơn phía sau, mặt ngoài màu nâu hoặc màu nâu đen, đầu phía trước có 1 khối sừng cổ, giữa sống lưng có 5 khối sừng đốt. Ở 2 bên mai có 4 khối sừng sườn, đối nhau, cạnh mỗi bên lại có 11 khối sừng rìa. Phần đuôi có 2 khối sừng mông (đồn giáp).
Yếm rùa có dạng phiến (tấm) gần như hình bầu dục, hình chùy viên, hình chữ nhật dài, rộng 5,5 cm đến 17 cm, dài 6,4 cm đến 21 cm, mặt ngoài yếm màu nâu vàng nhạt đến nâu có 12 tấm khối sừng, mỗi tấm có vân dạng tia xạ, màu nâu tía. Mặt trong màu trắng vàng đến màu trắng tro, có vết máu hoặc thịt còn sót lại. Sau khi cạo, làm sạch, có thể thấy ở phía trong có 9 khối xương dẹt (9 bản), mép nối các tấm có răng cưa khớp vào nhau. Phía đầu hình tròn tù hoặc bằng, phía đuôi có 1 khía hình tam giác, 2 cạnh đều, có dạng cánh, cong chếch lên ở 2 bên. Chất cứng, rắn, có mùi hơi tanh, vị hơi mặn.

Chế biến
Thu bắt quanh năm, nhưng thường vào mùa thu và mùa đông. Sau khi bắt được rùa, giết, bóc lấy mai và yếm, loại bỏ thịt còn sót lại, phơi khô (gọi là huyết bản). Hoặc sau khi bắt được rùa, luộc qua rồi bóc lấy mai và yếm, cạo sạch thịt còn sót lại, phơi khô (thang bản).
Huyết bản bóng láng, không bóc da, có khi còn vết máu.
Thang bản màu thẫm hơn, có vết đã bị lóc, mặt trong màu trắng tro, hoặc màu vàng nhạt, không bóng.

Bào chế
Quy giáp và quy bản: Lấy mai rùa và yếm rùa, đồ 45 min, lấy ra để trong nước nóng, cạo sạch ngay thịt da còn sót lại, rửa sạch, phơi khô.
Quy giáp và quy bản chế dấm: Cho cát sạch vào nồi, sao to lửa cho khô, cho Quy giáp và Quy bản vào, sao đến khi mặt ngoài hơi vàng, lấy ra, loại bỏ cát, ngâm qua dấm, phơi khô. Khi dùng giã vụn (10 kg Qui giáp và Qui bản dùng 2 L dấm).

Bảo quản
Để nơi khô, tránh mọt.

Tính vị, quy kinh
Hàm, cam, vi hàn. Vào các kinh can, thận, tâm.

Công năng, chủ trị
Tư âm tiềm dương, ích thận cường cốt, dưỡng huyết bổ tâm. Chủ trị: Âm hư trào nhiệt, cốt chưng, đạo hãn (mồ hôi

trộm), chóng mặt, hoa mắt, hư phong nội động, thắt lưng chân teo yếu, trẻ chậm liền thóp, nữ băng lậu đới hạ.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 9 g đến 24 g, sắc trước các vị thuốc khác. Thường dùng phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Người bệnh hư nhược mà không có hỏa, người hư hàn, ỉa lỏng không được dùng. Phụ nữ có thai dùng phải thận trọng.

RAU ĐẮNG ĐẤT
Herba Glini opposìtifolii

Toàn cây phơi hay sấy khô của cây Rau đắng đất [*Glinus oppositifolius* (L.) A. DC.], họ Rau đắng đất (Molluginaceae).

Mô tả
Phần trên mặt đất có dạng dây leo, sau khi phơi khô có màu vàng rơm, hoặc vàng lục, đôi khi có màu đỏ nâu. Thân và cành rất mảnh, dài khoảng 20 cm đến 200 cm, nhẵn, đường kính khoảng 0,2 mm đến 4 mm. Lá mọc vòng, to nhỏ không đều, hình mác thuôn, mép nguyên, dài 1 cm đến 1,5 cm, rộng 3 mm đến 10 mm. Cụm hoa chùm, lá bắc ở gốc hoa, hoa mọc tụm 2 đến 5 ở kẽ lá, cuống hoa dài 1 cm đến 1,5 cm, nhị 5, nhụy 3 ô.

Vi phẫu
Lá:
Phần gân lá: Mặt trên lồi, mặt dưới lõm. Biểu bì trên và dưới gồm một lớp tế bào hình chữ nhật, to, xếp đều đặn, mang lông che chở. Mô mềm gồm các tế bào thành mỏng, tròn hoặc đa giác không đều, các góc có khoảng gian bào nhỏ. Bó libe-gỗ nằm giữa gân lá, libe phía ngoài, gỗ ở phía trong. Libe gồm những tế bào nhỏ, xếp thành từng bó hình nón.
Phần phiến lá: Biểu bì trên và dưới gồm một lớp tế bào hình chữ nhật, xếp đều đặn, màng ngoài hóa cutin. Mô dậu cấu tạo bởi 2 đến 3 hàng tế bào hình chữ nhật xếp vuông góc với lớp biểu bì, chiếm một nửa bề dày phiến lá. Mô khuyết nằm ở phần thịt lá, cấu tạo bởi những tế bào tròn xếp lộn xộn, để hở những khuyết nhỏ. Tiếp giáp giữa mô khuyết và mô dậu là các bó libe-gỗ của gân phụ và các mạch xoắn.
Thân: Mặt cắt thân cây tròn, từ ngoài vào trong có biểu bì là một hàng tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn, mang lông che chở đơn bào, đa bào. Mô mềm vỏ là những tế bào thành mỏng, phía trong mô mềm có các tế bào thành hóa gỗ tạo thành một vòng mô cứng. Bó libe-gỗ tạo thành vòng tròn. Libe nằm bên ngoài gồm các tế bào nhỏ, xếp thành một vòng bao quanh mô gỗ. Gỗ có các mạch gỗ to xếp thành hàng dãy xuyên tâm. Mô mềm ruột ở chính giữa thân, gồm nhiều tế bào lớn hình tròn, kích thước không đều nhau, có thành rất mỏng.
Rễ: Mặt cắt tròn. Từ ngoài vào trong có lớp bần gồm các tế bào nhỏ, dẹt, xếp thành dãy đồng tâm và dãy xuyên tâm. Mô mềm vỏ là những tế bào đa giác thành mỏng xếp lộn xộn. Libe-gỗ xếp thành từng bó, mỗi bó có libe phía ngoài, mạch gỗ phía trong. Các bó libe-gỗ rất phát triển. Các bó libe-gỗ xếp rải rác thành bốn vòng đồng tâm. Ở tâm các bó libe-gỗ xếp sát nhau tạo thành hình tròn. Các bó libe-gỗ cách nhau bởi những tia ruột rất hẹp, xếp thành vòng gần như liên tục.

Bột
Màu vàng, mùi thơm nhẹ, vị nhạt. Soi dưới kính hiển vi thấy: Mảnh mô mềm màu vàng, tế bào hình đa giác, thành mỏng. Mảnh biểu bì mang lỗ khí. Tế bào mô cứng thành dày, có ống trao đổi rõ, đứng riêng lẻ hoặc thành đám, màu đỏ. Mảnh mạch xoắn. Mảnh bần gồm các tế bào thành mỏng. Hạt tinh bột hình tròn, rốn hạt phân nhánh. Hạt phấn hình tròn màu vàng. Tế bào lỗ khí. Tinh thể calci oxalat hình khối. Lông che chở. Sợi và bó sợi.

Định tính
A. Cho vào ống nghiệm 1 g bột dược liệu, thêm 5 ml *nước*, đun sôi nhẹ, lọc nóng. Dịch lọc cho vào ống nghiệm, thêm 10 ml *nước*. Lắc mạnh trong vòng 2 min theo chiều dọc của ống nghiệm. Xuất hiện cột bọt cao khoảng 4 cm và bền trong ít nhất 15 min.
B. Lấy 2 g bột dược liệu vào ống nghiệm, thêm 10 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun nóng khoảng 80 °C trong 10 min, lọc nóng. Bốc hơi dịch lọc tới cạn, hòa tan cắn bằng 2 ml *nước*, thêm 3 ml *n-hexan (TT)*, lắc kỹ. Tách lấy lớp nước, cô trong cách thủy đến cạn. Thêm 1 ml *cloroform (TT)*, lắc cho tan cắn. Thêm 1 ml *acid sulfuric (TT)*, lắc đều, xuất hiện màu đỏ.

Độ ẩm
Không quá 14,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 3 h).

Tro toàn phần
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không dưới 20,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *nước* làm dung môi.

Chế biến
Thu hái vào khoảng tháng 3 đến 4 trong năm, rửa sạch, phơi khô hoặc sấy khô ở nhiệt độ 50 °C đến 60 °C. Khi dùng cắt thành đoạn 3 cm đến 5 cm và vi sao.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô, tránh ẩm mốc, sâu mọt.

Tính vị, quy kinh
Vị đắng tính mát. Vào kinh can, đởm, bàng quang.

Công năng, chủ trị
Thanh trừ thấp nhiệt. Kiện tỳ, lợi tiểu, tiêu viêm, nhuận gan mật. Chủ trị: Các chứng sốt cao, tiểu bí, tiểu buốt, đắt, viêm gan vàng da, ăn uống không tiêu, dị ứng mẩn ngứa, u nhọt.

Cách dùng, liều lượng
Dùng dưới dạng thuốc sắc, ngày 8 g đến 12 g dược liệu khô. Dùng ngoài: Giã nát, thêm ít dầu thầu dầu, trộn đều rồi hơ nóng làm thuốc đắp trị đau đầu, hoặc đem cây tươi nấu nước rửa chỗ bị ngứa, ghẻ lở, mụn nhọt ngoài da. Lượng thích hợp.

RAU MÁ
Herba Centellae asiaticae
Tinh tuyết thảo

Toàn cây tươi hoặc phơi khô của cây Rau má (*Centella asiatica* Urb.), họ Hoa tán (Apiaceae).

Mô tả
Rau má là loại cỏ mọc bò, có rễ ở các mấu. Lá hình mắt chim, rộng 2 cm đến 4 cm, khía tai bèo, cuống lá dài 2 cm đến 4 cm ở những nhánh mang hoa và 8 cm đến 12 cm ở những nhánh thường. Cụm hoa là một tán đơn ngắn, hình tán đơn, mọc ở nách lá. Quả rù mọc đôi, dẹt, tròn, rộng 3 mm đến 5 mm, có cạnh dọc nhô lên và vân lưới nhỏ rõ rệt, cuống quả rất ngắn.
Dược liệu khô thường cuộn lại thành khối. Rễ dài 2 cm đến 4 cm, đường kính 1 mm đến 1,5 mm; mặt ngoài màu nâu vàng nhạt hoặc màu vàng xám. Thân dài nhỏ, cong queo, màu vàng nâu, có vân nhăn dọc, trên mấu thường thấy rễ. Phiến lá có nhiều vết nhăn rách, đường kính 1 cm đến 4 cm, màu lục xám, mép có răng thô. Cuống lá dài 3 cm đến 6 cm, cong queo. Mùi nhẹ, vị nhạt.

Vi phẫu
Thân: Biểu bì gồm 2 đến 3 hàng tế bào hình chữ nhật. Mô dày ở những chỗ lồi của thân. Ống tiết ở sát biểu bì, đường kính 23 µm đến 24 µm gồm có 5 đến 7 tế bào tiết. Mô mềm ruột. Các bó libe-gỗ chồng kép, xếp theo vòng tròn liên tục, mỗi bó gồm: một đám mô cứng, libe và gỗ. Tầng sinh libe-gỗ gồm một lớp tế bào xếp đều đặn giữa libe và gỗ. Mô mềm ruột.

Định tính
A. Lấy 5 g bột dược liệu, thêm 50 ml *ethanol 20 % (TT)*, để qua đêm. Lọc, thêm *dung dịch chì acetat 10 % (TT)* vào dịch lọc đến khi tủa hết. Lọc lấy dung dịch, sau đó loại chì thừa bằng 5 ml *dung dịch natri sulfat bão hòa (TT)*. Lọc, lấy dịch lọc cho vào bình gạn, thêm cùng một thể tích hỗn hợp *ethanol - cloroform* (1 : 3). Lắc, để lắng, gạn lấy phần ethanol - cloroform. Làm khan nước trong 12 h với *natri sulfat khan (TT)*, bốc hơi dung môi trên cách thủy cho đến khô. Hòa cắn trong 2 ml *ethanol (TT)* được dung dịch A dùng làm các phản ứng sau:
Lấy 0,5 ml dung dịch A cho vào ống nghiệm, cho một vài tinh thể *α-naphtol (TT)* rồi thêm 1 ml *acid sulfuric (TT)*, xuất hiện màu đỏ carmin.
Lấy 0,5 ml dung dịch A, thêm 0,5 ml thuốc thử mới pha, hỗn hợp gồm 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)* và 9,5 ml *dung dịch acid picric bão hòa (TT)*, xuất hiện màu đỏ da cam.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Cloroform - methanol - nước* (7 : 3 : 0,5).
Dung dịch thử: Lấy 1,0 g bột dược liệu (qua cỡ rây số 250), thêm 25 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun hồi lưu 30 min, lọc, bốc hơi dịch lọc đến khô. Hòa tan cắn trong 20 ml *nước*, chiết hai lần với *n-butanol bão hòa nước (TT)*, mỗi lần 15 ml. Gộp các dịch chiết n-butanol, rửa bằng 15 ml *nước bão hòa n-butanol (TT)*, bỏ lớp nước, lấy lớp n-butanol bốc hơi đến khô. Hòa tan cắn trong 1 ml *methanol (TT)* dùng làm dung dịch thử.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan asiaticosid chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có asiaticosid thì dùng 1 g Rau má (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng khoảng 5 µl đến 10 µl dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*. Sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết có cùng màu và giá trị R_f với vết asiaticosid trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 4 h).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 3,5 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 25,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 50 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Hái toàn cây, rửa sạch, loại bỏ tạp chất, dùng dược liệu tươi hoặc phơi khô, khi dùng cắt đoạn.

Bảo quản
Để nơi khô.

Tính vị, quy kinh
Khổ, tân, hàn. Vào các kinh can, tỳ, thận.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt trừ thấp, giải độc, tiêu sưng. Chủ trị: Hoàng đản thấp nhiệt, tiêu chảy, thổ huyết, chảy máu cam, nhọt độc sưng. Tiểu tiện rất buốt.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 30 g đến 40 g Rau má tươi, vò nát, lấy nước hoặc sắc uống. Dùng dược liệu khô, ngày dùng từ 15 g đến 30 g. Dạng thuốc sắc.
Dùng ngoài: Dùng dược liệu tươi, giã nát, đắp chữa vết thương do ngã, gãy xương, bong gân và làm tan ung nhọt, lượng thích hợp.

RAU SAM
Herba Portulacae

Phần trên mặt đất còn tươi hay được phơi hoặc sấy khô của cây Rau sam (*Portulaca oleracea* L.) họ Rau sam (Portulacaceae).

Mô tả
Đoạn thân lá có thể mang hoa và quả, dài ngắn không đều, có thể tới 30 cm, mềm dẻo, thường cuộn lại thành đám rối màu nâu hay nâu đen. Thân hình trụ đường kính 1 mm đến 2 mm có những rãnh dọc. Lá hình trứng ngược, đầu lá có thể hơi lõm vào dạng như hình tim, mọc đối, ở ngọn lá mang có thể mọc gần như tỏa tròn phía dưới hoa. Hoa không cuống, mọc thành cụm ở đầu cành. Quả nang mở bằng nắp với nhiều hạt nhỏ. Mùi đặc trưng; vị nhạt hơi chua.

Vi phẫu
Thân có tiết diện gần như tròn. Một hay hai lớp mô dày phiến. Mô mềm vỏ to với các tế bào gần tròn, có nhiều khoảng gian bào. Mô mềm có nhiều tinh thể calci oxalat. Bó libe-gỗ cấp 1 có dạng tam giác riêng lẻ hay hợp thành hình chữ V với gỗ ở phía trong, libe phía ngoài. Mô mềm tủy hẹp.
Lá có hình cung mặt trên, lồi rõ mặt dưới nơi gân giữa. Bó libe-gỗ làm thành hình lưỡi liềm tạo bởi 3 bó libe-gỗ cách rời nhau bởi hai khe hẹp gồm những tế bào nhỏ. Dưới lớp libe là lớp mô dày cũng bị chia cắt tương tự bó libe-gỗ. Mô mềm vùng phiến lá có rất nhiều tinh thể calci oxalat hình cầu gai và nhiều khuyết.

Bột
Bột màu nâu, mùi đặc trưng.
Mảnh biểu bì mang lỗ khí kiểu song bào, mảnh mô mềm mang đầy tinh thể calci oxalat hình cầu gai với kích thước không đều. Hạt tinh bột hình cầu có rốn hình sao. Mảnh mạch vạch, mạch mạng, đám tế bào mô cứng. Thỉnh thoảng gặp các mảnh biểu bì cánh hoa, các hạt phấn.

Định tính
A. Lấy 10 g bột dược liệu cho vào bình nón, chiết với 50 ml *ethanol 95 % (TT)* trên cách thủy trong 10 min. Lọc lấy dịch lọc, cô trên cách thủy còn khoảng 1/4 thể tích. Lắc dịch chiết với 20 ml *ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (TT)* (chia làm 3 lần, mỗi lần 10, 5, 5 ml). Lấy dịch cồn-nước còn lại, thêm 10 ml *nước*, chiết với *ethyl acetat (TT)* 3 lần, mỗi lần 10, 5, 5 ml. Gộp chung dịch ethyl acetat rồi bốc hơi dung môi trên cách thủy tới cạn. Hòa tan cắn trong 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 % (TT)*, lọc. Chia dịch lọc vào 3 ống nghiệm nhỏ, thêm riêng biệt vào mỗi ống 2 giọt đến 3 giọt các *thuốc thử Mayer (TT)*, *thuốc thử Bouchardat (TT)* và *thuốc thử Bertrand (TT)*, lắc nhẹ. Các dung dịch phải xuất hiện tủa.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel $G60F_{254}$.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - amoniac (9 : 1 : 0,05).
Dung dịch thử. Lấy khoảng 3 g bột dược liệu, thêm 10 ml *n-hexan (TT)*, siêu âm trong 10 min, gạn bỏ lớp n-hexan, để dược liệu trên cách thủy cho bay hơi hết dung môi. Để nguội, thêm 20 ml *cloroform (TT)*, lắc siêu âm 30 min, lọc, bay hơi dịch lọc trên cách thủy còn khoảng 1 ml làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 3 g bột Rau sam (mẫu chuẩn) chiết như mẫu thử.
Cách tiến hành: Trên một bản mỏng chấm riêng biệt 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi khai triển xong, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí, phun *dung dịch vanilin 2 % trong acid sulfuric (TT)*, sấy bản mỏng ở 110 °C cho đến khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % đối với dược liệu khô (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 16,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 15,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10), dùng *nước* làm dung môi.

Chế biến
Thuốc được thu hái vào mùa hè và mùa thu, loại vỏ tạp chất và rễ còn sót lại, rửa sạch, hấp qua hay trần qua nước sôi và phơi khô.

Bào chế
Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái đoạn, phơi khô.

Bảo quản
Nơi thoáng gió, tránh ẩm.

Tính vị, quy kinh
Toan, hàn. Vào các kinh tâm, đại tràng.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt giải độc, chỉ lỵ. Chủ trị: Xích bạch lỵ, đinh nhọt, eczema, thâm quầng, rắn hay trùng thú cắn, tiểu tiện ra huyết, tụ huyết.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 9 g đến 10 g dược liệu khô hoặc từ 30 g đến 60 g dược liệu tươi. Dùng ngoài giã nát đắp tại chỗ với lượng thích hợp.

RÂU MÈO

Herba Orthosiphonis spiralis

Thân, cành mang lá, hoa đã phơi hoặc sấy khô của cây Râu mèo [*Orthosiphon spiralis* (Lour.) Merr. {*Clerodentranthus spicatus* (Thunb.) C.Y. Wu}], họ Bạc hà (Lamiaceae).

Mô tả

Thân non vuông, nhẹ, xốp, dài 20 cm đến 50 cm, đường kính 1 mm đến 3 mm, mặt ngoài màu nâu tím sẫm, có rãnh dọc và có lông trắng nhỏ. Lá nguyên có cuống ngắn, phiến hình mũi mác dài 4 cm đến 6 cm, rộng 2 cm đến 3 cm, mép có răng cưa, đầu lá thuôn nhọn, hai mặt lá màu lục sẫm, phần gân chính có phủ lông mịn. Cụm hoa là xim co ở ngọn thân và ở đầu cành. Dược liệu có mùi hăng, vị hơi mặn và sau hơi đắng.

Vi phẫu

Lá: Biểu bì trên và dưới mang lông che chở và lông tiết. Lông che chở có nhiều ở phần gân giữa, gồm 2 đến 6 tế bào, mặt lông phủ cutin lởm chởm. Lông tiết có chân ngắn 1 đến 2 tế bào, đầu 2 đến 4 tế bào, chân ngắn một tế bào nằm sâu trong lớp biểu bì. Hai đám mô dày nằm sát biểu bì trên và dưới ở phần gân chính. Bó libe-gỗ xếp hình vòng cung tách đôi nằm giữa phần mô mềm của gân chính. Phần phiến lá có mô dậu gồm một hàng tế bào hình chữ nhật xếp thẳng đứng dưới lớp biểu bì trên. Mô khuyết gồm 4 đến 6 hàng tế bào hình tròn.

Bột

Mảnh biểu bì và lỗ khí kiểu trực bào, lông che chở và lông tiết có dạng như đã mô tả ở phần vi phẫu. Mảnh mạch vạch, mạch xoắn, mạch mạng.

Định tính

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

Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.

Dung môi khai triển: *Toluen - ethyl acetat - aceton - acid formic* (5 : 2 : 2 : 1).

Dung dịch thử: Ngâm và lắc kỹ 1 g bột dược liệu với 5 ml *cloroform (TT)* trong khoảng 10 min. Lọc và dùng dịch trong làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g Râu mèo (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mẫu thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, làm khô bản mỏng và phun hỗn hợp *dung dịch acid boric 10 % - dung dịch acid oxalic 10 %* (2 : 1), sau đó sấy ở 105 °C đến khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm, vết màu vàng cho phát quang màu xanh lá mạ sáng.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất

Không quá 2,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 20,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol (TT)* làm dung môi.

Chế biến

Thu hái vào tháng 3 đến tháng 4, lúc cây có nụ, trước khi nở hoa. Lấy lá, thân và ngọn có nụ hoa về phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Tính vị, quy kinh

Cam đạm, vi khổ, lương. Vào các kinh thận, bàng quang.

Công năng, chủ trị

Thanh lợi thấp nhiệt, lợi tiểu. Chủ trị: Viêm thận, viêm bàng quang, sỏi thận, sỏi mật, viêm gan.

Cách dùng, liều dùng

Ngày dùng từ 5 g đến 6 g, dạng hãm hoặc sắc.

RÂU NGÔ

Styli et stigmata Maydis

Ngọc mễ tu

Là vòi và đầu nhụy của bắp cây Ngô (*Zea mays* L.), họ Lúa (Poaceae), được thu hái khi bắp chín, đem phơi khô hoặc sấy khô.

Mô tả

Dược liệu dạng sợi mảnh, khá dai, dài tới 20 cm, màu vàng nhạt hoặc nâu đậm, gồm những vòi nhụy cong queo, dẹt, phía trên mang đầu nhụy hai thùy. Các thùy đầu nhụy mảnh, có lông mịn.

Bột

Bột có màu nâu thẫm, vị hơi ngọt, mùi thơm. Soi kính hiển vi thấy: Nhiều sợi dài, có màu xanh hoặc tím ở một đầu. Hạt tinh bột đơn lẻ hoặc thành đám, hình đa giác hoặc gần tròn, rốn hạt rõ, hơi lệch. Lông che chở đa bào, thắt ở giữa. Mạch xoắn. Mô mềm chứa tinh bột. Bó sợi và mảnh bần.

Định tính

A. Lấy khoảng 10 g bột thô dược liệu, chiết như chỉ dẫn ở mục Định lượng, bắt đầu từ "cho vào bình Soxhlet" đến "thu hồi methanol dưới áp suất giảm rồi cô trên cách thủy tới cắn". Hòa tan cắn trong 10 ml *ethyl acetat (TT)*. Lọc. Bốc hơi dịch lọc ethyl acetat trên cách thủy sôi tới cắn. Hòa tan cắn trong 10 ml *methanol 80 % (TT)* được dung dịch A để làm các phản ứng sau đây:

Lấy 4 ml dung dịch A, cô cách thủy đến cạn, hòa cắn trong 1 ml *methanol 80 % (TT)*, thêm 5 giọt *acid hydrocloric (TT)* và một ít bột *magnesi (TT)*, sau vài phút sẽ xuất hiện màu hồng.
Lấy 1 ml dung dịch A, thêm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (TT)*, màu vàng tăng lên.
Lấy 1 ml dung dịch A, thêm 5 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, xuất hiện màu lục.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: *Cloroform - ethyl acetat - methanol* (15 : 1 : 1).
Dung dịch thử: Dung dịch A.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 5 g bột thô Râu ngô (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải xuất hiện các vết cùng màu sắc và cùng giá trị R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không được quá 13 % (Phụ lục 9.6, 3 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.8). Dùng 1 g dược liệu.

Tro không tan trong acid
Không được quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất
Không được quá 2 % (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ vụn nát
Không được quá 1,5 % (Phụ lục 12.12).
Dùng rây có kích thước mắt rây 2 mm.

Chất chiết được trong dược liệu
Cân chính xác khoảng 20 g bột thô dược liệu (đã xác định độ ẩm) cho vào bình Soxhlet có dung tích 100 ml, chiết bằng 120 ml *ether dầu hỏa (40 °C đến 60 °C) (TT)* trên cách thủy sôi để loại tạp trong 1 h. Lấy dược liệu ra làm bay hết hơi ether dầu hỏa. Tiếp tục cho vào bình Soxhlet, chiết với 120 ml *methanol 80 % (TT)* 8 h. Lấy dịch chiết, thu hồi methanol dưới áp suất giảm rồi cô trên cách thủy tới cắn. Hòa cắn với 30 ml *nước cất*, đun trong cách thủy sôi 15 min cho tan hết cắn. Để nguội. Chiết 5 lần, mỗi lần với 10 ml *ethyl acetat (TT)* (hoặc cho đến khi hết màu). Gộp dịch chiết ethyl acetat, thu hồi dung môi dưới áp suất giảm. Cho phần dịch còn lại vào một cốc thủy tinh đã được sấy khô và cân bì. Bay hơi trên cách thủy sôi tới cắn. Sấy cắn ở nhiệt độ 70 °C tới khối lượng không đổi. Cân và tính lượng chất chiết được trong dược liệu.
Hàm lượng chất chiết được trong dược liệu được tính theo công thức sau:

$$X\ (\%) = \frac{m \times 10^4}{a(100 - d)}$$

Trong đó:
X là hàm lượng chất chiết được trong dược liệu (%);
m là khối lượng cắn (g);
a là khối lượng dược liệu (g);
d là độ ẩm của dược liệu (%).
Hàm lượng chất chiết được trong dược liệu không dưới 2,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Sau khi thu hái, phơi nắng đến khô. Phơi nhiều nắng, thường xuyên lật đảo cho khô đều hoặc sấy khô ở nhiệt độ từ 60 °C đến 70 °C.

Bảo quản
Trong các dụng cụ như ró, bị hoặc bao tải. Để nơi cao, khô ráo, thoáng gió. Tránh nấm mốc, sâu mọt.

Tính vị, quy kinh
Vị ngọt. Tính bình. Vào kinh thận và bàng quang.

Công năng, chủ trị
Lợi tiểu, thông mật, hạ huyết áp, hạ đường huyết, cầm máu. Chủ trị: Tiểu tiện buốt, dắt; nước tiểu vàng đỏ, sỏi đường tiết niệu, viêm gan, viêm túi mật, sỏi mật, tăng huyết áp, tiểu đường, chảy máu cam.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 30 g đến 50 g, dưới dạng thuốc sắc, dạng chè thuốc; dùng riêng hoặc phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Không dùng cho các trường hợp hư hàn, đái dầm.

RỄ QUẠT (Thân rễ)

Rhizoma Belamcandae chinensis

Xạ can

Thân rễ để nguyên hay được cắt thành phiến mỏng đã phơi hay sấy khô của cây Rẻ quạt [*Belamcanda chinensis* (L.) DC.], họ La dơn (Iridaceae).

Mô tả
Đoạn thân rễ màu vàng nâu nhạt đến nâu, dài 3 cm đến 10 cm, đường kính 1 cm đến 2 cm, có những vân ngang là vết tích của nơi đính lá, còn sót lại những rễ ngắn, nhiều nốt sần nhỏ là vết tích của rễ con, hay những phiến có dạng hình trái xoan hay tròn, dài 1 cm đến 5 cm, rộng 1 cm đến 2 cm, dày 0,3 cm đến 1 cm, mép lồi lõm không đều, màu vàng nâu nhạt đến vàng nâu. Mặt cắt ngang nhẵn, màu trắng ngà hay vàng nhạt, nhìn rõ hai phần: phần ngoài màu sẫm, phía trong nhạt hơn, có nhiều điểm nhỏ của các bó libe-gỗ. Phiến cắt dọc có vỏ ngoài màu nâu sẫm, mặt cắt có những sợi dọc. Mùi thơm nhẹ, vị đắng, hơi cay.

Vi phẫu
Lớp bần dày, gồm những tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn. Mô mềm vỏ cấu tạo bởi những tế bào thành mỏng, chứa nhiều hạt tinh bột và tinh thể calci oxalat hình lăng trụ, rải rác có thể có các bó libe-gỗ là vết tích bó mạch của lá. Nội bì gồm một lớp tế bào nhỏ bao quanh phần trụ giữa. Các bó libe-gỗ đồng tâm (gỗ bao bọc libe) tập trung ở vùng sát nội bì, thưa hơn ở phần trung tâm. Mô mềm ruột gồm những tế bào thành mỏng có chứa hạt tinh bột và tinh thể calci oxalat hình lăng trụ.

Bột
Mảnh bần gồm những tế bào nhiều cạnh, thành dày, màu nâu. Mảnh mô mềm gồm những tế bào chứa hạt tinh bột. Hạt tinh bột nhỏ, hình tròn và hơi trái xoan, đường kính 2 µm đến 17 µm, thỉnh thoảng gặp những hạt tinh bột kép gồm 2 đến 5 hạt đơn. Tinh thể calci oxalat hình lăng trụ nguyên hay bị gãy.

Định tính
Lấy 5 g bột dược liệu, thêm 40 ml *ethanol (TT)*, đun hồi lưu cách thủy trong 30 min. Lọc, cô dịch lọc còn khoảng 10 ml. Nhỏ dịch lọc lên giấy lọc thành 2 vết riêng biệt, nhỏ tiếp lên một vết dịch lọc 1 giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, để khô, soi dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Vết dịch lọc không có natri hydroxyd cho huỳnh quang vàng cam nhạt, vết dịch lọc có natri hydroxyd cho huỳnh quang vàng sáng.
Lấy 2 ml dịch lọc vào ống nghiệm, thêm một ít bột *magnesi (TT)* và 2 giọt đến 3 giọt dung dịch *acid hydrocloric (TT)*. Dung dịch có màu đỏ cam.
Lấy 2 ml dịch lọc vào ống nghiệm, thêm 2 ml *cloroform (TT)* và 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, lắc mạnh. Đun trên cách thủy 2 min, lắc đều, lớp nước kiềm có màu đỏ.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần
Không quá 8,5 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric
Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Tỷ lệ vụn nát
Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 5 % (Phụ lục 12.12).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 18,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 90 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch vào đầu mùa xuân, khi cây mới nảy mầm hoặc cuối thu, khi lá khô héo, đào lấy thân rễ, loại bỏ rễ con, rửa sạch, phơi khô.

Bào chế
Dược liệu khô đã loại bỏ tạp chất rửa sạch, ủ mềm, thái lát phơi khô.

Bảo quản
Để nơi khô, mát, trong bao bì kín, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Khổ, hàn. Vào kinh phế, can.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt giải độc, hóa đàm bình suyễn. Chủ trị: Họng sưng đau, ho đờm, suyễn tức.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 6 g, dạng thuốc sắc hoặc bột; làm viên ngậm, uống. Thường dùng phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Phụ nữ có thai không nên dùng.

RIỀNG (Thân rễ)
Rhizoma Alpiniae officinari

Thân rễ đã phơi khô của cây Riềng (*Alpinia officinarum* Hance), họ Gừng (Zingiberaceae).

Mô tả
Thân rễ hình trụ, thường cong và phân nhánh nhiều, dài 5 cm đến 9 cm hoặc hơn, đường kính 2 cm đến 4 cm. Mặt ngoài màu nâu đỏ đến nâu sẫm, có nhiều nếp nhăn dọc và những mấu vòng màu xám; mỗi mấu dài 0,2 cm đến 1 cm, mang vết tích của rễ con. Thể chất dai, chắc, khó bẻ gẫy. Mặt gẫy màu vàng xám hay nâu đỏ. Vùng trụ chiếm 1/3 mặt cắt của thân rễ. Mùi thơm, vị hăng, cay.

Vi phẫu
Biểu bì gồm một lớp tế bào hình chữ nhật, nhỏ xếp tương đối đều đặn, một số tế bào còn chứa khối nhựa màu nâu đỏ. Mô mềm vỏ khuyết. Nội bì thấy rõ, sát lớp nội bì là lớp trụ bì. Các bó libe-gỗ rải rác trong phần mô mềm vỏ và mô mềm ruột, tập trung nhiều nhất ở sát lớp nội bì. Mỗi bó hình tròn hay hình trứng có mạch gỗ và libe ở giữa, bao quanh là các sợi, rải rác có các mạch gỗ bị cắt dọc. Nhiều tế bào tiết tinh dầu rải rác khắp mô mềm ruột và mô mềm vỏ.

Bột
Mảnh biểu bì gồm các tế bào hình đa giác, màu vàng nâu. Mảnh mô mềm gồm những tế bào hình nhiều cạnh rải rác có chứa tế bào tiết tinh dầu màu vàng nhạt. Tinh bột hình que ngắn, tròn ở hai đầu. Sợi có thành mỏng. Khối nhựa màu nâu đỏ. Mảnh mạch vạch, mạch vòng, mạch điểm.

Định tính
A. Lấy 5 g bột dược liệu cho vào bình nón nút mài, thêm 20 ml *ethanol 96 %* (TT), đun sôi, lắc đều, lọc.
Lấy 2 ml dịch lọc, thêm vài giọt *dung dịch sắt (III) clorid 1 % (TT)*, xuất hiện màu xanh đen.

Lấy 5 ml dịch lọc cho vào chén sứ, cô đến cắn. Hòa cắn với 5 ml thuốc thử xanthydrol {Lấy 10 mg *xanthydrol (TT)* hòa tan trong 99 ml *acid acetic (TT)*, thêm 1 ml *acid hydrocloric (TT)*, dùng trong vòng 1 ngày đến 2 ngày}, chuyển vào ống nghiệm. Đậy ống nghiệm bằng nút bông rồi nhúng vào nước nóng trong 3 min đến 5 min, dung dịch xuất hiện màu đỏ mận.

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

Bản mỏng: Silica gel F_{254}.

Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) - ethyl acetat (8 : 2).

Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 5 ml *cloroform (TT)*, lắc trong 5 min, lọc, cô dịch lọc còn khoảng 0,5 ml, lấy dịch này làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột Riềng (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi khai triển xong, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng rồi phun *thuốc thử vanilin - sulfuric (TT)*. Sấy bản mỏng ở 110 °C cho đến khi xuất hiện vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết (ít nhất 5 vết) cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 4,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu

Không dưới 5,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 90 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào cuối mùa hạ, đầu mùa thu, loại bỏ các rễ sợi và các bẹ vảy lá còn sót lại. Rửa sạch, cắt đoạn và phơi khô.

Bào chế

Lấy dược liệu khô, loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái lát mỏng và phơi khô.

Bảo quản

Nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh

Tân, nhiệt. Quy vào các kinh tỳ, vị.

Công năng, chủ trị

Ôn trung tán hàn, tiêu thực và chỉ thống. Chủ trị: Thượng vị đau lạnh, nôn mửa, vị hàn ợ chua.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 6 g, dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ

Nôn mửa do vị hỏa và hoặc loạn do tràng nhiệt không nên dùng.

RONG MƠ

Sargassum

Toàn bộ sợi tảo được rửa qua nước ngọt, phơi khô của một số loài Rong mơ (*Sargassum henslowianum* J. Agarah), họ Rong đuôi ngựa (Sargassaceae).

Mô tả

Loại tản có phao hình cầu hay hình bầu dục: Tản cấu tạo bởi những sợi phân nhánh màu đỏ nâu đến nâu đen; đường kính khoảng 0,1 cm, khô, giòn, dễ gẫy. Những sợi này mang những bộ phận mỏng, dẹt như lá. Kích thước thay đổi, loại nhỏ nhất dài 0,8 cm đến 1 cm, rộng khoảng 0,2 cm, loại to nhất dài 10 cm đến 12 cm, rộng khoảng 1 cm, có 1 gân giữa, soi lên ánh sáng có màu nâu đỏ và có những chấm đen. Mép có răng cưa. Rải rác từng quãng có những phao để rong mọc đứng trong nước. Phao hình cầu hay hình bầu dục, kích thước phao thay đổi tùy theo từng loại rong; loại nhỏ nhất dài khoảng 0,2 cm, đường kính khoảng 0,1 cm; loại to nhất dài khoảng 1 cm, đường kính khoảng 0,6 cm, màu đỏ nâu đến nâu đen, trong chứa đầy khí. Gốc tản rộng.

Loại tản có phao hình hạt gạo: Hình dạng chung như trên, nhưng phần dẹt như lá dài khoảng 2 cm, rộng khoảng 0,3 cm. Phao hình hạt gạo dài khoảng 0,8 cm, đường kính khoảng 0,1 cm, đầu nhọn, mặt ngoài cũng có chấm đen.

Mùi tanh, vị hơi mặn.

Vi phẫu

Bộ phận dẹt như lá: Ngoài cùng có một lớp tế bào nhỏ xếp đều đặn màu nâu tím, bao xung quanh từng quãng có bộ phận sinh sản ăn sâu vào trong gọi là bào phòng. Trong bào phòng có lông. Lớp ruột gồm tế bào hình nhiều cạnh, to, không đều xếp sít nhau. Trong tế bào ruột còn có một hoặc nhiều hạt hình bầu dục chứa chất dự trữ. Ở giữa ruột có một đám tế bào nhỏ hơn.

Bộ phận hình sợi: Về cấu tạo bên trong giống như bộ phận dẹt nói trên, chỉ khác hình dạng bên ngoài, không có bộ phận sinh sản. Ở gốc tản lớp ngoài gồm những tế bào hình sợi xoắn chặt với nhau thành từng lớp ngang dọc tương đối đều.

Bộ phận như quả (phao): Phía ngoài gồm một lớp tế bào nhỏ, xếp sít nhau bắt màu nâu sẫm. Ở giữa gồm các tế bào to tròn, màng mỏng, xếp sít nhau (không có khoảng gian bào). Trong cùng gồm một lớp tế bào dẹt.

Định tính

A. Lấy 1 g dược liệu cắt vụn, thêm vào 20 ml nước, ngâm lạnh 2 h, lọc, cô dịch lọc trên cách thủy đến khi còn khoảng 3 ml đến 5 ml, thêm vài giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, sẽ xuất hiện tủa màu nâu lắng xuống.

B. Cho 5 g bột dược liệu vào 1 chén sứ đường kính 5 cm đến 6 cm, thêm 0,5 g *natri hydroxyd (TT)* và 1 g *kali carbonat (TT)*. Đốt hỗn hợp trên cho đến khi có màu

đen. Sau đó cho vào lò nung và nung ở 350 °C trong 1 h. Để nguội, thêm 5 ml *nước* và thêm từ từ *acid sulfuric (TT)* cho đến khi hỗn hợp có pH acid. Chuyển tất cả vào một bình gạn, thêm 3 ml *cloroform (TT)* và từng giọt dung dịch *cloramin T (TT)* 0,5 % trong *nước (TT)*, lắc kỹ lớp cloroform có màu tím đỏ.

Độ ẩm
Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 18,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 3,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến
Thu hoạch vào mùa hạ và mùa thu, vớt Rong mơ, rửa bằng nước ngọt 2 lần đến 3 lần để loại muối và tạp chất. Phơi hoặc sấy khô ở 40 °C đến 50 °C.

Bào chế
Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, phơi qua, cắt đoạn, phơi khô.

Bảo quản
Nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh
Khổ, hàm, hàn. Quy vào các kinh vị, can, thận.

Công năng, chủ trị
Tiêu đàm nhuyễn kiên, lợi thủy tiêu phù. Chủ trị: Bướu cổ và tràng nhạc, sán khí, phù thũng.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc, thuốc bột, thuốc viên, có thể dùng dược liệu tươi.

Kiêng kỵ
Không nên phối hợp với Cam thảo, Nguyên hoa, Đại kích. Tỳ vị hư hàn thấp trệ không nên dùng.

SA NHÂN (Quả)
Fructus Amomi

Quả gần chín đã bóc vỏ và phơi khô của cây Sa nhân (*Amomum villosum* Lour. và *Amomum longiligulare* T. L. Wu), họ Gừng (Zingiberaceae).

Mô tả
Amomum villosum Lour.: Hình bầu dục hay hình trứng, dài 1,5 cm đến 2 cm, đường kính 1 cm đến 1,5 cm, màu nâu nhạt hay nâu sẫm, có 3 gờ tù (vách ngăn); mỗi ngăn có chứa 7 đến 26 hạt. Bên ngoài mỗi hạt có một màng mỏng, màu trắng mờ (áo hạt) chụm thành một khối. Hạt màu nâu sẫm, cứng nhăn nheo, đường kính 2 cm đến 3 cm, dính theo lối đính noãn trụ giữa. Cắt ngang thấy vỏ hạt màu nâu sẫm, hình khối nhiều mặt, ngoại nhũ màu trắng, nội nhũ màu trắng ngà. Mùi thơm, vị hơi cay.

Amomum longiligulare T. L. Wu: Hình bầu dục hay hình trứng dài, có 3 gờ tù, dài 1,5 cm đến 2 cm, đường kính 0,8 cm đến 1,2 cm. Bên ngoài mỗi quả có gờ phân nhánh mịn như tuyết, có sẹo của cuống hoa để lại. Hạt màu nâu sẫm, cứng. Khối lượng các hạt tương đối nhỏ, mỗi quả có 3 đến 24 hạt, đường kính 1,5 mm đến 2 mm. Mùi thơm và vị hơi nhạt.

Định tính
A. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại, bột dược liệu phát quang màu tím nâu.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Cyclohexan - ethyl acetat* (22 : 1).
Dung dịch thử: Hòa tan tinh dầu thu được khi Định lượng trong *ethanol 96 % (TT)* để được dung dịch có chứa 20 µl/ml.
Dung dịch đối chiếu: Lấy Sa nhân (mẫu chuẩn) cất lấy tinh dầu và chuẩn bị như dung dịch thử hoặc hòa tan bornyl acetat chuẩn trong *ethanol 96 % (TT)* để được dung dịch có chứa 10 µl/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai xong, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng, phun lên bản mỏng *dung dịch vanilin 5 % trong acid sulfuric*. Sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu hoặc phải có vết có cùng màu đỏ tía và giá trị R_f với vết bornyl acetat trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 14,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần
Không quá 7,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Tỷ lệ hạt rời: Không quá 10,0 %.
Tạp chất hữu cơ: Không quá 1,0 %.
Tỷ lệ hạt non: Không quá 2,0 %.

Định lượng
Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7), dùng 20 g bột dược liệu và 150 ml *nước*, cất trong 4 h. Dược liệu phải chứa ít nhất 3,0 % tinh dầu đối với loài *A. villosum* và ít nhất 1,5 % tinh dầu đối với loài *A. longiligulare* tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa hạ, mùa thu, lúc trời khô ráo, hái lấy quả chín, để cả vỏ, tãi phơi ngay cho thật khô; nếu không gặp nắng phải sấy kịp thời; tốt nhất ngày phơi, đêm sấy, khoảng 4 ngày đến 5 ngày thì khô. Quả Sa nhân khô kiệt đem bóc bỏ vỏ, lấy khối hạt đem phơi hoặc sấy nhẹ (40 °C đến 45 °C) đến khô.

Bảo quản
Để nơi khô mát, thoáng gió tránh nóng ẩm.

Tính vị, quy kinh
Tân, ôn. Vào các kinh tỳ, vị thận.

Công năng, chủ trị
Hành khí hóa thấp, ôn trung tán hàn, khai vị tiêu thực, an thai. Chủ trị: Ăn không tiêu, đau bụng lạnh, nôn mửa, tiêu chảy thuộc hàn, đau nhức xương khớp, cơ nhục, động thai.

Cách dùng, liều dùng
Ngày dùng từ 3 g đến 6 g, dạng thuốc sắc, hoặc hoàn tán.

Kiêng kỵ
Âm hư nội nhiệt không nên dùng.

SA SÂM (Rễ)
Radix Glehniae
Sa sâm bắc

Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Sa sâm (*Glehnia littoralis* Fr. Schmidt ex Miq.), họ Hoa tán (Apiaceae).

Mô tả
Rễ hình trụ, đôi khi phân nhánh, dài 15 cm đến 45 cm, đường kính 0,4 cm đến 1,2 cm. Đầu trên hơi nhỏ, phần giữa phình to, phần dưới nhỏ dần. Mặt ngoài màu trắng vàng nhạt, hơi thô, đôi khi còn sót lại lớp ngoài. Nếu không bỏ lớp ngoài, bên ngoài có màu nâu vàng, có vân hay nếp nhăn dọc nhỏ hoặc rãnh dọc, còn vết rễ con lồm đồm màu vàng nâu. Đầu rễ nhọn dần, cổ rễ thường mang gốc thân màu vàng nâu, chất giòn, dễ bẻ gãy. Mặt bẻ: Phần ngoài màu trắng hoặc vàng nhạt, phần gỗ ở trong màu vàng. Mùi đặc biệt. Vị hơi ngọt.

Vi phẫu
Mô mềm gồm vài hàng tế bào, có ống tiết rải rác (nếu không bỏ lớp ngoài sẽ thấy tầng bần), phần libe rộng, tia ruột rõ ràng, nhóm ống rây đồ ra phía ngoài xếp như hình dải hẹp; ống tiết rải rác, đường kính 20 µm đến 65 µm, bên trong chứa chất tiết màu vàng nâu, có 5 đến 8 tế bào tiết bao quanh. Tầng phát sinh libe-gỗ có hình vòng tròn. Những tia gỗ gồm 2 đến 5 hàng tế bào, mạch gỗ phần lớn sắp xếp theo hình chữ V, tế bào mô mềm chứa hạt tinh bột đã hồ hóa.

Bột
Màu trắng ngà. Mảnh mô mềm, mảnh bần. Mảnh mạch vạch. Mạch điểm; mảnh mô mềm gỗ tế bào hẹp, dài, có khi dính cả mạch gỗ.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất
Mầu gốc thân còn sót lại và tạp chất khác: Không quá 2,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 1,5 % (Phụ lục 9.7).

Chế biến
Thu hoạch vào mùa hè hoặc mùa thu, đào lấy rễ, cắt bỏ thân cây và rễ con, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô hoặc phơi đến se, nhúng vào nước sôi, bỏ lớp vỏ ngoài, phơi hoặc sấy khô. Khi dùng loại bỏ tạp chất và phần thân còn sót lại, ủ hơi mềm, cắt thành đoạn.

Bảo quản
Để nơi khô, tránh sâu mọt.

Tính vị, quy kinh
Cam, vi khổ, vi hàn. Vào các kinh phế, vị.

Công năng, chủ trị
Nhuận phế, thanh táo nhiệt, ích vị sinh tân. Chủ trị: Phế có táo nhiệt: ho khan, ho kéo dài, đờm đặc ít, sốt, họng khô, khát do âm hư tân dịch giảm sút. Miệng, môi khô, lở loét, chảy máu chân răng do vị nhiệt.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 4,5 g đến 9 g, dạng thuốc sắc. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Không dùng kết hợp với Lê lô. Không dùng cho người ho do phế hàn.

SÀI ĐẤT
Herba Wedeliae

Phần trên mặt đất còn tươi hoặc phơi hay sấy khô của cây Sài đất [*Wedelia chinensis* (Osbeck) Merr.], họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả
Những đoạn thân ngắn không đều, mang lông cứng. Lá mọc đối gần như không cuống. Phiến lá hình bầu dục thon, hai đầu hơi nhọn, dài 1,5 cm đến 5 cm, rộng 0,8 cm đến 2 cm. Hai mặt có lông nhám, mặt trên màu lục xám, có đốm trắng, mặt dưới màu nhạt hơn. Gân chính và cặp gân phụ đầu tiên nổi rõ. Mép lá có 3 đến 5 đôi răng cưa rất thưa và nông. Cụm hoa hình đầu, màu vàng, mọc ở ngọn cành, cuống cụm hoa dài 5 cm đến 10 cm. Hoa ở vòng ngoài đơn tính (hoa cái), có cánh hoa hình lưỡi nhỏ, hoa ở giữa lưỡng tính, hình ống. Dược liệu có mùi hơi thơm. Vị hơi mặn.

Vi phẫu
Lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới có lông che chở gồm 3 đến 6 tế bào chứa nang thạch, gốc hơi phình to, đầu nhọn. Mặt ngoài lông che chở xù xì, trừ tế bào đầu lông nhọn và nhẵn. Rất hiếm loại lông nhẵn. Biểu bì ở lá non có thể mang lông tiết chân đơn bào, đầu đa bào.
Phần gân giữa: Tương ứng với hai phần lồi của gân chính có hai đám mô dày ở ngay sát lớp biểu bì. Ở giữa có một

bó libe-gỗ chính, có thể kèm theo 1 hoặc 2 bó libe-gỗ phụ, có cấu tạo giống libe-gỗ chính nhưng nhỏ hơn. Bó libe-gỗ có kèm 2 đám mô dày ở phía trên và dưới, libe xếp sát mô dày bên dưới, gỗ gồm một số mạch gỗ xếp sát đám mô dày phía trên.

Phần phiến lá: Mô dậu nằm sát biểu bì trên, có 1 hoặc 2 lớp tế bào hình chữ nhật, xếp dọc, sát nhau. Dưới mô dậu là mô khuyết.

Bột

Có nhiều lông che chở, nguyên vẹn hoặc gãy thành từng đoạn. Mỗi lông có 3 đến 6 tế bào chứa nang thạch, đầu nhọn, gốc hơi phình to, chứa chất màu vàng nhạt. Mặt ngoài lông xù xì. Riêng tế bào ở đầu lông nhẵn. Lông tiết chân đơn bào, đầu đa bào (rất ít). Mảnh biểu bì gồm những tế bào thành hơi nhăn, thường có kèm lỗ khí và lông che chở. Lỗ khí có 3 đến 4 hoặc 5 đến 6 tế bào kèm (kiểu hỗn bào). Nơi chân lông che chở dính với biểu bì có khoảng 11 đến 15 tế bào biểu bì xếp tỏa như hình hoa thị. Mảnh mạch mạng, mạch chấm, mạch xoắn. Sợi thành dày, khoang rộng. Tế bào mô dày hình nhiều cạnh, có ống trao đổi. Mảnh cánh hoa gồm tế bào thành mỏng hơi nhăn. Hạt phấn hoa hình cầu, màu vàng, mặt ngoài xù xì, có thể nhìn thấy rõ 3 lỗ nảy mầm ở một số hạt phấn.

Định tính

Cho khoảng 5 g đến 6 g dược liệu đã cắt nhỏ vào bình nón 250 ml, thêm khoảng 50 ml *ethanol 90 % (TT)*. Lắc đều. Đun hồi lưu trong 30 min. Lấy dịch lọc cô cách thủy còn khoảng 5 ml đến 6 ml để làm các phản ứng sau:

A. Lấy 1 ml đến 2 ml dịch lọc, thêm 5 giọt *acid hydrocloric (TT)* và một ít bột *magnesi (TT)* hoặc bột *kẽm (TT)*: dung dịch từ màu xanh chuyển sang đỏ cam, để lâu màu nhạt dần.

B. Lấy 1 ml đến 2 ml dịch lọc, thêm 5 giọt *dung dịch natri carbonat 10 % (TT)*, 3 ml đến 4 ml *nước*, đun sôi, để nguội, thêm 3 giọt *thuốc thử diazo (TT)* sẽ xuất hiện màu đỏ thẫm.

C. Nhỏ lên giấy lọc 1 giọt đến 2 giọt dịch lọc đã cô. Thêm 1 giọt *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol (TT)*. Để khô. Quan sát dưới ánh đèn tử ngoại ở bước sóng 366 nm, sẽ thấy huỳnh quang màu vàng nhạt (so sánh với vết dịch lọc trên giấy không nhỏ *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol*).

Độ ẩm

Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 20,0 % (Phụ lục 9.8).

Tỷ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước lỗ mắt rây 4 mm: Không quá 5 % (Phụ lục 12.12).

Tạp chất (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ lá biến màu (cháy đen): Không quá 1,0 %.

Tỷ lệ gốc rễ còn sót lại: Không quá 1,0 %.

Chế biến

Thu hái quanh năm. Cắt những đoạn thân trên mặt đất, loại bỏ rác bẩn, rửa sạch, dùng tươi hoặc phơi hay sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô, thoáng mát.

Tính vị, quy kinh

Vị hàm, vi khổ, lương. Vào ba kinh: Tâm, phế, vị.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt giải độc, tiêu viêm. Chủ trị: Mụn nhọt, ngứa lở, dị ứng.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 20 g đến 40 g, dạng thuốc sắc hoặc cao lỏng.

SÀI HỒ (Rễ)

Radix Bupleuri chinensis

Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Bắc Sài hồ (*Bupleurum chinense* DC.), họ Hoa tán (Apiaceae).

Mô tả

Rễ hình trụ hoặc hình nón thon dài, dài 6 cm đến 15 cm, đường kính 0,3 cm đến 0,8 cm. Phần đầu rễ phình to; ở đỉnh rễ có từ 3 đến 15 gốc thân hoặc có gốc lá dạng sợi ngắn. Phần dưới của rễ phân nhánh. Mặt ngoài màu nâu đen hoặc nâu sáng, có nhiều vết nhăn dọc, vết sẹo của rễ con và lỗ vỏ. Chất cứng và dai, khó bẻ gãy, mặt gãy có những lớp sợi, vỏ màu nâu sáng, phần gỗ màu trắng ngà. Mùi thơm nhẹ, vị hơi đắng.

Sài hồ phiến: Những phiến dày không đều. Bên ngoài màu nâu đen hoặc nâu nhạt, có các nếp nhăn dọc và vết sẹo của rễ con. Bề mặt phiến hơi trắng ngà, có xơ. Chất cứng. Mùi thơm nhẹ, vị hơi đắng.

Vi phẫu

Lớp bần gồm vài hàng tế bào dẹt. Vỏ hẹp, có các ống tiết chứa dầu; các ống tiết cũng nằm rải rác trong libe, gồm các tế bào tiết bao quanh, có chứa các chất tiết màu nâu vàng hoặc vàng lục hoặc các giọt dầu; libe thường có các khe nứt. Tầng phát sinh libe-gỗ thành vòng liên tục. Gỗ rộng, chiếm phần lớn rễ, mạch gỗ riêng lẻ hoặc tụ thành đám; tia gỗ rõ. Sợi gỗ rất phát triển xếp thành vòng không liên tục trong mô mềm gỗ.

Bột

Bột có màu nâu xám. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh bần gồm các tế bào màu nâu vàng, hình đa giác. Ống tiết chứa dầu thường bị gãy, có chứa một phần chất tiết màu nâu vàng hoặc vàng lục, đường kính 10 µm đến 50 µm. Sợi gỗ riêng lẻ hoặc tụ thành đám, thành dày, hóa gỗ. Nhiều mạch lưới và mạch xoắn.

Định tính

A. Lắc mạnh 0,5 g bột dược liệu với 10 ml *nước*, cho bọt bền.

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

Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Ethyl acetat - ethanol - nước (8 : 2 : 1).
Dung dịch thử: Lấy khoảng 0,5 g bột dược liệu thô, thêm 20 ml *methanol (TT)*, đun hồi lưu ở 80 °C trong khoảng 1 h, để nguội, lọc. Bốc hơi dịch lọc trên cách thủy đến còn khoảng 5 ml, lọc.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan saikosaponin A chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 0,5 mg/ml hoặc lấy khoảng 0,5 g bột Sài hồ (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu. Sau khi triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 8 cm đến 12 cm, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun dung dịch *p-dimethylaminobenzaldehyd (TT)* 2 % trong *acid sulfuric (TT)* 40 %. Sấy bản mỏng ở 60 °C cho tới khi xuất hiện vết (khoảng 5 min). Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu và giá trị R_f với vết saikosaponin A hoặc có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Thân, lá còn sót lại: Không quá 10,0 %.
Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Tro toàn phần
Không quá 8,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 3,5 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 11,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)
Pha động: Acetonitril - nước (38 : 62).
Dung dịch thử: Lấy chính xác khoảng 0,25 g bột dược liệu (qua rây số có cỡ mắt rây 0,850 mm) cho vào bình nón dung tích 50 ml, thêm 15 ml *dung dịch amoni hydroxyd trong methanol* {trộn 1 thể tích *dung dịch amoniac 25 % (TT)* với 4 thể tích *methanol (TT)*}. Siêu âm trong 30 min. Ly tâm 3200 r/min trong 10 min, lấy lớp dịch ở trên. Bã dược liệu được chiết như trên 2 lần nữa. Rửa bình và bã dược diệu bằng 15 ml *methanol (TT)*. Gộp dịch lọc và dịch rửa. Cất thu hồi dung môi đến cắn. Hòa tan cắn trong *methanol (TT)* vừa đủ 5 ml. Lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan saikosaponin A chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 1 mg/ml. Từ dung dịch này pha dãy dung dịch chuẩn có nồng độ 25, 50, 100, 300 µg/ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 210 nm.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký trong 30 min.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký 5 lần đối với dung dịch saikosaponin A chuẩn 100 µg/ml. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic saikosaponin A không lớn hơn 5,0 % và độ lệch chuẩn tương đối của thời gian lưu của saikosaponin A không được lớn hơn 5,0 %. Số đĩa lý thuyết của cột tính theo pic saikosaponin A không được nhỏ hơn 4000.
Độ phân giải giữa pic của saikosaponin A với pic gần nhất trên sắc ký đồ dung dịch thử không được nhỏ hơn 1,5.
Tiến hành sắc ký với các dung dịch chuẩn đã pha ở trên. Vẽ đường chuẩn biểu diễn sự liên quan giữa diện tích pic saikosaponin A và nồng độ các dung dịch tương ứng.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử. Xác định pic saikosaponin A trên sắc ký đồ của dung dịch thử bằng cách so sánh thời gian lưu với pic saikosaponin A trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn. Thời gian lưu của pic saikosaponin trên hai sắc ký đồ khác nhau không được quá 3,0 %.
Tính hàm lượng saikosaponin A trong dược liệu dựa vào diện tích pic saikosaponin A trên sắc ký đồ của dung dịch thử, đường chuẩn đã lập và hàm lượng $C_{42}H_{68}O_{13}$ trong saikosaponin A chuẩn.
Dược liệu phải chứa không ít hơn 0,16 % saikosaponin A ($C_{42}H_{68}O_{13}$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa xuân hay mùa thu, đào lấy rễ, cắt bỏ thân, lá trên mặt đất, rũ sạch đất cát, phơi hoặc sấy khô.
Sài hồ phiến: Loại bỏ tạp chất và phần sót lại của thân, lá, rửa sạch, ủ mềm, thái lát dày, phơi hoặc sấy khô.
Thố Sài hồ (Sài hồ sao dấm): Lấy Sài hồ phiến, cho dấm vào trộn đều, ủ cho đến khi dấm thấm hết vào lõi, cho vào chảo, sao nhỏ lửa, đảo đều đến khô. Dùng 12 L dấm cho 100 kg Sài hồ.

Bảo quản
Nơi thoáng mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Khổ, tân, vi, hàn. Quy vào các kinh: Can, đởm, tâm bào, tam tiêu.

Công năng, chủ trị
Hòa giải biểu lý, sơ can, thăng dương. Chủ trị: Hàn nhiệt vãng lai, ngực sườn đau trướng, miệng đắng, không muốn ăn, buồn nôn (như sốt rét); đau đầu, chóng mặt, dễ cáu gắt, rối loạn kinh nguyệt, sa dạ con, sa trực tràng.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, phối hợp trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ
Không dùng cho người can dương thượng thăng, âm hư hỏa vượng.

Chú ý:
Thân rễ cây Sài hồ lá dài (*Bupleurum longiradiatum* Turcz) bề ngoài phủ nhiều mấu tròn rất độc, không thể dùng làm vị thuốc Sài hồ được.

SÁP ONG TRẮNG
Cera alba

Sáp ong trắng là sáp ong vàng đã được tẩy màu.

Mô tả
Những khối sáp có hình dáng không nhất định, kích thước không đều nhau, thể rắn, màu trắng đục, cứng và giòn hơn Sáp ong vàng, không còn mùi mật ong, không vị, không tan trong nước, tan trong ethanol 96 % và ether nóng.

Tỷ trọng
Ở 20 °C: Khoảng 0,96 (Phụ lục 6.5).

Độ chảy
62 °C đến 69 °C (Phụ lục 6.7).

Mỡ, acid béo, nhựa và xà phòng
Yêu cầu và phương pháp thử: Xem chuyên luận "Sáp ong vàng".

Chỉ số acid
Từ 17 đến 24.
Phương pháp thử: Xem chuyên luận "Sáp ong vàng".

Chỉ số xà phòng
80 đến 100.
Phương pháp thử: Xem chuyên luận "Sáp ong vàng".

Bảo quản
Để nơi thoáng mát, tránh nhiệt độ cao.

SÁP ONG VÀNG
Cera flava

Chất sáp lấy từ tổ các loài Ong mật (*Apis cerana* Fabr. hoặc *Apis mellifera* L.,) hoặc các loài Ong mật khác thuộc chi *Apis*, họ Ong (Apidae).

Mô tả
Những mảnh hoặc cục nhỏ không đều nhau, hình dáng không nhất định, màu vàng hoặc nâu nhạt. Dùng tay bóp mềm ra và vặn được. Thể chất giòn hơn khi để ở nhiệt độ lạnh. Thoảng mùi mật ong, không vị. Không tan trong nước, tan được một phần trong ethanol 96 % nóng, tan trong ether nóng, cloroform, dầu béo và tinh dầu.

Tỷ trọng
Ở 20 °C: 0,960 đến 0,966 (Phụ lục 6.5).

Độ chảy
62 °C đến 66 °C (Phụ lục 6.7).

Mỡ, acid béo, nhựa, xà phòng
Lấy 2 g chế phẩm vào một cốc có mỏ dung tích 250 ml, thêm 70 ml *dung dịch natri hydroxyd 3,5 N (TT)*, đun sôi cẩn thận trong 30 min. Duy trì thể tích bằng cách thêm nước cho đủ. Để hỗn hợp nguội ở nhiệt độ phòng trong khoảng 2 h. Chất lỏng phải trong hoặc chỉ hơi mờ. Lọc qua bông thủy tinh, acid hóa dịch lọc bằng *acid hydrocloric (TT)*, dịch lọc không được đục, không tủa.

Chỉ số acid
17 đến 24 (Phụ lục 7.2).
Cân chính xác khoảng 3 g chế phẩm, cho vào bình nón có dung tích 250 ml, thêm 50 ml *ethanol (TT)* đã trung hòa trước với *dung dịch kali hydroxyd 0,1 N*. Đun nóng đến khi chảy tan hỗn hợp, lắc đều. Thêm 0,5 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* và chuẩn độ khi còn nóng bằng *dung dịch kali hydroxyd 0,1 N trong ethanol (CĐ)* đến khi dung dịch có màu hồng nhạt, bền vững trong 30 s, ghi số n ml *dung dịch kali hydroxyd 0,1 N (CĐ)* đã dùng.
Chỉ số acid của chế phẩm được tính theo công thức:

$$\text{Chỉ số acid} = \frac{n \times 5{,}61}{\text{Lượng chế phẩm (g)}}$$

Chỉ số xà phòng
80 đến 100 (Phụ lục 7.7).
Mẫu thử: Cân chính xác khoảng 3 g chế phẩm, cho vào một bình nón nút mài có dung tích 250 ml, thêm chính xác 25 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol (CĐ)* và 50 ml *ethanol 96 % (TT)*. Lắp sinh hàn hồi lưu. Đun hỗn hợp 4 h trong cách thủy sôi (hỗn hợp không còn bị đục khi pha loãng với nước), lấy ra để nguội, pha loãng dung dịch trong bình với 25 ml nước đun sôi để nguội. Thêm vào bình 5 giọt *phenolphtalein (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,5 N (CĐ)* cho đến khi dung dịch mất màu.
Mẫu trắng: Thực hiện trong điều kiện giống mẫu thử nhưng không có chế phẩm.
Tính kết quả theo công thức:

$$\text{Chỉ số xà phòng hóa} = \frac{(b - a) \times 28{,}05}{\text{Lượng chế phẩm đem thử (g)}}$$

Trong đó:
a là số ml *dung dịch acid hydrocloric 0,5 N (CĐ)* dùng cho mẫu thử
b là số ml *dung dịch acid hydrocloric 0,5 N (CĐ)* dùng cho mẫu trắng.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh nhiệt độ cao.

SẮN DÂY (Rễ củ)

Radix Puerariae thomsonii

Cát căn

Rễ củ đã phơi hay sấy khô của cây Sắn dây (*Pueraria thomsonii* Benth.), họ Đậu (Fabaceae).

Mô tả

Rễ củ đã cạo lớp bần bên ngoài, hình trụ, hoặc hình bán trụ, được cắt thành đoạn dài 12 cm đến 15 cm, đường kính 4 cm đến 8 cm, có khi là những lát cắt dọc hoặc vát, dày, có kích thước khác nhau. Mặt ngoài màu trắng hơi vàng, đôi khi còn sót lại ở các đường rãnh dọc một ít lớp bần màu nâu. Chất cứng, nặng và nhiều bột. Mặt cắt ngang có nhiều sợi tạo thành những vòng đồng tâm màu nâu nhạt; mặt cắt dọc có nhiều vân dọc do các sợi tạo nên. Mùi thơm nhẹ, vị hơi ngọt, mát.

Vi phẫu

Cắt ngang rễ đôi khi thấy lớp bần còn sót lại từng mảng màu nâu, gồm nhiều tế bào hình chữ nhật. Mô mềm vỏ gồm những tế bào hình nhiều cạnh không đều, thành mỏng. Trong mô mềm vỏ có libe-gỗ cấp 3 xếp thành một vòng đồng tâm hoặc thành từng vòng nhỏ. Libe cấp 2 hình nón, trong có nhiều đám sợi. Tầng sinh libe-gỗ thành vòng liên tục, gồm nhiều tế bào dẹt, có thành mỏng. Gỗ cấp 2 ít phát triển, rải rác có mạch gỗ với lớp mỏng mô mềm gỗ và những đám sợi nhỏ. Tia ruột khá rộng, loe ra ở phần mô mềm vỏ. Trong mô mềm vỏ còn chứa nhiều hạt tinh bột và rải rác có tinh thể calci oxalat hình khối.

Soi bột

Bột màu trắng hơi vàng, soi kính hiển vi thấy: Nhiều hạt tinh bột, hạt đơn hình chóm cầu, hình gần tròn hoặc hình nhiều cạnh, đường kính 3 µm đến 37 µm, rốn hình chấm, hình khe nứt hoặc hình sao; hạt kép gồm 2 hạt đến 10 hạt. Sợi thường tụ lại thành bó, thành dày và hóa gỗ, xung quanh là các tế bào chứa tinh thể calci oxalat hình lăng trụ tạo thành các sợi tinh thể. Các tế bào chứa tinh thể calci oxalat này có thành dày, hóa gỗ. Ít khi nhìn thấy tế bào đá hình gần tròn hoặc hình nhiều cạnh, đường kính 38 µm đến 70 µm. Mạch khá rộng, có đường viền lõm vào, vết lõm hình 6 cạnh, hình elip được sắp xếp rất dày đặc.

Định tính

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

Bản mỏng: *Silica gel* $60F_{254}$.

Dung môi khai triển: *Cloroform - methanol - nước* (7 : 2,5 : 0,25).

Dung dịch thử: Lấy 0,8 g bột thô dược liệu, thêm 20 ml *methanol (TT)*, lắc đều, ngâm trong 2 h, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)* làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan puerarin chuẩn trong *methanol (TT)* để có nồng độ khoảng 1 mg/ml.

Nếu không có puerarin chuẩn thì có thể dùng 0,8 g bột thô Sắn dây (mẫu chuẩn) chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu, triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm hoặc 366 nm.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử xuất hiện một số vết, trong đó phải có một vết chính có cùng màu sắc và giá trị R_f với vết puerarin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Nếu dùng bột Sắn dây chuẩn để chuẩn bị dung dịch đối chiếu thì trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 14,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C đến 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 0,5 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Rễ củ sắn dây được thu hoạch vào mùa thu hay mùa đông đào lấy rễ củ, rửa sạch, cạo bỏ vỏ ngoài, phơi hoặc sấy khô một phần, cắt thành khúc hay bổ dọc củ hay thái lát dày hoặc miếng và phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái lát và phơi khô.

Bảo quản

Để nơi thoáng mát, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Tân, cam, lương bình. Quy vào các kinh tỳ, vị.

Công năng, chủ trị

Giải cơ, thoát nhiệt, thấu chẩn, sinh tân chỉ khát, thăng tỳ dương để chỉ tả. Chủ trị: Sốt, cứng gáy, khát, tiêu khát, sởi chưa mọc, lỵ, ỉa chảy do ngoại tà.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 15 g, phối hợp với các vị thuốc khác.

SÂM BỐ CHÍNH (Rễ)

Radix Abelmoschi sagittifolii

Bố chính sâm, Thổ hào sâm, Nhân sâm Phú Yên

Rễ củ đã phơi hay sấy khô của cây Sâm bố chính [*Abelmoschus sagittifolius* (Kurz) Merr.], họ Bông (Malvaceae).

Mô tả

Rễ củ hình trụ, đầu dưới thuôn nhỏ, dài 10 cm trở lên, đường kính 0,5 cm đến 1,5 cm, đôi khi phân nhánh. Mặt ngoài màu trắng ngà, có nhiều nếp nhăn và vết sẹo của rễ con. Mặt bẻ màu trắng, có nhiều bột, không có xơ. Mùi hơi thơm, vị nhạt và nhày.

Vi phẫu
Lớp bần gồm 3 đến 6 hàng tế bào, có khi tới 10 hàng đến 15 hàng. Mô mềm vỏ cấu tạo bởi tế bào hình nhiều cạnh, chứa hạt tinh bột. Rải rác trong mô mềm có các tinh thể calci oxalat hình cầu gai và các túi tiết chất nhầy. Bó libe hình nón, rải rác có vài đám sợi. Bó gỗ cấu tạo bởi những đám mạch gỗ rải rác trong mô mềm gỗ. Tia ruột gồm 2 đến 3 hàng tế bào từ vùng gỗ ra tới vùng libe thì loe thành hình phễu. Tế bào tia ruột cũng chứa tinh bột.

Bột
Bột màu trắng ngà hay vàng nhạt, có nhiều hạt tinh bột riêng lẻ, hình dạng thay đổi, kích thước từ 12 µm đến 34 µm, có khi 2 đến 3 hạt dính với nhau. Sợi libe có thành hơi dày, rộng khoảng 20 µm. Mảnh mạch điểm, mạch mạng. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Mảnh mô mềm gồm nhiều tế bào chứa tinh bột.

Định tính
A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml *nước cất*, lắc trong 15 min, lọc qua bông thu được dung dịch A.
Lấy 1 ml dung dịch A, thêm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, dung dịch có màu vàng chanh.
Lấy 2 ml đến 3 ml dung dịch A, thêm vài giọt *dung dịch chì acetat 20 % (TT)*, sẽ có tủa trắng.
B. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm, bột dược liệu phát quang màu trắng sáng.
C. Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun cách thủy 10 min, để nguội, lọc. Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 ml *dung dịch natri hydrocarbonat 5 % (TT)*, đun cách thủy trong 3 min, để nguội. Thêm 1 đến 2 giọt *thuốc thử Diazo (TT)*, màu đỏ cam xuất hiện.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydroclorid
Không quá 7,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất
Không quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng
Cân chính xác khoảng 2 g bột dược liệu (qua rây có kích thước mắt rây 2 mm), cho vào bình nón, thêm *ethanol 25 % (TT)* ngập dược liệu, siêu âm nhiều lần ở nhiệt độ 40 °C đến 45 °C đến hết chất nhầy {Lấy 1 ml dịch chiết lần cuối cùng, thêm vài giọt *dung dịch chì acetat 20 % (TT)*, không còn tủa nữa là được}. Gộp các dịch chiết ethanol, bốc hơi đến đặng cao lỏng (1/5). Kết tủa chất nhầy bằng *dung dịch chì acetat 20 % (TT)* (dùng 15 ml đến 20 ml). Lọc qua giấy lọc đã cân bì trước. Rửa tủa trên giấy lọc đến khi nước rửa hết phản ứng của chì {lấy 1 ml dịch lọc, thêm vài giọt *dung dịch natri sulfat 10 % (TT)*, khi không còn tủa trắng là được}. Sấy khô tủa ở 110 °C đến khối lượng không đổi và cân. Dược liệu phải chứa không ít hơn 25,0 % chất chiết được bằng *ethanol 25 % (TT)*, tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa thu, đông. Đào lấy rễ củ, loại bỏ rễ con, phơi hoặc sấy khô. Có thể đồ chín hoặc ngâm nước gạo, vớt ra rửa sạch, đồ chín rồi phơi khô.

Bào chế
Rễ khô đã loại bỏ tạp chất, rửa sạch, thái phiến phơi khô. Khi dùng có thể chế Gừng.

Bảo quản
Để nơi khô, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Cam, đạm, bình. Vào hai kinh tỳ, phế.

Công năng, chủ trị
Bổ khí, ích huyết, sinh tân dịch, chỉ khát, chỉ ho, trừ đờm. Chủ trị: Cơ thể suy nhược, hư lao, kém ăn, kém ngủ, thần kinh suy nhược, hoa mắt, chóng mặt, đau dạ dày, tiêu chảy, ho, viêm họng, viêm phế quản.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 10 g đến 12 g, dạng thuốc sắc, tán bột, hoặc ngâm rượu uống.

Kiêng kỵ
Thể tạng hư hàn, phải chích gừng. Không dùng chung với Lê lô.

SÂM CAU (Thân rễ)
Rhizoma Curculiginis
Tiên mao

Thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Sâm cau (*Curculigo orchioides* Gaertn.), họ Thùy tiên (Amaryllidaceae).

Mô tả
Thân rễ hình trụ, hơi cong queo, dài 3 cm đến 10 cm, đường kính 4 mm đến 12 mm. Mặt ngoài màu nâu đen tới màu nâu, xù xì, có các lỗ sẹo rễ con và nhiều vết nhăn ngang. Chất cứng và giòn, dễ bẻ gãy, mặt gãy không phẳng, màu nâu nhạt tới nâu hoặc nâu đen ở giữa. Mùi thơm nhẹ, vị đắng và cay.

Vi phẫu
Lớp bần có 3 đến 10 hàng tế bào. Vỏ rộng, thường thấy các bó mạch là vết tích của các rễ con, các tế bào ở mép vỏ chứa tinh thể calci oxalat, nội bì rõ. Các bó mạch của trụ giữa chồng kép, rải rác. Tế bào chứa chất nhầy rải rác trong mô mềm, hình hơi tròn, đường kính 60 µm đến 200 µm, có chứa cụm tinh thể calci oxalat dài 50 µm đến 180 µm. Tế bào mô mềm chứa đầy hạt tinh bột.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G.*
Dung môi khai triển: *Ethyl acetat - methanol - acid formic* (10 : 1 : 0,1).
Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 30 min, lọc. Bay hơi dịch lọc tới cắn, hòa tan cắn trong 1 ml *ethyl acetat (TT)*, gạn lấy lớp dung dịch trong ở phía trên làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột Sâm cau (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí ở nhiệt độ phòng.
Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
Hoặc phun lên bản mỏng hỗn hợp dung môi gồm *dung dịch kali ferocyanid 2 % (TT)* và dung dịch *sắt (III) clorid (TT)* 2 % (1 : 1). Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric
Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất
Rễ con và gốc thân: Không quá 4 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 7,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Cây được thu hái vào mùa thu hay mùa đông. Đào lấy củ, loại bỏ đuôi và rễ sợi, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế
Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, thái lát, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Tân, ôn, hơi độc. Quy kinh can thận.

Công năng, chủ trị
Bổ thận tráng dương, cường cân cốt, khử hàn trừ thấp. Chủ trị: Liệt dương, di tinh đau nhức cơ khớp do hàn, chân tay yếu mềm, ỉa chảy sợ lạnh.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 9 g. Thường phối hợp với các thuốc khác.

SÂM ĐẠI HÀNH (Thân hành)

Bulbus Eleutherinis subaphyllae

Sâm cau, Tỏi lào, Hành lào

Thân hành đã phơi hay sấy khô của cây Sâm đại hành (*Eleutherine subaphylla* Gagnep.), họ Lay ơn (Iridaceae).

Mô tả
Thân hành (quen gọi là củ) tròn như củ hành hay dài, đường kính chỗ lớn nhất 1 cm đến 2 cm, dài 4 cm đến 5 cm, bên ngoài có một vài lớp vảy khô, phần trên màu nâu, phần dưới màu đỏ, các lớp bên trong màu đỏ tươi như máu. Cắt ngang củ thấy màu đỏ nhạt xen lẫn những vòng đồng tâm màu trắng. Củ còn mang một ít rễ nhỏ, dài 1 cm đến 3 cm.

Vi phẫu
Cắt ngang lớp vảy mọng nước thấy: Biểu bì ngoài gồm một hàng tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn. Mô mềm có nhiều hạt tinh bột và tinh thể calci oxalat hình que. Bó libe-gỗ chồng kép hình trái xoan nằm giữa lớp mô mềm, libe bao bọc hai đầu, gỗ ở giữa, mạch gỗ ít, xếp lộn xộn, lớp biểu bì trong gồm một hàng tế bào hình chữ nhật, mỏng hơn biểu bì ngoài.

Bột
Bột màu hồng, vị lúc đầu hơi đắng, sau ngọt. Soi kính hiển vi thấy nhiều hạt tinh bột đa dạng, kích thước mỗi hạt 1,6 µm đến 40 µm, một số hạt nhìn rõ rốn. Tinh thể calci oxalat hình que, có loại đầu nhọn trông như đầu bút chì, có loại đầu tù. Mảnh mạch. Mảnh mô mềm chứa hạt tinh bột. Mảnh biểu bì ngoài. Mảnh biểu bì trong.

Độ ẩm
Không quá 10,0 % (Phụ lục 12.13).
Dùng 10 g dược liệu cắt nhỏ.

Tạp chất
Không quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Chế biến
Thu hoạch từ cây 1 năm tuổi trở lên. Khi cây tàn lụi, đào lấy thân hành, cắt bỏ phần rễ, lá, rửa sạch thái dọc củ thành lát, phơi hoặc sấy khô (dưới 60 °C). Để nguyên miếng hoặc tán bột. Nếu chưa dùng thì sau khi đào củ, rũ sạch đất, để nguyên cả lớp rễ và vỏ ngoài, tách ra từng củ, vùi vào cát ẩm để cho củ lâu khô.

Bảo quản
Phần củ khô để nơi thoáng mát, tránh mốc mọt. Củ tươi vùi vào cát ẩm hoặc nơi ẩm.

Tính vị, quy kinh
Cam, ôn. Vào các kinh can, tỳ, phế.

Công năng, chủ trị
Tư âm, dưỡng huyết, chỉ huyết, sinh cơ, chỉ khái, tiêu độc. Chủ trị: Thiếu máu, vàng da, hoa mắt, nhức đầu, mệt mỏi, băng huyết, ho ra máu. Thương tích tụ huyết (giã đắp), ho gà, viêm họng, tê bại do suy dinh dưỡng, mụn nhọt, lở ngứa.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 4 g đến 12 g thuốc sắc, hãm, bột hoặc thuốc viên.

SÂM VIỆT NAM (Thân rễ và rễ)

Rhizoma et Radix Panacis vietnamensis
Sâm Ngọc Linh, Sâm K5

Thân rễ và rễ củ đã phơi hay sấy khô của cây Sâm Việt Nam (*Panax vietnamensis* Ha et Grushv.), họ Nhân sâm (Araliaceae).

Mô tả
Thân rễ thường nhiều đốt, cong ngoằn ngoèo, ít khi có hình trụ thẳng, dài 3 cm đến 15 cm, đường kính 0,5 cm đến 1,5 cm. Mặt ngoài màu nâu hay màu vàng xám, có những vết nhăn dọc, mảnh; những vết vân ngang nổi rõ chia thân rễ thành nhiều đốt, đặc biệt có nhiều sẹo do thân khí sinh hàng năm tàn lụi để lại. Thể chất cứng chắc, giòn, dễ bẻ, mặt bẻ lởm chởm, màu xám nhạt. Mùi thơm nhẹ đặc trưng, vị đắng, hơi ngọt.
Rễ củ có dạng hình con quay dài 2,4 cm đến 6,5 cm, đường kính 1,5 cm đến 2 cm (ở cây mọc hoang), thường hợp thành bó 2 đến 4 rễ củ hình thoi, đôi khi có rễ trụ dài (ở cây trồng). Rễ củ có màu nâu nhạt, có những vân ngang và nốt các rễ con. Thể chất nạc, chắc, khó bẻ gãy. Vị đắng, hơi ngọt.

Vi phẫu
Thân rễ: Lớp bần gồm 4 - 6 hàng tế bào hình chữ nhật, thành hơi cong, màu lục, lớp ngoài thường bị bong rách ra. Mô mềm vỏ gồm những tế bào hình nhiều cạnh thường dày lên ở góc, chứa nhiều ống tiết chứa chất tiết màu nâu đỏ, đôi khi có rải rác tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Tầng sinh libe-gỗ liên tục, các bó libe-gỗ có dạng hình thoi, phân cách nhau bởi tia tủy rộng. Gỗ gồm những tế bào thành dày, đặt trong mô mềm gỗ ít hóa gỗ. Ruột cấu tạo bởi các tế bào có thành dày lên ở góc hay để hở những khoảng gian bào, ống tiết thường ở vị trí ứng với các bó libe-gỗ ở cả phía trong lẫn phía ngoài.
Rễ củ: Lớp bần gồm 4 - 7 lớp tế bào hình chữ nhật, các lớp ngoài thường bị bong ra. Mô mềm vỏ rộng, chiếm một nửa bán kính của rễ; gồm nhiều tế bào thành mỏng, kích thước và hình dạng thay đổi, chứa nhiều ống tiết và tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Ống tiết chứa chất tiết màu nâu đen hay vàng nâu tập trung ở vùng libe và xếp thành nhiều vòng. Tầng sinh libe-gỗ liên tục gồm một lớp tế bào hình chữ nhật dẹt. Libe-gỗ xếp thành từng bó riêng lẻ, kéo dài theo hướng xuyên tâm. Tế bào gỗ thành dày, mô mềm gỗ không hóa gỗ. Tia tủy rộng gồm nhiều tế bào xếp theo hướng xuyên tâm.

Bột
Màu vàng nâu. Soi kính hiển vi thấy: những hạt tinh bột riêng lẻ hay hợp thành đám, hình bầu dục, hình cầu, kích thước không đều, rốn hạt là một vạch. Mảnh bần với những tế bào hình nhiều cạnh, thành dày màu vàng nâu. Mảnh mô mềm gồm những tế bào thành mỏng, màu trắng hay vàng nhạt. Mảnh mạch vạch, mạch mạng. Rải rác có chất tiết màu vàng nâu hay nâu đen. Đôi khi có các tinh thể calci oxalat hình cầu gai hay hình khối.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G (kích thước hạt 2 - 10 µm).
Dung môi khai triển: n-butanol - nước - acid acetic (4 : 5 : 1, lớp trên).
Dung dịch thử: Lấy 0,1 g bột dược liệu, thêm 5 ml *methanol (TT)*, đun hồi lưu trong cách thủy 15 min hoặc siêu âm 30 min, để nguội, lọc.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan riêng biệt các chất chuẩn ginsenosid-Rg_1, ginsenosid-Rb_1 và majonosid-R_2 trong *methanol (TT)* để được các dung dịch chuẩn tương ứng có nồng độ mỗi chuẩn khoảng 1 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Lấy 0,1 g thân rễ Sâm việt nam (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl đến 5 µl mỗi dung dịch trên thành băng dài 8 mm. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 8 cm, lấy bản mỏng ra để khô trong không khí, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*. Sấy bản mỏng ở 110 °C trong 3 min. Quan sát dưới ánh sáng thường hoặc ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết của ginsenosid-Rg_1, ginsenosid-Rb_1, majonosid-R_2 trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu và phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - nước.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan các chất chuẩn ginsenosid-Rb_1, ginsenosid-Rd, ginsenosid-Rg_1 và majonosid-R_2 trong *methanol 70 % (TT)* để được dung dịch chuẩn hỗn hợp có nồng độ mỗi chuẩn lần lượt chính xác khoảng 0,1 mg/ml; 0,1 mg/ml; 0,3 mg/ml; 0,5 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 100 mg bột dược liệu (qua rây số 355) vào ống nghiệm có nắp, thêm chính xác 10 ml *methanol 70 % (TT)*, đậy nắp, cân. Chiết bằng siêu âm trong 40 min ở 30 °C, mỗi 10 min lắc đều ống, để nguội, cân lại, bù khối lượng đã mất bằng *methanol 70 % (TT)* để được khối lượng ban đầu, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 196 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Acetonitril (% tt/tt)	Nước (% tt/tt)
0 - 11	21	79
11 - 25	21 → 32	79 → 68
25 - 35	32 → 40	68 → 60
35 - 40	40 - 95	60 - 5
40 - 60	95	5
60 - 61	95 → 21	5 → 79
61 - 71	21	79

Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Thứ tự rửa giải: ginsenosid-Rg_1; majonosid-R_2; ginsenosid-Rb_1, ginsenosid-Rd.
Kiểm tra tính thích hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột không được nhỏ hơn 40000 tính theo pic của majonosid-R_2. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic ginsenosid-Rg_1; majonosid-R_2; ginsenosid-Rb_1, ginsenosid-Rd trong 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, dung dịch thử. Tính hàm lượng ginsenosid-Rg_1; majonosid-R_2; ginsenosid-Rb_1, ginsenosid-Rd trong dược liệu dựa vào diện tích pic ginsenosid-Rg_1; majonosid-R_2; ginsenosid-Rb_1, ginsenosid-Rd trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng của các chất chuẩn.
Dược liệu phải chứa không dưới 0,5 % ginsenosid-Rb_1 ($C_{54}H_{92}O_{23}$), 0,5 % ginsensosid-Rd ($C_{48}H_{82}O_{19}$), 1,5 % ginsenosid-Rg_1 ($C_{42}H_{72}O_{14}$) và 0,4 % majonosid-R2 ($C_{41}H_{70}O_{14}$), tính theo dược liệu khô kiệt.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 2 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Tỷ lệ vụn nát
Qua rây có kích thước mắt rây 2 mm: Không quá 5 % (Phụ lục 12.12).

Tạp chất
Không quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến
Thu hoạch thân rễ và rễ củ của cây từ 5 năm tuổi trở lên vào tháng 9 đến 12, rửa sạch, phơi nắng hay sấy khô ở nhiệt độ dưới 60 °C.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô. Tránh ẩm, mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Khổ, cam. Vào hai kinh phế, tỳ.

Công năng, chủ trị
Bổ khí, bổ phế. Chủ trị: Cơ thể suy nhược, phế hư viêm họng, đau họng.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 6 g đến 10 g, dạng thuốc sắc, tán bột.

Kiêng kỵ
Thể tạng hư hàn, phải chích gừng. Không dùng chung với Lê lô.

SEN (Cây mầm)
Embryo Nelumbinis nuciferae
Liên tâm, Tâm sen

Cây mầm lấy từ hạt cây Sen (*Nelumbo nucifera* Gaertn.), họ Sen (Nelumbonaceae) đã phơi hay sấy khô.

Mô tả
Tâm sen dài khoảng 1 cm, rộng khoảng 0,1 cm, phần trên là chồi mầm màu lục sẫm, gồm 4 lá non gấp vào trong. Phần dưới là rễ và thân mầm hình trụ màu vàng nhạt, mặt cắt ngang có nhiều lỗ hổng (xem bằng kính lúp).

Vi phẫu
Biểu bì gồm một lớp tế bào xếp đều đặn. Tế bào mô mềm tròn thành mỏng. Có nhiều bó libe-gỗ kích thước to dần tại những bó libe-gỗ ở vòng phía trong. Mỗi bó libe-gỗ gồm libe phía ngoài, gỗ phía trong. Có nhiều khuyết to xếp thành một vòng xen giữa hai vòng bó libe-gỗ trong cùng.

Bột
Màu lục sẫm, vị đắng. Soi kính hiển vi thấy mảnh mô mềm gồm nhiều tế bào chứa diệp lục. Hạt tinh bột hình cầu hay hình trứng, đường kính 4 µm đến 6 µm có khi tới 15 µm. Mảnh biểu bì.

Định tính
A. Cân khoảng 1 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol 90 % (TT)*, đun cách thủy 5 min, sau đó gạn lọc qua bông. Dịch lọc đem cô đến cắn và hòa tan cắn với 5 ml *dung dịch acid sulfuric 5 % (TT)*, lọc lấy dịch lọc. Cho vào 4 ống nghiệm mỗi ống 1 ml dịch lọc để làm các phản ứng sau:
Ống 1: Thêm 2 giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, xuất hiện tủa trắng.
Ống 2: Thêm 2 giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)*, xuất hiện tủa đỏ.
Ống 3: Thêm 2 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)*, xuất hiện tủa nâu
Ống 4: Thêm 2 giọt *thuốc thử acid picric (TT)*, xuất hiện tủa vàng
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - amoniac (50 : 9 : 1).
Dung dịch thử: Lấy khoảng 1 g bột dược liệu, thấm ẩm bằng 1 ml *amoniac đậm đặc (TT)*. Thêm 10 ml *cloroform*

(TT) để yên trong 20 min, thỉnh thoảng lắc, sau đó lọc qua bông. Chuyển dịch lọc vào bình gạn nhỏ, lắc lại với 10 ml *dung dịch acid sulfuric 5 % (TT)*, tách lớp acid, kiềm hóa bằng *amoniac (TT)* rồi lắc lại với *cloroform (TT)* và lấy dịch chiết cloroform cô cách thủy còn khoảng 0,5 ml dùng làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan nuciferin chuẩn vào *cloroform (TT)* để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml. Nếu không có nuciferin, có thể dùng 1 g Tâm sen (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng, phun *thuốc thử Dragendorff (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có ít nhất có 5 vết màu đỏ cam, trong đó phải có vết có cùng màu và giá trị R_f với vết nuciferin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Nếu dùng Tâm sen để chiết dung dịch đối chiếu thì trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric
Không quá 0,3 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất
Không quá 0,5 % (Phụ lục 12.11).

Kim loại nặng
Không quá 10 phần triệu Pb; 1 phần triệu Cd; 0,4 phần triệu Hg, 1 phần triệu As (Phụ lục 9.4.11).

Định lượng
Tiến hành như mô tả ở phần Định lượng trong chuyên luận "Sen (lá)". Tâm sen phải chứa ít nhất 1,0 % alcaloid toàn phần tính theo nuciferin trên dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Lấy quả bế ở gương sen đã chín già, loại bỏ vỏ cứng bên ngoài, ngâm, ủ cho mềm, bỏ lớp vỏ lụa đỏ, thông lấy tâm sen, phơi hay sấy nhẹ 40 °C đến 50 °C đến khô.

Bảo quản
Để nơi khô ráo, thoáng mát.

Tính vị, quy kinh
Khổ, hàn. Quy vào các kinh tâm, thận.

Công năng, chủ trị
Thanh tâm, trừ nhiệt, chỉ huyết, sáp tinh. Chủ trị: Tâm phiền mất ngủ, di tinh, thổ huyết.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 2 g đến 5 g, phối hợp trong các bài thuốc.

SEN (Hạt)

Semen Nelumbinis nuciferae

Liên nhục

Hạt còn màng mỏng của quả già đã phơi hay sấy khô của cây Sen (*Nelumbo nucifera* Gaertn.), họ Sen (Nelumbonaceae).

Mô tả
Hạt hình trái xoan, dài 1,1 cm đến 1,3 cm, đường kính 0,9 cm đến 1,1 cm. Mặt ngoài còn màng mỏng màu nâu, có nhiều đường vân dọc. Ở đầu trên có núm màu nâu sẫm. Bóc màng ngoài màu nâu để lộ hai lá mầm bằng nhau và xếp úp vào nhau, màu trắng ngà, hạt chứa nhiều tinh bột. Giữa hai lá mầm có hai đường rãnh dọc đối xứng nhau. Chồi mầm màu xanh lục, nằm ở giữa đường rãnh dọc của hai lá mầm.

Bột
Có nhiều hạt tinh bột hình trứng, rộng 2 µm đến 6 µm, dài 4 µm đến 14 µm, có khi dài tới 32 µm; hoặc hình tròn có đường kính 2 µm đến 19 µm, rốn phân nhánh, vân không rõ. Mảnh mô mềm của lá mầm gồm tế bào chứa tinh bột. Mảnh vỏ hạt rải rác có tinh thể calci oxalat hình cầu gai, đôi khi có mảnh mạch.

Định tính
A. Đặt một ít bột dược liệu lên phiến kính, nhỏ một giọt *dung dịch ninhydrin 2 % (TT)*, hơ nóng, đậy một lá kính lên, soi kính hiển vi thấy bột có màu tím; nhỏ thêm một giọt *alcol isoamylic (TT)*, bột chuyển sang màu hơi hồng.

B. Đặt một ít bột dược liệu lên phiến kính, nhỏ một giọt *dung dịch 2,4-dinitrophenyl hydrazin hydroclorid (TT)*, rồi đậy lá kính lên, soi kính hiển vi thấy ở mép kính có tinh thể hình kim màu vàng.

C. Lấy khoảng 1 g bột dược liệu cho vào ống nghiệm rồi thêm 10 ml *ethanol 90 % (TT)*, đun sôi 5 min, lọc, dịch lọc có màu vàng nhạt. Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 ml *thuốc thử Fehling (TT)*, đun sôi, xuất hiện tủa đỏ gạch.

Độ ẩm
Không quá 14,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Hạt vỡ: Không quá 5,0 %.
Tạp chất khác: Không quá 0,15 % .

Chế biến
Vào mùa thu, lấy quả bế ở gương sen chín già, loại vỏ cứng bên ngoài, phơi hoặc sấy ở 50 °C đến 60 °C cho đến khô.

Bào chế
Lấy hạt ngâm nước một lát, ủ mềm, loại bỏ tâm sen, phơi hoặc sấy khô hạt.

Bảo quản
Để nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Cam, sáp, bình. Vào các kinh tỳ, thận, tâm.

Công năng, chủ trị
Bổ tỳ, dưỡng thận, sáp trường, cố tinh, dưỡng tâm, an thần. Chủ trị: Tỳ hư tiết tả, di mộng tinh, đới hạ, hồi hộp, mất ngủ, cơ thể suy nhược.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 15 g, phối hợp trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ
Thực nhiệt, táo bón không nên dùng.

SEN (Lá)

Folium Nelumbinis nuciferae
Liên diệp

Lá bánh tẻ đã bỏ cuống, phơi hoặc sấy khô của cây Sen (*Nelumbo nucifera* Gaertn.), họ Sen (Nelumbonaceae).

Mô tả
Lá nguyên hình tròn, nhăn nheo, nhàu nát, đường kính 30 cm đến 60 cm, mặt trên màu lục trơ, hơi nhám, mặt dưới màu lục nâu, nhẵn bóng, mép nguyên, ở giữa lá có vết tích của cuống lá lồi lên màu nâu. Lá có từ 17 đến 23 gân tỏa tròn hình nan hoa bánh xe. Gân lồi về phía mặt dưới lá. Lá khô giòn, dễ vụn nát, có mùi thơm.

Vi phẫu
Biểu bì trên gồm một lớp tế bào hình chữ nhật nhỏ, mặt ngoài có núm lồi lên. Biểu bì dưới có tầng cutin dày. Mô mềm giậu có một lớp tế bào xếp sát biểu bì trên, chạy từ phiến lá qua gân lá. Mô dày ở gân lá cấu tạo bởi tế bào thành hơi dày, xếp thành đám sát biểu bì dưới. Tế bào mô mềm có thành mỏng. Xen kẽ giữa những tế bào mô mềm có nhiều khuyết to, kích thước không đều, xung quanh mỗi khuyết có nhiều tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Nhiều bó libe-gỗ kích thước khác nhau. Ở giữa gân có 2 bó libe-gỗ to, những bó libe-gỗ nhỏ xếp rải rác xung quanh. Mỗi bó libe-gỗ có vòng mô cứng bao bọc, gỗ phía trên, libe phía dưới.

Bột
Mảnh biểu bì trên gồm tế bào hình nhiều cạnh, kích thước không đều, thành ít nhăn nheo, có lỗ khí ở dạng biến thiên. Thành phía ngoài của tế bào biểu bì có nhiều núm lồi lên. Núm nhìn phía dưới mặt lá những vòng tròn nhỏ, rải rác có những núm bị tách khỏi biểu bì hình ba cạnh hay hình chuông. Mảnh biểu bì dưới gồm tế bào thành nhăn nheo. Sợi thành hơi dày, có khoang rộng. Có mảnh mạch mạng, mạch xoắn. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai, đường kính 25 µm đến 36 µm.

Định tính
A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml nước đun sôi, lắc, lọc. Lấy 1 ml dịch lọc thêm 1 giọt đến 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)* sẽ xuất hiện tủa xanh đen.

B. Lấy 5 g bột dược liệu cho vào bình nón có dung tích 100 ml, thêm 50 ml *ethanol 90 % (TT)*, lắc kỹ, rồi đun trong cách thủy sôi trong 30 min, lọc. Cô dịch lọc còn khoảng 3 ml. Lấy 2 ml dịch lọc, thêm 5 giọt đến 10 giọt *acid hydrocloric (TT)* và một ít bột *magnesi (TT)* hoặc bột *kẽm (TT)*. Đun cách thủy 2 min đến 3 min, dung dịch chuyển từ màu vàng sang đỏ.
C. Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 20 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 % (TT)*, lắc 15 min, lọc. Kiềm hóa dịch lọc bằng *dung dịch amoniac 10 % (TT)* đến pH 9 đến 10. Chiết alcaloid bằng *cloroform (TT)* ba lần, mỗi lần 5 ml. Gộp dịch chiết cloroform (dịch chiết A). Để lại 1 ml dịch chiết A làm dung dịch thử trong phép thử D; phần còn lại đem lắc với *dung dịch acid hydrocloric 1 % (TT)* hai lần, mỗi lần 5 ml. Gộp dịch chiết acid chia vào 4 ống nghiệm:
Ống 1: Thêm 1 đến 2 giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, sẽ xuất hiện tủa trắng.
Ống 2: Thêm 1 đến 2 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)*, sẽ xuất hiện tủa đỏ nâu.
Ống 3: Thêm 1 đến 2 giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)*, sẽ xuất hiện tủa đỏ cam.
Ống 4: Thêm 1 đến 2 giọt *dung dịch acid picric 10 % (TT)*, sẽ xuất hiện tủa vàng.
D. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Cloroform - methanol - amoniac đậm đặc* (50 : 9 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 1 ml dung dịch A cô trên cách thủy đến còn khoảng 0,5 ml.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 1 mg nuciferin chuẩn trong 1 ml *cloroform (TT)*. Nếu không có nuciferin, có thể dùng Lá sen (mẫu chuẩn) và chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *thuốc thử Dragendorff (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử xuất hiện nhiều vết, trong đó có vết cùng màu sắc và giá trị R_f với vết của nuciferin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Nếu dùng lá Sen để chiết dung dịch đối chiếu thì trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất
Cuống lá còn sót lại: Không quá 2 % (Phụ lục 12.11).

Tỷ lệ vụn nát
Qua rây có kích thước mắt rây 3,150 mm: Không quá 5 % (Phụ lục 12.12).

Kim loại nặng
Không quá 10 phần triệu Pb; 0,5 phần triệu Cd; 0,4 phần triệu Hg, 8 phần triệu As (Phụ lục 9.4.11).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 2 g bột dược liệu (qua rây số 355), thấm ẩm bằng *amoniac đậm đặc (TT)*, để 1 h, sau đó cho vào túi làm bằng giấy lọc, đặt vào bình Soxhlet, chiết bằng *ethanol 96 % (TT)* cho đến kiệt alcaloid (Phụ lục 12.3, dùng *thuốc thử Bouchardat*). Cất thu hồi dung môi, hòa tan cặn trong *dung dịch acid hydrocloric 5 % (TT)* (5 lần, mỗi lần 5 ml). Lọc, rửa dịch lọc acid bằng *ether dầu hỏa (TT)* 3 lần, mỗi lần 10 ml. Kiềm hóa dịch chiết acid bằng *amoniac đậm đặc (TT)* đến pH 10, sau đó lắc với *cloroform (TT)* 5 lần, mỗi lần 10 ml. Gộp dịch chiết cloroform, rửa dịch cloroform bằng *nước cất* đến pH trung tính rồi bốc hơi dung môi tới khô. Hòa tan cặn với một lượng chính xác 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)*. Thêm 5 ml *nước cất* và 2 giọt *đỏ methyl (TT)*. Chuẩn độ dung dịch acid hydrocloric 0,1 N thừa bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*.

Hàm lượng alcaloid toàn phần (X%) trong lá Sen tính theo công thức sau:

$$X\% = \frac{(10 - n) \times 2,95}{a}$$

Trong đó:

n là số ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* đã dùng;

a là khối lượng bột dược liệu đem định lượng đã trừ độ ẩm (g).

Dược liệu phải chứa ít nhất 0,8 % alcaloid toàn phần tính theo nuciferin ($C_{19}H_{21}O_2N$) trên dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hái vào mùa hạ và mùa thu, khi cây bắt đầu nở hoa, cắt lấy lá bánh tẻ, phơi nắng cho khô 7 đến 8 phần 10, cắt bỏ cuống, gấp lá thành hình bán nguyệt, phơi tiếp đến khô.

Bào chế

Lá Sen (Hà diệp) khô, phun nước cho hơi mềm, thái thành các dải, miếng, phơi hoặc sấy khô.

Lá sen thán sao (Hà diệp thán, thán lá sen): Lấy lá Sen sạch đã thái thành dải, cho vào nồi kín, nung chín kỹ, để nguội, lấy ra.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Vị khổ, lương. Vào ba kinh can, tỳ, vị.

Công năng, chủ trị

Thanh thử, lợi thấp, lương huyết, chỉ huyết. Chủ trị: Trúng thử, háo khát, ỉa chảy do thử thấp, huyết lị, nôn máu, đổ máu cam, tiểu tiện ra máu do huyết nhiệt.

Thán lá Sen: Chỉ huyết hóa ứ, chữa các loại chảy máu và băng kinh rong huyết.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g dược liệu khô, dược liệu tươi dùng từ 15 g đến 30 g.

Thán lá sen: Ngày dùng từ 3 g đến 6 g, dạng thuốc sắc hay hoàn tán.

SÓI RỪNG

Herba Sarcandrae glabrae

Phần trên mặt đất phơi hay sấy khô của cây Sói rừng [*Sarcandra glabra* (Thunb.) Nakai], họ Hoa sói (Chloranthaceae).

Mô tả

Đoạn thân hình trụ thường phân nhánh, màu lục, dài 10 cm đến 15 cm, đường kính 0,3 cm đến 1,3 cm, mang lá mọc đối; phiến lá hình bầu dục, dài 7 cm đến 18 cm, rộng 2 cm đến 7 cm, mép lá có răng cưa nhọn, cuống lá ngắn 0,5 cm đến 0,8 cm, lá có màu lục nhạt. Mùi thơm nhẹ, vị hơi hăng.

Dược liệu sau khi cắt đoạn phơi khô là các đoạn thân lá dài từ 3 cm đến 5 cm, bên ngoài có màu xanh lục tối hoặc nâu tối có các nếp nhăn dọc hiện rõ, rải rác có các nốt sần nhỏ lên. Mặt cắt thân có tủy hoặc lỗ rỗng ở giữa. Lá thường bị gãy, bên ngoài màu xanh lục, xanh nâu tới nâu hoặc đỏ nâu, không có lông, mép lá có răng cưa nhọn. Mùi thơm nhẹ, vị hơi hăng.

Vi phẫu

Thân: Mặt cắt ngang tiết diện hơi tròn. Quan sát dưới kính hiển vi thấy: Bần cấu tạo bởi nhiều lớp tế bào hình chữ nhật bị ép dẹt thành hàng đồng tâm và dãy xuyên tâm. Mô mềm vỏ cấu tạo bởi các tế bào hình đa giác hay hình trứng thành mỏng, xếp không đều. Sau mô mềm là sợi xếp thành vòng tròn. Phần libe-gỗ: Bó chồng mạch hở rất phát triển xếp thành vòng tròn sít nhau. Trong cùng là mô mềm ruột cấu tạo bởi các tế bào hình tròn hay hình đa giác, thành mỏng, có kích thước lớn. Rải rác trong mô mềm vỏ và ruột có các tế bào cứng.

Lá:

Gân lá: Gân phía trên hơi lồi, phía dưới lồi nhiều. Biểu bì trên và dưới là một hàng tế bào hình chữ nhật nhỏ xếp đều đặn, phía ngoài phủ một lớp cutin mỏng. Hạ bì gồm một lớp tế bào hình gần tròn nhỏ xếp đều đặn. Mô mềm cấu tạo bởi các tế bào thành mỏng hình đa giác hay hình trứng, kích thước không đều. Rải rác trong mô mềm có các đám tế bào cứng. Giữa gân lá có hai bó libe-gỗ lớn nằm đối xứng nhau qua trục giữa của gân lá, mỗi bó có một cung mô cứng gồm các tế bào có thành dày hoá gỗ, phía trên là cung mạch gỗ, ở giữa là libe.

Phiến lá: Biểu bì trên và dưới là một hàng tế bào hình chữ nhật tương tự phần gân lá nhưng có kích thước nhỏ hơn. Lớp tế bào mô dậu quan sát không rõ. Mô mềm gồm những tế bào có kích thước lớn, thành mỏng.

Bột

Bột có màu xanh xám, mùi thơm nhẹ. Quan sát dưới kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì, mảnh phiến lá mang lỗ khí, tế bào cứng đứng riêng lẻ hay tập trung thành đám, sợi, các mảnh mạch.

Định tính

A. Lấy khoảng 1 g bột dược liệu cho vào ống nghiệm to, thêm 10 ml *ethanol 90 % (TT)*, đun sôi trên cách thủy khoảng 3 min. Lọc, lấy dịch lọc làm các phản ứng sau:

Lấy 1 ml dịch lọc vào ống nghiệm nhỏ, thêm một ít bột *magnesi (TT)* và 4 giọt *acid hydrocloric (TT)*. Đun nóng trong cách thủy, xuất hiện màu nâu đỏ.
Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 2 - 3 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, xuất hiện màu xanh đen.
Nhỏ 1 giọt dịch lọc lên tờ giấy lọc, để khô rồi hơ lên lọ amoniac đặc đã mở nút, thấy vết có màu vàng đậm lên.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Toluen - ethylacetat - acid formic (9 : 4 : 1).
Dung dịch thử: Lấy khoảng 2 g bột dược liệu, thêm 50 ml *nước*, lắc siêu âm 30 min, lọc. Lấy dịch lọc lắc 3 lần với *ethyl acetat (TT)*, mỗi lần 10 ml, gộp dịch ethyl acetat và cô tới cắn khô. Hòa cắn trong 1 ml *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 2 g bột Sói rừng (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên cùng một bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch nhôm clorid 1 % trong methanol (TT)*, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6, 2 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 10,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hái toàn cây vào mùa hạ và mùa thu, rửa sạch đất cát, phơi khô hoặc sấy khô.

Bào chế
Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, để ráo nước, cắt đoạn 3 cm đến 5 cm, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô, thoáng mát.

Tính vị, quy kinh
Khổ, tân, bình. Vào kinh tâm, can.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt lương huyết, hoạt huyết tiêu ban chẩn, khứ phong thông lạc. Chủ trị: Huyết nhiệt, phát ban chẩn, phong thấp, tê đau, chấn thương, té ngã gây đau.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 9 g đến 30 g, dạng thuốc sắc. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

SƠN THÙ (Quả)

Fructus Corni officinalis

Sơn thù du

Quả chín đã phơi hay sấy khô, bỏ hạt của cây Sơn thù du (*Cornus officinalis* Sieb. et Zucc.), họ Thù du (Cornaceae).

Mô tả
Quả bị vỡ, nhăn nheo do bị tách bỏ hạt. Quả hình trứng, dài 1 cm đến 1,5 cm, rộng 0,5 cm đến 1 cm. Mặt ngoài màu đỏ tía đến tím đen, nhăn nheo, sáng bóng. Đỉnh quả có vết sẹo hình tròn của đài, đáy quả có vết của cuống quả. Chất mềm, mùi nhẹ, vị chua, đắng nhẹ.

Bột
Màu nâu đỏ. Tế bào biểu bì vỏ quả màu vàng cam, hình đa giác hoặc hình chữ nhật, đường kính 16 µm đến 30 µm, mặt ngoài tế bào biểu bì dày, sần sùi, cutin hóa. Khoang chứa sắc tố màu vàng cam nhạt. Tế bào vỏ quả giữa màu nâu vàng cam, phần nhiều bị nhăn. Khối inulin với những đường vân dạng quạt, đường kính 23 µm đến 105 µm. Cụm tinh thể calci oxalat có đường kính 12 µm đến 32 µm ít thấy. Tế bào đá hình vuông, hình trứng, hình chữ nhật, các lỗ rõ và có một khoang lớn. Nhiều hạt tinh bột hình trứng, đôi khi có rốn phân nhánh và vân mờ. Mảnh mạch điểm, mạch vạch, mạch vòng.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G.*
Dung môi khai triển: *Toluen - ethyl acetat - acid formic* (20 : 4 : 0,5).
Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ethyl acetat (TT)*, siêu âm 15 min, lọc, bốc hơi dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 2 ml *ethanol (TT)* được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan acid ursolic chuẩn trong *ethanol (TT)* để được dung dịch chứa 1 mg/ml. Nếu không có chất chuẩn, dùng 0,5 g bột Sơn thù (mẫu chuẩn) chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*, sấy ở 105 °C tới khi các vết xuất hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải xuất hiện vết màu đỏ tím có cùng màu và giá trị R_f với vết của acid ursolic hoặc phải có các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải xuất hiện vết có huỳnh quang màu vàng cam có cùng màu và giá trị R_f với vết của acid ursolic hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng : *Silica gel G.*
Dung môi khai triển: Ethyl acetat - ethanol - acid acetic băng (50 : 10 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ethanol (TT),* lắc siêu âm 15 min, lọc, bốc hơi dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 2 ml *ethanol (TT)* được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan một lượng loganin chuẩn trong *ethanol (TT)* để được dung dịch chứa 1 mg/ml. Nếu không có loganin chuẩn, lấy 0,5 g bột Sơn thù (mẫu chuẩn) chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, phun *dung dịch vanillin 5 % trong acid sulfuric (TT),* sấy ở 105 °C tới khi các vết xuất hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải xuất hiện vết có cùng màu và giá trị R_f với vết của loganin hoặc có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 16,0 % (Phụ lục 9.6, 2 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Hạt và cuống quả còn sót lại: Không quá 3,0 %.
Tạp chất khác: Không quá 0,5 %.

Tro toàn phần
Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 0,5 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 50,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10), dùng *nước* làm dung môi.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - nước (15 : 85).
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,1 g bột dược liệu (qua rây số 355) vào một bình nón nút mài, thêm chính xác 25 ml *methanol 80 % (TT),* đậy nút, cân. Đun hồi lưu trong 1 h, để nguội, cân lại. Bổ sung khối lượng mất đi bằng *methanol 80 % (TT),* lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan loganin chuẩn trong *methanol 80 % (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 40 µg/ml.
Điều kiện sắc ký :
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 240 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch chuẩn. Tiến hành sắc ký và tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột tính trên pic loganin phải không dưới 3000.
Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng của loganin trong dược liệu dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{17}H_{26}O_{10}$ của loganin chuẩn.
Dược liệu phải chứa không dưới 0,6 % loganin ($C_{17}H_{26}O_{10}$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch vào cuối mùa thu, đầu mùa đông, thu hái khi vỏ quả chuyển sang màu đỏ, sấy ở nhiệt độ thấp hoặc nhúng vào nước sôi cho chín tái rồi kịp thời bóc bỏ hạt, lấy cùi, phơi hoặc sấy nhẹ đến khô.

Bào chế
Sơn thù nhục: Loại bỏ tạp chất và hạt quả còn sót lại.
Tửu Sơn thù nhục (sao rượu): Lấy Sơn thù nhục sạch trộn đều với rượu, cho vào lọ hoặc bình, đậy kín, đun cách thủy đến khi hút hết rượu, lấy ra, sao khô là được. Cứ 10 kg Sơn thù nhục, dùng khoảng 0,60 L đến 1 L rượu.

Bảo quản
Để nơi khô, mát.

Tính vị, quy kinh
Toan, sáp, vi ôn. Vào các kinh can, thận.

Công năng, chủ trị
Bổ can thận, cố tinh sáp niệu. Chủ trị: Di mộng tinh, tiểu tiện nhiều, đái dầm, đau lưng gối, ù tai, mồ hôi nhiều, phụ nữ bị khí hư, rong kinh, rong huyết.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Dùng thận trọng khi tiểu khó, ít.

SƠN TRA (Quả)
Fructus Mali

Quả chín đã thái phiến được phơi hay sấy khô của cây Sơn tra (*Malus doumeri* Bois. A. Chev.) họ Hoa hồng (Rosaceae).

Mô tả
Quả thịt hình cầu, vỏ quả ngoài màu nâu bóng, nhăn nheo, phần thịt quả màu nâu, cứng chắc, ở giữa có 5 hạch cứng. Dược liệu khô là quả được cắt thành từng phiến dày khoảng 0,2 cm đến 0,5 cm, đường kính khoảng 1,5 cm đến 3,0 cm. Phiến có dạng tròn hay bầu dục, hơi cong queo, một số phiến mang cuống quả, một số phiến có hoặc không có hạch cứng tùy theo vị trí cắt. Hạt màu nâu đen, hình trứng nhăn nheo, nhân hạt màu trắng ngà. Thịt quả có vị chua, chát.

Vi phẫu
Quả: Vỏ quả ngoài gồm một lớp tế bào biểu bì với lớp sáp dày bao bọc phía ngoài. Kế đến là nhiều lớp tế bào hình khối đa giác hay hơi thuôn dài có thành mỏng. Trong phần thịt quả rất dày, xen lẫn với các tế bào mô mềm, rải rác có nhiều tế bào mô cứng thành rất dày, ống trao đổi

rõ, tụ thành đám gồm 2 đến 3 tế bào hay từng tế bào riêng lẻ. Một số lát cắt có thể nhìn thấy bó libe-gỗ bị cắt ngang hay cắt dọc trong phần thịt quả. Gần đến vùng tiếp giáp với hạt có nhiều đám mô cứng to và xếp sát nhau gần như tạo thành vòng liên tục. Tiếp theo phía trong của vùng mô cứng là lớp mô mềm bao gồm các tế bào thành mỏng. Vỏ quả trong, chỗ dính với hạt, có vòng tế bào mô cứng liên tục gồm các tế bào hình chữ nhật nằm ngang hoặc dọc, đan xen với nhau, thành dày, ống trao đổi rõ, khoang hẹp hơn tế bào mô cứng ở vùng vỏ quả giữa.

Hạt: Ngoài cùng là lớp tế bào vỏ hạt gồm nhiều tế bào hình chữ nhật, xếp theo hướng xuyên tâm. Tiếp theo là 3 đến 5 lớp tế bào hình chữ nhật xếp theo hướng tiếp tuyến, thành mỏng chứa nội chất màu nâu. Trong cùng là vài lớp tế bào mô mềm hình đa giác. Nhân hạt gồm 2 lá mầm xếp úp vào nhau, mỗi lá mầm có lớp biểu bì bao bọc ở mặt ngoài. Phần mô mềm ở vùng tiếp giáp của hai lá mầm gồm các tế bào hình dậu gồm 3 đến 5 hàng tế bào và kế tiếp là tế bào hình đa giác. Bó libe-gỗ chưa phát triển rõ rệt, xếp rời nhau trên một hàng ở giữa lá mầm.

Bột

Bột màu nâu đỏ, khô tơi, có ít xơ, mùi thơm, vị chua, chát. Tế bào vỏ quả ngoài hình chữ nhật nhỏ, thường tách rời. Tế bào mô mềm thịt quả hình đa giác, thường dính thành đám, chứa chất màu nâu. Tế bào mô cứng của thịt quả gồm từng tế bào riêng lẻ hoặc chụm 2 đến 3 tế bào, đám tế bào mô cứng của hạch quả gồm nhiều tế bào hình chữ nhật khoang hẹp, thuôn dài hơn. Mảnh vỏ hạt gồm các tế bào hình chữ nhật xếp khít nhau như mô dậu. Mô mềm lá mầm thường chứa giọt dầu béo. Mảnh mạch vạch, mạch xoắn nhỏ và hiếm.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tỷ lệ vụn nát

Phần bột vụn nát và mảnh vỡ có đường kính nhỏ hơn 1,5 cm: Không quá 2 % (Phụ lục 12.12).

Tro toàn phần

Không quá 8,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Tỷ lệ nâu đen: Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến

Thu hái quả vừa chín, cắt thành lát dày khoảng 0,3 cm đến 0,7 cm, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Để nơi khô, thoáng mát, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Toan, cam, ôn. Vào các kinh tỳ, vị, can.

Công năng, chủ trị

Tiêu thực tích, hành ứ, hóa đàm. Chủ trị: Ăn không tiêu, đau bụng, đầy trướng, ợ chua, đàm ẩm, bụng kết hòn cục, sản hậu ứ huyết, đau bụng.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 8 g đến 20 g, dạng thuốc sắc, bột hoặc viên. Thường dùng phối hợp với các vị thuốc khác.

SỬ QUÂN TỬ

Semen Quisqualis

Hạt đã phơi hay sấy khô lấy từ quả già của cây Quả giun (*Quisqualis indica* L.), họ Bàng (Combretaceae).

Mô tả

Hạt hình thoi dài 1,5 cm đến 2,5 cm, đường kính 0,5 cm đến 0,8 cm. Vỏ mỏng, màu nâu xám nhăn nheo, dễ bóc. Hai lá mầm dày, màu trắng ngà.

Soi bột

Bột màu trắng ngà, vị bùi, hơi ngọt. Soi dưới kính hiển vi thấy: mảnh mô mềm, có khi mang những tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Những giọt dầu riêng lẻ hoặc nằm trong các mảnh mô. Mảnh biểu bì vỏ hạt hình nhiều cạnh, thành dày. Những mảnh mạch xoắn nhỏ, rất ít.

Định tính

A. Lấy một ít bột dược liệu trên phiến kính, thêm một giọt *dung dịch Sudan III (TT)*, soi dưới kính hiển vi thấy các giọt dầu nhuộm màu vàng cam.

B. Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ethanol 90 % (TT)*, đun nóng, lắc, lọc. Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 ml *thuốc thử Fehling (TT)*, đun sôi, xuất hiện tủa đỏ gạch.

C. Lấy khoảng 5 g bột dược liệu, thấm ẩm bằng 2 ml *amoniac (TT)*. Thêm 40 ml *cloroform (TT)* và đun hồi lưu trên cách thủy trong 2 h, thỉnh thoảng lắc. Lọc, lắc dịch lọc với 5 ml *dung dịch acid sulfuric 1 N (TT)*, lấy phần dịch acid chia vào 4 ống nghiệm:

Ống 1: Thêm một giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, xuất hiện tủa trắng.

Ống 2: Thêm một giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)*, xuất hiện tủa màu vàng cam.

Ống 3: Thêm một giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)*, xuất hiện tủa màu vàng nâu.

Ống 4: Thêm một giọt *dung dịch acid picric 1 % (TT)*, xuất hiện tủa vàng.

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) - aceton - methanol (9,5 : 2,5 : 0,5).

Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 10 ml *methanol (TT)* ngâm qua đêm, lọc, bốc hơi dịch lọc trên cách thủy đến còn 1 ml.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột Sử quân tử (mẫu chuẩn) tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 4 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký lấy bản mỏng ra để khô trong không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở

bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết huỳnh quang cùng màu và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 3 h).

Tạp chất
Tỷ lệ hạt sẫm màu không quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 15,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *nước* làm dung môi.

Chế biến
Khi trời khô ráo, hái quả già, phơi khô, tách vỏ, tiếp tục phơi chỗ râm mát hay sấy ở 40 °C đến 50 °C đến khô.

Bào chế
Lấy hạt thu được ở mục chế biến hoặc lấy quả chín khô, đập dập vỏ quả, bóc lấy nhân bên trong ngâm vào nước sôi 5 min, xát bỏ lớp vỏ mỏng bên ngoài, phơi khô hoặc sấy khô. Khi dùng, sao vàng.

Bảo quản
Để nơi khô ráo, tránh mốc, mọt, định kỳ phơi sấy lại.

Tính vị, quy kinh
Vị ngọt, tính ôn, không có độc. Vào kinh tỳ, vị.

Công năng, chủ trị
Khu trùng tiêu tích, kiện tỳ, tiêu cam. Chủ trị: Giun đũa, giun kim, các chứng cam tích ở trẻ em (bụng ỏng, đa xanh, mắt mũi nhoèn gỉ).

Cách dùng, liều lượng
Trẻ em: Ngày dùng 3 g đến 8 g. Người lớn: Ngày dùng 8 g đến 12 g, dưới dạng thuốc bột, thuốc sắc. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Khi dùng cần phải loại bỏ lớp vỏ nhân, đồng thời không nên uống nước chè để tránh bị nắc.

TAM THẤT (Rễ củ)

Radix Panasis notoginseng

Rễ củ đã phơi hay sấy khô của cây Tam thất [*Panax notoginseng* (Burk.) F. H. Chen], họ Nhân sâm (Araliaceae).

Mô tả
Rễ củ có hình dạng thay đổi, hình trụ hay hình chùy, dài 1,5 cm đến 4,0 cm, đường kính 1,2 cm đến 2,0 cm. Mặt ngoài màu vàng xám nhạt, có khi được đánh bóng, trên mặt có những vết nhăn dọc rất nhỏ. Trên một đầu có những bướu nhỏ là vết tích của rễ con, phần dưới có khi phân nhánh. Trên đỉnh còn vết tích của thân cây. Chất cứng rắn, khó bẻ, khó cắt. Khi dập vỡ, phần gỗ và phần vỏ dễ tách rời nhau. Mặt cắt ngang có lớp vỏ màu xám nhạt, có những chấm nhỏ màu nâu (ống tiết), phần gỗ ở trong màu xám nhạt, mạch gỗ xếp hình tia tỏa tròn. Mùi thơm nhẹ đặc biệt, vị đắng hơi ngọt.

Vi phẫu
Lớp bần gồm 4 đến 5 hàng tế bào hình chữ nhật. Mô mềm vỏ chứa nhiều tinh bột, rải rác có những ống tiết chứa chất nhựa, đôi khi thấy tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Tầng sinh libe-gỗ thành vòng liên tục, các bó libe-gỗ cách nhau bởi những tia tuột rộng, gồm nhiều hàng tế bào (cũng chứa hạt tinh bột). Rất ít mạch gỗ.

Bột
Nhiều hạt tinh bột hình tròn, hình chuông hay hình nhiều cạnh, đường kính 3 µm đến 13 µm, đôi khi có hạt kép 2 đến 3. Mảnh mô mềm gồm tế bào hình nhiều cạnh, hoặc tròn, thành mỏng, có chứa tinh bột. Đôi khi thấy ống tiết trong có chất tiết màu vàng nâu. Mảnh bần gồm những tế bào hình chữ nhật hay nhiều cạnh. Đôi khi có tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Mảnh mạch mạng.

Định tính
A. Đặt một ít bột dược liệu trên khay sứ, nhỏ 1 giọt đến 2 giọt *acid acetic băng (TT)* và 1 giọt đến 2 giọt *acid sulfuric đậm đặc (TT)* sẽ xuất hiện màu đỏ, để yên màu đỏ sẽ sẫm dần lại.
B. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 15 ml ethanol 70 % (TT) đun trên cách thủy 10 min, lọc. Lấy khoảng 1 ml dịch lọc pha loãng với nước cất thành 10 ml. Lắc mạnh 15 s, có bọt bền.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Lắc đều hỗn hợp *cloroform - ethyl acetat - methanol - nước* (15 : 40 : 22 : 10), gạn lấy lớp dưới.
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, trộn đều với 10 ml *nước*, thêm 10 ml *n-butanol đã bão hòa nước (TT)* vào hỗn hợp trên, lắc trong 10 min, để yên trong 2 h. Lọc lấy dịch chiết butanol cho vào bình gạn. Thêm vào bình gạn 30 ml *nước đã bão hòa butanol (TT)*, lắc kỹ, để yên cho tách lớp (ly tâm nếu cần). Gạn lấy lớp butanol, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa tan cắn trong 1 ml *methanol (TT)*.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Lấy 1 g bột Tam thất (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan ginsenosid Rg_1, ginsenosid Rb_1 và notoginsenosid R_1 chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch chuẩn hỗn hợp có nồng độ mỗi chuẩn khoảng 0,5 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*, sấy ở 105 °C cho đến khi xuất hiện rõ vết. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng thường hoặc dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 366 nm.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu và có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 14,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 3,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất
Không quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 16,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *methanol (TT)* làm dung môi.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Acetonitril (TT).
Pha động B: Nước.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,6 g bột dược liệu (qua rây số 355) vào bình nón có nút mài, thêm chính xác 50 ml *methanol (TT)*, đậy nút, cân, để yên qua đêm, sau đó đun hồi lưu trên cách thủy ở 80 °C trong 2 h, để nguội, cân lại và bổ sung *methanol (TT)* để được khối lượng ban đầu. Trộn đều và lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan ginsenosid Rg_1 chuẩn, ginsenosid Rb_1 chuẩn và notoginsenosid R_1 chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ tương ứng chính xác khoảng 0,4 mg/ml; 0,4 mg/ml và 0,1 mg/ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 203 nm.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Tốc độ dòng: Từ 1 ml/min đến 1,6 ml/min.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 12	19	81
12 - 60	19 → 36	81 → 64
60 - 61	36 → 19	64 → 81
61 - 66	19	81

Thứ tự rửa giải: Notoginsenosid R_1; ginsenosid Rg_1; ginsenosid Rb_1.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột không được nhỏ hơn 4000 tính theo pic của notoginsenosid R_1. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic ginsenosid Rb_1 trong 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, dung dịch thử. Tính hàm lượng ginsenosid Rg_1, ginsenosid Rb_1 và notoginsenosid R_1 trong dược liệu dựa vào diện tích pic ginsenosid Rg_1, ginsenosid Rb_1 và notoginsenosid R_1 trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{42}H_{72}O_{14}$ trong ginsenosid Rg_1 chuẩn, hàm lượng $C_{54}H_{92}O_{23}$ trong ginsenosid Rb_1 chuẩn và hàm lượng $C_{47}H_{80}O_{18}$ trong notoginsenosid R_1 chuẩn.
Dược liệu phải chứa không ít hơn 0,4 % notoginsenosid R_1 ($C_{47}H_{80}O_{18}$) và không ít hơn 5,0 % tổng hàm lượng ginsenosid Rg_1 ($C_{42}H_{72}O_{14}$), ginsenosid Rb_1 ($C_{54}H_{92}O_{23}$) và notoginsenosid R_1 ($C_{47}H_{80}O_{18}$), tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch cây đã trồng được 4 năm đến 7 năm vào mùa thu trước khi hoa nở. Đào lấy rễ củ, rửa sạch chia ra rễ chủ, rễ nhánh và gốc thân, phơi khô.

Bào chế
Rửa sạch, phơi hoặc sấy khô ở 50 °C đến 70 °C, tán thành bột mịn.

Bảo quản
Nơi khô thoáng mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Cam, vi khổ, ôn. Vào kinh can, vị.

Công năng, chủ trị
Tán ứ chỉ huyết, tiêu sưng giảm đau. Chủ trị: Các loại chảy máu, nhất là chảy máu có ứ huyết như: thổ huyết, khối huyết, nục huyết, tiểu tiện ra huyết, sưng đau do chấn thương, ngực bụng đau nhói.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, tán bột, uống mỗi lần từ 1 g đến 3 g. Dùng ngoài: Lượng thích hợp.

Kiêng kỵ
Phụ nữ có thai.

TANG KÝ SINH
Herba Loranthi Gracifilolii
Tầm gửi trên cây dâu

Những đoạn thân cành và lá đã phơi khô, lấy từ cây Tầm gửi [*Loranthus paraciticus* (L.) Merr. = *Taxillus paraciticus* (L.) S.T.Chiu, họ Tầm gửi (Loranthaceae), sống kí sinh trên cây Dâu tằm (*Morus alba* L.), họ Dâu tằm (Moraceae).

Mô tả
Những đoạn thân, cành hình trụ, dài 3 cm đến 4 cm, đường kính 0,3 cm đến 0,7 cm, có phân nhánh, những mấu lồi là vết của cành và lá. Mặt ngoài màu nâu xám, có nhiều lỗ bì nhỏ, đôi khi có những vết nứt ngang. Chất cứng rắn. Mặt cắt ngang thấy rõ ba phần: phần vỏ mỏng màu nâu,

gỗ trắng ngà, ruột màu xám và xốp. Lá khô nhăn nhúm, nguyên hoặc bị cắt thành từng mảnh. Lá hình trái xoan, đầu và gốc phiến lá hơi nhọn, màu nâu xám, dài 3,5 cm đến 4,5 cm, rộng 2,5 cm đến 3,5 cm, cuống lá dài 0,4 cm đến 1,2 cm, gân lá hình mạng lưới.

Vi phẫu
Thân: Lớp bần gồm nhiều hàng tế bào nhỏ màu nâu, hình chữ nhật, mặt ngoài có những lỗ bì rải rác nổi lên. Mô mềm vỏ hẹp, tế bào to hơn tế bào bần và hơi kéo dài theo hướng tiếp tuyến. Có những đám sợi hình dạng không cố định làm thành một vòng quanh mô mềm vỏ và chứa tinh thể calci oxalat hình khối chữ nhật. Libe hẹp, bị tia ruột cắt ra thành từng đám đứng trước bó gỗ. Gỗ rất rộng, bị tia ruột chia thành từng bó, mạch gỗ thưa, mô mềm gỗ hóa gỗ rõ rệt. Tia ruột thường có 2 đến 4 dãy tế bào. Mô mềm ruột tế bào to, hình đa giác hoặc hơi tròn, rải rác có những đám sợi chứa tinh thể calci oxalat.
Lá: Tầng cutin tương đối dày. Biểu bì ít thấy lỗ khí. Mô mềm thịt lá chỉ có một loại tế bào hình đa giác. Mô mềm gân giữa lá tế bào hình đa giác, to nhỏ không đều. Libe-gỗ có khi rải thành hình cung, có khi thành bó. Nhiều đám sợi rải rác trong mô mềm gân lá, có khi xen vào bó libe-gỗ, chứa tinh thể calci oxalat hình cầu gai.

Bột
Bột màu nâu, không mùi, vị nhạt, quan sát dưới kính hiển vi thấy: Các mảnh bần, mảnh biểu bì chứa lỗ khí, các lỗ khí có kích thước khoảng 25 µm theo chiều dọc. Mảnh mô mềm gồm những tế bào to, thành mỏng. Mảnh phiến lá, tế bào mô cứng thành dày có chứa tinh thể calci oxalat, sợi riêng lẻ hay tập trung thành từng đám. Mảnh mạch điểm, mạch vạch, mạch vòng. Tinh thể calci oxalat hình khối thường hơi vuông kích thước khoảng 29 µm. Hạt tinh bột tròn đường kính khoảng 20 µm rốn hạt dạng điểm hoặc phân nhánh; đôi khi có hạt phân 3 cạnh.

Định tính
Lấy 2 g bột dược liệu vào bình nón, thêm 20 ml *ethanol 90 % (TT)*, đun cách thủy 30 min, lọc nóng, bay hơi dịch lọc đến còn 3 ml, dùng dịch lọc này làm các phản ứng sau:
Cho 1 ml dịch lọc vào ống nghiệm, thêm khoảng 0,05 g bột *magnesi (TT)* và 5 giọt *acid hydrocloric (TT)*, lắc đều, để yên 5 min đến 10 min, xuất hiện màu hồng đỏ.
Cho 1 ml dịch lọc vào ống nghiệm, thêm 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)* xuất hiện tủa xanh đen.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất
Không quá 3,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến
Hái lấy dược liệu, loại bỏ tạp chất, cắt ngắn, phơi khô trong bóng râm.

Bào chế
Khi dùng có thể sao qua hoặc tẩm rượu sao qua.

Bảo quản
Để nơi khô mát, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Khổ, bình. Vào hai kinh can, thận.

Công năng, chủ trị
Bổ can thận, mạnh gân xương, thông kinh lạc, an thai. Chủ trị: Đau lưng, nhức xương-khớp, đau thần kinh ngoại biên, phụ nữ động thai, ít sữa sau khi đẻ.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 12 g đến 20 g, dạng thuốc sắc. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.
Dùng ngoài: Lượng thích hợp.

TÁO (Hạt)

Semen Ziziphi mauritianae
Táo nhân, Toan táo nhân

Hạt già đã phơi hay sấy khô của cây táo ta hay còn gọi là cây Táo chua (*Ziziphus mauritiana* Lamk.), họ Táo ta (Rhamnaceae).

Mô tả
Hạt hình cầu hay hình trứng dẹt có một đầu hơi nhọn, một mặt gần như phẳng, một mặt khum hình thấu kính, dài 5 mm đến 8 mm, rộng 4 mm đến 6 mm, dày 1 mm đến 2 mm. Ở đầu nhọn có rốn hạt hơi lõm xuống, màu nâu thẫm. Mặt ngoài màu nâu đỏ hay nâu vàng, đôi khi có màu nâu thẫm. Chất mềm, dễ cắt ngang.

Vi phẫu
Vỏ hạt có hai lớp tế bào: Bên ngoài là lớp tế bào biểu bì xếp đều đặn, bên trong là lớp tế bào mô cứng hình chữ nhật, thành dày, xếp đứng theo hướng xuyên tâm. Sát với tế bào mô cứng có vài hàng tế bào mô mềm thành mỏng bị bẹp, rải rác có một vài bó libe-gỗ. Nội nhũ gồm tế bào hình nhiều cạnh, thành mỏng xếp lộn xộn, trong tế bào có những giọt dầu và các chất dự trữ. Mặt trong gồm một lớp tế bào hình bầu dục dài. Trong cùng là hai lá mầm bằng nhau, xếp úp vào nhau.

Bột
Mảnh mô cứng của vỏ ngoài gồm tế bào khá to, màu vàng hay vàng nâu. Mảnh mô mềm vỏ giữa là những tế bào thành mỏng, không đều. Mảnh vỏ trong gồm tế bào màu vàng, hình nhiều cạnh, thành dày và lượn sóng. Mảnh nội nhũ gồm các tế bào chứa những hạt tinh bột nhỏ và chất dự trữ. Mảnh lá mầm gồm những tế bào có nhiều cạnh tương đối đều, thành mỏng, trong có những giọt dầu. Những giọt dầu rải rác.

Định tính
A. Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol (TT)*. Lắc đều, đun hồi lưu trên cách thủy trong 1 h, để nguội. Lọc, dịch lọc đem cô cách thủy đến khi còn lại 5 ml đến 6 ml, dùng dung dịch này làm các phản ứng sau:

Lấy 2 ống nghiệm, cho vào mỗi ống 1 ml dung dịch trên. Ống 1 thêm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)* và đun nhẹ. Sau đó cho vào mỗi ống 5 ml *nước*. Dung dịch trong ống 1 trong suốt hoặc ít đục hơn ống 2. Sau đó cho vào ống 1 hai giọt *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)*, lập tức có vẩn đục rồi kết tủa bông lắng xuống.

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

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Toluen - acid acetic - nước* (7 : 5 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 30 ml *ether dầu hỏa (40 °C đến 60 °C) (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy trong 2 h, lọc bỏ dịch ether dầu. Bã còn lại được loại bỏ hết dung môi bằng cách đặt trên cách thủy nóng, thêm 30 ml *methanol (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy trong 2 h, để nguội, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa tan cắn trong 2 ml *ethanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Táo nhân (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*, sấy bản mỏng ở 110 °C cho đến khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 8,0 % (Phụ lục 9.6, 105 °C, 2 g, 5 h).

Tỷ lệ hạt dập vỡ
Không quá 10 % (Phụ lục 12.12).

Tro toàn phần
Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Chế biến
Thu hoạch quả chín từ cuối mùa thu đến đầu mùa đông, loại bỏ thịt quả, lấy hạch cứng rửa sạch, phơi hoặc sấy khô, xay bỏ vỏ hạch cứng, sàng lấy hạt, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế
Toan táo nhân: Loại bỏ vỏ hạch cứng sót lại, khi dùng giã nát.
Toan táo nhân sao: Lấy toan táo nhân sạch, sao nhỏ lửa đến khi phồng lên và hơi thẫm màu. Khi dùng giã nát.

Bảo quản
Nơi thoáng mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Cam, toan, bình. Quy vào các kinh can, đởm, tâm, tỳ.

Công năng, chủ trị
Dưỡng can, an thần, liễm hãn, sinh tân. Chủ trị: Tim đập hồi hộp, hư phiền, mất ngủ, ngủ mê, cơ thể hư nhược do ra nhiều mồ hôi, háo khát do tân dịch thương tổn.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 9 g đến 15 g. Thường phối hợp với một số vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Người thực tà uất hỏa không dùng.

TẮC KÈ
Gekko

Toàn thân đã chế biến của con Tắc kè (*Gekko gekko* L.), họ Tắc kè (Gekkonidae).

Mô tả
Tắc kè có 4 chân. Toàn thân dẹt, do đã chế biến nên có hình dáng đặc biệt. Đầu dài từ 3 cm đến 5 cm, trên có 2 mắt, miệng có răng nhỏ và đều. Thân dài từ 8 cm đến 15 cm, rộng 7 cm đến 10 cm. Đuôi dài 10 cm đến 15 cm. Toàn thân có vảy nhỏ, mỏng, màu sắc tuỳ loại (màu tro xanh với điểm vàng, đỏ hay xám nâu). Hai chân trước và 2 chân sau được căng thẳng trên 2 que ngang. Từ đầu con Tắc kè đến cuối đuôi cũng được căng bởi một que dọc. Phần thân được căng vuông vắn và cân đối bởi 2 que chéo. Mùi hơi tanh, vị hơi mặn.
Tắc kè nguyên con, đủ đuôi, không vụn nát, chắp vá, sâu mọt.

Độ ẩm
Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Chế biến
Có thể bắt tắc kè quanh năm, đập chết, moi bỏ phủ tạng, lau khô bằng vải hay giấy bản, dùng nẹp tre để căng giữ cho thân Tắc kè thẳng và phẳng ngay ngắn. Dùng dải giấy bản cuốn buộc chặt đuôi sát với nẹp tre để phòng mất đuôi, sau đó phơi hoặc sấy khô ở nhiệt độ thấp (40 °C đến 50 °C).

Bào chế
Dùng tươi: Nhúng Tắc kè vào nước sôi, cạo sạch vảy, chặt bỏ đầu từ mắt trở nên, chặt bỏ các bàn chân, lột da. Mổ bỏ phủ tạng, lấy vải (hoặc giấy bản) lau sạch, nấu cháo.
Dùng khô: Chặt bỏ đầu từ mắt trở lên và các bàn chân, cạo sạch vảy, cắt thành miếng nhỏ.
Tửu cáp giới: Lấy những miếng Tắc kè khô, tẩm rượu cho mềm, phơi hoặc sấy nhẹ đến khô hoặc nướng vàng hay sao nhỏ lửa cho đến màu vàng thơm. Sau đó ngâm rượu hoặc tán thành bột làm hoàn tán.

Bảo quản
Để trong thùng kín có Xuyên tiêu, nơi khô mát, tránh mốc mọt, không được xông sinh. Tránh làm gãy nát, không được gãy mất đuôi.

Tính vị, quy kinh
Hàm, bình, hơi độc. Quy vào kinh phế, thận.

Công năng, chủ trị
Bổ phế thận, định suyễn, trợ dương, ích tinh. Chủ trị: Khó thở hay suyễn do thận không nạp khí, ho và ho ra máu, liệt dương, di tinh.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 6 g, dạng hoàn, tán, rượu thuốc hoặc có thể nấu cháo.

Kiêng kỵ
Không dùng cho người ngoại tà thực nhiệt, ho do phong hàn.

TẦM GỬI
Herba Loranthi

Những đoạn thân, cành và lá đã phơi khô của loài Tầm gửi (*Loranthus chinensis* DC.) hoặc *Loranthus cochinchinensis* Lour.), họ Tầm gửi (Loranthaceae) sống kí sinh trên cây gạo, bưởi, mít và một số cây không độc khác.

Mô tả
Những đoạn thân, cành hình trụ dài 3 cm đến 4,5 cm, đường kính 0,2 cm đến 0,5 cm có khi phân nhánh. Mặt ngoài màu nâu xám có nhiều lỗ bì nhỏ, chất cứng chắc. Lá khô nhăn nhúm, nguyên hoặc đã cắt thành từng mảnh. Lá nguyên hình trứng, hơi dày, dài 6 cm đến 8 cm, rộng 2,5 cm đến 4,5 cm, cuống lá 0.5 cm đến 1 cm, đỉnh lá nhọn, gân lá hình lông chim không rõ.

Vi phẫu
Vi phẫu 2 loài tương tự nhau.
Gân lá: Phía trên hơi lồi, phía dưới lồi nhiều. Biểu bì trên và dưới là một hàng tế bào hình chữ nhật nhỏ, xếp đều đặn, phía ngoài phủ lớp cutin mỏng. Sát biểu bì là lớp mô dày. Mô mềm là những tế bào thành mỏng hình đa giác hay hình trứng. Trong mô mềm có các đám mô cứng tạo thành cung rải rác bao quanh các bó libe-gỗ. Có 3 bó libe-gỗ lớn ở 3 gân chính, cung libe phía trên và phía dưới bao quanh bó gỗ. Gỗ cấu tạo bởi các mạch gỗ xếp thành hàng xen kẽ trong nhu mô tạo thành các bó riêng biệt.
Phiến lá: Biểu bì trên và dưới là một hàng tế bào hình chữ nhật tương tự gân lá. Mô giậu không rõ. Trong mô mềm có thể cứng và rải rác có tinh thể calci oxalat hình khối.
Thân: Mặt cắt ngang có thiết diện tròn. Bần gồm nhiều hàng tế bào xếp thành vòng đồng tâm và dãy xuyên tâm, mặt ngoài phủ một lớp cutin mỏng. Mô mềm vỏ là những tế bào hình trứng hay đa giác thành mỏng. Trong mô mềm rải rác có các đám mô cứng. Libe gồm các bó nhỏ, ngoài mỗi bó có bó sợi, tầng phát sinh libe-gỗ không rõ. Phần libe-gỗ rất phát triển, libe phía ngoài, phần gỗ phía trong xếp thành các dải. Trong cùng là mô mềm ruột cấu tạo bởi các tế bào hình tròn hay đa giác có kích thước lớn, thành mỏng, rải rác có chứa các đám tinh thể calci oxalat hình khối.

Bột
Cả hai loài đều có đặc điểm tương tự.
Bột màu vàng lục, không mùi, không vị. Soi dưới kính hiển vi quan sát thấy: Mảnh biểu bì mang lỗ khí, mảnh mô mềm lá có các tế bào hình đa giác thành mỏng. Sợi đứng riêng lẻ hay tụ thành bó. Tế bào mô cứng có nhiều hình dạng khác nhau, thành dày, khoang hẹp. Mảnh mạch mạng, mạch xoắn. Tinh thể calci oxalat hình khối.

Định tính
A. Lấy 5 g bột dược liệu vào bình nón, thêm 50 ml *ethanol 90 % (TT)*, đun cách thủy 10 min, lọc nóng, dùng dịch lọc làm các phản ứng sau:
Cho 1 ml dịch lọc vào ống nghiệm, thêm một ít bột *magnesi (TT)* và 5 giọt *acid hydrocloric (TT)*, lắc đều rồi đặt vào nồi cách thủy nóng, xuất hiện màu đỏ.
Cho 1 ml dịch lọc vào ống nghiệm, thêm 2 giọt đến 3 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, xuất hiện màu xanh đen.
Nhỏ 1 giọt dịch lọc lên tờ giấy lọc, sấy khô rồi hơ lên miệng lọ amoniac đặc đã mở nút sẽ thấy màu vàng của vết đậm lên.
Cho 1 ml dịch lọc vào ống nghiệm, thêm 3 giọt đến 5 giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, xuất hiện tủa và màu vàng của dung dịch tăng lên rõ rệt.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Toluen - ethyl acetat - acid formic - nước (6 : 5 : 1,5 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 5 g bột dược liệu chiết bằng *methanol (TT)* trong Soxhlet 2 h. Cất thu hồi dung môi đến cắn, hòa tan cắn bằng nước sôi 3 lần, mỗi lần 8 ml đến 10 ml lọc vào bình gạn. Lắc dịch lọc đã nguội với *n-hexan (TT)* để loại tạp, sau đó lắc với *ethyl acetat (TT)* 3 lần, mỗi lần 8 ml, gộp dịch chiết ethyl acetat cô tới khô, hòa tan cắn trong 1 ml *methanol (TT)* để chấm sắc ký.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 5 g Tầm gửi (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, phun *dung dịch nhôm clorid 3 % trong ethanol (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến
Thu hái dược liệu, loại bỏ tạp chất, cắt đoạn 3 cm đến 5 cm, phơi khô trong bóng râm. Khi dùng có thể tẩm rượu sao qua.

Bảo quản
Để nơi khô ráo, thoáng mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Khổ, bình. Vào kinh can, thận.

Công năng, chủ trị
Khu phong trừ thấp, bổ can thận, mạnh gân xương, an thai, lợi sữa. Chủ trị: Đau lưng, tê đau gân cốt, viêm thận mạn tính, động thai, phụ nữ sau khi đẻ ít sữa.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 12 g đến 20 g, dạng thuốc sắc. Thường phối hợp với các loại thuốc khác.

TẰM VÔI
Bombyx Botryticatus
Bạch cương tàm, Cương tàm

Toàn thân phơi hoặc sấy khô của con Tằm nhà nuôi giai đoạn 4 đến 5 (*Bombyx mori* L.), họ Tằm tơ (Bombycidae) bị nhiễm vi nấm Bạch cương (*Botrytis bassiana* Bals.), họ Mucedinaceae, phân ngành Nấm bất toàn (Deuteromycotina).

Mô tả
Tằm vôi hơi có hình trụ, thường cong queo, nhăn nheo, dài 2 cm đến 5 cm, đường kính 0,5 cm đến 0,7 cm, mặt ngoài màu vàng tro, bao phủ bởi sợi nấm kí sinh và bào tử dạng phấn trắng. Toàn thân chia đốt rõ rệt. Đầu tương đối tròn, mắt ở 2 bên, hai bên lườn bụng có 8 đôi chân giả, đuôi hơi chẻ đôi. Chất cứng giòn, dễ bẻ gãy, mặt gãy bằng phẳng, sáng bóng, lớp ngoài trắng như bột, lớp giữa có 4 vòng tuyến tơ màu đen sáng hay nâu sáng. Mùi hơi tanh, vị hơi mặn.

Bột
Màu nâu xám hoặc nâu xám thẫm. Soi kính hiển vi thấy: Sợi nấm hầu như không màu, cong queo hoặc hình dấu ngoặc, với các sợi xoắn ốc màu nâu hoặc nâu thẫm. Mặt ngoài, mô biểu bì có vân nhăn nheo, hình lưới và những điểm nhỏ nhọn mọc cao lên từ những đường sọc, với những lỗ lông cứng tròn, mép của các lỗ này màu vàng. Lông cứng màu vàng hoặc màu nâu vàng, mặt ngoài trơn bóng, thành hơi dày. Trong mô lá dâu tằm chưa tiêu hóa hết, phần lớn chứa tinh thể calci oxalat hình lăng trụ.

Độ ẩm
Không quá 11,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất
Không quá 0,5 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không quá 7,0 % (Phụ lục 9.8).

Chế biến
Vào mùa xuân và mùa thu, chọn những con tằm nguyên vẹn, chết cứng, trong và ngoài đều trắng đọ bị nhiễm vi nấm *Botrytis bassiana* Bals, rửa sạch, phơi nắng (có phủ vải xô), hoặc sấy nhẹ (40 °C đến 50 °C) đến khô.

Bào chế
Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô.
Tằm vôi sao: Bỏ cám vào chảo, rang đều cho đến khi bốc khói. Cho Tằm vôi đã rửa sạch vào và đảo đều cho đến khi bề mặt của Tằm vôi chuyển thành màu vàng. Sàng loại bỏ cám, để nguội. Dùng 1 kg cám cho 10 kg Tằm vôi.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Hàm, tân, bình. Qui vào các kinh tâm, can, tỳ, phế.

Công năng, chủ trị
Trừ phong, định kinh giản, tiêu đờm. Chủ trị: kinh giản, họng sưng đau, đơn độc, mẩn ngứa da, loa lịch, liệt thần kinh mặt.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 5 g đến 9 g, phối hợp trong các bài thuốc. Trẻ em dùng liều thích hợp theo chỉ dẫn của thầy thuốc.

TẦN GIAO (Rễ)
Radix Gentianae

Rễ đã được phơi hay sấy khô của một số loài Tần giao (*Gentiana macrophylla* Pall., *Gentiana straminea* Maxim., *Gentiana dahurica* Fisch.), họ Long đởm (*Gentianaceae*).

Mô tả
Gentiana macrophylla Pall.: Rễ gần như hình trụ, trên to, dưới nhỏ, xoắn vặn, dài 10 cm đến 30 cm, đường kính 1 cm đến 3 cm. Mặt ngoài màu nâu hơi vàng đến màu vàng hơi xám, có nếp nhăn theo chiều dọc hoặc vặn. Đầu rễ còn sót lại mầu gốc thân. Chất cứng, giòn, dễ bị bẻ gãy. Mặt bẻ hơi có dầu, phần vỏ có màu vàng hoặc vàng nâu, phần gỗ màu vàng. Mùi đặc trưng, vị đắng, hơi chát.
Gentiana straminea Maxim: Rễ hơi hình nón, thường được mở rộng ra do một số rễ nhỏ tụ lại, đường kính tới 7 cm. Mặt ngoài màu nâu, thô, có vết nứt với lỗ vân dạng mạng lưới. Chất giòn, dễ bẻ gãy, mặt bẻ thường có dạng gỗ bị mục.
Gentiana dahurica Fisch.: Rễ hơi hình nón hoặc trụ, dài 8 cm đến 15 cm, đường kính 0,2 cm đến 1 cm. Mặt ngoài có màu vàng nâu. Rễ chính thường là một rễ, đầu rễ còn sót lại gốc thân. Phần dưới của rễ thường phân nhánh. Mặt bẻ có màu trắng vàng.
Dược liệu thái lát: Những lát dày, hình gần tròn, không đều. Bên ngoài màu nâu vàng, vàng xám hoặc nâu, xù xì, có các rãnh vặn xoắn hoặc dạng mạng lưới. Bề mặt phiến có màu vàng hoặc vàng nâu ở phần vỏ và màu vàng ở phần gỗ, đôi khi có gỗ mục ở lõi giữa. Mùi đặc trưng, vị đắng, hơi chát.

Định tính
A. Lấy 2 g bột dược liệu thô, thêm 30 ml hỗn hợp *cloroform - methanol - amoniac* (75 : 25 : 5), ngâm 2 h, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy còn khoảng 1 ml, thêm 2 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* và tiếp tục bốc hơi cloroform, để nguội, lọc. Cho dịch lọc vào 2 ống nghiệm:

Ống 1, thêm vài giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, xuất hiện tủa màu trắng vàng nhạt.
Ống 2, thêm vài giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)*, xuất hiện tủa màu đỏ nâu.
B. Mặt cắt ngang của dược liệu quan sát dưới ánh sáng tử ngoại (ở bước sóng 366 nm) có huỳnh quang màu trắng vàng hoặc vàng kim.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Ethyl acetat - methanol - nước (10 : 2 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 10 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm 15 min, lọc, dùng dịch lọc làm dung dịch thử.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Lấy 0,5 g bột Tần giao (mẫu chuẩn tương ứng), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan gentiopicrin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch chứa 1 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch thử, dung dịch dược liệu đối chiếu và 1 µl dung dịch chất đối chiếu. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí rồi quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu hoặc trong đó có vết cùng màu và giá trị R_f với vết gentiopicrin trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu.

Độ ẩm
Không được quá 9,0 % (Phụ lục 9.6, 2 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không được quá 8,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không được quá 3,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất
Không được quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không được dưới 24,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10).
Dùng *ethanol 50 % (TT)* làm dung môi.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - dung dịch acid acetic 0,1 % (9 : 91).
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,5 g bột dược liệu (qua rây số 355) vào một bình nón nút mài, thêm chính xác 20 ml *methanol (TT)*, đậy nút, cân. Lắc siêu âm trong 30 min, để nguội và cân lại, bổ sung khối lượng mất đi bằng *methanol (TT)*, lắc đều, lọc.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan riêng biệt gentiopicrin chuẩn và loganin chuẩn trong *methanol (TT)* để thu được hai dung dịch chuẩn có nồng độ tương ứng chính xác khoảng 0,5 mg/ml và 0,3 mg/ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm dung dịch chuẩn gentiopicrin. Tiến hành sắc ký và tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột tính trên pic gentiopicrin phải không dưới 3000.
Tiến hành sắc ký lần lượt đối với các dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng gentiopicrin và loganin trong dược liệu, căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{20}O_9$ của gentiopicrin chuẩn và hàm lượng $C_{16}H_{24}O_{10}$ của loganin chuẩn.
Dược liệu phải chứa không dưới 2,5 % tổng hàm lượng của gentiopicrin ($C_{16}H_{20}O_9$) và loganin ($C_{16}H_{24}O_{10}$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa xuân hoặc mùa thu, đào lấy rễ, rửa sạch.
Gentiana macrophylla Pall., *Gentiana straminea* Maxim.: Phơi mềm dược liệu, xếp đống cho ra mồ hôi và đến khi mặt ngoài có màu vàng đỏ hoặc vàng xám, lấy ra dàn mỏng phơi khô, hoặc không để đổ mồ hôi mà phơi khô ngay.
Gentiana dahurica Fisch.: Gọt bỏ vỏ đen lúc còn tươi, phơi khô.
Dược liệu thái lát: Lấy dược liệu khô chưa thái lát, rửa sạch, ủ mềm, thái lát dày, phơi khô.

Bảo quản
Để nơi khô.

Tính vị, quy kinh
Khổ, bình. Vào các kinh vị, đại tràng, can, đởm.

Công năng, chủ trị
Trừ phong thấp, thanh thấp nhiệt, ngừng tê đau. Chủ trị: Phong thấp đau khớp, gân mạch co rút, khớp đau bứt rứt, chân tay co quắp, sốt vào buổi chiều. Trẻ em cam tích phát sốt.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 9 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các loại thuốc khác.

TẤT BÁT (Quả)

Fructus Piperis longi

Tiêu thất, Tiêu lốt, Tiêu lá tim, Tiêu dài

Cụm quả chín hoặc gần chín, phơi khô của cây Tất bát (*Piper longum* L.), họ Hồ tiêu (Piperaceae).

Mô tả
Cụm quả hình trụ, hơi cong, do nhiều quả mọng nhỏ tập hợp thành, dài 1,5 cm đến 3,5 cm, đường kính 0,3 cm đến

0,5 cm, mặt ngoài màu nâu đen hoặc nâu, có nhiều quả nhỏ lên, sắp xếp đều đặn và xiên chéo. Gốc cụm quả có cuống còn sót lại hoặc vết cuống đã rụng. Chất cứng, giòn, dễ gãy. Quả mọng nhỏ, hình cầu, đường kính 1 mm. Mùi thơm, vị cay.

Bột
Bột màu nâu xám. Soi dưới kính hiển vi thấy: Tế bào đá hình gần tròn, hình trứng dài hoặc hình đa giác, đường kính 25 µm đến 61 µm, có khi tới 170 µm, thành tương đối dày, đôi khi có đường sọc kẻ rõ. Túi tiết hình gần tròn, đường kính 25 µm đến 66 µm. Tế bào vỏ hạt màu nâu đỏ, hình đa giác dài, thành có dạng chuỗi hạt. Hạt tinh bột nhỏ, thường tụ tập thành khối.

Định tính
A. Lấy một lượng nhỏ bột dược liệu, cho vào ống nghiệm, thêm 1 giọt *acid sulfuric (TT)*, sẽ hiện ra màu đỏ tươi, dần dần biến thành màu nâu đỏ, sau cùng chuyển thành màu nâu.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel $G60F_{254}$.
Dung môi khai triển: Toluen - ethyl acetat - aceton (7 : 2 : 1).
Dung dịch thử: Lấy khoảng 1 g bột dược liệu, thêm 5 ml *ethanol 96 % (TT)*, lắc siêu âm trong 30 min, lọc, lấy dịch lọc làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 1 g bột Tất bát (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi khai triển xong, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*. Sấy bản mỏng ở 110 °C cho đến khi xuất hiện vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 11,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất
Không quá 3 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 8,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi. Sấy cắn thu được ở 100 °C trong 3 h.

Chế biến
Thu hoạch khi cụm quả chuyển từ màu xanh lục sang màu đen, loại bỏ tạp chất, phơi khô.

Bảo quản
Để nơi khô, mát, tránh mọt.

Tính vị, quy kinh
Tân, nhiệt. Vào các kinh tỳ, vị.

Công năng, chủ trị
Ôn trung khứ hàn, hạ khí, chỉ thống. Chủ trị: Đau thượng vị, nôn mửa, tiêu chảy do hàn, thiên đầu thống. Dùng ngoài chữa đau răng.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 1,5 g đến 3 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.
Dùng ngoài: Lượng thích hợp, tán bột, cho vào lỗ răng sâu.

Kiêng kỵ
Nếu phế tỳ có thực nhiệt uất hỏa và tràng vị táo nhiệt gây đau thì cấm dùng.

TẾ TÂN (Rễ và Thân rễ)
Radix et Rhizoma Asari

Rễ và thân rễ đã phơi khô của cây Bắc tế tân [*Asarum heterotropoides* Fr. Schmidt var. *mandshuricum* (Maxim.) Kitag.], cây Hán thành tế tân (*Asarum sieboldii* Miq. var. *seoulense* Nakai), hoặc Hoa tế tân (*Asarum sieboldii* Miq.) cùng họ Mộc hương (*Aristolochiaceae*). Hai loài trên còn gọi là Liêu tế tân.

Mô tả
Bắc tế tân: Thường cuộn lại thành một khối lỏng lẻo. Thân rễ mọc ngang hình trụ, không đều, phân nhánh ngắn, dài 1 cm đến 10 cm, đường kính 2 mm đến 4 mm; mặt ngoài màu nâu xám, xù xì, với những mấu vòng, đốt dài 2 mm đến 3 mm, có các vết sẹo thân hình đĩa ở đầu nhánh. Rễ mảnh dẻ, mọc gần nhau ở các mấu, dài 10 cm đến 20 cm, đường kính 1 mm; mặt ngoài màu vàng xám, nhẵn hoặc có vết nhăn dọc, với những rễ con nhỏ hoặc vết sẹo. Chất giòn, dễ bị bẻ gãy, mặt bẻ phẳng, màu trắng hơi vàng, hoặc trắng. Mùi hăng và thơm; vị cay với cảm giác tê lưỡi.
Hán thành tế tân: Thân rễ có đường kính 1 mm đến 5 mm, đốt dài 0,1 cm đến 1 cm.
Hoa tế tân: Thân rễ dài 5 cm đến 20 cm, đường kính 1 mm đến 2 mm, đốt dài 0,2 cm đến 1 cm. Mùi và vị hơi nhẹ.
Tế tân cắt đoạn: Dược liệu sau khi cắt đoạn gồm những đoạn dài ngắn không đều. Các đoạn thân rễ hình trụ tròn, mặt ngoài màu nâu xám, có nhiều vòng nốt sần. Đoạn rễ mảnh hơn, mặt ngoài màu nâu xám, mịn hoặc có nếp nhăn dọc. Mặt cắt trắng ngà hoặc màu trắng. Mùi hăng và thơm; vị cay với cảm giác tê lưỡi.

Vi phẫu
Phần biểu bì còn lại gồm một lớp tế bào. Vỏ rộng, rải rác nhiều tế bào dầu; ngoại bì gồm một lớp tế bào, hình thuôn, thành hóa bần và hơi hóa gỗ; nội bì rõ, có thể nhìn thấy những chấm hóa bần ở thành của tế bào nội bì (đai Caspari). Trụ bì gồm 1 đến 2 lớp tế bào. Gỗ sơ cấp. Bó libe, mỗi bó có từ 1 đến 3 tế bào mô mềm lớn hơn nằm ở trung tâm nhưng đường kính của các tế bào này nhỏ hơn nhiều so với mạch lớn nhất, trong bó libe còn có các tế bào không lớn. Tế bào mô mềm chứa hạt tinh bột.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C) - ethyl acetat (3 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 20 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm 45 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 2 ml *ethanol (TT)* được dung dịch thử.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Lấy 0,5 g bột Tế tân (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như đối với dung dịch thử.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan một lượng asarinin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch chứa 1 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, phun *dung dịch vanillin 1 % trong acid sulfuric (TT)*, sấy bản mỏng ở 105 °C cho đến khi hiện rõ vết. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của các dung dịch dược liệu đối chiếu và trong đó có vết cùng màu sắc và giá trị R_f với vết của asarinin trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu.

Độ ẩm
Không được quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất
Không được quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không được quá 12,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.7).

Giới hạn acid aristolochic I
Đạt yêu cầu về giới hạn acid aristolochic I (Phụ lục 12.22).

Chất chiết được trong dược liệu
Không được dưới 9,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Định lượng
Tinh dầu
Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Hàm lượng tinh dầu trong dược liệu không được dưới 2,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Asarinin
Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động A: Acetonitril (TT).
Pha động B: Nước.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan asarinin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch chuẩn có nồng độ chính xác khoảng 50 µg/ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,5 g bột dược liệu (qua rây số 355) vào một bình nón nút mài, thêm chính xác 15 ml *methanol (TT)* đậy bình và cân. Lắc siêu âm trong 45 min, để nguội và cân lại. Bổ sung khối lượng mất đi bằng *methanol (TT)*, lắc đều, lọc qua giấy lọc thường rồi lọc qua màng lọc 0,45 µm được dung dịch thử.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Nhiệt độ cột: 40 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 287 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 20	50	50
20 - 26	50 → 100	50 → 0

Tiêm dung dịch chuẩn. Tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột tính trên pic asarinin phải không dưới 10000.
Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng asarinin trong dược liệu dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{20}H_{18}O_6$ của asarinin chuẩn.
Dược liệu phải chứa không dưới 0,05 % asarinin ($C_{20}H_{18}O_6$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa hạ và đầu mùa thu, khi quả chín, đào lấy cả cây Tế tân, rửa sạch, phơi âm can.
Tế tân cắt đoạn: Lấy dược liệu khô, loại bỏ tạp chất, vẩy nước vào cho mềm, cắt thành từng đoạn, phơi âm can đến khô.

Bảo quản
Để nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh
Tân, ôn. Vào các kinh tâm, phế, thận, can.

Công năng, chủ trị
Khu phong, tán hàn, thông khiếu, giảm đau, ôn phế, hóa đàm ẩm. Chủ trị: Cảm mạo phong hàn, nhức đầu, đau răng, ngạt mũi, chảy nước mũi, phong thấp đau tê, đàm ẩm, ho suyễn.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 4 g đến 8 g, dạng thuốc sắc, bột, hay viên. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.
Dùng ngoài: Lượng thích hợp.

Kiêng kỵ
Không dùng phối hợp với Lê lô.
Dùng thận trọng với người âm hư hỏa vượng.

THẠCH CAO

Gypsum fibrosum
Đại thạch cao, băng thạch

Chất khoáng thiên nhiên có thành phần chủ yếu là calci sulfat ngậm 2 phân tử nước ($CaSO_4.2H_2O$).

Mô tả
Thạch cao là một khối tập hợp của các sợi theo chiều dài, hình phiến hoặc các miếng không đều, màu trắng, trắng xám hoặc vàng nhạt, đôi khi trong suốt. Thể nặng, chất xốp, mặt cắt dọc có sợi óng ánh. Thạch cao màu trắng, bóng, mảnh to, xốp, mặt ngoài như sợi tơ, không lẫn tạp chất là tốt. Không mùi, vị nhạt.

Định tính
A. Lấy một miếng thạch cao (chế phẩm) cho vào một ống nghiệm có nút bần đã đục lỗ, đốt lên, hơi ẩm sẽ đọng lại ở thành ống nghiệm, miếng thạch cao trở nên trắng đục.
B. Lấy khoảng 0,2 g bột chế phẩm, thêm 10 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*, đun nóng để hòa tan, được dung dịch A, tiến hành thử phản ứng calci và sulfat như sau:
Sulfat:
Thêm 1 ml *dung dịch bari clorid 5 % (TT)* vào 3 ml dung dịch A, có tủa trắng, tủa không tan trong *acid hydrocloric (TT)* và *acid nitric (TT)*.
Thêm 1 giọt đến 2 giọt *dung dịch chì acetat 20 % (TT)* vào 3 ml dung dịch A, có tủa màu trắng, tủa này tan trong *dung dịch amoni acetat 10 %* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 4,3 %*.
Calci:
Làm ẩm chế phẩm với *acid hydrocloric (TT)*, lấy que dây Bạch kim (Pt) chấm vào, hơ lên ngọn lửa không màu, sẽ thấy màu đỏ vàng nhạt.
Thêm 2 giọt *dung dịch đỏ methyl (TT)* vào 3 ml dung dịch A, trung hòa bằng *amoniac (TT)*, sau đó acid hóa bằng *acid hydrocloric loãng (TT)*, thêm vài giọt *dung dịch amoni oxalat 3,5 % (TT)*, sẽ có tủa trắng tan trong *acid hydrocloric (TT)* nhưng không tan trong *acid acetic (TT)*.

Kim loại nặng
Không quá 10 phần triệu.
Dung dịch thử: Lấy 4 g bột chế phẩm thêm 4 ml *acid acetic băng (TT)* và 96 ml *nước*, đun sôi 10 min, để nguội, thêm *nước* cho vừa đúng thể tích ban đầu, lọc. Lấy 25 ml dịch lọc cho vào ống Nessler A.
Dung dịch đối chiếu: Cho vào ống Nessler B gồm 1 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)*, 2 ml *dung dịch đệm acetat pH 3,5*, thêm *nước* vừa đủ 25 ml.
Thêm vào mỗi ống Nessler trên 2 ml *dung dịch thioacetamid (TT)*, để yên 2 min. So sánh màu của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu bằng cách quan sát từ trên xuống dọc theo trục của ống nghiệm trên nền trắng. Màu của dung dịch thử không được đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu.

Arsen
Không được quá 2 phần triệu.
Lấy 1 g chế phẩm, thêm 15 ml *acid hydrocloric (TT)* và *nước* đến 40 ml, đun nóng để hòa tan. Tiến hành thử giới hạn arsen (Phụ lục 9.4.2). Dùng 2 ml *dung dịch arsen mẫu 1 phần triệu As (TT)* làm dung dịch so sánh.

Định lượng
Cân chính xác 0,2 g bột chế phẩm mịn, cho vào một bình nón, thêm 10 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*, đun nóng để hòa tan, thêm 100 ml *nước* và 1 giọt *dung dịch đỏ methyl (TT)*, thêm nhỏ giọt *dung dịch kali hydroxyd 10 % (TT)* đến khi dung dịch chuyển sang màu vàng nhạt, sau đó thêm tiếp 5 ml. Thêm một lượng nhỏ *hỗn hợp chỉ thị màu calcein (TT)*, chuẩn độ bằng *dung dịch dinatri edetat 0,05 M (CĐ)* đến khi huỳnh quang lục vàng nhạt mất đi và chuyển sang màu da cam. 1 ml *dung dịch dinatri edetat 0,05 M (CĐ)* tương đương với 8,608 mg $CaSO_4.2H_2O$. Chế phẩm phải có hàm lượng calci sulfat dihydrat ($CaSO_4.2H_2O$) không được dưới 95,0 %.

Chế biến
Lấy thạch cao, rửa sạch, phơi khô, đập ra thành miếng nhỏ, loại bỏ các đá tạp, sau nghiền thành bột thô gọi là sinh thạch cao.

Bào chế
Đoạn thạch cao: Lấy sinh thạch cao sạch, đập thành khối nhỏ, bỏ vào lò lửa không khói, nung đến khi tơi bở, lấy ra, để nguội, đập vụn.

Bảo quản
Để nơi khô.

Tính vị, quy kinh
Sinh thạch cao: Cam, tân, đại hàn. Vào các kinh phế, vị, tam tiêu, tâm bào.
Đoạn thạch cao: Cam, tân, sáp, hàn.

Công năng, chủ trị
Sinh thạch cao: Thanh nhiệt tả hỏa, trừ phiền chỉ khát. Chủ trị: Thực nhiệt ở phần khí của phế vị (sốt cao, mồ hôi nhiều khát nhiều, mạch hồng đại), nhiệt độc thịnh ở kinh mạch (sốt cao phát ban), giai đoạn sau của bệnh ôn (còn sốt nhẹ, tâm phiền, miệng khô, hơi đỏ), viêm lợi.
Đoạn thạch cao: Thu thấp, sinh cơ, liễm sang, chỉ huyết. Chủ trị: Dùng ngoài điều trị vết loét không thu miệng, ngứa do thấp chẩn, bỏng nước, bỏng lửa, ngoại thương chảy máu.

Cách dùng, liều lượng
Sinh thạch cao: Ngày dùng từ 10 g đến 36 g, dạng thuốc sắc (sắc trước các loại thuốc khác).
Đoạn thạch cao: Tán bột đắp nơi đau, lượng thích hợp.

Kiêng kỵ
Chứng hư hàn không dùng.

THẠCH HỘC (Thân)
Herba Dendrobii

Thân tươi hay khô của cây Thạch hộc: Kim thoa thạch hộc (*Dendrobium nobile* Lindl.), Hoàn thảo thạch hộc, Thạch hộc hoa gừng (*Dendrobium loddigesii* Rolfe), Hoàng thảo thạch hộc (*Dendrobium chrysanthum* Wall. ex Lindl.), Thiết bì thạch hộc (*Dendrobium candidum* Wall. ex Lindl.), Mã tiên thạch hộc (*Dendrobium fimbriatum* Hook. f.) và các loại thạch hộc tương tự khác, họ Lan (Orchidaceae).

Mô tả

Thạch hộc tươi: Hình trụ hoặc trụ dẹt, dài 30 cm, đường kính 0,4 cm đến 1,2 cm. Mặt ngoài có màu lục vàng, nhẵn, có đường vân dọc và các đốt rõ, màu sẫm hơn mang các bẹ lá. Thân mập, mọng nước, dễ bẻ gẫy. Mùi nhẹ, vị hơi đắng, sau ngọt và có chất nhày khi nhai.

Sau khi cắt đoạn, dược liệu là các đoạn hình trụ hoặc hình trụ dẹt, đường kính 0,4 cm đến 1,2 cm. Mặt ngoài màu lục vàng, trơn mịn hoặc có vạch dọc.Thể chất mập, mọng nước. Mùi nhẹ, vị hơi đắng sau ngọt, có chất nhày khi nhai.

Thạch hộc khô:

Kim thoa thạch hộc (Dendrobium nobile): Hình trụ tròn dẹt, dài 20 cm đến 40 cm, đường kính 0,4 cm đến 0,6 cm, các đốt dài 2,5 cm đến 3 cm. Mặt ngoài có màu vàng kim hoặc màu vàng lục, có rãnh dọc sâu. Chất cứng, giòn. Mặt bẻ tương đối phẳng, mặt bẻ xốp. Vị đắng.

Hoàn thảo thạch hộc (Dendrobium loddigesii): Hình trụ, mảnh khảnh, thường uốn cong hoặc cuộn thành một khối, dài 15 cm đến 35 cm, đường kính 0,1 cm đến 0,3 cm, đốt dài 1 cm đến 2 cm. Mặt ngoài màu vàng kim sáng bóng, có vân dọc nhỏ. Chất mềm, dai, chắc. Mặt bẻ gãy tương đối bằng phẳng. Không có mùi, vị nhạt.

Hoàng thảo thạch hộc (Dendrobium chrysanthum): Dài 30 cm đến 80 cm, đường kính 0,3 cm đến 0,5 cm, đốt dài 2 cm đến 3,5 cm. Mặt ngoài màu vàng kim đến màu nâu vàng nhạt. Có rãnh dọc. Nhẹ và chắc, dễ bẻ gãy, mặt bẻ gãy hơi có xơ. Nhai có cảm giác dính.

Nhĩ hoàn thạch hộc {Thiết bì thạch hộc (*Dendrobium candidum*) sau khi cắt bỏ rễ phơi hoặc sấy khô}: Hình xoáy ốc hoặc hình lò so, thường có 2 đến 4 vòng xoáy. Sau khi kéo thẳng ra dài 3,5 cm đến 8 cm, đường kính 0,2 cm đến 0,3 cm. Mặt ngoài màu lục vàng có vân nhăn dọc nhỏ. Chất rắn chắc, dễ bẻ gãy, mặt bẻ gãy phẳng. Nhai có cảm giác dính.

Mã tiền thạch hộc (Dendrobium fimbriatum) và các loài thạch hộc tương tự khác: Hình trụ dài, dài 20 cm đến 150 cm, đường kính 0,4 cm đến 1,2 cm, đốt dài 2 cm đến 6 cm. Mặt ngoài màu vàng đến vàng sậm. Có rãnh dọc sâu. Chất xốp, mặt bẻ gãy có xơ dạng sợi. Vị hơi đắng, có chất nhày khi nhai.

Thạch hộc khô sau khi cắt đoạn: Dược liệu là các đoạn hình trụ hoặc hình trụ dẹt. Mặt ngoài màu vàng kim, vàng lục hoặc vàng nâu, bóng, có các rãnh dọc sâu hoặc có nếp nhăn dọc ở các góc, đôi khi thấy các mẩu màu nâu. Mặt cắt màu vàng nhạt tới vàng nâu, rải rác có các vết tích của bó mạch dạng điểm. Mùi nhẹ, vị hơi đắng hoặc nhạt, nhai có chất nhày.

Bột

Màu lục xám hoặc vàng xám. Các mảnh cutin màu vàng; tế bào biểu bì hình đa giác dài hoặc gần đa giác khi nhìn trên bề mặt, thành có cutin dạng hạt. Sợi trụ bì thành bó hoặc rải rác, hình thoi hoặc mảnh dẻ, thành tương đối dày, ít lỗ trao đổi, có mang các tế bào nhỏ có chứa các tinh thể silic xếp thành hàng. Sợi gỗ mảnh, đầu nhọn hoặc tù, đôi khi thành hơi dày. Mảnh mạch lưới, mạch thang, mạch điểm, đường kính 12 µm đến 50 µm. Tinh thể calci oxalat hình kim tụ thành bó hoặc rải rác.

Định tính

A. Kim thoa thạch hộc (Dendrobium nobile):

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C) - aceton (7 : 3).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu (nghiền dược liệu khô), thêm 10 ml *methanol (TT)*, siêu âm 30 min, để nguội, lọc, lấy dịch lọc làm dịch chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan dendrobin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 0,5 mg/ml. Nếu không có dendrobin chuẩn, lấy 1 g bột Kim thoa thạch hộc (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *thuốc thử Dragendorff (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. *Mã tiền thạch hộc (Dendrobium fimbriatum)* và các loài thạch hộc tương tự khác:

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C) - ethyl acetat (3 : 2).

Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu (nghiền dược liệu khô), thêm 25 ml *methanol (TT)*, siêu âm 45 min, để nguội, lọc, bay hơi dịch lọc trên cách thủy tới cạn, hòa tan cặn trong 5 ml *methanol (TT)* được dịch chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan dendrophenol chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 0,2 mg/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*. Sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với vết của dendrophenol trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % đối với dược liệu khô (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % đối với dược liệu khô (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Tỷ lệ dược liệu có màu nâu, xám: Không quá 1 % đối với dược liệu khô (Phụ lục 12.11).

Chế biến
Quanh năm đều có thể thu hái.
Dùng tươi: Sau khi thu hái, loại bỏ tạp chất, rửa sạch, cắt đoạn.
Dùng khô:
Đối với Thiết bì thạch hộc: Cắt bỏ rễ con, vừa sao vừa vặn cho đến khi có hình xoắn ốc hoặc lò so, sấy khô quen gọi là Nhĩ hoàn thạch hộc (thạch hộc vòng tai).
Đối với các loài Thạch hộc khác: Sau khi thu hái, loại bỏ tạp chất, luộc qua hoặc sấy mềm, vừa đảo vừa sấy cho đến khi bao lá khô. Khi dùng cắt đoạn.

Bảo quản
Dược liệu khô: Để nơi khô.
Dược liệu tươi: Để nơi mát, ẩm.

Tính vị, quy kinh
Cam, vi hàn. Vào các kinh vị, thận, phế.

Công năng, chủ trị
Tư âm thanh nhiệt, ích vị sinh tân. Chủ trị: âm hư nội nhiệt, tân dịch hao tổn (nóng sốt nhẹ, bứt rứt, háo khát). Vị âm hư, vị nhiệt (ăn kém, nôn khan, môi miệng khô, lở loét miệng). Tiêu khát.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 12 g dược liệu khô, từ 15 g đến 30 g dược liệu tươi, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các loại thuốc khác.

THANH CAO
Herba Artemisiae apiaceae

Phần trên mặt đất đã phơi hay sấy khô của cây Thanh cao (*Artemisia apiacea* Hance), họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả
Cành hình trụ, nhẵn, có rãnh dọc nông, màu vàng nâu, đường kính 0,2 cm đến 0,6 cm, dài 40 cm đến 60 cm, mang nhiều hoa và lá. Phần trên thân phân nhánh nhiều. Chất nhẹ, dễ bẻ gãy, ruột trắng. Phiến lá và hoa hay bị rụng. Lá hoàn chỉnh có hình bầu dục dài, xẻ sâu dạng lông chim hai lần, phiến xẻ nhỏ hình bầu dục dài, hoặc dạng răng cưa, hình tam giác nhọn đầu. Cụm hoa đầu hình bán cầu, đường kính 0,3 cm đến 0,4 cm, gồm nhiều hoa nhỏ màu vàng nhạt. Mùi thơm đặc biệt, vị hơi đắng.

Vi phẫu
Thân: Biểu bì. Lớp mô mềm vỏ tương đối hẹp. Nội bì có tế bào kéo dài theo hướng tiếp tuyến, thành hơi dày. Sợi mô cứng từng đám xếp thành một vòng. Phần gỗ ứng với đám mô cứng phát triển rộng hơn, phía trong mạch gỗ nhiều và to hơn. Mô mềm ruột.

Bột
Mảnh lá bắc tế bào gần như hình chữ nhật. Mảnh lá đài gồm các tế bào dài. Sợi dài, thành khá dày, đứng riêng hoặc tụ thành đám. Mảnh mạch điểm, mạch vạch.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).
Dùng 10 g dược liệu đã tán nhỏ để thử.

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Các bộ phận khác của cây: Không quá 2,0 %.
Phần cụm hoa và lá: Không ít hơn 35,0 %.

Tỷ lệ vụn nát
Hoa, lá rụng: Không quá 10 % (Phụ lục 12.12).

Chế biến
Thu hái khi cây đang ra hoa. Chặt cả cây, bỏ rễ, loại bỏ tạp chất, chặt nhỏ, phơi khô (dùng sống) hoặc sao qua (dùng chín). Cây có nhiều lá, hoa, khô chắc, có mùi thơm là tốt. Để tăng tính âm còn tẩm với miết huyết.

Bảo quản
Để nơi khô mát, tránh vụn nát và rụng lá, hoa.

Tính vị, quy kinh
Khổ, vi tân, hàn. Vào các kinh can, đởm.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt giải thử, lương huyết thoái hư nhiệt. Chủ trị: Bệnh lao nhiệt, một số chứng sốt do phế lao, sốt rét, chứng hàn nhiệt vãng lai, ra mồ hôi trộm. Trúng thử.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các loại thuốc khác.

Kiêng kỵ
Người khí hư, ỉa lỏng không nên dùng.

THANH CAO HOA VÀNG (Lá)
Folium Artemisiae annuae
Thanh hao hoa vàng

Lá đã phơi hay sấy khô của cây Thanh cao hoa vàng (*Artemisia annua* L.), họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả
Lá màu vàng nâu hoặc nâu sẫm, giòn, dễ vụn nát, mùi thơm hắc đặc biệt, vị đắng. Có thể lẫn một ít cành non hoặc ngọn non.

Vi phẫu
Phần gân giữa: Biểu bì trên và dưới gồm một lớp tế bào xếp đều đặn có tầng cutin mỏng, mang lông che chở và lông tiết. Đám mô dày xếp sát biểu bì trên và dưới. Mô mềm vỏ tế bào thành mỏng nhăn nheo. Một số bó libe-gỗ to nằm giữa gân lá gồm: Cung mô cứng úp vào nhau, tế bào mô cứng thành dày hình nhiều cạnh; cung libe nằm sát cung mô cứng dưới; bó gỗ hình thoi gồm những mạch gỗ xếp thành dãy nằm giữa cung libe và cung mô cứng trên.
Phần phiến lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới gồm một lớp tế bào xếp đều đặn, mang lông che chở và lông tiết. Biểu bì

dưới mang lỗ khí. Mô dậu ở cả hai mặt của phiến lá. Trong phần mô khuyết từng quãng có bó libe-gỗ nhỏ.

Bột
Mảnh biểu bì gồm tế bào thành mỏng mang lỗ khí. Lông che chở hình chữ T, đầu lông đơn bào hình thoi, chân đa bào gồm 2 đến 3 tế bào. Một loại lông che chở khác đa bào một dãy, đầu thuôn nhỏ. Lông tiết đầu hai tế bào, chân 1 đến 2 dãy tế bào. Mảnh mô mềm. Mảnh mạch vạch, mạch xoắn.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Hệ dung môi: Toluen - ethyl acetat (95 : 5).
Dung dịch thử: Lấy 1 g dược liệu cho vào bình dung tích 100 ml, thêm 30 ml *ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (TT)*, đun sôi hồi lưu trên cách thủy 5 min đến 10 min. Để nguội, lọc lấy dịch chiết, cô trên cách thủy đến khô. Hòa cắn trong 1 ml *cloroform (TT)*, thêm 9 ml *ethanol (TT)*, lắc đều, lọc, được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch artemisinin chuẩn 0,1 % trong *ethanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun thuốc thử {gồm 0,025 g *4-dimethylaminobenzaldehyd (TT)* trong 5,0 ml *acid acetic (TT)* và 5,0 ml *dung dịch acid phosphoric 10 % (TT)*}. Sấy bản mỏng ở 110 °C trong 5 min. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có một vết màu xanh tím cùng màu sắc và giá trị R_f với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 5h).

Tro toàn phần
Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Tỉ lệ cành non và ngọn non: Không quá 10,0 %.
Tạp chất khác: Không quá 2,0 %.

Định lượng
Phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại (Phụ lục 4.1), kết hợp phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Hệ dung môi: n-Hexan - ethyl acetat (70 : 30).
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 1 g bột dược liệu (qua rây số 355), chiết với *ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (TT)* trong bình Soxhlet dung tích 50 ml trên cách thủy trong 6 h, cất thu hồi dung môi lấy cắn. Hòa tan cắn trong 1 ml *cloroform (TT)* và cho vào bình định mức 10 ml, tráng cốc đựng cắn bằng *ethanol (TT)* rồi thêm cùng dung môi đến vạch. Lọc qua giấy lọc, bỏ 0,5 ml đến 1 ml dịch lọc đầu, lấy khoảng 2 ml dịch lọc tiếp theo.
Dung dịch đối chiếu: Cân chính xác 0,010 g artemisinin chuẩn, hòa tan trong 10 ml *ethanol (TT)* (pha dùng trong ngày).
Bản mỏng silica gel G (20 cm × 20 cm) đã được hoạt hóa ở 110 °C trong 2 h, được chia vạch thành 5 băng, chấm lần lượt mỗi băng 0,1 ml các dung dịch thử (băng 1 và 2) và dung dịch đối chiếu (băng 3 và 4), chấm thành vạch dài 2 cm, rộng 0,3 cm; băng 5: chấm 0,1 ml *ethanol (TT)* làm mẫu trắng.
Tiến hành sắc ký, sau khi triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 18 cm, lấy bản mỏng ra, để khô dung môi ngoài không khí trong 1 h. Phun nước cất làm ướt bản mỏng để xác định các vùng có artemisinin, các vết artemisinin chuẩn sẽ xuất hiện màu trắng đục trên sắc ký đồ. Vạch đường ngang ở phía trên và phía dưới vết artemisinin đã được xác định sao cho cách đều hai mép của vết 0,5 cm đến 0,7 cm. Cạo riêng biệt các vùng có artemisinin của vết 1, 2, 3 và 4. Cạo vùng không chứa arteminsinin của vết 5 làm mẫu trắng. Cho vào mỗi mẫu bột silica gel cạo được nói trên 1 ml *ethanol (TT)*, lắc kỹ. Thêm 9 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,05 N (TT)*, lắc kỹ, cho vào tủ ấm 50 °C trong 30 min. Lấy ra để nguội 15 min, lọc lấy dịch lọc trong và đo độ hấp thụ của các dung dịch so với dung dịch mẫu trắng ở bước sóng 292 nm (Phụ lục 4.1). Kết quả đo của mỗi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu là giá trị trung bình của 2 lần đo nhắc lại.
Từ độ hấp thụ của dung dịch chuẩn và dung dịch đối chiếu, nồng độ của dung dịch artemisinin chuẩn, tính hàm lượng artemisinin trong dược liệu.
Hàm lượng artemisinin ($C_{15}H_{22}O_5$) phải không được ít hơn 0,7 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hái vào lúc cây sắp ra hoa, tốt nhất là vào mùa hè, khi cây có nhiều lá, cắt phần trên mặt đất, phơi khô, lắc hoặc đập cho lá rụng, loại bỏ thân cành, lấy lá phơi đến khô hoặc sấy nhẹ đến khô.

Bảo quản
Để nơi khô, thoáng, tránh mốc, mọt.

Công dụng
Dùng chiết xuất artemisinin.

THANH BÌ
Pericarpium Citri reticulatae viride

Vỏ quả non hoặc vỏ quả chưa chín, phơi hay sấy khô của cây Quýt *(Citrus reticulata* Blanco), họ Cam (Rutaceae).
Có 2 loại Thanh bì: Tử hoa thanh bì và Cá thanh bì.

Mô tả
Tử hoa thanh bì: Vỏ quả được bổ thành 4 miếng đến đáy gốc, 4 mảnh này hình dạng không giống nhau, phần lớn cong vào phía trong, vỏ mỏng, hình bầu dục dài, chiều dài miếng 4 cm đến 6 cm, dày 0,1 cm đến 0,2 cm. Mặt ngoài màu lục xám hoặc màu lục đen, hơi ráp, có nhiều túi tiết, mặt trong màu trắng hoặc trắng vàng, ráp, có các gân trắng ngà hoặc nâu vàng nhạt. Chất hơi cứng, dễ bẻ gẫy, mặt cắt có 1 hàng đến 2 hàng túi tiết ở phần ngoài. Mùi thơm ngát,

vị đắng, cay. Vỏ màu lục đen, mặt trong trắng nhiều tinh dầu là tốt.
Cá thanh bì: Gần hình cầu, đường kính 0,5 cm đến 2,0 cm. Mặt ngoài lục xám hay lục đen, hơi ráp, có nhiều túi tiết nhỏ và chìm. Ở đỉnh quả có vòi nhụy hơi nhô lên, ở gốc quả có vết sẹo tròn của cuống quả. Chất cứng, mặt cắt màu trắng ngà hoặc màu nâu vàng nhạt, dày 1 cm đến 2 cm, có 1 hàng đến 2 hàng túi tiết ở phần ngoài. Mùi thơm ngát, vị đắng cay.

Bột
Tử hoa thanh bì: Bột màu lục xám hoặc nâu xám, nhiều tế bào mô mềm không đều nhau, thành hơi dày, một số dạng chuỗi hạt. Tế bào biểu bì vỏ quả hình đa giác hoặc hình gần vuông khi nhìn trên bề mặt, thành dày lồi lên. Tinh thể calci oxalat hình lăng trụ có trong tế bào mô mềm gần biểu bì, tế bào hình nhiều cạnh, hình thoi, hoặc vuông, đường kính 8 µm đến 28 µm, dài 24 µm đến 32 µm. Tinh thể hesperidin vàng nâu nhạt, hình bán cầu, tròn hoặc khối không đều. Mảnh mạch vòng, mạch xoắn.
Cá thanh bì: Tế bào biểu bì của múi cơm quả dài, hẹp, thành mỏng, một số hơi uốn lượn, có chứa tinh thể calci oxalat hình lăng trụ kích thước tương tự như ở vỏ quả; cũng có tinh thể hesperidin.

Định tính
A. Lấy 0,3 g bột dược liệu, thêm 10 ml *methanol (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 20 min. Lọc lấy dịch lọc và làm các phản ứng sau:
Lấy 1 ml dịch lọc, thêm một ít bột *magnesi (TT)* và vài giọt *acid hydrocloric (TT)*, màu đỏ anh đào sẽ hiện dần ra.
Lấy 1 ml dịch lọc, thêm vài giọt *dung dịch natri hydroxyd 5 % (TT)*, xuất hiện kết tủa màu vàng, tiếp tục thêm 1 ml *nước cất*, tủa sẽ tan ra.
Lấy 1 ml dịch lọc, thêm vài giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, xuất hiện màu xanh đen.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel G đã hoạt hoá ở 110 °C trong 30 min.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - acid acetic băng - butanol (13 : 0,4 : 0,1 : 0,1).
Dung dịch thử: Dùng 5 ml dịch lọc ở mục Định tính A, cô trên cách thủy còn 1 ml.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch hesperidin bão hòa trong *methanol (TT)*. Nếu không có hesperidin, lấy 0,3 g bột Thanh bì (mẫu chuẩn) rồi tiến hành chiết như mục Định tính A và cô 5 ml dịch lọc trên cách thủy còn 1 ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký xong, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch nhôm clorid 3 % trong ethanol (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không được quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).

Định lượng
Cân chính xác khoảng 1 g bột dược liệu (qua rây có cỡ mắt rây 1,25 mm), cho vào bình Soxhlet, thêm 100 ml *ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C) (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy trong 1 h và loại bỏ dịch ether dầu hoả. Sau đó chuyển dược liệu sang bình nón 250 ml và đun hồi lưu trên cách thủy với *methanol (TT)* cho tới khi hết màu vàng (50 ml × 4 lần). Gộp các dịch chiết và cất thu hồi dung môi cho đến cắn. Thêm vào cắn 5 ml *nước*, khuấy và để yên 10 min, lọc qua phễu lọc xốp, tiếp tục rửa bằng *nước* (5 ml × 4 lần) và loại bỏ nước rửa. Hòa tan cắn trên phễu bằng những lượng nhỏ *dung dịch natri hydroxyd 0,2 % trong ethanol 70 % (TT)* đến khi dịch lọc hết màu vàng. Gộp các dịch lọc vào bình định mức 100 ml, thêm *dung dịch natri hydroxyd 0,2 % trong ethanol 70 % (TT)* đến vạch (dung dịch A). Lắc kỹ, lấy chính xác 1 ml dung dịch A, pha loãng thành 25 ml bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,2 % trong ethanol 70 % (TT)*, đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 361 nm. Tính hàm lượng hesperidin ($C_{28}H_{34}O_{15}$) theo A (1 %, 1 cm), lấy 160 là giá trị của A (1 %, 1 cm) ở 361 nm.
Hàm lượng hesperidin trong vỏ quả không được ít hơn 5,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch vào tháng 5 - 6. Thu thập các quả quýt non tự rơi rụng, rửa sạch, phơi khô (thường gọi là Cá thanh bì). Thu hái quả chưa chín vào tháng 7 - 8, rửa sạch, bổ dọc thành 4 mảnh vỏ dính nhau ở đáy quả, loại bỏ hoàn toàn ruột, phơi khô (thường gọi là Tử hoa thanh bì).

Bào chế
Lấy thanh bì, loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái lát dày hoặc thành sợi, phơi khô.
Thố thanh bì (chế dấm): Trộn đều miếng hoặc sợi Thanh bì với dấm, cho vào nồi, sao nhỏ lửa đến có màu hơi vàng, lấy ra phơi khô. Cứ 100 kg Thanh bì dùng 15 L dấm.

Bảo quản
Bảo quản ở nơi khô mát, trong bao bì kín.

Tính vị, quy kinh
Khổ, tân, ôn. Vào các kinh can, đởm, vị.

Công năng, chủ trị
Sơ can, phá khí, tiêu tích, hoá trệ. Chủ trị: Ngực sườn đau trướng, sán khí, hạch vú, nhọt vú, thực tích đau bụng.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 6 g đến 9 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Người can huyết hư không có khí trệ thì kiêng dùng.

THẢO QUẢ (Quả)

Fructus Amomi aromatici

Quả chín đã phơi hay sấy khô của cây Thảo quả (*Amomum aromaticum* Roxb.), họ Gừng (Zingiberaceae).

Mô tả

Quả hình bầu dục dài, đôi khi có 3 góc tù, dài 2 cm đến 4,5 cm, đường kính 1,5 cm đến 2,5 cm. Mặt ngoài màu nâu đến nâu hơi đỏ, có rãnh và cạnh gờ dọc, đầu quả có vết tích của vòi nhuỵ hình tròn nhô lên, phần đáy có cuống quả hoặc sẹo cuống quả. Vỏ quả, chất bền, dai. Bóc lớp vỏ quả thấy bên trong ở phần chính giữa có màng vách ngăn màu nâu hơi vàng, phân chia khối hạt thành 3 phần, mỗi phần có khoảng 8 hạt đến 11 hạt; các hạt hình nón, đa diện, đường kính khoảng 5 mm, mặt ngoài màu nâu có màng áo hạt trắng hơi xám phủ ngoài. Hạt có một sống noãn có rãnh dọc và một rốn hạt lõm ở đỉnh nhọn. Chất cứng, nội nhũ màu trắng hơi xám. Có mùi thơm đặc trưng, vị cay và hơi đắng.

Vi phẫu

Mặt cắt ngang của hạt: Tế bào mô mềm của áo hạt chứa hạt tinh bột. Tế bào biểu bì của vỏ hạt cứng màu nâu hình chữ nhật, thành tương đối dày. Hạ bì gồm một lớp tế bào mô mềm có chứa các chất màu vàng, một hàng tế bào gần vuông hoặc hình chữ nhật; dài 42 µm đến 162 µm theo chiều tiếp tuyến và 48 µm đến 68 µm dài theo hướng xuyên tâm; có chứa những giọt tinh dầu màu vàng. Lớp sắc tố gồm có vài hàng tế bào nhỏ màu nâu. Vỏ lụa gồm một hàng tế bào đá, sắp xếp thành hình dậu, màu nâu hơi đỏ ở thành bên, thành trong dày lên nhiều, khoang nhỏ chứa hạt silic. Tế bào ngoại nhũ chứa hạt tinh bột và một số cụm tinh thể calci oxalat hình lăng trụ. Tế bào nội nhũ chứa hạt aleuron và hạt tinh bột.

Định tính

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

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *n-Hexan - ethyl acetat* (17 : 3).

Dung dịch thử: Lấy phần tinh dầu đã cất được khi định lượng (xem mục Định lượng) hòa tan trong *ethanol (TT)* thành dung dịch có chứa 50 µl trong 1 ml.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan cineol trong *ethanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 20 µl trong 1 ml. Có thể dùng tinh dầu Thảo quả (mẫu chuẩn), pha như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin 5 % trong acid sulfuric (TT)*, sấy bản mỏng ở 105 °C trong vài phút. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết màu xanh da trời có cùng giá trị R_f với vết cineol trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Nếu dùng tinh dầu Thảo quả làm dung dịch đối chiếu thì trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Hàm lượng tinh dầu không ít hơn 1,4 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, hái quả chín, loại bỏ tạp chất, phơi hoặc sấy khô ở nhiệt độ thấp.

Bào chế

Thảo quả nhân: Lấy Thảo quả, loại bỏ tạp chất, cho vào nồi sao lửa nhỏ đến màu vàng xém và hơi phồng, lấy ra để nguội, bỏ vỏ cứng, sàng lấy hạt. Khi dùng giã nát.

Khương Thảo quả nhân: Lấy hạt Thảo quả, thêm nước gừng, trộn đều, cho vào nồi sao nhỏ lửa đến khô, để nguội. Khi dùng giã nát. Cứ 10 kg hạt Thảo quả dùng 1 kg Gừng tươi.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh

Tân, ôn. Vào các kinh tỳ, vị.

Công năng, chủ trị

Táo thấp, ôn trung, trừ đàm, triệt ngược. Chủ trị: Thượng vị đau trướng, tức bĩ, nôn mửa do hàn thấp, sốt rét.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 6 g, dạng thuốc sắc.

THẢO QUYẾT MINH (Hạt)

Semen Sennae torae

Hạt già đã phơi hay sấy khô của cây Thảo quyết minh còn gọi là Quyết minh, Muồng [*Senna tora* (L.) Roxb.; Syn. *Cassia tora* L.], họ Đậu (Fabaceae).

Mô tả

Hạt hình trụ, đôi khi hình tháp, hai đầu vát chéo, dài 3 mm đến 6 mm, đường kính 1 mm đến 2,5 mm. Mặt ngoài màu nâu nhạt hay lục nâu, bóng. Bốn cạnh bên thường nổi rõ thành đường gờ, một đường gờ nhô lên thành ngấn.

Thể chất cứng, khó tán vỡ. Cắt ngang thấy nội nhũ màu xám trắng hay vàng nhạt, lá mầm màu vàng hay nâu nhạt. Không mùi, vị hơi đắng.

Định tính

A. Lấy khoảng 0,5 g bột dược liệu, thêm 10 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*, đun cách thủy sôi 10 min. Sau khi nguội, thêm 10 ml *cloroform (TT)* vào hỗn hợp trên, lắc đều, để yên cho tách thành hai lớp. Gạn lấy lớp cloroform, thêm 2 ml đến 3 ml *dung dịch amoniac 10 % (TT)*, lắc, lớp nước sẽ có màu đỏ.

B. Lấy 0,5 g bột dược liệu cho vào một chén nung nhỏ bằng sứ. Hơ nóng nhẹ trên ngọn lửa đèn cồn và khuấy đều lớp

bột cho bay hết hơi nước. Sau đó đậy chén nung bằng một phiến kính thích hợp và đặt lên trên tấm kính tẩm bông tẩm nước lạnh rồi đốt mạnh trong khoảng 5 min. Lấy tấm kính ra soi dưới kính hiển vi sẽ quan sát thấy những tinh thể hình kim màu vàng. Nhỏ lên đám tinh thể một giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, dung dịch sẽ có màu hồng.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 7,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Hạt lép: Không quá 1,0 %.
Tạp chất khác: Không quá 2,0 %.

Kim loại nặng
Không quá 10 phần triệu Pb; 0,3 phần triệu Cd; 0,1 phần triệu Hg; 1 phần triệu As (Phụ lục 9.4.11).

Chế biến
Thu hoạch quả già vào cuối mùa thu, khoảng tháng 9 đến tháng 11, phơi khô, đập lấy hạt, loại bỏ tạp chất, phơi khô.

Bào chế
Quyết minh tử: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô ở 50 °C đến 60 °C, khi dùng xay vỡ vụn.
Quyết minh tử sao: Lấy Quyết minh tử sạch, cho vào chảo, đun nhỏ lửa, đảo chậm đến khi mặt ngoài của thuốc chuyển sang màu nâu sẫm, có mùi thơm, lấy ra để nguội.

Bảo quản
Nơi khô ráo thoáng mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Hàm, bình. Quy vào các kinh can, thận, đại tràng.

Công năng, chủ trị
Tả can minh mục, an thần, nhuận tràng. Chủ trị: Đau mắt đỏ, sợ ánh sáng, mắt mờ, chảy nước mắt (sao vàng), đại tiện bí kết (dùng sống), mất ngủ (sao đen).

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 9 g đến 15 g, phối hợp trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ
Người hay bị phân lỏng không dùng.

THĂNG MA (Thân rễ)
Rhizoma Cimicifugae

Thân rễ đã phơi hay sấy khô của các loài Thăng ma *Cimicifuga heracleifolia* Kom., *Cimicifuga dahurica* (Turcz.) Maxim. hoặc *Cimicifuga foetida* L., họ Hoàng liên (Ranunculaceae).

Mô tả
Thân rễ là những khối dài ngắn không đều, thường phân nhánh nhiều, có nhiều mấu nhỏ, dài 10 cm đến 20 cm, đường kính 2 cm đến 4 cm. Mặt ngoài màu nâu đen hoặc nâu, thô nhám, còn sót lại nhiều rễ nhỏ. Phần trên thân rễ có một số vết sẹo của thân, dạng lỗ tròn, mặt trong của lỗ có vân dạng mạng lưới. Phần dưới thân rễ lồi lõm không phẳng, có sẹo của các rễ nhỏ. Chất nhẹ, cứng, khó bẻ. Mặt bẻ gãy không phẳng, có xơ, màu vàng lục hoặc vàng nhạt. Mùi nhẹ. Vị hơi đắng và chát.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Toluen - cloroform - acid acetic (6 : 1 : 0,5).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 50 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun sôi hồi lưu trong 1 h, lọc. Bốc hơi dịch lọc đến khô. Hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol (TT)* được dung dịch thử.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan acid ferulic và acid isoferulic chuẩn trong *ethanol 96 % (TT)* để được hai dung dịch chuẩn tương ứng có nồng độ 1 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Lấy 1 g bột Thăng ma (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên, triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang cùng màu, cùng giá trị R_f với các vết của acid ferulic và acid isoferulic trên sắc ký đồ của dung dịch các chất đối chiếu hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang cùng màu, cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 8,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 4,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất
Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 17,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10).
Dùng *ethanol 50 % (TT)* làm dung môi.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - dung dịch acid phosphoric 0,1 % (13 : 87).
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,5 g bột dược liệu (qua rây số 710) vào bình nón nút mài, thêm chính xác 25 ml *ethanol 10 % (TT)*, đậy nút, cân. Đun hồi lưu trong 2,5 h, để nguội, đậy nút, cân lại, bổ sung khối lượng bị

mất bằng *ethanol 10 % (TT)*, trộn đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 10 mg acid isoferulic chuẩn vào bình định mức 50 ml màu nâu, thêm *ethanol 10 % (TT)* để hòa tan và pha loãng vừa đủ thể tích với cùng dung môi, trộn đều. Lấy chính xác 1 ml dung dịch này cho vào bình định mức 10 ml màu nâu và thêm *ethanol 10 % (TT)* đến vạch, trộn đều được dung dịch chuẩn có nồng độ khoảng 20 µg/ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 316 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml đến 2 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký dung dịch chuẩn. Tính số đĩa lý thuyết, số đĩa lý thuyết của cột không được dưới 5000 tính theo pic của acid isoferulic.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{10}H_{10}O_4$ của acid isoferulic chuẩn, tính hàm lượng acid isoferulic trong dược liệu.
Hàm lượng acid isoferulic ($C_{10}H_{10}O_4$) không được dưới 0,10 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa thu, đào thân rễ về, rửa sạch, cắt bỏ thân mầm, phơi đến khi rễ con khô. Dùng lửa đốt hoặc cắt bỏ rễ con rồi phơi đến khô.

Bào chế
Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ngâm qua, ủ mềm, thái lát dày, phơi khô.

Bảo quản
Để nơi khô, thoáng.

Tính vị, quy kinh
Tân, vi cam, vi hàn. Vào các kinh phế, tỳ, vị, đại tràng.

Công năng, chủ trị
Thấu chẩn, tán phong, giải độc, thăng dương khí. Chủ trị: Phong nhiệt ở dương minh có nhức đầu, đau răng, họng sưng đau; sởi không mọc, dương độc phát ban; sa trực tràng, sa dạ con.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với một số vị thuốc khác.

THỊ ĐẾ
Calyx Kaki
Tai Hồng

Đài đồng trưởng đã phơi hay sấy khô thu được từ quả chín của cây Hồng (*Diospyros kaki* L.f.), họ Thị (Ebenaceae).

Mô tả
Dược liệu hình tròn dẹt, đường kính 1,5 cm đến 2,5 cm, ở giữa hơi dày, hơi nhô lên, có sẹo tròn của cuống quả đã rụng, mép tương đối mỏng, xẻ tư, phiến xẻ thường uốn cong lên, dễ gãy nát. Phần đáy còn cuống quả hoặc chỉ còn vết cuống quả, dạng lỗ tròn. Mặt ngoài màu vàng nâu hoặc nâu đỏ, mặt trong màu nâu vàng, phủ đầy lông nhung nhỏ. Chất cứng và giòn, không mùi, vị chát.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Toluen* (đã bão hòa với nước) - *methyl format* - *acid formic* (5 : 4 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ethanol 70 % (TT)*, ngâm ấm trong 2 h, lọc, bay hơi dịch lọc đến khô, hòa tan cắn trong 1 ml *methanol (TT)* dùng làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan acid galic chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 0,5 mg/ml. Hoặc lấy 2 g Thị đế (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô trong không khí, phun *dung dịch sắt (III) clorid 1 % trong ethanol (TT)*. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu sắc và giá trị R_f với vết của acid galic đối chiếu. Nếu dùng dược liệu chuẩn để chuẩn bị dung dịch đối chiếu thì trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Tạp chất
Không quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Chế biến
Thu hái quả Hồng chín vào mùa thu, mùa đông, bóc lấy tai hồng hoặc thu thập tai quả Hồng sau khi ăn quả, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô.
Trước khi dùng loại bỏ tạp chất và cuống quả, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô hoặc đập nát vụn.

Bảo quản
Để nơi khô, thoáng mát, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Khổ, sáp, bình. Vào kinh vị.

Công năng, chủ trị
Giáng nghịch, hạ khí. Chủ trị: Nấc (ách nghịch).

Cách dùng, liều lượng
Ngày uống từ 4,5 g đến 9 g. Dạng thuốc sắc.

THIÊN MA (Thân rễ)

Rhizoma Gastrodiae elatae

Thân rễ phơi hay sấy khô của cây Thiên ma (*Gastrodia elata* Bl.), họ Lan (Orchidaceae).

Mô tả

Thân rễ hình bầu dục hoặc hình trụ dẹt hơi cong, dài 3 cm đến 15 cm, rộng 1,5 cm đến 6 cm, dày 0,5 cm đến 2 cm. Mặt ngoài màu trắng hơi vàng đến vàng nâu, có vân nhăn dọc và nhiều vân vòng tròn ngang của những chồi búp tiềm tàng, đôi khi thấy những dải nhỏ màu nâu. Phía đỉnh (đầu) dược liệu có những chồi hình mỏ vẹt, màu nâu đỏ đến nâu sẫm hoặc có vết thân; phía đuôi có một vết sẹo tròn. Chất cứng rắn như sừng, khó bẻ gãy, mặt bẻ tương đối phẳng, màu trắng hơi vàng đến màu nâu. Mùi nhẹ, vị hơi ngọt.

Bột

Bột màu trắng hơi vàng đến màu vàng nâu. Soi dưới kính hiển vi thấy: Tế bào mô mềm hình bầu dục hoặc đa số có hình nhiều cạnh, đường kính 70 µm đến 180 µm; thành dày 3 µm đến 8 µm, hóa gỗ, có lỗ rõ rệt. Tinh thể calci oxalat hình kim xếp thành bó hay rải rác, dài 25 µm đến 75 µm (có thể tới 93 µm). Khi ngâm trong *thuốc thử glycerin - acid acetic (TT)*, thấy các tế bào mô mềm chứa polysaccharid đã bị hồ hóa không màu, một số tế bào chứa hạt tinh bột nhỏ hình trứng dài, bầu dục dài hoặc hình gần tròn, cho màu nâu hoặc tía hơi nâu với *dung dịch iod-iodid (TT)*. Mảnh mạch xoắn, mạch mạng, đường kính 8 µm đến 30 µm.

Định tính

A. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml *nước*, ngâm trong 4 h, thỉnh thoảng lắc đều, lọc. Thêm vào dịch lọc 2 giọt đến 4 giọt *dung dịch iod-iodid (TT)*, sẽ hiện màu đỏ tím hay màu rượu vang đỏ.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - methanol - nước (9 : 1 : 0,2).

Dung dịch thử: Lấy khoảng 0,5 g bột dược liệu, thêm 5 ml *methanol 70 % (TT)*, siêu âm trong 30 min, lọc.

Dung dịch dược liệu đối chiếu: Lấy khoảng 0,5 g bột Thiên ma (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan gastrodin chuẩn trong methanol để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử, dung dịch dược liệu đối chiếu và 5 µl dung dịch chất đối chiếu. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun dung dịch *acid phosphomolybdic 10 % trong ethanol (TT)*. Sấy bản mỏng ở 105 °C cho đến khi xuất hiện vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu và có một vết cùng màu và giá trị R_f với vết của gastrodin trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 5 h).

Tạp chất

Không quá 3,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không được quá 4,5 % (Phụ 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu

Không được ít hơn 10,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96% (TT)* làm dung môi.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - dung dịch acid phosphoric 0,05 % (3 : 97).

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 2 g bột dược liệu (qua rây số 355) vào bình nón có nút mài, thêm chính xác 50 ml *ethanol 50 % (TT)*, đậy nút, cân, sau đó đun hồi lưu trên cách thủy 3 h, để nguội, cân lại và bổ sung *ethanol 50 % (TT)* để được khối lượng ban đầu. Trộn đều và lọc. Bay hơi 10 ml dịch lọc đến gần khô. Hòa tan cắn trong hỗn hợp dung môi gồm *acetonitril - nước* (3 : 97), chuyển toàn bộ dung dịch thu được vào bình định mức 25 ml, pha loãng với cùng dung môi đến vạch. Trộn đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan gastrodin chuẩn trong pha động để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 50 µg/ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4 mm) nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 220 nm.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột không được nhỏ hơn 5000 tính theo pic của gastrodin. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic gastrodin trong 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, dung dịch thử. Tính hàm lượng gastrodin trong dược liệu dựa vào diện tích pic gastrodin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{13}H_{18}O_7$ trong gastrodin chuẩn.

Dược liệu phải chứa không ít hơn 0,20 % gastrodin ($C_{13}H_{18}O_7$), tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch từ mùa đông năm trước đến mùa xuân năm sau, rửa sạch ngay, đồ kỹ, thái lát mỏng, sấy khô ở nhiệt độ thấp.

Bào chế

Rửa sạch, ủ mềm hay đồ đến mềm, thái lát mỏng, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản

Nơi thoáng mát, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Tân, ôn. Vào kinh can.

Công năng, chủ trị
Bình can tức phong. Chủ trị: Đau đầu, chóng mặt, bán thân bất toại, trẻ em kinh phong, phá thương phong (uốn ván), động kinh.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, phối hợp trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ
Không dùng cho người âm hư.

THIÊN MÔN ĐÔNG (Rễ)

Radix Asparagi cochinchinensis
Thiên đông, Tóc tiên leo

Rễ đã chế biến phơi hay sấy khô của cây Thiên môn đông [*Asparagus cochinchinensis* (Lour.) Merr.], họ Thiên môn đông (Asparagaceae).

Mô tả
Dược liệu là những đoạn rễ dài khoảng 5 cm đến 18 cm, đường kính 0,5 cm đến 1 cm, hai đầu thuôn nhỏ dần, màu vàng nhạt đến vàng nâu (màu hổ phách), trong, mờ, sáng bóng. Thể chất cứng, dai, có chất nhầy dính, mặt cắt mịn bóng. Mùi nhẹ, vị hơi đắng.

Bột
Màu trắng ngà, mùi đặc trưng, vị ngọt hơi đắng. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh mô mềm gồm tế bào thành mỏng, chứa tinh thể calci oxalat. Tinh thể calci oxalat hình kim xếp thành bó hay rải rác, dài 40 µm đến 99 µm.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* $60F_{254}$.
Dung môi khai triển: *n-Hexan – ethyl acetat* (2 : 1). Để bão hòa dung môi trong 20 min.
Dung dịch thử: Lấy khoảng 2,0 g dược liệu đã tán nhỏ, thêm 5 ml *nước*, ngâm trong 1 h cho trương nở, nghiền kỹ trong cối, chuyển dược liệu đã nghiền nhỏ vào bình nón bằng 20 ml *methanol (TT)*, siêu âm 30 min, tiếp tục đun hồi lưu trên cách thủy 30 min, lọc lấy phần dịch chiết, phần bã dược liệu được chiết nhắc lại 2 lần, mỗi lần bằng 20 ml *methanol (TT)*. Gộp các dịch chiết methanol, bay hơi trên cách thủy đến gần cạn. Hòa cắn thu được bằng 5 ml *nước*, lắc hỗn hợp với *cloroform (TT)* 2 lần, mỗi lần 20 ml, để yên cho tách lớp, gạn lấy phần dịch cloroform, thu hồi dung môi đến cạn. Hòa cắn thu được trong 2 ml *methanol (TT)*.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Lấy 2,0 g Thiên môn đông (mẫu chuẩn) đã tán nhỏ, tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan β-sitosterol chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 0,1 mg/ml
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch dược liệu đối chiếu, 6 µl dung dịch chất đối chiếu. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, phun hỗn hợp gồm 1 ml *acid sulfuric (TT)*, 20 ml *anhydrid acetic (TT)* và 50 ml *cloroform (TT)* (thuốc thử Liebermann-Burchard), sấy bản mỏng ở 105 °C trong 2 đến 3 min. Quan sát dưới ánh sáng thường và dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu hoặc phải có vết cùng giá trị R_f và màu sắc với vết của β-sitosterol trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 16,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất
Rễ non teo: Không quá 2 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 80,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Dùng phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 50 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch rễ (củ) ở cây đã mọc trên 2 năm vào mùa thu và mùa đông (thường là tháng 10 đến 12), đào cả cụm gốc thân và rễ củ, bỏ gốc thân và rễ con, lấy rễ củ rửa sạch, luộc hoặc đồ đến khi mềm, trong lúc nóng loại bỏ vỏ mỏng ngoài cùng, rút lõi, phơi hay sấy khô.

Bào chế
Loại bỏ tạp chất, nhanh chóng rửa sạch, phơi khô.

Bảo quản
Để nơi khô, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Cam, khổ, hàn. Vào các kinh phế, thận.

Công năng, chủ trị
Dưỡng âm, nhuận táo, thanh phế, sinh tân. Chủ trị: Phế ráo ho khan, đờm dính, họng khô, miệng khát, ruột ráo táo bón.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc, thuốc cao hay thuốc bột. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Tỳ vị hư hàn, ỉa chảy không nên dùng.

THIÊN NIÊN KIỆN (Thân rễ)

Rhizoma Homalomenae occultae

Thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Thiên niên kiện [*Homalomena occulta* (Lour.) Schott], họ Ráy (Araceae).

Mô tả

Dược liệu là đoạn thẳng hay cong queo, có nhiều xơ, chắc, cứng, dài 10 cm đến 30 cm, đường kính 1 cm đến 1,5 cm, hai đầu đều nhau. Mặt ngoài màu nâu nhạt hay nâu sẫm, có nhiều nếp nhăn dọc hay vết tích của rễ con. Bẻ ngang dược liệu hơi dai, vết bẻ có màu nâu nhạt hay nâu sẫm, có một số sợi màu vàng ngà lởm chởm như bàn chải. Mùi thơm hắc, vị cay.

Vi phẫu

Lớp bần màu vàng nâu. Mô mềm gồm các tế bào tròn, có thành mỏng. Từ ngoài vào trong quan sát thấy: Các đám sợi lớn, thành dày. Các bó libe-gỗ. Sự sắp xếp giữa gỗ và libe cũng có nhiều dạng khác nhau: Những bó libe-gỗ lớn có libe nằm ở giữa, mạch gỗ xếp xung quanh thành một vòng; những bó libe-gỗ nhỏ, mạch gỗ thường không khép kín, nằm ở hai phía đối diện của libe, một phía chỉ có một đến hai mạch gỗ, phía đối diện nhiều mạch tập trung thành hình vòng cung. Những bó libe-gỗ này thường sắp xếp gần với các bó sợi. Trong mô mềm có thể thấy các tế bào chứa tinh dầu, tế bào chứa tinh thể calci oxalat hình kim và hình cầu gai, các khoảng gian bào.

Bột

Màu vàng nâu. Soi kính hiển vi thấy: Nhiều bó sợi gồm các tế bào dài, thành hơi dày, khoang rộng, có ống trao đổi rõ. Tế bào mô cứng có thành hơi dày, khoang hơi rộng, có ống trao đổi rõ. Mảnh tế bào mô mềm gồm những tế bào hình chữ nhật, hình bầu dục hoặc hình tròn, bên trong có chứa tinh thể calci oxalat hình cầu gai hoặc các bó tinh thể hình kim, các tế bào chứa tinh dầu màu vàng đậm, thành mỏng, hình trái xoan. Nhiều mảnh mạch vạch, mạch mạng, mạch xoắn. Hạt tinh bột hình trái xoan. Các tinh thể calci oxalat hình cầu gai và hình kim nằm rải rác bên ngoài.

Định tính

Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ether (TT)*, lắc trong 30 min, lọc. Lấy 1 ml dịch lọc, bốc hơi dung môi ở nhiệt độ phòng đến cắn. Thêm vào cắn 1 giọt đến 2 giọt *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*. Xuất hiện màu đỏ tía.

Độ ẩm

Không quá 14,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 4,0 % (Phụ lục 9.8).

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp "Định lượng tinh dầu trong dược liệu" (Phụ lục 12.7). Dùng bình cầu 1 L, 50 g dược liệu đã được tán thành bột thô, 300 ml *nước*, cất trong 4 h. Hàm lượng tinh dầu trong dược liệu không ít hơn 0,5 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hái vào mùa xuân hay mùa thu, thu lấy những thân rễ già, rửa sạch, bóc loại bỏ vỏ ngoài và các rễ con, cắt thành đoạn ngắn 10 cm đến 30 cm, sấy nhanh ở nhiệt độ 50 °C cho khô đều mặt ngoài, bóc bỏ vỏ ngoài và rễ con. Tiếp tục phơi hoặc sấy ở 50 °C đến 60 °C cho đến khô.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, ủ mềm, thái lát, phơi trong bóng râm hay sấy nhẹ đến khô.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Khổ, tân, cam, ôn. Quy vào các kinh can, thận.

Công năng, chủ trị

Trừ phong thấp, cường cân cốt. Chủ trị: Phong hàn thấp gây nên: Thắt lưng và đầu gối lạnh đau, chân co rút tê bại.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 4,5 g đến 9 g, phối hợp trong các bài thuốc hoặc ngâm rượu.

Dùng ngoài: Thân rễ tươi giã nát, sao nóng, bóp vào chỗ đau nhức, hoặc ngâm Thiên niên kiện khô với rượu xoa bóp chỗ đau nhức, tê bại và phong thấp.

Kiêng kỵ

Không dùng cho người âm hư hỏa vượng, mồm khô, họng đắng.

THIÊN TRÚC HOÀNG

Concretio Silicae Bambusae

Thiên trúc hoàng là cặn khô từ chất tiết trong thân cây Hóp sào hoặc cây Nứa (*Bambusa textilis* McClure hoặc *Schizostachyum chinense* Rendle), họ Lúa (Poaceae).

Mô tả

Cặn được tạo thành là những khối có hình dạng và kích thước không nhất định, màu xanh xám, hơi vàng, trắng xám hoặc trắng, trong mờ và hơi bóng láng. Thể chất cứng, khó bẻ gẫy, dễ hút ẩm. Không mùi, khi nếm thấy dính vào lưỡi.

Định tính

Vô cơ hóa hoàn toàn khoảng 1 g dược liệu, hòa cắn với *nước*, lọc lấy phần tan. Lấy 2 ml dịch lọc thêm 2 ml *dung dịch amoni molybdat* [Hòa tan 10 g *amoni molybdat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml], lắc đều, thêm 1 ml *dung dịch sắt (II) sulfat 8 % (TT)*, dung dịch sẽ có màu nâu đen sau 5 min sẽ chuyển thành màu xanh dương bền.

Độ ẩm

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất

Không quá 0,5 % (Phụ lục 12.11).

Chỉ số thể tích
Cho nhẹ nhàng 10 g bột dược liệu (qua rây số 250) vào ống đong, thể tích dược liệu không nhỏ hơn 35 ml.

Hệ số hút nước
Lấy 5 g bột dược liệu, thêm 50 ml *nước*, để yên một lát (khoảng 3 min), lọc qua giấy lọc đã thấm ẩm, dịch lọc không được quá 44 ml.

Tro toàn phần
Không thấp hơn 80,0 % (Phụ lục 9.8).

Chế biến
Thu thập dược liệu vào mùa thu và mùa đông. Lấy những cục chất tiết màu trắng đục hoặc trắng trong ở những đốt cây tre bị đốt cháy. Loại bỏ tạp chất, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh
Cam, hàn. Vào kinh tâm.

Công năng, chủ trị
Trừ đàm nhiệt, thanh tâm, trấn kinh. Chủ trị: Tinh thần hôn ám, trúng phong đàm mê tâm khiếu. Trẻ em kinh giật và dạ đề do đàm nhiệt.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, phối hợp với các vị thuốc khác.

THỔ TY TỬ
Semen Cuscutae

Hạt lấy ở quả chín đã phơi hay sấy khô của dây Tơ hồng (*Cuscuta australis* R. Br. Hoặc *Cuscuta chinensis* Lam.), họ Tơ hồng (Cuscutaceae).

Mô tả
Hạt gần hình cầu, đường kính 0,9 mm đến 1,5 mm. Mặt ngoài có màu nâu xám hoặc nâu vàng, hoặc nâu đỏ, thô ráp cùng nhiều nốt sần nhỏ. Một đầu có rãnh hình dải hẹp, hơi trũng xuống. Chất rắn chắc, khó bóp vỡ. Mùi thơm nhẹ. Vị nhạt.

Vi phẫu
Biểu bì gồm một lớp tế bào, hình vuông hoặc hình gần chữ nhật, thành bên dày. Sát biểu bì có hai hàng tế bào xếp song song (mô dậu), tế bào hàng bên ngoài ngắn hơn tế bào hàng bên trong, có một đường phân cách rõ nằm tại phần nửa trên của hàng tế bào bên trong. Mô mềm hẹp, gồm các tế bào có thành nhăn nheo nằm dưới mô dậu. Tế bào nội nhũ hình đa giác hoặc gần tròn, thành dày. Lá mầm xoắn lại, đôi khi thấy vài mảnh lá mầm. Tế bào lá mầm hình gần vuông hoặc gần tròn, chứa các hạt aleuron.

Bột
Màu nâu vàng hoặc nâu sẫm. Tế bào biểu bì của áo hạt hình gần vuông hoặc gần hình chữ nhật, thành tương đối dày khi nhìn từ mặt bên; có hình đa giác, thành tế bào ở các góc dày lên khi nhìn trên bề mặt. Tế bào vỏ quả đều đặn xếp song song với nhau, có hai hàng tế bào khi nhìn từ mặt bên, tế bào hàng bên ngoài ngắn hơn tế bào hàng trong; các tế bào hình đa giác có thành dày, bị co lại khi nhìn trên bề mặt. Tế bào ngoại nhũ hình đa giác hoặc gần tròn, thành dày, có chứa các hạt aleuron. Tế bào lá mầm hình gần tròn hoặc gần vuông chứa đầy hạt aleuron và những hạt dầu béo.

Định tính
A. Lấy một lượng nhỏ dược liệu, ngâm vào *nước* sôi, trên mặt nước xuất hiện một lớp chất nhày dính, đun sôi thêm đến khi vỏ hạt nứt ra sẽ để lộ phôi cuộn tròn màu vàng nhạt.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* F_{254}.
Dung môi khai triển: *Ethyl acetat - aceton - acid formic - nước* (25 : 2 : 2 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 1,0 g bột dược liệu, thêm 40 ml *methanol (TT)*, siêu âm trong 30 min, lọc, bay hơi dịch lọc tới khô bằng cách cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm. Hòa tan cắn trong 1 ml *methanol (TT)*.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan hyperin chuẩn trong *methanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Lấy 1,0 g bột Thỏ ty tử (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 8 cm, lấy bản mỏng ra, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch nhôm triclorid 1 % trong ethanol (TT)* và để khô trong không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu và giá trị R_f với vết hyperin trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất
Không được quá 8 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 4,0 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu (Phụ lục 12.10)
Chất chiết được trong ethanol (phương pháp chiết lạnh): Không nhỏ hơn 9,0 % tính theo dược liệu khô kiệt, dùng *ethanol 70 % (TT)* làm dung môi.
Chất chiết được trong nước (phương pháp chiết lạnh): Không nhỏ hơn 15,0 % tính theo dược liệu khô kiệt, dùng *nước* làm dung môi.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch acid phosphoric 0,1 % - acetonitril (83 : 17).
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 1,0 g bột dược liệu (qua rây số 355), thêm 80 ml *methanol 50 % (TT)*. Đun hồi lưu trong 1 h. Để nguội đến nhiệt độ phòng. Lọc và chuyển dịch lọc vào bình định mức 100 ml. Rửa bã dược liệu hai lần, mỗi lần bằng 10 ml *methanol 50 % (TT)*. Gộp dịch lọc và dịch rửa vào bình định mức và thêm *methanol 50 % (TT)* tới vạch. Lắc đều. Lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan hyperin chuẩn trong *methanol 50 % (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,2 mg/ml. Từ dung dịch này pha dãy dung dịch chuẩn có nồng độ 2,5; 5; 10; 25; 50 µg/ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt tại bước sóng 354 nm.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký trong thời gian 50 min.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký 5 lần đối với dung dịch hyperin chuẩn 10 µg/ml. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic hyperin không lớn hơn 5,0 % và độ lệch chuẩn tương đối thời gian lưu của hyperin không được lớn hơn 2,0 %. Số đĩa lý thuyết của cột tính theo pic hyperin không được nhỏ hơn 10000.
Độ phân giải giữa pic hyperin với pic gần nhất trên sắc ký đồ dung dịch thử không được nhỏ hơn 1,5.
Tiến hành sắc ký với các dung dịch chuẩn đã pha ở trên. Vẽ đường chuẩn biểu diễn sự liên quan giữa diện tích pic hyperin và nồng độ các dung dịch tương ứng.
Tiến hành sắc ký dung dịch thử. Xác định pic hyperin trên sắc ký đồ của dung dịch thử bằng cách so sánh thời gian lưu với pic hyperin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn. Thời gian lưu của hyperin trên hai sắc ký đồ khác nhau không được lớn hơn 5,0 %.
Tính hàm lượng hyperin trong dược liệu dựa vào diện tích pic hyperin trên sắc ký đồ của dung dịch thử, đường chuẩn đã lập và hàm lượng $C_{21}H_{20}O_{12}$ trong hyperin chuẩn.
Dược liệu phải chứa không ít hơn 0,10 % hyperin ($C_{21}H_{20}O_{12}$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa thu, khi quả chín, thu lấy dây mang quả, phơi khô, đập lấy hạt rồi loại bỏ tạp chất.

Bào chế
Thổ ty tử: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, phơi khô.
Thổ ty tử chế muối: Phun nước muối lên dược liệu sạch, trộn đều cho hạt ngấm nước, sao nhỏ lửa đến khi hạt hơi phồng lên, lấy ra để nguội. Cứ 100 kg dược liệu cần 2 kg muối. Dược liệu sau khi chế mặt ngoài màu vàng nâu, nứt nẻ và có mùi thơm nhẹ. Ngâm vào nước sôi sẽ xuất hiện một lớp màng nhày trên mặt. Sau khi sắc có thể lộ ra phôi cuộn màu vàng đến màu nâu thẫm.

Bảo quản
Để nơi khô, thoáng.

Tính vị, quy kinh
Cam, ôn. Vào các kinh can, thận, tỳ.

Công năng, chủ trị
Bổ thận ích tinh, dưỡng can minh mục, kiện tỳ chỉ tả. Chủ trị: Liệt dương, di tinh, đái không cầm được; mắt mờ, mắt hoa, ỉa lỏng.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

THỔ HOÀNG LIÊN (Thân rễ)
Rhizoma Thalictri foliolosi

Thân rễ có kèm theo rễ đã phơi hay sấy khô của cây Thổ hoàng liên (*Thalictrum foliolosum* DC.), họ Hoàng Liên (Ranunculaceae).

Mô tả
Đoạn thân rễ màu nâu sẫm dài 2 cm đến 8 cm, đường kính 0,3 cm đến 1,1 cm, thường cong queo, có nhiều đốt khúc khuỷu. Dễ bẻ gãy, vết bẻ có màu vàng nhạt, không phẳng. Mặt cắt ngang có 2 phần rõ rệt: Phần vỏ màu nâu sẫm, phần gỗ màu vàng, ruột màu xám. Rễ dài 3 cm đến 15 cm, đường kính 0,1 cm đến 0,4 cm, mặt ngoài màu nâu nhạt, có các nếp nhăn dọc. Rễ mềm hơn thân rễ và mặt cắt ngang cũng có hai phần rõ rệt, phần ngoài màu vàng nhạt, lõi gỗ phía trong màu vàng đậm. Vị rất đắng.

Vi phẫu
Lớp bần gồm vài hàng tế bào bị bẹp, thành hơi dày và nhăn nheo. Mô mềm vỏ gồm những tế bào hình chữ nhật hay hình nhiều cạnh, thành mỏng. Có đám sợi xếp thành một vòng trong mô mềm vỏ, mỗi bó đặt trước một lớp libe-gỗ. Libe và gỗ cấp 2 xếp thành từng bó. Libe ở phía ngoài, gồm những tế bào nhỏ hình đa giác xếp đều đặn thành dãy liên tục hay gián đoạn. Gỗ ở phía trong, mỗi bó có thể không phân nhánh hay phân ra nhiều nhánh. Tia ruột xen kẽ giữa các bó libe-gỗ. Mô mềm ruột gồm những tế bào to hơn mô mềm vỏ.

Bột
Mảnh bần màu vàng nâu. Mảnh mô mềm gồm những tế bào hình chữ nhật hay hình nhiều cạnh, thành mỏng. Sợi đứng riêng lẻ hay tập trung thành từng bó. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai và hình khối chữ nhật. Mảnh mạch mạng, mạch điểm. Tế bào mô cứng có thành dày và ống trao đổi rõ. Các hạt tinh bột hình chuông hoặc hình trứng, hình tròn.

Định tính

A. Lấy khoảng 3 g bột dược liệu cho vào bình nón 100 ml, thêm 30 ml *ethanol 90 % (TT)*, đun sôi trên cách thủy 5 min. Lọc lấy dịch chiết (dung dịch A). Lấy khoảng 5 ml dung dịch A cho vào chén sứ, cô cách thủy đến khô, hòa tan cắn với 3 ml *dung dịch acid sulfuric 2 % (TT)* rồi chuyển vào một ống nghiệm, cho thêm vài giọt *nước clor (TT)* hoặc *nước brom (TT)* hay *dung dịch cloramin T 10 % (TT)*, lắc đều sẽ thấy dung dịch chuyển từ màu vàng sang màu đỏ.

B. Lấy 2 giọt dung dịch A đặt lên phiến kính, để bốc hơi cho khô, thêm 1 giọt *acid hydrocloric (TT)* hay *dung dịch acid nitric 25 % (TT)*. Đậy lá kính lên để yên khoảng 15 min đến 20 min rồi đem quan sát dưới kính hiển vi sẽ thấy những tinh thể hình kim màu vàng.

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

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Cloroform - methanol - amoniac đậm đặc* (80 : 20 : 1).

Dung dịch thử: Dung dịch A.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch berberin clorid chuẩn 1 % trong *ethanol 90 % (TT)* và dung dịch palmatin clorid chuẩn 1 % trong *ethanol 90 % (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, để bay hết dung môi, phun lên bản mỏng *thuốc thử Dragendorff (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử, ít nhất có hai vết có màu đỏ cam và có cùng giá trị R_f với vết berberin và palmatin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 5,5 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tạp chất hữu cơ: Không quá 1,0 %.

Tạp chất vô cơ: Không quá 0,5 %.

Định lượng

Cân chính xác khoảng 2,5 g bột dược liệu cho vào bình Zaitchenko hoặc Soxhlet, chiết bằng 50 ml *ethanol 90 % (TT)* cho đến khi hết màu vàng. Cất thu hồi ethanol trên cách thủy cho tới khi còn khoảng 1/10 thể tích ban đầu. Thêm 30 ml *nước* và 2 g đến 3 g *magnesi oxyd (TT)*, tiếp tục đun trên cách thủy ở 60 °C đến 70 °C trong 15 min, thỉnh thoảng lắc bình. Lọc lấy dịch lọc và cô đến cắn dưới áp suất giảm, rửa cắn bằng 30 ml đến 40 ml *nước* nóng, rửa làm nhiều lần cho đến khi nước rửa không còn màu vàng nữa. Gộp các nước rửa với dịch lọc vào một bình có dung tích 200 ml. Để nguội, thêm 5 ml *dung dịch kali iodid 50 % (TT)* và khuấy để kết tủa berberin iodid. Ly tâm, gạn bỏ dịch trong ở phía trên. Thêm vào tủa còn lại 20 ml *dung dịch kali iodid 2 % (TT)* và khuấy thật kỹ, ly tâm, bỏ dịch trong ở phía trên. Dùng 10 ml *nước cất* (chia làm nhiều lần) chuyển tủa vào một bình nón có nút mài dung tích 250 ml. Đun trên cách thủy, lắc bình cho berberin iodid phân tán đều trong nước. Khi nhiệt độ trong bình lên tới 70 °C, thêm *aceton (TT)* (khoảng 8 ml đến 9 ml), vừa thêm vừa lắc tới khi tủa berberin iodid vừa tan hết thì ngừng ngay. Đậy nút bình, tiếp tục đun 1 min đến 2 min. Sau đó thêm thật nhanh 3 ml *amoniac (TT)*, lắc bình cho đến khi berberin-aceton kết tủa. Để ở chỗ mát một đêm. Lọc tủa berberin-aceton vào phễu xốp thủy tinh G_3 (đường kính lỗ xốp 16 µm đến 40 µm) đã cân trước. Hứng dịch lọc vào một bình khác, đo thể tích dịch lọc. Rửa tủa bằng 10 ml *ether (TT)*, sấy khô ở 105 °C trong 3 h, để nguội trong bình hút ẩm rồi cân.

1 g tủa tương ứng với 898,2 mg berberin.

1 ml dịch lọc tương ứng với 0,0272 mg berberin.

Hàm lượng phần trăm berberin (X %) trong dược liệu theo công thức:

$$X\% = \frac{(898,2 \times a) + (0,0272 \times V)}{10 \times P}$$

Trong đó:

P là khối lượng dược liệu định lượng đã trừ độ ẩm (g);

a là khối lượng tủa thu được (g);

V là thể tích dịch lọc đo được (ml).

Dược liệu phải chứa không ít hơn 1,0 % berberin (tính theo dược liệu khô kiệt).

Chế biến

Thường thu hoạch rễ vào tháng 6 đến 8. Lúc trời khô ráo, đào lấy rễ và thân rễ, rửa nước thật nhanh cho sạch đất cát, cắt bỏ rễ con và gốc thân, rồi phơi hay sấy khô.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái mỏng phơi khô hoặc tẩm rượu sao khô.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, trong bao bì kín, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Khổ, hàn. Vào các kinh can, tâm, tỳ, vị, đởm, đại tràng.

Công năng, chủ trị

Thanh nhiệt, giải độc. Chủ trị: Lỵ, nục huyết, tâm quý, sốt cao, đau mắt, hoàng đản, đầy hơi, viêm họng.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 4 g đến 12 g, dạng thuốc bột, thuốc viên và thuốc sắc.

Dùng ngoài (nước sắc, ngậm) trị lở loét ở miệng. Tán Thổ hoàng liên với đậu đỏ, đắp trị trĩ.

Kiêng kỵ

Thiếu máu, khô tiêu, chứng hàn.

THỔ PHỤC LINH (Thân rễ)

Rhizoma Smilacis glabrae

Khúc khắc

Thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Thổ phục linh, còn có tên là Khúc khắc (*Smilax glabra* Roxb.), họ Khúc khắc (Smilacaceae).

Mô tả

Dược liệu chưa thái lát: Các đoạn có hình trụ hơi dẹt hoặc khối dài ngắn không đều, mang các mấu chồi, dài 5 cm đến 22 cm, đường kính 2 cm đến 7 cm. Mặt ngoài màu nâu vàng hay nâu tía, có vết sẹo thân nhô lên và các rễ nhỏ và rễ sợi cứng chắc còn sót lại. Chất cứng, khó bẻ gãy, mặt gãy có sợi, màu vàng nâu hoặc nâu đỏ, có thể thấy các chấm của các bó mạch và nhiều chấm sáng nhỏ hơn. Không mùi; vị hơi ngọt và se.

Dược liệu thái lát: Các lát mỏng không đều hoặc hình bầu dục, mép không phẳng. Mặt cắt màu trắng ngà đến nâu đỏ, có tinh bột, các nốt dạng điểm của bó mạch và nhiều các chấm sáng nhỏ. Nhớt và trơn khi bị ướt. Không mùi, vị hơi ngọt và se.

Vi phẫu

Bên ngoài là lớp bần, tế bào có thành dày, màu nâu đen. Mô mềm có 2 lớp: Lớp ngoài hẹp, không chứa tinh bột, chứa chất màu từ nâu đến đỏ, tế bào thường có hình nhiều cạnh, có khi có lớp tế bào mô cứng hẹp, nằm sát phía trong lớp mô mềm ngoài. Lớp mô mềm trong chiếm cả phần còn lại, tế bào hình nhiều cạnh hoặc kéo dài, chứa nhiều hạt tinh bột, đôi khi có những tế bào chứa chất màu. Ở cả 2 lớp mô mềm có những tế bào chứa tinh thể calci oxalat hình kim, tụ họp lại thành từng bó. Các bó libe-gỗ xếp rải rác trong mô mềm. Rải rác có những đám sợi và mạch gỗ bị cắt theo chiều dọc.

Bột

Màu nâu nhạt, có rất nhiều hạt tinh bột. Hạt đơn hình cầu, hình đa giác hoặc hình vuông, đường kính 8 µm đến 48 µm, rốn có dạng kẽ nứt, hình sao, hình chữ Y hoặc dạng điểm. Hạt lớn có thể thấy gợn vân. Hạt kép có từ 2 đến 4 hạt hợp thành. Tinh thể calci oxalat hình kim, dài 40 µm đến 144 µm, ở trong tế bào chứa chất nhày hoặc nằm rải rác khắp nơi. Tế bào mô cứng dạng bầu dục, vuông hay tam giác, đường kính 25 µm đến 128 µm, dày đặc ống lỗ, ngoài ra có tế bào mô cứng màu nâu sẫm dạng sợi dày, dài, đường kính 50 µm, 3 mặt dày, 1 mặt mỏng. Những sợi tụ thành bó hoặc nằm rải rác, đường kính 22 µm đến 67 µm. Có nhiều ống mạch điểm và quản bào, đa số có mạch điểm kéo dài thành hình thang.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Toluen - ethyl acetat - acid formic (13 : 32 : 9).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 20 ml *methanol (TT)*, siêu âm 30 min, để nguội, lọc.

Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan astilbin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 0,1 mg/ml.

Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có astilbin chuẩn, dùng 1 g bột Thổ phục linh (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, phun *dung dịch nhôm clorid 1 % trong ethanol (TT)*, để yên 5 min. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải xuất hiện vết có huỳnh quang cùng màu và cùng giá trị R_f với vết của astilbin trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu hoặc có các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)

Tỷ lệ non xốp: Không quá 2,0 %.

Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 15,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 50 % (TT)* làm dung môi.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Methanol - dung dịch acid acetic băng 1 % (39 : 61).

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,8 g bột dược liệu (qua rây có cỡ mắt rây 0,850 mm) vào một bình nón nút mài, thêm chính xác 100 ml *methanol 60 % (TT)*, đậy nút, cân. Đun hồi lưu trong 1 h, để nguội, đậy nút, cân lại. Bổ sung khối lượng mất đi bằng *methanol 60 % (TT)*, lắc đều, ly tâm, lấy dịch trong lọc qua màng lọc 0,45 µm.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan astilbin chuẩn trong *methanol 60 % (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,2 mg/ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 291 nm.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký dung dịch chuẩn và tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột tính trên pic astilbin phải không dưới 5000.

Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng của astilbin trong dược liệu dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{21}H_{22}O_{10}$ của astilbin chuẩn.
Dược liệu phải chứa không dưới 0,45 % astilbin ($C_{21}H_{22}O_{10}$), tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Mùa hạ, mùa thu, đào lấy thân rễ, loại bỏ rễ con, rửa sạch, phơi, sấy khô hoặc đang lúc tươi, thái lát mỏng, phơi hoặc sấy khô.
Với dược liệu chưa thái lát: Trước khi dùng lấy dược liệu khô rửa sạch, ủ mềm, thái lát, phơi khô.

Bảo quản
Để nơi khô, thoáng, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Cam, đạm, bình. Vào các kinh can, vị.

Công năng, chủ trị
Trừ thấp, giải độc, lợi niệu, thông lợi các khớp. Chủ trị: Tràng nhạc, lở ngứa, giang mai, tiểu đục, xích bạch đới, đau nhức xương khớp, trúng độc thủy ngân.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 12 g đến 30 g, dạng thuốc sắc, cao thuốc hoặc hoàn tán.

Kiêng kỵ
Không nên uống nước chè khi dùng thuốc, không dùng cho người có can thận âm hư.

THÔNG THẢO (Lõi thân)
Medulla Tetrapanacis papyriferi

Lõi thân khô của thân cây Thông thảo [*Tetrapanax papyrifera* (Hook.) K. Koch], họ Nhân sâm (Araliaceae).

Mô tả
Hình trụ, dài 20 cm đến 40 cm, đường kính 1 cm đến 2,5 cm. Mặt ngoài có màu trắng hoặc vàng nhạt, có rãnh dọc nông. Thể nhẹ, chất mềm, xốp, hơi có tính đàn hồi, dễ bẻ gãy, mặt bẻ phẳng, có màu trắng bạc, sáng bóng, phần giữa có tâm rỗng, đường kính 0,3 cm đến 1,5 cm, hoặc có màng mỏng trong mờ, sắp xếp hình thang khi nhìn trên mặt cắt dọc. Ruột đặc ít thấy. Không mùi, vị nhạt.

Vi phẫu
Toàn bộ là tế bào mô mềm hình bầu dục, hình tròn hoặc hình đa giác. Tế bào phía ngoài nhỏ hơn, lỗ vân rõ. Một số tế bào chứa cụm tinh thể calci oxalat có đường kính 15 µm đến 64 µm.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 4 h).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.4).

Chế biến
Chặt lấy thân cây thông thảo vào mùa thu, cắt thành từng đoạn dài 20 cm đến 40 cm, phơi hơi héo. Dùng gậy gỗ tròn gần bằng lõi thông thảo đẩy lõi ra, làm cho thẳng, phơi khô. Khi dùng phải loại tạp chất và thái lát.

Bảo quản
Để nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh
Cam, đạm, vi hàn. Vào các kinh phế, vị.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt lợi tiểu, thông kinh hạ sữa. Chủ trị: Ngũ lâm, thủy thũng, sau đẻ không ra sữa.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 5 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Người khí hư không có nhiệt, thai phụ không được dùng.

THỤC ĐỊA
Radix Rehmanniae glutinosae praeparata

Rễ củ đã chế biến của cây Địa hoàng [*Rehmannia glutinosa* (Gaertn.) Libosch.], họ Hoa mõm chó (Scrophulariaceae).

Mô tả
Phiến dày hoặc khối không đều. Mặt ngoài bóng. Chất mềm, dai, khó bẻ gãy. Mặt cắt ngang đen nhánh, mịn bóng. Không mùi, vị ngọt.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Ethyl acetat - methanol - acid formic (16 : 0,5 : 2).
Dung dịch thử: Lấy 1 g dược liệu đã cắt nhỏ, thêm 50 ml *methanol (TT)* 80 %, lắc siêu âm 30 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn, hòa cắn trong 5 ml *nước*. Lắc với *n-butanol đã bão hòa nước (TT)* 4 lần, mỗi lần 10 ml. Gộp dịch chiết n-butanol, cô đến cạn. Hòa cắn trong 2 ml *methanol (TT)* làm dung dịch chấm sắc ký.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan verbascosid chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 1 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng, phun dung dịch *2'-aminoethyl diphenylorinat* 1 % trong *methanol (TT)*, sấy bản mỏng ở 105 °C trong 5 min. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại tại bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu và cùng giá trị R_f với vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không được quá 18,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần, Tro không tan trong acid, Chất chiết được trong dược liệu: Phải đáp ứng các yêu cầu và phương pháp thử đã mô tả trong chuyên luận Địa Hoàng.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - dung dịch acid acetic 0,1 % (16 : 84).
Dung dịch thử: Cắt một lượng dược liệu thành những mảnh nhỏ (kích thước khoảng 5 mm × 5 mm), sấy ở 80 °C, dưới áp suất giảm trong 24 h rồi nghiền thành bột thô. Cân chính xác khoảng 2 g bột dược liệu vào một bình nón nút mài, thêm chính xác 100 ml *methanol (TT)*, đậy nút, cân. Đun sôi hồi lưu 30 min, để nguội và cân lại. Bổ sung khối lượng mất đi bằng *methanol (TT)*, lắc đều, lọc. Lấy chính xác 50 ml dịch lọc, Cất thu hồi dung môi trong chân không đến gần khô. Dùng pha động để hòa tan và chuyển toàn bộ cắn vào bình định mức 10 ml, thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan verbascosid chuẩn trong pha động để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 10 µg/ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 334 nm.
Tốc độ dòng: 0,8 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột tính trên pic verbascosid phải không dưới 5000.
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Tính hàm lượng verbascosid trong dược liệu dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{29}H_{36}O_{15}$ trong verbascosid chuẩn. Dược liệu phải chứa không dưới 0,02 % verbascosid ($C_{29}H_{36}O_{15}$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Cách 1:
Lấy Sinh địa đã rửa sạch, cho vào thùng, xếp củ to ở dưới, củ nhỏ ở trên. Cứ 90 kg Sinh địa thêm 10 L rượu. Đun đến sôi, tiếp tục đun nhỏ lửa từ 6 h đến 8 h cho đến cạn. Trong khi đun, cứ khoảng 1 h lại lấy nước ở đáy nồi tưới lên các củ cho thấm đều. Sau lấy ra phơi 3 ngày, rồi lại đem nấu lần thứ 2 với nước gừng. Dùng 2 kg Gừng tươi giã nhỏ cho vào nước, khuấy đều, lọc lấy nước, nấu với Sinh địa. Sau đó lại vớt Sinh địa ra phơi, rồi lại nấu. Làm như vậy 5 lần đến 7 lần, đến khi dược liệu có màu đen nhánh.
Cách 2:
Công thức:

Sinh địa	100 kg
Sa nhân	1,5 kg
Gừng tươi	10,0 kg
Rượu (hàm lượng ethanol 22 % đến 25 %)	45,0 L

Lấy sinh địa, loại bỏ đất cát, rửa sạch, để ráo nước.
Lấy gừng tươi, rửa sạch, thái nhỏ hoặc xay vớt.
Lấy sa nhân, loại bỏ tạp chất, rửa sạch, đập, giã hoặc xay nhỏ.
Cho gừng tươi và sa nhân vào nồi nấu hai vỏ. Thêm nước, đun sôi, điều chỉnh nhiệt độ để sôi âm ỉ trong 1 h, rút dịch chiết sa nhân - gừng để được khoảng 50 L.
Cho sinh địa đã ráo nước vào nồi nấu hai vỏ. Tẩm sinh địa với 1.2 lượng rượu theo công thức (22,5 L) cùng với dịch chiết sa nhân - gừng, ngâm ủ trong 2 h. Nếu lượng dịch sa nhân - gừng, rượu chưa đủ ngập sinh địa thì bổ sung thêm nước sạch (yêu cầu cao hơn mặt sinh địa 2 cm đến 3 cm). Tiến hành nấu trong 3 ngày, mỗi ngày đun âm ỉ trong 6 h. Đêm ngừng nấu. Sau mỗi ngày bổ sung thêm nước sôi cho đủ ngập. Đến ngày thứ 4 thì rút dịch nấu, gộp cùng 1/2 lượng rượu còn lại.
Sinh địa trong nồi được đảo trên dưới cho đều. Đổ lượng dịch nấu gộp với rượu ở trên vào nồi và ngâm ủ trong 2 h. Bổ sung nước cho ngập rồi đun âm ỉ tiếp trong 6 h. Đêm ngừng nấu. Ngày thứ 5 tiếp tục nấu và điều chỉnh lượng nước sao cho lượng dịch nấu rút ra ngày hôm sau chỉ còn khoảng 9 L đến 10 L. Sinh địa được nấu trở nên đen nhánh, có mùi thơm, vị ngọt. Để nguyên hoặc thái lát dày 3 mm đến 4 mm. Sấy. Tẩm với dịch còn lại trong quá trình sấy. Quá trình tẩm - sấy (hoặc phơi nắng) được làm liên tục cho tới khi hết dịch và thục địa thu được trở nên đen, láng bóng, khô, dẻo, thớ dai chắc, sờ không dính tay là được.

Bảo quản
Trong thùng gỗ, để nơi khô mát, tránh mốc.

Tính vị, quy kinh
Cam, vi ôn. Vào các kinh can, thận, tâm.

Công năng, chủ trị
Tư âm, bổ huyết, ích tinh, tủy. Chủ trị: Can, thận âm hư, thắt lưng đầu gối mỏi yếu, cốt chưng, triều nhiệt, mồ hôi trộm, di tinh, âm hư ho suyễn, háo khát. Huyết hư, đánh trống ngực hồi hộp, kinh nguyệt không đều, rong huyết, chóng mặt ù tai, mắt mờ, táo bón.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 9 g đến 15 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Kỵ sắt. Tỳ vị hư hàn không dùng.

THUYỀN THOÁI
Periostracum Cicadae
Xác ve sầu

Xác lột của con Ve sầu lúc có cánh (*Cryptotympana pustulata* Fabricius), họ Ve sầu (Cicadidae).

Mô tả
Thuyền thoái hình bầu dục, hơi cong, dài chừng 3,5 cm, rộng 2 cm. Mặt ngoài màu nâu vàng, trong mờ, sáng bóng. Đầu có một đôi râu dạng sợi, thường bị rụng, hai mắt lồi mọc ngang, trán lồi ra ở phía trước, miệng rộng, môi trên rộng, ngắn, môi dưới dài ra thành vòi hình ống. Ở lưng có vết nứt hình chữ thập, miệng nứt rách cuộn vào phía trong, hai bên sống lưng có hai đôi cánh nhỏ, ở ngực và phía bụng có 3 đôi chân phủ lông nhỏ màu nâu vàng, đôi chân trước to, khoẻ, có răng cưa; hai đôi chân sau hơi nhỏ, dài. Bụng tròn, tù, có 9 đốt. Thể nhẹ, chất mỏng, trong rỗng, dễ vỡ. Không mùi, vị nhạt.

Độ ẩm
Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 4 h).

Tỷ lệ vụn nát
Qua rây có kích thước mắt rây 4 mm: Không quá 5 % (Phụ lục 12.12).

Chế biến
Vào mùa hè, thu, lấy xác ve sầu, loại bỏ đất cát, rửa sạch, phơi khô.

Bảo quản
Để nơi khô, thoáng, trong lọ kín, tránh làm vụn nát, tránh sâu, mọt.

Tính vị, quy kinh
Cam, hàn. Vào các kinh phế, can.

Công năng, chủ trị
Tán phong nhiệt, giải kinh, thấu chẩn, tiêu màng. Chủ trị: Cảm mạo phong nhiệt, đau họng, tiếng khàn; sởi không mọc, phong chẩn ngứa, mắt đỏ có màng, kinh phong.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 6 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Chứng hư không do phong nhiệt, phụ nữ có thai không nên dùng.

THƯƠNG LỤC (Rễ củ)
Radix Phytolaccae

Rễ củ đã phơi hay sấy khô của cây Thương lục (*Phytolacca esculenta* Van Houtte), họ Thương lục (Phytolaccaceae).

Mô tả
Dược liệu là những phiến mỏng hoặc những mảnh cắt ngang, dọc, dày mỏng không đều. Mặt ngoài màu vàng xám hoặc nâu xám. Những mảnh cắt ngang có hình dạng cong queo, mép ngoài teo lại, đường kính 2 cm đến 8 cm. Mặt cắt ngang màu trắng ngà đến nâu vàng nhạt, gỗ lồi lên tạo thành nhiều vòng đồng tâm. Những lát cắt dọc thường bị cong lên hoặc cuộn lại, dài khoảng 5 cm đến 8 cm, rộng khoảng 1 cm đến 2 cm, có thể thấy những vằn gỗ lồi lên, song song với nhau. Thể chất cứng. Mùi thơm nhẹ; vị hơi ngọt sau tê.

Vi phẫu
Lớp bần có từ vài hàng tế bào đến trên 10 hàng. Vỏ hẹp. Mô mềm vỏ có cấu trúc cấp 3 với nhiều vòng tầng phát sinh libe-gỗ đồng tâm, mỗi vòng gồm nhiều bó libe-gỗ. Libe ở phía ngoài, gỗ ở phía trong. Sợi gỗ nhiều, thường tụ thành đám hoặc bao quanh mạch gỗ. Tế bào mô mềm có chứa tinh thể calci oxalat hình kim, một số ít tế bào chứa các tinh thể calci oxalat hình lăng trụ đứng riêng lẻ hoặc từng đám; tế bào mô mềm còn chứa các hạt tinh bột. Tia ruột hẹp.

Bột
Bột màu xám nhạt, soi kính hiển vi thấy: Tinh thể calci oxalat dạng hình kim nhỏ, dài 40 µm đến 72 µm họp thành bó hoặc đứng rải rác; tinh thể calci oxalat hình lăng trụ, riêng lẻ hoặc từng đám. Sợi gỗ phần lớn xếp thành bó, đường kính 10 µm đến 20 µm, thành dày hoặc hơi dày với nhiều vết lõm hình chữ X. Tế bào bần màu vàng nâu, hình chữ nhật hoặc hình đa giác, một số ít chứa những hạt nhỏ. Hạt tinh bột đơn, hình gần tròn hoặc hình thuôn, đường kính 3 µm đến 28 µm, rốn hình khe nứt, dạng điểm, hình sao và hình chữ V, vân không rõ; ở những hạt lớn có thể thấy rõ vân tăng trưởng đồng tâm, rốn lệch tâm; hạt tinh bột kép 2 đến 3, ít gặp.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Cloroform - methanol* (7 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 2 g bột thô dược liệu, thêm 20 ml *ethanol 96 % (TT)*, lắc siêu âm trong 10 min, lọc. Bã được chiết như trên một lần nữa. Gộp các dịch chiết ethanol, bốc hơi trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột Thương lục (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm lên bản mỏng 30 µl mỗi dung dịch trên, triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*, sấy ở 120 °C đến khi hiện rõ vết. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có những vết tương tự về R_f và màu sắc với các vết của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất
Không quá 2,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 2,5 % (Phụ lục 9.7).

Kim loại nặng
Không quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8, phương pháp 3).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 7,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa thu cho đến đầu mùa xuân, loại bỏ rễ con, đất cát phơi khô.

Bào chế
Thương lục phiến: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái lát, hay cắt thành đoạn, phơi hay sấy khô.
Thố thương lục (Chế dấm): Thương lục rửa sạch, ủ mềm, thái lát, ủ với dấm cho mềm, thái lát, ủ với dấm cho thấm đều, sao nhỏ lửa cho tới khô. Dùng 3 L dấm cho 10 kg Thương lục.

Bảo quản
Nơi khô ráo, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Khổ, hàn, có độc. Vào kinh thận.

Công năng, chủ trị
Thuốc xổ và trục thủy, giải độc tiêu viêm. Chu trị: Phù toàn thân, vô niệu, táo bón. Dùng ngoài chữa mụn nhọt, đau nhức.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 9 g. Dạng thuốc sắc.
Dùng ngoài, đắp tại chỗ với lượng thích hợp rễ tươi nghiền nát hay bột của rễ khô.

Kiêng kỵ
Không dùng cho phụ nữ có thai, người thủy thũng do tỳ hư.

THƯƠNG TRUẬT (Thân rễ)
Rhizoma Atractylodis

Thân rễ đã phơi khô của cây Mao thương truật [*Atractylodes lancea* (Thunb.) DC.], hoặc cây Bắc thương truật [*Atractylodes chinensis* (DC.) Koidz], họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả
Mao thương truật: Thân rễ dạng chuỗi hạt không đều hoặc những mẩu nhỏ hình trụ, hơi cong, có khi phân nhánh, dài 3 cm đến 10 cm, đường kính 1 cm đến 2 cm. Mặt ngoài màu nâu xám, có vân nhăn và những đường vân xoắn ngang và vết tích của rễ con. Phần đỉnh có những vết sẹo của thân. Chất cứng, chắc, mặt bẻ màu vàng nhạt hoặc trắng xám, rải rác có nhiều khoang dầu màu vàng da cam hoặc đỏ nâu, để lâu ngoài không khí sẽ có kết tinh thành hình kim nhỏ, màu trắng. Mùi đặc trưng, vị hơi ngọt, cay và đắng.

Bắc thương truật: Thân rễ có nhiều bướu dẹt hoặc hình trụ, dài 4 cm đến 9 cm, đường kính 1 cm đến 4 cm. Mặt ngoài màu nâu hơi đen, khi gọt vỏ ngoài có màu nâu hơi vàng. Chất xốp, mặt bẻ rải rác có túi dầu màu vàng. Mùi thơm nhẹ, vị cay và đắng.
Thương truật thái lát: Các phiến dày hình gần tròn hoặc không có hình dạng nhất định. Bên ngoài màu nâu xám đến nâu vàng, có nếp nhăn, đôi khi có vết sẹo của rễ con. Mặt phiến có màu vàng nhạt hoặc trắng xám, rải rác có nhiều khoang dầu màu vàng da cam hoặc đỏ nâu, để hở lâu ngoài không khí sẽ có kết tinh thành hình kim nhỏ, màu trắng. Mùi đặc trưng, vị hơi ngọt, cay và đắng.

Vi phẫu
Lớp vỏ ngoài có các tế bào đá, mô mềm vỏ không có các bó sợi; các khoang dầu có chứa các chất màu nâu nhạt đến nâu vàng, tụ lại ở phần cuối của tia ruột. Nhiều bó mạch bao quanh gỗ tạo thành bó, xếp xếp theo hướng xuyên tâm ở phần gần tầng phát sinh. Các lỗ mạch và tia ruột tương tự như các khoang dầu. Các tế bào mô mềm chứa tinh thể inulin hình cầu và nhiều tinh thể calci oxalat hình kim.

Bột
Bột màu nâu. Soi kính hiển vi thấy: Có nhiều tinh thể calci oxalat hình kim rất nhỏ, dài 5 µm đến 30 µm trong tế bào mô mềm. Đa số sợi hợp thành bó, sợi dài hình thoi, đường kính tới 40 µm, thành tế bào dày, hơi hóa gỗ. Khá nhiều tế bào đá, đôi khi kết nối với tế bào bần, có nhiều cạnh, hình gần tròn hoặc gần hình chữ nhật, đường kính 20 µm đến 80 µm, thành rất dày. Thường thấy inulin có các nếp nhăn thành tia trên bề mặt.

Định tính
A. Ngâm 1 g bột dược liệu trong 5 ml *ether (TT)* khoảng 5 min, lọc. Nhỏ vài giọt dịch lọc trên một đĩa sứ men trắng. Sau khi ether bốc hơi hết, thêm 1 giọt đến 2 giọt dung dịch mới pha gồm: 2 g *p-dimethylaminobenzaldehyd (TT)*, 3,3 ml *acid sulfuric (TT)* và 0,4 ml *nước*; sau đó thêm 2 giọt *ethanol 96 % (TT)* xuất hiện màu đỏ hồng.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel F_{254}.
Dung môi khai triển: n-Hexan - ethyl acetat (10 : 0,8).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ethyl acetat (TT)*, siêu âm 15 min, lọc, lấy dịch lọc làm dung dịch thử.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Lấy 1 g bột Thương truật (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan atractylodin chuẩn trong *n-hexan (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 0,24 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng rẽ 10 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun dung dịch *p-dimethylaminobenzaldehyd 5 % trong dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*, sấy bản mỏng ở

105 °C tới khi hiện rõ vết (khoảng 2 min). Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu hoặc có vết cùng màu sắc và giá trị R_f với vết atractylodin trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần
Không quá 7,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 1,5 % (Phụ lục 9.7).

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu.
Tiến hành như sau:
Dung dịch thử: Lấy 3,0 g bột dược liệu vào 1 chén bằng sứ hoặc thạch anh, có nắp đậy. Đốt dần dần để than hóa hoàn toàn. Để nguội, thêm 1 ml hỗn hợp (pha trước khi dùng) gồm 1 thể tích *acid nitric (TT)* và 3 thể tích *acid hydrocloric (TT)*, bốc hơi tới khô trên cách thủy. Làm ẩm cắn bằng 3 giọt *acid hydrocloric (TT)*, thêm 10 ml *nước* nóng và làm ẩm trong 2 min. Sau đó thêm 1 giọt *dung dịch phenolphtalein (TT)*, thêm từng giọt *amoniac đậm đặc (TT)* cho đến khi dung dịch xuất hiện màu đỏ nhạt, thêm 2 ml *acid acetic loãng (TT)*, lọc (nếu cần), rửa phễu và cắn bằng 10 ml *nước*. Chuyển dịch lọc và dịch rửa vào ống thử Nessler, thêm *nước* vừa đủ 50 ml.
Dung dịch đối chiếu: Bốc hơi đến khô 1 ml hỗn hợp (pha trước khi dùng) gồm 1 thể tích *acid nitric (TT)* và 3 thể tích *acid hydrocloric (TT)*. Sau đó tiến hành như chỉ dẫn với Dung dịch thử, sau đó thêm 3,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 50 ml.
Cách tiến hành: Thêm 1 giọt *dung dịch natri sulfid (TT_1)* vào dung dịch thử và dung dịch đối chiếu, lắc mạnh, để yên 5 min. So sánh màu của 2 ống nghiệm bằng cách nhìn dọc ống hoặc quan sát trên nền trắng. Dung dịch thử không được đậm màu hơn dung dịch đối chiếu.

Arsen
Không được quá 5 phần triệu.
Lấy 0,4 g bột dược liệu vào 1 chén bằng sứ hoặc thạch anh có nắp đậy, thêm 10 ml *dung dịch magnesi nitrat hexahydrat (TT) 2 % trong ethanol 96 % (TT)*, đốt hết ethanol, nung nóng từ từ cho đến khi than hóa, nếu chưa than hóa hoàn toàn thì làm ẩm cắn bằng một lượng nhỏ *acid nitric (TT)*, tiếp tục nung tương tự như trên cho đến khi than hóa hoàn toàn. Để nguội, thêm 3 ml *acid hydrocloric (TT)*, hòa tan cắn bằng cách đun nóng trên cách thủy. Lấy dung dịch này tiếp tục tiến hành thử theo phương pháp A, Phụ lục 9.4.2, dùng 2 ml *dung dịch arsen mẫu 1 phần triệu As (TT)*.

Định lượng
Tiến hành phương pháp Định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Dùng 50,0 g bột dược liệu, bình cầu thể tích 1000 ml, thêm từ 250 ml đến 500 ml *nước*, 2 ml *xylen (TT)* vào ống hứng tinh dầu, nhiệt độ sôi ở 130 °C đến 150 °C. Cất trong 5 h.
Dược liệu phải chứa ít nhất 1,4 % tinh dầu, tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa xuân, thu. Đào lấy thân rễ, loại bỏ đất cát và rễ con, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế
Thương truật thái lát: Lấy dược liệu khô, loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái lát dày, phơi khô.
Thương truật sao cám: Cho cám vào chảo, đun nóng, đợi khi khói bốc lên, thêm thương truật thái lát, sao cho tới khi mặt ngoài chuyển thành màu vàng thẫm, lấy ra, sàng bỏ cám. Cứ 100 kg Thương truật phiến dùng 10 kg cám gạo.

Bảo quản
Để nơi khô, thoáng mát.

Tính vị, quy kinh
Tân, khổ, ôn. Vào các kinh tỳ, vị.

Công năng, chủ trị
Kiện tỳ táo thấp, khu phong trừ thấp, phát hãn giải biểu.
Chủ trị: Thấp trệ ở trung tiêu (bụng đầy buồn nôn, ăn không ngon), phong thấp do hàn thấp là chính, ngoại cảm phong hàn và thấp (người nặng nề uể oải, không có mồ hôi).

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, dạng thuốc sắc.

TÍA TÔ (Lá)
Folium Perillae frutescensis
Tô diệp

Lá (hoặc có lẫn nhánh non) còn tươi hoặc đã phơi hay sấy khô của cây Tía tô [*Perilla frutescens* (L.) Britt.], họ Bạc hà (Lamiaceae).

Mô tả
Phiến lá thường nhàu nát, cuộn lại và gãy, lá được dàn phẳng có hình trứng, dài 4 cm đến 11 cm, rộng 2,5 cm đến 9 cm, chóp lá nhọn, gốc lá tròn hoặc vát nhọn, rộng, mép lá có răng tròn. Hai mặt lá đều có màu tía hoặc mặt trên màu lục, mặt dưới màu tía có lông màu trắng xám mọc rải rác và nhiều vảy tuyến dạng điểm. Cuống lá dài 2 cm đến 7 cm, màu tía hoặc lục tía. Thể chất giòn. Cành non có đường kính 2 mm đến 5 mm, màu lục tía, mặt cắt ngang có tủy ở giữa. Mùi thơm, vị hơi cay.

Vi phẫu
Gân lá: Biểu bì trên và dưới gồm một lớp tế bào dẹt và nhỏ. Có nhiều lỗ khí ở biểu bì dưới. Lông tiết nằm trong những chỗ lõm của biểu bì. Lông che chở đa bào một dãy. Mô dày nằm ở những chỗ lồi của gân giữa. Mô mềm gồm

các tế bào thành mỏng. Bó libe-gỗ hình cung ở giữa gân lá gồm có phần gỗ ở phía trên, phần libe ở phía dưới.
Phiến lá: Gồm có mô mềm giậu chứa chất màu vàng, chiếm 2/3 phiến lá ở phía trên, mô mềm khuyết nằm ở phía dưới.

Bột
Màu nâu, mùi thơm. Soi kính hiển vi thấy: Lông che chở đa bào, bề mặt lấm tấm. Lông tiết đầu đa bào, cuống rất ngắn. Mảnh biểu bì trên và dưới gồm tế bào có thành ngoằn ngoèo, có lỗ khí và lông tiết. Phiến lá gồm tế bào chứa diệp lục, có tinh thể calci oxalat hình cầu gai nhỏ. Mảnh mạch mạng, mạch vòng, mạch xoắn.

Định tính
A. Phản ứng trên bề mặt lá: Nhỏ lên mặt dưới lá vài giọt *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)* xuất hiện màu đỏ. Nhỏ lên mặt dưới lá vài giọt *dung dịch kali hydroxyd 5 % (TT)* sẽ xuất hiện màu lục sáng, sau đó chuyển thành màu lục vàng.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Dùng lớp trên của hỗn hợp dung môi gồm *ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C) - ethyl acetat* (19 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 0,7 g bột thô dược liệu vào bình cầu, thêm 250 ml *nước*, trộn đều, lắp bình vào dụng cụ cất tinh dầu, tiến hành cất tinh dầu (Phụ lục 12.7), thêm 1,5 ml *ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C) (TT)* thay cho xylen, đun sôi nhẹ trong 2 h, để nguội, tách riêng phần ether dầu hỏa làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,7 g bột thô lá Tía tô (mẫu chuẩn), tiến hành chiết tương tự như đối với dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, phun *dung dịch 2,4-dinitrophenylhydrazin trong acid hydrocloric (TT)*, để yên cho đến khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % đối với dược liệu khô (Phụ lục 12.13).

Tạp chất
Không quá 2,0 % (Phụ lục 12.11).

Dư lượng thuốc bảo vệ thực vật
Benzen hexaclorid (BHC): Không quá 0,2 phần triệu (Phụ lục 12.17).

Tro toàn phần
Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.8).

Tỷ lệ vụn nát
Qua rây có kích thước mắt rây 3,150 mm: Không quá 5 % (Phụ lục 12.12).

Chế biến
Thu hoạch vào mùa hạ, khi cành lá Tía tô mọc xum xuê, hái riêng lá hoặc lá và nhánh non, loại bỏ tạp chất và lá sâu phơi trong bóng râm hoặc sấy nhẹ đến khô.

Bảo quản
Để nơi mát, khô.

Tính vị, quy kinh
Tân, ôn. Vào các kinh phế, tỳ.

Công năng, chủ trị
Giải biểu tán hàn, hành khí hòa vị, lý khí an thai. Chủ trị: Cảm mạo phong hàn, ho, khí suyễn buồn nôn, có thai nôn mửa, chữa trúng độc cua cá.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 5 g đến 9 g dược liệu khô, dạng thuốc sắc. Dùng tươi: Lượng thích hợp.

Kiêng kỵ
Ho khan, ho ra máu, người âm hư hàn nhiệt, hoặc nóng trong, mồ hôi ra nhiều và không phải ngoại cảm phong hàn không nên dùng.

TÍA TÔ (Quả)
Fructus Perillae frutescensis
Tô tử

Quả chín già phơi khô của cây Tía tô [*Perilla frutescens* (L.) Britt.], họ Bạc hà (Lamiaceae).

Mô tả
Quả hình trứng hoặc gần hình cầu, đường kính khoảng 1,5 mm. Bên ngoài màu nâu xám và tía thẫm, có các gợn hình vân lưới hơi lồi. Gốc quả hơi nhọn, có chấm sẹo màu trắng xám của cuống quả. Vỏ quả mỏng, giòn, dễ vỡ. Hạt màu trắng ngà, vỏ hạt có màng, trong hạt có hai lá mầm màu trắng ngà, có dầu. Hạt có mùi thơm nhẹ khi vỡ, vị hơi cay.

Bột
Màu nâu xám. Tế bào biểu bì của vỏ hạt hình ép dẹt khi nhìn ở mặt bên, hình bầu dục khi nhìn trên bề mặt, thành dày cong queo có vết như tạc khắc dày đặc. Các tế bào vỏ ngoài màu nâu vàng, dẹt khi nhìn ở mặt bên, thành có nhiều u lồi nhỏ; hình gần tròn khi nhìn trên bề mặt, có các vạch cutin nhỏ, hơi cong. Tế bào đá của vỏ quả trong hình dạng không đều khi nhìn ở mặt bên, hình gần đa giác khi nhìn trên bề mặt, tế bào viền không rõ, khoang hình sao. Tế bào lá mầm hình gần chữ nhật, chứa đầy các giọt dầu.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: n-Hexan - toluen - ethyl acetat - acid formic (2 : 5 : 2,5 : 0,5).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 25 ml *methanol (TT)*, siêu âm trong 30 min. Lọc. Bốc hơi dịch lọc đến khô. Hòa tan cắn trong 1 ml *methanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột quả Tía tô (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để bay hơi hết dung môi ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch nhôm clorid 5 % (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có huỳnh quang cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến
Thu hoạch vào mùa thu, khi quả chín già, cắt cả cây Tía tô, đập lấy quả, loại tạp chất, phơi khô.
Tô tử: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, phơi khô.
Tô tử sao: Lấy Tô tử cho vào chảo, sao nhỏ lửa đến khi có mùi thơm hoặc nổ đều, lấy ra để nguội, khi dùng giã dập.

Bảo quản
Để nơi khô, mát, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Tân, ôn. Vào kinh phế.

Công năng, chủ trị
Giáng khí, tiêu đờm, bình suyễn, nhuận trường. Chủ trị: Đờm suyễn, ho khí nghịch, táo bón.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, dạng thuốc sắc.

TÍA TÔ (Thân)
Caulis Perillae frutescensis
Tô ngạnh

Thân đã phơi hay sấy khô của cây Tía tô [*Perilla frutescens* (L.) Britt.], họ Bạc hà (Lamiaceae).

Mô tả
Dược liệu hình trụ vuông, bốn góc tù, dài ngắn không đều nhau, đường kính 0,5 cm đến 1,5 cm. Mặt ngoài màu nâu hơi tía hoặc tía thẫm, bốn mặt có rãnh và vân dọc nhỏ, mấu hơi phình to, có các vết sẹo cành và vết sẹo lá mọc đối. Thể nhẹ, chất cứng, mặt gãy có dạng phiến xẻ. Phiến thái dày 2 mm đến 5 mm, thường giống hình thoi dài, vát, gỗ màu vàng nhạt, tia tủy nhỏ và dày đặc, tỏa ra từ trung tâm; tủy màu trắng mềm và thưa thớt. Mùi thơm nhẹ, vị nhạt.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).

Dư lượng thuốc bảo vệ thực vật
Benzen hexaclorid (BHC): Không quá 0,2 phần triệu (Phụ lục 12.17).

Chế biến
Mùa thu, sau khi quả chín, cắt phần trên mặt đất, bỏ cành con và lá, loại bỏ tạp chất, phơi khô, hoặc thái khúc hay phiến, rồi phơi khô.

Bào chế
Thân Tía tô khô chưa thái, loại bỏ tạp chất, nhúng vào nước, vớt ra, ủ mềm, thái khúc hoặc phiến dày, phơi khô.

Bảo quản
Để nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh
Tân, ôn. Vào các kinh phế, tỳ.

Công năng, chủ trị
Lý khí, khoan trung, chỉ thống, an thai. Chủ trị: Khí uất vùng ngực cơ hoành bĩ tức, thượng vị đau, ợ hơi, nôn mửa, động thai.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 5 g đến 9 g, dạng thuốc sắc.

TIỀN HỒ (Rễ)
Radix Peucedani

Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Tiền hồ (*Peucedanum decursivum* Maxim), hoặc cây Tiền hồ hoa trắng (*Peucedanum praeruptorum* Dunn.), họ Hoa tán (Apiaceae).

Mô tả
Rễ Tiền hồ hoa trắng: Dược liệu hình trụ không đều hoặc hình chóp, hơi vặn, phần đầu rễ to, phần dưới thường phân nhánh và nhỏ dần; dài 3 cm đến 15 cm, đường kính 1 cm đến 2 cm. Mặt ngoài màu nâu đen hoặc vàng xám. Đầu rễ thường có vết sẹo của gốc thân. Có nhiều vân ngắn xếp theo vòng ở phần trên của rễ, ở phần dưới có những rãnh dọc hoặc nếp nhăn dọc và các nốt ngang. Thể chất cứng, dễ bẻ gãy, vết gãy không phẳng, màu trắng hay vàng nhạt. Mặt cắt ở vỏ rải rác có nhiều đốm màu vàng nâu, tầng phát sinh libe-gỗ là một vòng màu nâu có thể quan sát thấy bằng mắt thường; có nhiều tia tỏa ra từ vùng tâm của rễ. Mùi thơm, vị hơi đắng và cay.
Rễ Tiền hồ: Tương tự rễ Tiền hồ hoa trắng, đôi khi có vết của gốc thân còn sót lại, ở đầu rễ có vết tích của bẹ lá dạng màng. Mặt bẻ màu trắng, các tia xuyên tâm không thấy rõ.

Vị phẩu
Rễ: Có thiết diện hơi tròn. Ngoài cùng là lớp bần khá dày, hay bị bong tróc từng mảng. Kế đến là lục bì gồm các tế bào hình chữ nhật xếp xuyên tâm, chứa nhiều tinh bột. Lớp lục bì ở rễ già dày hơn ở rễ non. Mô mềm vỏ khá dày (chiếm khoảng một nửa bán kính rễ), gồm các tế bào thành mỏng, gần như tròn, rải rác có các ống tiết ly bào với các tế bào bao quanh ống tiết còn nguyên vẹn, bên trong chứa tinh dầu dưới dạng giọt tròn màu vàng nhạt hay vàng nâu. Libe và gỗ cấp 2 bị nhiều tia tủy (gồm 4 đến 20 hàng tế

bào) cắt thành từng cụm. Tia tủy chạy dài ra đến tận mô mềm vỏ gần sát lớp bần. Lớp libe cấp 2 gồm các tế bào thành mỏng xen kẽ với các tế bào thành khá dày tụ thành đám. Ở rễ già, libe hóa sợi từng đám lan rộng đến gần sát lớp bần. Trong libe cũng có nhiều ống tiết như ở mô mềm vỏ. Gỗ cấp 2 gồm một số mạch thiết diện hơi tròn xen lẫn với mô mềm gỗ thành còn chưa hóa gỗ. Ở rễ già, mô mềm gỗ hóa sợi thành từng đám rải rác trong vùng tủy.

Bột

Bột màu nâu, có ít xơ, mùi thơm.

Mảnh bần; mảnh mô mềm chứa tinh bột; mảnh ống tiết bị vỡ; mảnh mạch vạch, mạch xoắn, mạch mạng; sợi thành dày, khoang hẹp có ống trao đổi; hạt tinh bột rời hay tụ thành đám.

Định tính

A. Đun hồi lưu 5 g bột dược liệu với 30 ml *ethanol 96 % (TT)* trong 10 min. Lọc, lấy dịch lọc tiến hành các phản ứng sau:

Lấy 2 ml dịch lọc, nhỏ vài giọt *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)*: Dung dịch có tủa đục. Nhỏ tiếp khoảng 10 giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)* cho đến pH kiềm: Dung dịch trở nên trong và tăng màu vàng.

Nhỏ từ từ dịch chiết lên giấy lọc thành 2 vết, mỗi vết gồm 2 đến 3 giọt dịch lọc, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm, sẽ hiện lên vết huỳnh quang màu xanh da trời nhạt. Thêm 1 giọt đến 2 giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)* lên 2 vết, che miếng kim loại lên một trong 2 vết, soi lại dưới ánh sáng tử ngoại ở 366 nm, sau vài phút mở miếng kim loại ra. Lúc đầu, vết không che sẽ có huỳnh quang sáng hơn vết bị che, sau vài giây, cả hai vết sẽ sáng như nhau.

Lấy 3 ml dịch lọc bốc hơi đến cắn. Hòa tan cắn trong 1 ml *acid acetic băng (TT)* thêm 5 giọt *acetyl clorid (TT)* và một vài tinh thể *kẽm clorid (TT)*, đun trong cách thủy 1 min đến 2 min, màu đỏ sẽ xuất hiện.

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

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Cyclohexan - ethyl acetat - aceton* (9 : 1 : 0,5).

Dung dịch thử: Đun hồi lưu 5 g bột dược liệu với 30 ml *ethanol 96 % (TT)* trong 10 min. Lọc, lấy khoảng 10 ml dịch lọc cô trên cách thủy đến cắn (hoặc lấy phần dịch lọc còn lại ở mục định tính A để cô). Hòa tan cắn trong khoảng 3 ml *cloroform (TT)* dùng làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Dùng 5 g bột Tiền hồ (mẫu chuẩn tương ứng), tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Sau đó phun dung dịch *kali hydroxyd 5 % trong ethanol (TT)* rồi sấy nhẹ trong 5 min. Phun tiếp *dung dịch vanilin - acid sulfuric (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Không dưới 20,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp ngâm lạnh (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 50 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa đông và đầu mùa xuân năm sau khi thân cây và lá đã héo hoặc trước khi cây có hoa, đào lấy rễ, loại bỏ rễ con, rửa sạch và phơi khô hoặc sấy khô ở nhiệt độ thấp.

Bào chế

Tiền hồ phiến: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái lát và phơi khô.

Mật tiền hồ (chế mật): Hòa loãng Mật ong trong lượng ít nước sôi, trộn đều Tiền hồ và Mật ong, ủ qua cho Mật ong thấm đều hết, cho vào chảo sao nhỏ lửa đến khi sờ không dính tay, lấy ra, để nguội. Dùng 2 kg Mật ong cho 10 kg Tiền hồ.

Bảo quản

Nơi khô, mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Khổ, tân, vi hàn. Quy vào các kinh phế, tỳ.

Công năng, chủ trị

Tán phong thanh nhiệt, giáng khí, hóa đàm. Chủ trị: Ho và suyễn do phế thực nhiệt có nhiều đàm màu hơi vàng và dính, ho do ngoại cảm phong nhiệt.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, thường phối hợp với các vị thuốc khác.

TIỀU HỒI (Quả)

Fructus Foeniculi

Quả chín đã phơi hay sấy khô của cây Tiểu hồi (*Foeniculum vulgare* Mill.), họ Hoa tán (Apiaceae).

Mô tả

Quả bế đôi, hình trụ, hơi cong, dài 4 mm đến 8 mm, đường kính 1,5 mm đến 2,5 mm. Mặt ngoài màu xanh hơi vàng hoặc vàng nhạt, hơi thuôn về phía 2 đầu, đỉnh mang chân vòi nhụy nhỏ ra, màu nâu vàng, đôi khi có cuống quả nhỏ ở phần đáy. Mỗi mặt lưng mang 5 gân nổi rõ và chỗ tiếp giáp giữa 2 nửa quả phẳng và rộng. Mặt cắt ngang hình 5 cạnh, bốn cạnh của mặt lưng gần đều nhau. Mùi thơm đặc trưng, vị hơi ngọt và cay.

Bột
Bột màu vàng bần, mùi thơm. Soi dưới kính hiển vi thấy: Mảnh vỏ quả ngoài gồm tế bào hình đa giác. Mảnh vỏ quả giữa gồm tế bào có lỗ nằm xiên. Mảnh vỏ quả trong gồm nhiều tế bào dài không đều. Mảnh nội nhũ gồm các tế bào thành dày chứa hạt aleuron và các tinh thể calci oxalat nhỏ. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai nằm rải rác. Mảnh mô mềm có ống tiết dài màu vàng hơi nâu. Mảnh mô mềm màu vàng nhạt gồm các tế bào hình đa giác thành mỏng.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C) - ethyl acetat* (17 : 2,5).
Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ether ethylic (TT)*, siêu âm 10 min, lọc và bốc hơi dịch lọc đến cạn. Hòa cắn trong 1 ml *cloroform (TT)* được dung dịch thử.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan aldehyd anisic chuẩn trong *ethanol (TT)* để được dung dịch chứa 1 µg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có aldehyd anisic chuẩn thì dùng 2 g bột Tiểu hồi (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên, triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 8 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch dinitrophenylhydrazin (TT)*. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết màu đỏ cam tương ứng với vết của aldehyd anisic trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.
B. Cân 3 g dược liệu, thêm 10 ml *ethanol 80 % (TT)*, ngâm 3 h, lắc, lọc, lấy dịch lọc làm các phản ứng sau:
Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 0,5 ml *nước*, dung dịch đục trắng như sữa.
Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 3 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, dung dịch có màu vàng sẫm.
C. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại, mặt cắt ngang của quả, bột quả có màu trắng sáng.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).
Dùng 10 g dược liệu đã nghiền nhỏ.

Tạp chất
Không quá 4,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Định lượng
Tiến hành theo phương pháp Định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Cho 30 g dược liệu đã tán thành bột thô vào bình cầu có dung tích 500 ml của bộ dụng cụ dùng định lượng tinh dầu trong dược liệu. Thêm 200 ml *nước*, tiến hành cất trong 3 h.
Hàm lượng tinh dầu không ít hơn 1,5 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa thu, khi quả chín cắt cây về phơi khô trong bóng râm, đập lấy quả, loại bỏ tạp chất.

Bào chế
Diêm tiểu hồi (Chế muối): Hòa muối vào một lượng nước thích hợp, trộn đều với dược liệu, để cho ngấm hết nước muối, cho vào nồi sao nhỏ lửa đến màu hơi vàng, lấy ra để nguội. 10 kg Tiểu hồi cần 0,2 kg muối.

Bảo quản
Để nơi khô, mát.

Tính vị, quy kinh
Tân, ôn. Vào các kinh can, thận, tỳ, vị.

Công năng, chủ trị
Tán hàn, chỉ thống, hành khí, hòa vị. Chủ trị: Hàn sán, bụng dưới đau, hành kinh đau, thượng vị đau trướng, kém ăn, nôn mửa, tiêu chảy.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 6 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các dạng thuốc khác.

Kiêng kỵ
Âm hư hỏa vượng, người có thực nhiệt không dùng.

TOÀN YẾT
Scorpio

Toàn yết là toàn thân đã chế biến của con Bọ cạp (*Buthus martensii* Karsch), họ Bọ cạp (Buthidae).

Mô tả
Phần đầu ngực và phần bụng trước dẹt, hình trứng dài. Phần bụng sau có hình giống cái đuôi, teo lại và uốn cong. Cơ thể mẫu nguyên vẹn có chiều dài khoảng 6 cm. Phần đầu ngực có màu nâu hơi xanh lục, phần trước phát triển nhô ra 1 đôi chân kìm nhỏ, ngắn và 1 đôi chân xúc giác dạng càng cua lớn dài, rộng, phần lưng được che phủ bởi mai giống hình chiếc thang, phần bụng có 4 đôi chân đi mỗi chân có 7 đốt kèm 2 vuốt ở phần cuối. Phần bụng trước bao gồm 7 đốt. Đốt thứ 7 thẫm màu với 5 rãnh xương sống gồ lên ở trên đốt lưng. Mặt lưng có màu nâu hơi xanh lục. Phần bụng sau có màu vàng hơi nâu, có 6 đốt, với các nếp nhăn dọc trên các đốt. Đuôi mang một ngòi châm dạng vuốt sắc và không có cựa gai ở dưới ngòi châm. Mùi hơi hắc, có vị mặn.

Chất chiết được bằng ethanol
Không được dưới 20,0 % (Phụ lục 12.10).
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng, dùng *ethanol 50 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Toàn yết được bắt vào cuối mùa xuân đến đầu mùa thu. Loại bỏ đất cát, luộc trong nước hoặc nước muối đến cứng. Lấy ra, đặt vào chỗ thoáng gió và làm khô âm can.

Bào chế
Khi dùng loại bỏ tạp chất, rửa sạch và phơi khô.

Bảo quản
Nơi khô mát tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Tân, ôn, có độc. Quy vào kinh can.

Công năng, chủ trị
Trừ kinh phong, giải độc, tán kết. Chủ trị: Trẻ em kinh phong, co giật, uốn ván, đau nhức cơ khớp, đau đầu hay đau nửa đầu, liệt mặt, trảng nhạc.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 6 g, phối hợp trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ
Phong do huyết hư thì không dùng.

TỎI (Căn hành)
Bulbus Allii sativi

Tỏi là lá dự trữ được phơi khô của cây Tỏi (*Allium sativum* L.), họ Hành (Alliaceae).

Mô tả
Tập hợp các lá dự trữ (hành) quen gọi là củ gần hình cầu, đường kính 3 cm đến 5 cm, chứa khoảng 8 đến 20 hành con. Bao xung quanh củ gồm 2 đến 5 lớp lá vảy trắng mỏng, do các bẹ lá trước tạo thành, gắn vào một đế hình cầu dẹt (thân hành). Các hành con hình trứng, 3 mặt đến 4 mặt, đỉnh nhọn, đế cụt. Mỗi hành con được phủ những lớp lá vảy trắng và một lớp biểu bì màu trắng hồng dễ tách khỏi phần rắn bên trong. Các hành con xếp thành lớp quanh một sợi dài, đường kính 1 mm đến 3 mm mọc từ giữa đế. Phần rắn bên trong của các hành con chứa nhiều nước, mùi thơm, vị hăng và bền.

Vi phẫu
Bóc các lá vảy soi dưới kính hiển vi thấy có các dây mạch xoắn song song. Những lá vảy ngoài cùng có tế bào biểu bì dài, thành dày. Tùy vị trí có thể có các lỗ khí, hoặc mỗi tế bào có chứa một tinh thể hình lăng trụ, đường kính 20 µm đến 50 µm. Tế bào thịt lá thành mỏng, xếp lộn xộn. Biểu bì trong gồm những tế bào thành mỏng. Những lá dự trữ dày có biểu bì thành mỏng, lớp thịt lá gồm những tế bào mô mềm hình dáng khác nhau và các mạch dẫn hình xoắn xếp thành hàng.

Tro toàn phần
Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Chế biến
Vào cuối mùa đông đầu mùa xuân lúc cây đã héo tàn lụi, đào lấy các giò hành, rũ sạch đất cát, bỏ rễ, bó thành bó treo lên phơi khô.

Bào chế
Loại bỏ vỏ già, rửa sạch, dùng tươi giã nát hay ngâm trong rượu.

Bảo quản
Nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh
Tân, ôn. Quy vào các kinh phế, tỳ, vị.

Công năng, chủ trị
Hành khí, ôn trung, tiêu tích trệ, sát trùng, giải độc. Chủ trị: Cảm cúm, ho gà, viêm phế quản, ăn uống tích trệ, thượng vị đau tức do đầy hơi, tiêu chảy mụn nhọt, áp xe viêm tấy, hói trán, trị giun kim.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, phối hợp trong các bài thuốc hoặc giã nát dùng đắp ngoài, hoặc giã nát rồi ngâm rượu, hay thái lát để châm cứu.

Kiêng kỵ
Dùng lâu gây tổn thương can và mắt, phế vị có nhiệt, can, thận có hỏa, khí hư, huyết nhiệt, cước khí (thấp tim), phong bệnh thì cấm dùng.

TÔ MỘC
Lignum Sappan
Gỗ vang

Gỗ lõi để nguyên hay chẻ nhỏ được phơi hay sấy khô của cây Vang (*Caesalpinia sappan* L.), họ Đậu (Fabaceae).

Mô tả
Dược liệu có hình trụ hay nửa trụ tròn, đường kính từ 3 cm đến 12 cm, hay những thanh nhỏ, dài 10 cm hay hơn. Mặt ngoài các miếng lớn có màu đỏ vang đến đỏ nâu, có vết đạo đẽo và vết cành, thường có khe nứt dọc. Mặt cắt ngang hơi bóng, vòng tuổi thấy rõ rệt (màu da cam), có thể thấy màu nâu tối, có các lỗ nhỏ (mạch gỗ). Dễ tách thành từng mảnh theo thớ gỗ, tùy có lỗ rõ. Các thanh được chẻ nhỏ có màu hồng đỏ, có thể có những chỗ có màu nhạt hay đậm hơn. Chất cứng, nặng, không mùi, vị hơi se.

Vi phẫu
Mặt cắt ngang có các tia gồm 1 hàng đến 2 hàng tế bào rộng. Mạch gỗ tròn, đường kính tới 160 µm, thường chứa chất màu vàng nâu hay nâu đỏ. Sợi gỗ thường có hình nhiều cạnh, thành rất dày. Tế bào mô mềm trong gỗ có thành dày hóa gỗ, một số chứa tinh thể calci oxalat hình lăng trụ. Mô mềm tủy gồm các tế bào hình nhiều cạnh không đều, thành hơi hóa gỗ, có lỗ.

Bột
Màu cam, nhiều mảnh mạch điểm, kích thước thay đổi. Mảnh mô mềm tủy tế bào có thành mỏng, đôi khi thành hơi hóa gỗ, có lỗ thủng. Sợi dài khoảng 400 µm, rộng khoảng 12 µm, thành dày, khoang hẹp, đứng riêng lẻ hay chụm lại thành từng bó. Tia ruột hợp thành góc với bó sợi, tạo thành các ô vuông mảnh mô mềm thành dày hóa gỗ, ít thấy tinh thể calci oxalat.

Định tính
A. Lấy một miếng dược liệu, nhỏ *dung dịch calci hydroxyd bão hòa (TT)* lên bề mặt, xuất hiện màu đỏ thẫm.
B. Lấy 10 g bột dược liệu, thêm 50 ml *nước*, đun cách thủy 30 min, thỉnh thoảng lắc đều, lọc. Dịch lọc có màu đỏ đa cam, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại (366 nm) có ánh lục vàng. Lấy 5 ml dịch lọc, thêm 2 giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)* xuất hiện màu đỏ thẫm, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm, dung dịch có màu xanh lơ. Khi acid hóa dung dịch này bằng *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)* sẽ có màu đa cam, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm sẽ có ánh lục vàng.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Cloroform - aceton - acid formic* (8 : 4 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 15 ml *ethanol 95 % (TT)*, siêu âm trong 30 min. Lọc, lấy dịch lọc cô trên cách thủy tới cắn. Hòa lại cắn trong 2 ml *ethanol 95 % (TT)*, được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Tô mộc (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi khai triển, để khô bản mỏng, phun *dung dịch kali hydroxyd 3 % trong methanol (TT)* rồi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và cùng màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 11,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu
Không được dưới 8,5 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 95 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa thu, chặt những cây gỗ già, đẽo bỏ phần gỗ giác trắng, lấy phần gỗ đỏ bên trong, cưa thành khúc và chẻ ra thành mảnh nhỏ, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế
Cưa thành đoạn dài 3 cm, chẻ thành mảnh nhỏ hay tán thành bột thô.

Bảo quản
Để nơi khô.

Tính vị, quy kinh
Cam, hàm, bình. Quy vào các kinh tâm, can, tỳ.

Công năng, chủ trị
Hành huyết khứ ứ, tiêu viêm chỉ thống. Chủ trị: Thống kinh, bế kinh, sản hậu huyết ứ, đau nhói ngực bụng, sưng đau do sang chấn, nhiệt lỵ.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, phối hợp trong các bài thuốc, dạng thuốc sắc, cao thuốc.

Kiêng kỵ
Phụ nữ có thai, huyết hư không ứ trệ thì không nên dùng.

TRẠCH TẢ (Thân rễ)
Rhizoma Alismatis

Thân rễ khô đã cạo sạch vỏ ngoài của cây Trạch tả [*Alisma orientalis* (Sam.) Juzep.] họ Trạch tả (Alismataceae).

Mô tả
Thân rễ hình cầu, hình trứng hay hình con quay, dài 2 cm đến 7 cm, đường kính 2 cm đến 6 cm. Mặt ngoài màu trắng hơi vàng hay nâu hơi vàng, có các rãnh nông, dạng vòng không đều ở ngang củ, có nhiều vết sẹo rễ nhỏ dạng bướu, ở đầu thân rễ có vết của thân cây còn sót lại. Chất chắc, mặt bẻ gãy màu trắng vàng, có tinh bột, nhiều lỗ nhỏ. Mùi thơm nhẹ, vị hơi đắng.
Trạch tả thái lát: Các lát dày hình tròn hoặc hình bầu dục. Bên ngoài màu trắng ngà hoặc nâu vàng nhạt, có các vết sẹo nhỏ của rễ con nhỏ lên. Mặt phiến màu trắng ngà, có tinh bột, nhiều lỗ nhỏ. Mùi thơm nhẹ, vị hơi đắng.

Bột
Màu nâu hơi vàng. Có nhiều hạt tinh bột, hạt tinh bột đơn hình trứng dài, hình cầu hoặc hình bầu dục, đường kính 3 µm đến 14 µm, rốn hạt hình chữ Y, hình khe ngắn hoặc hình chữ V. Hạt tinh bột kép gồm 2 đến 3 hạt đơn. Tế bào mô mềm hình gần tròn có nhiều lỗ hình bầu dục hợp thành các khoang lỗ trống. Tế bào nội bì có thành lồi lên, uốn lượn, tương đối dày, hóa gỗ, có ống lỗ nhỏ, rải rác. Khoang chứa dầu phần lớn bị vỡ, những khoang còn nguyên vẹn có hình gần tròn, đường kính 54 µm đến 110 µm, đôi khi thấy trong tế bào tiết có giọt dầu.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Cyclohexan - ethyl acetat* (1 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethyl acetat (TT)*, siêu âm 30 min, lọc. Chuyển toàn bộ dịch lọc vào cột (đường kính trong 1 cm, được nhồi 5 g bột nhôm oxyd trung tính dùng cho sắc ký cột bằng phương

pháp nhồi khô, kích thước hạt nhồi khoảng 200 mesh đến 300 mesh). Rửa giải bằng 10 ml *ethyl acetat (TT)*. Thu dịch rửa giải và bay hơi tới khô. Hòa tan cắn thu được trong 1 ml *ethyl acetat (TT)* được dịch chấm sắc ký.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan 23-acetat alisol B chuẩn trong *ethyl acetat (TT)* để được dung dịch có nồng độ 2 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có chất chuẩn trên, dùng 2 g bột Trạch tả (mẫu chuẩn) chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch natri tungstat 5 % trong acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*, sấy bản mỏng ở nhiệt độ 105 °C đến khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng ban ngày. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu sắc và giá trị R_f với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm
Không được quá 14,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu
Không được dưới 10,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol* 96 % *(TT)* làm dung môi.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - nước (73 : 27).
Dung dịch chuẩn: Hòa tan 23-acetat alisol B chuẩn trong *acetonitril (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 20 µg/ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,5 g bột dược liệu (qua rây số 180) vào một bình nón nút mài, thêm chính xác 25 ml *acetonitril (TT)*, đậy nút và cân. Siêu âm (công suất 250 W, tần số 50 kHz) trong 30 min, để nguội và cân lại. Bổ sung *acetonitril (TT)* để được khối lượng ban đầu, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 208 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký dung dịch chuẩn và tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột tính theo pic 23-acetat alisol B phải không dưới 3000.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng 23-acetat alisol B trong dược liệu dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{32}H_{50}O_5$ của 23-acetat alisol B chuẩn.
Dược liệu phải chứa không dưới 0,050 % 23-acetat alisol B ($C_{32}H_{50}O_5$), tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa đông, khi thân và lá bắt đầu khô héo, lấy thân rễ, rửa sạch, bỏ rễ con và vỏ ngoài, phơi, sấy khô.

Bào chế
Trạch tả thái lát: Lấy dược liệu khô, loại bỏ tạp chất, phân loại to nhỏ, tẩm nước, ủ mềm, thái lát dày, phơi hoặc sấy khô.
Diêm trạch tả (Chế muối): Phun nước muối vào Trạch tả đã thái lát cho ẩm, ủ kỹ, sao nhỏ lửa đến khi mặt ngoài có màu vàng, lấy ra phơi khô. Cứ 100 kg Trạch tả dùng 2 kg muối.

Bảo quản
Để nơi khô, tránh mốc, mọt.

Tính vị, quy kinh
Cam, hàm, hàn. Vào các kinh thận, bàng quang.

Công năng, chủ trị
Lợi tiểu tiện, thanh thấp nhiệt. Chủ trị: Nhiệt lâm tiểu tiện ít, bí, buốt, rắt; phù thũng, đầy trướng, tiêu chảy, đàm ẩm.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 9 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán.

Kiêng kỵ
Thận hỏa hư, tiểu tiện không cấm, tỳ hư không nên dùng.

TRÀM (Cành và lá)
Ramulus cum folio Melaleucae
Chè đồng

Cành mang lá đã phơi hay sấy khô của cây Tràm gió (*Melaleuca cajeputi* Powell), họ Sim (Myrtaceae).

Mô tả
Cành màu trắng nhạt, có lông mềm, thường có mang hoa quả ở đoạn giữa cành lá. Lá mọc cách, cuống dài 6 mm đến 8 mm, phiến lá hình mác nhọn, màu xanh lục nhạt hoặc xanh xám, hơi cứng, giòn, dài 6 cm đến 12 cm, rộng 2 cm đến 3 cm, thường có 3 đến 5 gân hình cung chạy dọc theo lá, vò ra có mùi rất thơm, vị hơi cay.

Vi phẫu
Lá: Thiết diện lá thường chỉ hơi lồi ở những chỗ có gân lá. Biểu bì có lớp cutin dày mang nhiều lỗ khí ở cả hai mặt lá và có thể gặp lông che chở ở các lá non. Ở mặt cắt ngang phần gân ở khoảng giữa lá, dưới biểu bì là 3 đến 5 lớp tế bào mô dầy tròn cả ở mặt trên và mặt dưới. Bó libe-gỗ chồng kép với vòng libe gần như bao tròn quanh gỗ. Libe

là các đám tế bào đa giác nhỏ, bị ép dẹt bởi các mạch gỗ. Phía trên và phía dưới bó libe-gỗ là hai cung sợi mô cứng, có thiết diện gần tròn, khoang rất hẹp. Điểm giữa phía trên của vùng gỗ và đám sợi phía trên libe thường phát triển nối liền nhau nên chia cắt libe thành hai phần tách rời. Sát bên các đám sợi thường có một vòng tế bào mô mềm chứa tinh thể calci oxalat hình khối và hình cầu gai.
Mô mềm giậu ở phiến lá có từ 1 đến 2 lớp tế bào ở cả hai mặt lá. Rải rác trong phần phiến lá còn có: Các tế bào mô cứng hình đa giác, thành khá dầy nằm trong vùng mô mềm ở giữa; tinh thể calci oxalat hình khối và hình cầu gai; túi tiết to gần bằng bó libe-gỗ chính, nằm trong vùng mô giậu sát biểu bì trên và dưới, chứa đầy tinh dầu màu vàng nhạt. Các bó libe-gỗ lớn cách khoảng đều đặn trong phần phiến lá và có cấu tạo như nhau.

Bột
Bột màu xanh nhạt, khô tơi, có ít xơ, mùi thơm, vị đắng.
Nhiều sợi thành dày, khoang rộng hay hẹp, thường có kèm tinh thể calci oxalat hình khối ở các tế bào mô mềm xung quanh sợi. Mảnh mô mềm, tế bào thành mỏng, trong có thể chứa tinh thể calci oxalat hình khối và hình cầu gai. Các tế bào mô cứng rất ít, thường đứng riêng rẽ, hình đa giác, thành hơi dầy, có ống trao đổi. Tinh thể calci oxalat hình cầu gai và hình khối rời. Mảnh biểu bì mang lỗ khí kiểu hỗn bào. Lông che chở đơn bào ít. Mảnh mạch vạch, mạch xoắn, mạch điểm.

Định tính
A. Lấy 5 g bột dược liệu cho vào một bình nón có dung tích 200 ml. Thêm 80 ml *nước* và đun sôi trong 10 min, lọc, để nguội dịch lọc rồi lắc với 25 ml *ethyl acetat (TT)*. Gạn lấy lớp ethyl acetat, bốc hơi trên cách thủy cho đến cắn. Hòa tan cắn bằng 10 ml *ethanol 96 % (TT)* để thực hiện các phản ứng sau:
Lấy 2 ml dịch chiết, thêm 0,5 ml *acid hydrocloric (TT)* và một ít bột *magnesi (TT)*, sau vài giây sẽ xuất hiện màu đỏ hồng.
Lấy 2 ml dịch chiết, thêm vài giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)* sẽ xuất hiện màu vàng cam.
Lấy 2 ml dịch chiết, thêm vài giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)* sẽ xuất hiện màu xanh đen.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G60* F_{254}.
Dung môi khai triển: *Toluen - ethyl acetat* (9 : 1).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,2 g tinh dầu chiết được trong phần Định lượng trong 1 ml *ether (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan cineol chuẩn trong *ether (TT)* để được dung dịch có nồng độ 1 %.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng khoảng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, phun lên bản mỏng *dung dịch vanilin 2 % trong acid sulfuric (TT)*. Sấy bản mỏng ở 100 °C trong 5 min đến 10 min.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có ít nhất 5 vết, trong đó có một vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với vết cineol của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần
Không quá 6,5 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng
Tiến hành phương pháp Định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7).
Cho 50 g dược liệu đã được cắt nhỏ vào bình cầu dung tích 500 ml của bộ dụng cụ định lượng tinh dầu trong dược liệu. Thêm 300 ml *nước*, tiến hành cất trong 3 h với tốc độ 2,5 ml/min đến 3,5 ml/min.
Dược liệu phải chứa ít nhất 1,0 % tinh dầu tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hái cành non có mang lá, rửa sạch, phơi trong râm hoặc sấy nhẹ cho đến khô.

Bảo quản
Để nơi khô, mát.

Tính vị, quy kinh
Tân, ôn. Vào hai kinh phế và tỳ.

Công năng, chủ trị
Phát tán phong hàn, giảm đau, sát trùng. Chủ trị: Cảm mạo phong hàn. Dùng ngoài trị viêm da dị ứng, chàm (thấp chẩn).

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 10 g. Dạng thuốc sắc. Dùng ngoài lượng thích hợp.

Kiêng kỵ
Cơ thể suy nhược, tân dịch khô, táo bón, ho khan không nên dùng.

TRẮC BÁCH DIỆP
Cacumen Platycladi
Trắc bá

Cành non và lá đã phơi hay sấy khô của cây Trắc bá [*Platycladus orientalis* (L.) Franco], họ Hoàng đàn (Cupressaceae).

Mô tả
Dược liệu thường phân thành nhiều nhánh, các cành nhỏ dẹt, phẳng. Các lá hình vảy nhỏ, xếp đối chéo chữ thập, dính sát vào cành, màu xanh lục thẫm hoặc xanh lục hơi vàng. Chất giòn, dễ gãy. Có mùi thơm nhẹ, vị đắng, chát và hơi cay.

Bột
Màu xanh lục hơi vàng, soi dưới kính hiển vi thấy: Các tế bào biểu bì trên của lá hình chữ nhật, thành hơi dày lên. Tế bào biểu bì dưới hình gần vuông, có nhiều lỗ khí, lõm xuống, các tế bào phụ trợ tương đối lớn, nhìn nghiêng có hình quả tạ. Các tế bào mô mềm chứa các giọt dầu nhỏ. Sợi mảnh dẻ, đường kính khoảng 18 µm. Đôi khi có các quản bào có lỗ viền (tế bào hình ống viền lõm vào).

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel H* có dùng dung dịch natri carboxymethylcelulose 0,2 % đến 0,5 % để tráng bản mỏng.
Dung môi khai triển: *Cyclohexan - ethyl acetat - acid formic* (9 : 1 : 0,5).
Dung dịch thử: Lấy 3 g bột dược liệu, thêm 50 ml *ethanol 70 % (TT)* và 3 ml *acid hydrocloric (TT)*, đun sôi hồi lưu 3 h, lọc, dịch lọc để chấm sắc ký.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan quercetin chuẩn trong *ethanol 95 % (TT)* để được dung dịch có nồng độ 0,5 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl dung dịch thử và 1 µl dung dịch đối chiếu, triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch nhôm clorid 1 % trong ethanol (TT)* và soi dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết phát quang cùng màu, cùng giá trị R_f với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 11,0 % (Phụ lục 12.13). Dùng 10 g dược liệu cắt nhỏ để thử.

Tạp chất
Không quá 6,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 3,0 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu
Không được ít hơn 15,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 95 % (TT)* làm dung môi.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Methanol - dung dịch kali dihydrophosphat 0,01 M - acid acetic băng* (40 : 60 : 1,5).
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng quercitrosid chuẩn hòa tan trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 50 µg/ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,5 g bột dược liệu vào bình nón nút mài, thêm chính xác 20,0 ml *methanol (TT)*, đậy nút và cân. Siêu âm 30 min, để nguội, đậy nút, cân lại và bổ sung *methanol (TT)* để có khối lượng ban đầu, lắc kỹ và lọc. Lấy dịch lọc làm dung dịch thử.
Điều kiện sắc ký
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (Cột C18 là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml đến 2 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành
Tiến hành sắc ký dung dịch chuẩn. Tính số đĩa lý thuyết của cột tính được theo pic của quercitrosid. Số đĩa lý thuyết của cột phải không được dưới 1500.
Tiến hành sắc ký dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{21}H_{20}O_{11}$ của quercitrosid chuẩn để tính hàm lượng quercitrosid trong dược liệu.
Dược liệu phải chứa không được ít hơn 0,1 % quercitrosid ($C_{21}H_{20}O_{11}$), tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hái vào mùa hạ và thu. Lấy dược liệu về, chặt lấy cành nhỏ và lá, phơi trong râm đến khô.

Bào chế
Trắc bách diệp: Loại bỏ tạp chất và cành cứng, đem dùng.
Trắc bách thán: Lấy Trắc bách diệp đã nhặt sạch, cho vào nồi, đun to lửa, sao cho có màu sém nâu bên ngoài và màu sém vàng bên trong (sao tồn tính).

Bảo quản
Để nơi khô mát, đậy kín.

Tính vị, quy kinh
Khổ, sáp, hàn. Vào các kinh phế, can tỳ.

Công năng, chủ trị
Lương huyết, chỉ huyết. Chủ trị: Nôn ra máu, chảy máu cam, ho ra máu, đại, tiểu tiện ra máu, băng huyết, rong huyết.

Cách dùng, liều lượng
Ngày uống từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc.

TRẦN BÌ
Pericarpium Citri reticulatae perenne

Vỏ quả chín đã phơi hoặc sấy khô và để lâu năm của cây Quýt (*Citrus reticulata* Blanco), họ Cam (Rutaceae).

Mô tả
Vỏ cuộn lại hoặc quăn, dày 0,1 cm đến 0,15 cm, có mảnh còn vết tích của cuống quả. Mặt ngoài màu vàng nâu hay nâu nhạt, có nhiều chấm màu sẫm hơn và lõm xuống (túi tiết). Mặt trong xốp, màu trắng ngà hoặc hồng nhạt, thường lộn ra ngoài. Vỏ nhẹ, giòn, dễ bẻ gãy. Mùi thơm, vị hơi đắng, hơi cay.

Vi phẫu
Vỏ quả ngoài gồm 1 hàng tế bào nhỏ hình vuông, phía ngoài có lớp cutin và lỗ khí. Mô mềm vỏ quả giữa là những

tế bào hình chữ nhật, thành mỏng. Rải rác có các tinh thể calci oxalat hình khối, hình quả trám, túi tiết tinh dầu to tròn hay hình trái xoan. Đôi khi nhìn thấy đám libe-gỗ theo chiều dọc. Lớp trong của vỏ quả giữa cấu tạo bởi những tế bào hơi uốn lượn.

Bột

Tế bào vỏ quả ngoài hình nhiều cạnh, màu vàng nhạt, thành hơi dày. Mảnh mô mềm vỏ quả giữa gồm những tế bào thành mỏng, hình chữ nhật. Mảnh mạch vòng, mạch xoắn. Tinh thể calci oxalat hình khối hay hình quả trám.

Định tính

A. Cho 2 g bột dược liệu vào 1 bình nón 100 ml, thêm 10 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun sôi hồi lưu trong cách thủy 10 min. Lọc lấy dịch lọc, chia làm 3 phần và làm các phản ứng sau:

Lấy 2 ml dịch lọc, thêm một ít bột *magnesi (TT)*, 10 giọt *acid hydroclorid (TT)*, sau vài phút sẽ thấy xuất hiện màu đỏ.

Lấy 2 ml dịch lọc, thêm vài giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, sẽ thấy xuất hiện màu xanh đen.

Lấy 2 ml dịch lọc, thêm vài giọt *dung dịch natri hydroxyd 5 % (TT)*, sẽ thấy xuất hiện màu vàng cam kèm theo một ít tủa.

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

Bản mỏng: Silica gel 60F_{254}.

Dung môi khai triển (1): Ethyl acetat - methanol - nước (100 : 17 : 13).

Dung môi khai triển (2): Toluen - ethyl acetat - acid formic - nước (20 : 10 : 1 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 0,3 g bột dược liệu, thêm 20 ml *methanol (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy khoảng 20 min, để nguội, lọc. Bốc hơi 5 ml dịch lọc đến còn khoảng 1 ml làm dung dịch chấm sắc ký.

Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan hesperidin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml.

Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có hesperidin chuẩn, lấy 0,3 g bột Trần bì (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký với dung môi khai triển (1) đến khi dung môi đi được 3 cm, lấy bản mỏng ra để khô trong không khí. Tiếp tục triển khai với hệ dung môi khai triển (2) đến khi dung môi đi được 8 cm, lấy bản mỏng ra để khô trong không khí. Phun *dung dịch nhôm clorid 1 % (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có huỳnh quang cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết của hesperidin trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu hoặc phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric

Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)

Pha động: Methanol - acid acetic - nước (35 : 4 : 61).

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 1 g bột thô dược liệu cho vào túi giấy lọc, tiến hành chiết Soxhlet với 80 ml *ether dầu hoa (60 °C đến 90 °C) (TT)* trong 3 h, loại bỏ dịch chiết ether dầu hoa và lấy túi giấy lọc ra, làm bay hơi hết dung môi trong bã dược liệu và túi giấy lọc. Chuyển trở lại vào bình chiết Soxhlet, tiếp tục tiến hành chiết với 80 ml *methanol (TT)* đến khi dịch chiết không màu, để nguội. Chuyển dịch chiết methanol vào bình định mức 100 ml, tráng rửa bình hứng bằng *methanol (TT)*, gộp dịch rửa vào bình định mức, bổ sung *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch, trộn đều. Lọc qua màng lọc 0,45 µm.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan hesperidin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,4 mg/ml.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (250 × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 283 nm.

Thể tích tiêm: 5 µl.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột không được nhỏ hơn 2000 tính theo pic của hesperidin. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic hesperidin trong 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %.

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, dung dịch thử. Tính hàm lượng hesperidin trong dược liệu dựa vào diện tích pic hesperidin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_{28}H_{34}O_{15}$ trong hesperidin chuẩn.

Dược liệu phải chứa không ít hơn 3,5 % hesperidin ($C_{28}H_{34}O_{15}$), tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Từ mùa đông năm trước đến mùa xuân năm sau, hái quả chín, bóc lấy vỏ phơi hay sấy nhẹ đến khô.

Trước khi dùng, loại bỏ tạp chất, tẩm nước, ủ mềm, thái sợi, phơi âm can đến khô.

Bảo quản

Để nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Khổ, tân, ôn. Vào hai kinh phế, tỳ.

Công năng, chủ trị

Lý khí kiện tỳ, hóa đờm táo thấp. Chủ trị: Bụng đau, đầy trướng, kém ăn, nôn mửa, ỉa lỏng, ho đờm nhiều.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, dạng thuốc sắc.

TRI MẪU (Thân rễ)
Rhizoma Anemarrhenae

Thân rễ phơi hoặc sấy khô của cây Tri mẫu (*Anemarrhena asphodeloides* Bunge), họ Hành (Liliaceae).

Mô tả
Hình khúc dẹt hoặc hình trụ, hơi cong queo, có khi phân nhánh, dài 3 cm đến 15 cm, đường kính 0,8 cm đến 1,5 cm. Một đầu còn sót lại gốc thân và vết cuống lá màu vàng nhạt. Mặt ngoài có màu vàng nâu đến nâu. Mặt trên của thân rễ có một rãnh lớn và có nhiều đốt vòng xếp sít nhau, trên đốt có nhiều gốc lá còn sót lại màu nâu vàng mọc ra 2 bên, mặt dưới có nếp nhăn và nhiều vết rễ nhỏ hình chấm tròn lồi lõm. Chất cứng, dễ bẻ gãy. Mặt gãy màu vàng nhạt. Mùi nhẹ. Vị hơi ngọt, đắng, nhai có chất nhớt.
Dược liệu đã thái lát: Các lát dày gần tròn, không đều. Mặt ngoài màu nâu hoặc nâu vàng, mang một số gốc lá dạng sợi màu nâu vàng và các vết sẹo của rễ con lõm vào hoặc lồi ra. Mặt cắt màu vàng nhạt tới vàng. Mùi nhẹ, vị hơi ngọt, đắng, có chất nhày khi nhai.

Định tính
A. Trộn 2 g bột dược liệu với 10 ml *ethanol (TT)*, lắc, để lắng 20 min. Lấy 1 ml dịch trong ở bên trên; cô bốc hơi đến cắn. Nhỏ 1 giọt *acid sulfuric (TT)* vào cắn, lúc đầu hiện ra màu vàng, sau biến thành màu đỏ, màu tím, rồi màu nâu.
B. Lấy 0,5 g bột dược liệu vào ống nghiệm, thêm 10 ml *nước*, lắc kỹ, một lớp bọt bền được tạo thành. Lọc, lấy 2 ml dịch lọc, thêm 1 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)* xuất hiện tủa màu xanh đen.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi khai triển: *Cloroform - ethyl acetat* (11 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 5 g bột dược liệu, thêm 50 ml *ethanol 95 % (TT)*, đun hồi lưu 60 min, để nguội, lọc, lấy dịch lọc, thêm 2 ml *dung dịch acid sulfuric 5 % (TT)*, đun hồi lưu trong cách thủy 3 h, sau đó cô dịch chiết thu được đến cắn. Hòa tan cắn trong 2 ml *cloroform (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan sarsasapogenin chuẩn trong *cloroform (TT)* để được dung dịch chứa 5 mg/ml làm dung dịch đối chiếu. Nếu không có sarsasapogenin, lấy 5 g bột Tri mẫu (mẫu chuẩn) rồi chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 7 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí. Phun hỗn hợp của *dung dịch vanilin 8 % trong ethanol khan (TT)* và dung dịch acid sulfuric (0,5 : 5) [pha dung dịch acid sulfuric: Lấy 2 ml *nước*, thêm cẩn thận 7 ml *acid sulfuric (TT)*, làm lạnh, thêm *nước* vừa đủ 10 ml]. Sấy bản mỏng ở 100 °C trong 5 min. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất
Rễ con, các bộ phận còn lại từ lá chết và các tạp chất khác: Không quá 3,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không quá 8,5 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 4,0 % (Phụ lục 9.7).

Chế biến
Thu hoạch vào mùa xuân, thu. Đào lấy thân rễ, rửa sạch, cắt bỏ rễ con, phơi khô.

Bào chế
Tri mẫu: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm, thái lát dày, phơi khô, bỏ lông và chất vụn.
Tri mẫu chế muối: Lấy Tri mẫu, rang nhỏ lửa đến khô, lấy ra tẩm nước muối, lại sao khô, lấy ra để nguội. Cứ 100 kg Tri mẫu phiến dùng 2,8 kg muối.

Bảo quản
Để nơi khô, tránh ẩm, sâu mọt.

Tính vị, quy kinh
Khổ, cam, hàn. Vào các kinh phế, vị, thận.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt, tả hỏa, trừ phiền chỉ khát, nhuận táo. Chủ trị: Nhiệt bệnh có sốt cao khát nước, phế thận âm hư có cốt chưng, trào nhiệt; nội nhiệt tiêu khát, ruột ráo táo bón.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Người hư hàn không nên dùng.

TRINH NỮ HOÀNG CUNG (Lá)
Folium Crini latifolii

Lá đã phơi hay sấy khô của cây Trinh nữ hoàng cung (*Crinum latifolium* L.), họ Thủy tiên (Amaryllidaceae).

Mô tả
Lá hình dải, dài 30 cm đến 50 cm, rộng 3 cm đến 8 cm, mỏng, nhẹ, ở giữa dày, càng ra mép lá càng mỏng, mép gợn sóng, đầu nhọn hay tù, gốc phẳng. Phiến lá có màu nâu vàng hoặc nâu nhạt, có rất nhiều gân nhỏ song song với gân chính. Thể chất dai, mặt bẻ có nhiều sợi tơ nhỏ màu trắng. Mùi hơi chua, hắc đặc biệt, vị hơi đắng.

Vi phẫu
Biểu bì trên và dưới gồm các tế bào nhỏ hình vuông thành dày hóa cutin, xếp đều đặn thành hàng, rải rác có lỗ khí. Mô giậu không rõ. Ở phần phiến lá, mỗi gân phụ được cấu tạo từ một bó libe-gỗ gồm 2 đến 3 mạch gỗ cùng với

libe xếp thành hàng vuông góc với bề mặt biểu bì. Xen kẽ giữa các bó libe-gỗ là mô khuyết, phía trên các mô khuyết thường có các đám sợi. Mô mềm gồm những tế bào thành mỏng, kích thước không đều. Phần gân chính có cấu tạo tương tự như gân phụ nhưng bó libe-gỗ to hơn và ở phần lồi, sát lớp biểu bì dưới có một đám mô dày.

Bột

Bột màu nâu nhạt, mùi đặc trưng, vị hơi đắng. Mảnh biểu bì mang lỗ khí. Mảnh biểu bì mang cutin lồi. Nhiều mảnh mạch vòng đơn hoặc đan chéo vào nhau, mạch vạch, các mảnh mạch xếp thưa đặc biệt. Tinh thể calci oxalat hình kim, thường bị gãy, đứng riêng lẻ hay tụ lại thành từng đám.

Định tính

A. Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun sôi trên cách thủy 5 min, lọc, lấy 2 ống nghiệm, mỗi ống cho 1 ml dịch lọc để làm các phản ứng sau:

Ống 1: Thêm vài giọt *dung dịch natri hydroxyd 5 % (TT)*, dung dịch chuyển từ màu vàng nhạt sang màu cam đậm.

Ống 2: Thêm 0,5 ml *acid hydrocloric (TT)*, thêm một ít bột *magnesi (TT)*, dung dịch có màu đỏ.

B. Lấy 2 g bột dược liệu, làm ẩm bằng *amoniac (TT)*, thêm 30 ml *cloroform (TT)*, lắc siêu âm 15 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (TT)*, lọc, lấy 3 ống nghiệm, mỗi ống cho 2 ml dịch lọc để làm các phản ứng sau:

Ống 1: Thêm 1 giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, cho tủa trắng.

Ống 2: Thêm 1 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)*, cho tủa nâu.

Ống 3: Thêm 1 giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)*, cho tủa đỏ cam.

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

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Cloroform - methanol - amoniac* (7 : 1 : 0,05).

Dung dịch thử: Lấy 4 g bột thô dược liệu, thêm 50 ml *ethanol 50 % (TT)*, đun hồi lưu trong 1 h, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 10 ml *nước*. Kiềm hóa dung dịch bằng *amoniac (TT)* đến pH 10 - 11, lắc với 30 ml *cloroform (TT)*. Gạn lấy dịch chiết cloroform, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 1 ml hỗn hợp *cloroform - methanol* (9 : 1).

Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan crinamidin chuẩn trong hỗn hợp *cloroform - methanol* (9 : 1) để được dung dịch có nồng độ khoảng 0,5 mg/ml.

Dung dịch dược liệu đối chiếu: Lấy 4 g bột thô lá Trinh nữ hoàng cung (mẫu chuẩn) tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, phun thuốc thử *Dragendorff (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu, trong đó có một vết có giá trị R_f và màu sắc tương ứng với vết crinamidin trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu.

D. Trong phần Định lượng, sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho pic có cùng thời gian lưu với pic của crinamidin trên sắc ký đồ dung dịch chuẩn.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6; 1 g; 100 °C; 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 0,5 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng

A. Định lượng alcaloid toàn phần

Cân chính xác khoảng 10 g bột thô dược liệu (đã trừ độ ẩm) vào bình nón nút mài 250 ml, thêm 100 ml *ethanol 96 % (TT)* [đã acid hóa bằng *dung dịch acid acetic 5 % (TT)*], đun sôi hồi lưu 30 min, gạn lọc qua bông. Tiếp tục chiết như trên cho đến khi dịch chiết không còn phản ứng với thuốc thử alcaloid nữa [không còn tủa với *thuốc thử Mayer (TT)*]. Gộp các dịch chiết ethanol, bốc hơi trên cách thủy đến cạn. Hòa tan cắn bằng 40 ml *dung dịch acid sulfuric 5 % (TT)* chia làm 3 lần, mỗi lần lắc siêu âm 5 min, lọc qua giấy lọc vào một bình lắng gạn. Rửa tiếp giấy lọc bằng 10 ml *dung dịch acid sulfuric 5 % (TT)* nữa. Gộp dịch rửa vào bình gạn trên. Kiềm hóa dung dịch bằng *amoniac (TT)* đến pH 10 rồi lắc với *cloroform (TT)* 5 lần, mỗi lần 30 ml. Gộp các dịch chiết cloroform vào bình gạn khác, lắc nhẹ với 50 ml *nước*. Gạn bỏ lớp nước. Gạn lấy lớp cloroform, làm khan bằng *natri sulfat khan (TT)*, gạn cloroform vào bình nón 250 ml. Rửa natri sulfat khan bằng *cloroform (TT)* 3 lần, mỗi lần 5 ml. Gộp dịch rửa vào bình nón 250 ml trên, bốc hơi cloroform đến cắn khô. Hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol 96 % (TT)*, thêm chính xác 10,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,02 N (CĐ)*, lắc siêu âm 10 min, thêm 2 giọt *dung dịch methyl đỏ (CT)*, chuẩn độ acid hydrocloric thừa bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)* đến khi dung dịch chuyển từ màu đỏ sang màu vàng.

Song song chuẩn độ mẫu trắng trong cùng điều kiện.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)* tương đương với 0,005746 g lycorin ($C_{16}H_{17}NO_4$, P.t.l: 287,32). Hàm lượng (X %) alcaloid toàn phần được tính theo công thức

$$X(\%) = \frac{(V - v) \times 0{,}005746}{m} \times 100$$

Trong đó:

V là thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)* đã dùng cho mẫu trắng, tính bằng ml;

v là thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)* đã dùng cho mẫu thử, tính bằng ml;

m là khối lượng bột dược liệu đem định lượng đã trừ độ ẩm, tính bằng g.

Dược liệu phải chứa ít nhất 0,2 % alcaloid toàn phần tính theo lycorin ($C_{16}H_{17}NO_4$) tính trên dược liệu khô kiệt.

B. Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)
*Pha động: Acetonitril - đệm phosphat pH 3,0** theo chương trình dung môi.
**Đệm phosphat pH 3,0:* Hòa tan 13,6 g *kali dihydrophosphat (TT)* vào 800 ml *nước*, thêm 3 ml *triethylamin (TT)*, lắc đều, điều chỉnh đến pH 3,0 bằng *acid phosphoric (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 2,5 g bột dược liệu (rây qua số 355) vào bình nón nút mài 100 ml, làm ẩm bằng *amoniac (TT)*, đậy kín, để yên trong 1 h. Thêm 50 ml hỗn hợp dung môi *cloroform - methanol* (3 : 1), lắc siêu âm 30 min, để lắng, lọc qua giấy lọc. Bã dược chiết như trên 4 lần nữa, mỗi lần với 40 ml hỗn hợp dung môi trên. Gộp các dịch chiết hỗn hợp dung môi, cô trên cách thủy đến cạn. Dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* để hòa tan và chuyển toàn bộ cắn vào bình định mức 20 ml, thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* đến vạch, lắc đều, lọc qua giấy lọc thường rồi lọc tiếp qua màng lọc 0,45 µm.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác crinamidin chuẩn và hòa tan trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,1 mg/ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 285 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml đến 1,5 ml/min (điều chỉnh tốc độ dòng để thời gian lưu của crinamidin khoảng 30 min).
Thể tích tiêm: 50 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Đệm phosphat pH 3,0* (% tt/tt)	Acetonitril (% tt/tt)
0 - 40	90	10
40 - 41	90 → 60	10 → 40
41 - 60	60	40
60 - 61	60 → 90	40 → 10
61 - 65	90	10

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký 6 lần dung dịch chuẩn. Độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic crinamidin trong 6 lần tiêm không quá 2,0 %, hệ số đối xứng của pic crinamidin không quá 1,5 và số đĩa lý thuyết trung bình của cột tính theo pic crinamidin không dưới 10 000.
Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{17}H_{19}NO_5$ của crinamidin chuẩn, tính hàm lượng của crinamidin trong dược liệu.
Dược liệu phải chứa không dưới 0,08 % (theo khối lượng) crinamidin ($C_{17}H_{19}NO_5$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hái lá từ tháng 4 đến tháng 9, loại bỏ lá vàng úa, phơi trong râm hoặc sấy ở 40 °C đến 50 °C đến khô. Khi dùng, cắt đoạn 3 cm đến 5 cm. Sao vàng.

Bảo quản
Trong bao bì kín. Để nơi khô ráo, thoáng mát. Tránh nấm mốc và sâu mọt.

Tính vị, quy kinh
Vị đắng, chát. Tính ôn. Quy kinh thận, bàng quang.

Công năng, chủ trị
Lợi niệu, nhuyễn kiên, tán kết, tiêu u, giải độc (ôn bổ thận dương, hóa khí hành thủy). Chủ trị: Tiểu tiện bí dắt, u xơ tuyến tiền liệt, u vú, u tử cung, dạ dày.
Lá tươi và thân hành dùng ngoài, hơ nóng xoa bóp vào chỗ sưng đau do thấp khớp, sang chấn.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 4 g đến 10 g, dưới dạng thuốc sắc.
Dùng ngoài: Lượng thích hợp.

TRƯ LINH
Polyporus

Nấm trư linh [*Polyporus umbellatus* (Pers.) Fries], họ Nấm Lỗ (Polyporaceae).

Mô tả
Dược liệu là những khối hình dạng thay đổi, thường dẹt, phân nhánh có mặt ngoài màu đen, nhiều chỗ lồi lõm, ruột trắng ngà, nhẹ, xốp.

Vi phẫu
Mặt cắt thường hình tròn, dẹt, cấu tạo bởi các sợi nấm đường kính 5 µm đến 10 µm, phía ngoài các sợi nấm đan xen vào nhau chặt, phần trong lỏng lẻo hơn, rải rác có các tinh thể hình khối.

Bột
Bột màu xám nhạt, vị nhạt, mùi hơi tanh. Soi dưới kính hiển vi thấy: các sợi nấm mảnh, ít phân nhánh, rải rác có các bào tử nhỏ hình trứng, các tinh thể hình khối.

Định tính
A. Lấy khoảng 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*, đun sôi trong cách thủy khoảng 15 min, khuấy đều sẽ tạo nên dung dịch nhớt.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel $60F_{254}$.
Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C) - ethyl acetat (3 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột thô dược liệu, ngâm 30 min trong 20 ml *methanol (TT)* thỉnh thoảng lắc, lọc, cô dịch lọc tới khoảng 1 ml dùng làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Trư linh (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên cùng bản mỏng 5 µl đến 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không được quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 4 h).

Tạp chất
Không được quá 1 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không được quá 3,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu
Không được dưới 2,5 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *nước* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa xuân hoặc mùa thu, rửa sạch, thái mỏng, phơi khô.

Bảo quản
Để nơi khô ráo, thoáng mát, định kỳ phơi sấy lại.

Tính vị, quy kinh
Vị ngọt, nhạt, tính bình. Vào các kinh thận, bàng quang.

Công năng, chủ trị
Lợi tiểu, táo thấp. Chủ trị: Sưng phù, tiểu khó, tiểu đục.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 6 g đến 15 g, dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ
Người bệnh đau thận, phụ nữ có thai phải cẩn thận khi dùng.

TỤC ĐOẠN (Rễ)

Radix Dipsaci
Rễ kế

Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Tục đoạn (*Dipsacus japonicus* Miq.), họ Tục đoạn (Dipsacaceae).

Mô tả
Rễ hình trụ, hơi cong queo, đầu trên to, đầu dưới thuôn nhỏ dần, dài 8 cm đến 20 cm, đường kính 0,4 cm đến 1 cm. Mặt ngoài màu nâu nhạt đến nâu xám, có nhiều nếp nhăn và rãnh dọc, có nhiều lỗ bì nằm ngang và những đoạn rễ con còn sót lại. Dễ bẻ gãy, mặt bẻ lởm chởm. Mặt cắt ngang có lớp bần mỏng, tầng sinh libe-gỗ màu nâu, bó libe-gỗ màu nâu nhạt, sắp xếp thành tia tỏa ra.
Tục đoạn thái lát: Các lát mỏng hình tròn hoặc hình bầu dục. Bên ngoài màu nâu xám, nhiều nếp nhăn dọc. Trên bề mặt lát: phần vỏ có màu lục sẫm hoặc màu nâu, gỗ có màu vàng xám hoặc nâu vàng, các bó mạch xếp thành đường xuyên tâm, tầng phát sinh thành vòng màu sẫm. Mùi nhẹ, vị đắng hơi ngọt và se.

Vi phẫu
Lớp bần cấu tạo bởi nhiều hàng tế bào, có thành hóa bần. Mô mềm vỏ gồm những tế bào nhỏ, có thành mỏng nhăn nheo, rải rác có nhiều tinh thể calci oxalat hình cầu gai. Libe cấp 2 cấu tạo bởi những tế bào nhỏ, xếp đều đặn thành một vòng tròn. Tầng sinh libe-gỗ. Gỗ cấp 2 cấu tạo bởi những mạch gỗ to, có thành dày, xếp nối tiếp thành từng dãy rời nhau trong mô mềm gỗ. Mô mềm gỗ gồm những tế bào không hóa gỗ. Mô mềm tủy gồm những tế bào có thành dày hóa mô cứng.

Bột
Màu nâu nhạt, mùi thơm, vị đắng sau chát. Soi kính hiển vi thấy: Nhiều tinh thể calci oxalat hình cầu gai, đường kính 38 µm đến 50 µm, rải rác ở ngoài hay ở trong tế bào mô mềm hình chữ nhật có thành mỏng. Mảnh bần màu vàng nâu. Nhiều mảnh mạch mạng, mạch chấm, đường kính 3 µm đến 40 µm. Mạch ngắn.

Định tính
A. Dưới ánh sáng tử ngoại, bột Tục đoạn có màu nâu đen.
B. Cho khoảng 2 g bột dược liệu vào một bình nón nút mài dung tích 100 ml, thêm 4 ml *amoniac đậm đặc (TT)*, lắc đều, đậy kín và để yên trong 1 h. Thêm 30 ml *cloroform (TT)*, lắc siêu âm trong 30 min. Lọc lấy dịch chiết cloroform, làm khan bằng *natri sulfat khan (TT)*, lọc và bốc hơi trên cách thủy tới khô. Hòa tan cắn trong 5 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* được dịch chiết để làm các phản ứng sau:
Lấy 1 ml dịch chiết, thêm 2 giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, xuất hiện tủa trắng.
Lấy 1 ml dịch chiết, thêm 2 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)*, xuất hiện tủa nâu.
Lấy 1 ml dịch chiết, thêm 2 giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)*, xuất hiện tủa đỏ cam.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cyclohexan - ethyl acetat - aceton (7 : 3 : 0,5).
Dung dịch thử: Lấy 1,0 g dược liệu đã thái nhỏ, thêm 20 ml hỗn hợp *ethanol - cloroform* (1 : 2), đun sôi trên cách thủy khoảng 2 min, để nguội, lọc. Bốc hơi dịch lọc đến còn lại 2 ml làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 1,0 g Tục đoạn (mẫu chuẩn) đã thái nhỏ, chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin - acid sulfuric (TT)*, sấy ở 120 °C cho đến khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tạp chất
Dược liệu còn sót gốc thân: Không quá 5,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 41,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10). Dùng *nước* làm dung môi.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - nước (30 : 70), điều chỉnh tỷ lệ nếu cần thiết.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,5 g bột dược liệu (qua rây số 180) vào bình nón nút mài, thêm chính xác 25 ml *methanol (TT)*, đậy nút bình và cân xác định khối lượng. Lắc siêu âm trong 30 min, để nguội và cân lại, bổ sung *methanol (TT)* để được khối lượng ban đầu, lắc đều và lọc. Hút chính xác 5 ml dịch lọc vào bình định mức 50 ml, thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan asperosaponin VI chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 1,5 mg/ml. Hút chính xác 1 ml dung dịch trên cho vào bình định mức 10 ml, thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 212 nm.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min đến 2,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký dung dịch chuẩn. Tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột tính trên pic asperosaponin VI phải không được dưới 3000.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{42}H_{46}O_{18}$ của asperosaponin VI chuẩn, tính hàm lượng asperosaponin VI trong dược liệu.

Dược liệu phải chứa không dưới 2,0 % asperosaponin VI ($C_{42}H_{46}O_{18}$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, đào lấy rễ già, rửa sạch, bỏ gốc thân và rễ con, phơi hoặc sấy đến khô ở 50 °C đến 60 °C.

Tục đoạn thái lát: Lấy Tục đoạn khô rửa sạch, ủ mềm, thái thành lát mỏng, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Tục đoạn chế rượu (Tửu Tục đoạn): Dùng 1 L rượu cho 10 kg Tục đoạn thái lát. Phun đều rượu vào Tục đoạn và ủ cho thấm đều rượu trong 30 min đến 1 h. Sao ở nhiệt độ vừa phải đến khi có màu hơi đen.

Tục đoạn chế muối (Diêm Tục đoạn): Dùng 0,2 kg muối cho 10 kg Tục đoạn thái lát. Hòa tan muối vào khoảng 0,5 L nước. Phun vào Tục đoạn và ủ cho thấm nước muối vào lõi trong 30 min đến 1 h. Sao ở nhiệt độ vừa phải đến khô.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Khổ, cam, tân, vị ôn. Quy vào kinh can, thận.

Công năng, chủ trị

Bổ can thận, cường cân cốt, liền xương, an thai. Chủ trị: Thắt lưng và đầu gối đau yếu, di tinh, động thai, rong kinh, băng huyết, đới hạ, sang chấn, gãy xương, đứt gân.

Tửu Tục đoạn thường dùng cho người phong thấp, sang chấn. Diêm Tục đoạn thường dùng cho người đau yếu thắt lưng và đầu gối.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 9 g đến 15 g, phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ

Không dùng cho người âm hư hỏa vượng.

TỬ UYỂN (Rễ và Thân rễ)

Radix et Rhizoma Asteris tatarici

Rễ và thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Tử uyển (*Aster tataricus* L.f.), họ Cúc (Asteraceae).

Mô tả

Dược liệu là thân rễ và rễ. Thân rễ là những khối lớn, nhỏ không đều, đỉnh có vết tích của thân và lá. Chất hơi cứng. Các thân rễ mang nhiều rễ nhỏ, dài 3 cm đến 15 cm, đường kính 0,1 cm đến 0,3 cm, thường tết lại thành bím. Mặt ngoài màu đỏ hơi tía hoặc màu đỏ hơi xám, có vân nhăn dọc. Chất rễ tương đối dai, mềm. Mùi thơm nhẹ, vị ngọt, hơi đắng.

Vi phẫu

Mặt cắt ngang của rễ: Tế bào ngoại bì thường bị khô và đôi khi tróc ra, có chứa sắc tố đỏ hơi tía. Tế bào hạ bì xếp thành một hàng, kéo dài theo hướng tiếp tuyến, một số có chứa sắc tố đỏ hơi tía, thành tế bào bên và bên trong hơi dày lên. Vỏ rộng, có những khoảng gian bào; trong vỏ có 4 đến 6 ống tiết. Nội bì thấy rõ. Trung trụ nhỏ, gỗ hình đa giác, xếp xen kẽ các bó libe. Ở trung tâm thường là ruột.

Thân rễ: Biểu bì mang lông tiết, rải rác trong vỏ có tế bào đá và tế bào mô cứng.

Các tế bào mô mềm của rễ và thân rễ có chứa inulin, đôi khi có chứa cụm calci oxalat.

Định tính

A. Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 20 ml *nước*, đun trong cách thủy ở 60 °C trong 10 min, lọc nóng, để nguội. Lấy 2 ml dịch lọc vào ống nghiệm có nút mài, lắc mạnh trong 1 min, sẽ xuất hiện bọt bền trong 10 min.

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

Bản mỏng: Silica gel $G60F_{254}$.

Dung môi khai triển: n-Hexan - ethyl acetat (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy khoảng 2 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C) (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy trong 30 min, lọc, để bay hơi dịch lọc còn khoảng 2 ml làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 2 g bột Tử uyển (mẫu chuẩn), chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch vanilin - acid sulfuric (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng thường. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 5 h).

Tạp chất
Không quá 3,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 8,0 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu
Không được ít hơn 45,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *nước* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa xuân và mùa thu, đào lấy rễ và thân rễ, loại thân rễ có mầu và đất cát, tết bó lại, phơi nắng đến khô.

Bào chế
Tử uyển sống: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, ủ mềm nhanh, thái phiến và phơi khô.
Mật Tử uyển (chế mật): Mật ong hòa loãng bằng nước sôi, trộn đều Mật ong với Tử uyển phiến, ủ đến khi mật ong thấm đều, cho vào chảo, sao nhỏ lửa đến khi không dính tay, lấy ra và để nguội. Dùng 2,5 kg mật ong cho 10 kg Tử uyển.

Bảo quản
Nơi khô, mát, tránh nấm mốc.

Tính vị, quy kinh
Cam, khổ, ôn. Quy vào kinh phế.

Công năng, chủ trị
Tuyên phế, hóa đàm, chỉ khái. Chủ trị: Ho và suyễn mới hoặc lâu ngày kèm nhiều đàm, hư hao.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 5 đến 9 g, phối hợp với các vị thuốc khác.
Chú ý: Không nên dùng nhiều và độc vị, thường phối hợp với Khoản đông hoa, Bách bộ.

TỲ BÀ DIỆP
Folium Eriobotryae
Nhót tây, Nhót Nhật bản

Lá phơi hoặc sấy khô của cây Tỳ bà (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.), họ Hoa hồng (Rosaceae).

Mô tả
Lá hình thuôn hay hình trứng dài, dài 12 cm đến 30 cm, rộng 4 cm đến 9 cm, chóp lá nhọn, gốc lá hình nêm, mép lá có răng cưa thưa hoặc nguyên về phía gốc lá. Mặt trên lá màu lục xám, màu vàng nâu hoặc màu đỏ nâu, tương đối nhẵn. Mặt dưới lá màu nhạt hơn, có nhiều lông nhung màu vàng, mọc dày. Gân lá hình lông chim, gân giữa lồi lên ở mặt dưới, gân bên có 15 - 20 đôi. Cuống lá rất ngắn, phủ lông mao màu vàng nâu. Lá dày, chất cứng, giòn, dễ bẻ gãy; không mùi, vị hơi đắng.
Tỳ bà diệp thái sợi: Các sợi nhỏ có một mặt màu lục sẫm, nâu vàng hoặc nâu đỏ, tương đối mịn. Mặt còn lại có lông mảng và gân lá nhô lên. Chất dai, giòn; không mùi, vị hơi đắng.

Vi phẫu
Tế bào biểu bì trên hình chữ nhật, bên ngoài là lớp cutin dày. Tế bào biểu bì dưới mang nhiều lông che chở đơn bào, thường bị cong, phần nhiều có hình chữ V gần gân giữa lá, lỗ khí nhìn thấy rõ. Mô giậu có 3 đến 4 hàng tế bào, mô khuyết thưa, chứa tinh thể calci oxalat hình lăng trụ, đôi khi cụm lại thành từng đám. Bó mạch của gân giữa gần như một vòng tròn. Sợi xếp thành vòng tròn không liên tục, vách hóa gỗ, bao quanh là các tế bào mô mềm có chứa các tinh thể calci oxalat hình lăng trụ hợp thành sợi tinh thể. Các tế bào chứa chất nhày và các tinh thể calci oxalat hình lăng trụ rải rác trong mô mềm.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Toluen - aceton (5 : 1).
Dung dịch thử: Lấy khoảng 1 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol (TT)*, lắc siêu âm trong 20 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn, hòa cắn trong 5 ml *ethanol (TT)* làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan chất đối chiếu acid ursolic trong *ethanol (TT)* để được dung dịch đối chiếu có nồng độ 1 mg/ml. Nếu không có acid ursolic thì lấy khoảng 1 g bột Tỳ bà (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*. Sấy ở 105 °C cho đến khi xuất hiện vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không được quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 80 °C, 3 h).

Tạp chất
Không được quá 1,0% (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần
Không được quá 7,0 % (Phụ lục 9.8).

Tỷ lệ vụn nát
Qua rây có kích thước mắt rây 3,150 mm: Không được quá 5,0 % (Phụ lục 12.12).

Chất chiết được trong dược liệu
Không dưới 10,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *nước* làm dung môi.

Chế biến
Thu hái lá quanh năm, phơi gần khô, bó thành những bó nhỏ và phơi khô.
Tỳ bà diệp thái sợi: Loại bỏ lông nhung, phun nước cho mềm, thái sợi và phơi khô.
Mật Tỳ bà diệp (chế mật): Mật ong được hòa loãng bằng nước sôi, trộn đều với Tỳ bà diệp thái sợi, ủ cho mật thấm đều, cho vào chảo sao nhỏ lửa đến khi sờ không dính tay, lấy ra và để nguội. Dùng 2 kg Mật ong cho 10 kg Tỳ bà diệp.

Bảo quản
Nơi khô, mát.

Tính vị, quy kinh
Khổ, vi hàn. Quy vào kinh phế, vị.

Công năng, chủ trị
Thanh phế nhiệt và vị nhiệt, chỉ khái, chỉ ẩu. Chủ trị: Ho và suyễn do phế nhiệt, sôt và khát do vị nhiệt.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 9 g, phối hợp trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ
Nôn do hư hàn, ho do phong hàn không nên dùng.

TỲ GIẢI (Thân rễ)
Rhizoma Dioscoreae
Miền tỳ giải

Thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Tỳ giải (*Dioscorea septemloba* Thunb. hoặc *Dioscorea futschauensis* Uline ex R. Kunth), họ Củ nâu (Dioscoreaceae).

Mô tả
Phiến vát không đều, cạnh không đều, kích thước thay đổi, dày 2 mm đến 5 mm. Mặt ngoài màu nâu hơi vàng hoặc đen hơi nâu, có rải rác vết của các rễ nhỏ, dạng hình nón nhô lên. Mặt cắt màu trắng hơi xám đến màu nâu hơi xám, các đốm màu nâu hơi vàng của các bó mạch rải rác. Chất xốp hơi có dạng bọt biển. Mùi nhẹ, không rõ rệt; vị hơi đắng.

Bột
Màu nâu hơi vàng nhạt, nhiều hạt tinh bột. Các hạt tinh bột đơn, hình trứng, hình bầu dục hoặc gần hình cầu, hình tam giác hoặc các loại hình bất định; một số hạt nhọn ở một đầu; một số có nhiều mắt hay mẩu, đường kính 10 µm đến 70 µm; rốn hạt là khe hình chữ V, hình điểm, đa số có vân không rõ. Tinh thể calci oxalat hình kim, xếp thành bó, dài 90 µm đến 210 µm. Các tế bào mô mềm hình bầu dục hoặc hình chữ nhật, thành hơi dày, có lỗ rõ rệt. Các tế bào bần màu vàng hơi nâu, hình nhiều cạnh, thành tế bào thẳng.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cloroform - aceton (9 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 50 ml *methanol (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy trong 1 h, lọc và bốc hơi dịch lọc đến cắn khô. Hòa cắn này vào 25 ml *nước*, rửa với 25 ml *ether ethylic (TT)* rồi bỏ dịch rửa ether. Thêm 2 ml *acid hydrocloric (TT)* vào dung dịch nước, đun hồi lưu trên cách thủy trong 90 min rồi để nguội, chuyển vào một bình gạn, lắc với *ether ethylic (TT)* 2 lần, mỗi lần 25 ml. Gộp các dịch chiết ether, cất thu hồi dung môi đến cắn khô. Hòa cắn trong 1 ml *cloroform (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột Tỳ giải (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên cùng bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi khai triển xong, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch acid phosphomolybdic (TT)* rồi sấy ở 105 °C đến khi hiện rõ các vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu
Không được ít hơn 15,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 70 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa thu, mùa đông. Đào lấy thân rễ, loại bỏ các rễ con, rửa sạch, thái phiến, phơi khô.

Bảo quản
Để nơi khô, tránh mốc.

Tính vị, quy kinh
Khổ, bình. Vào các kinh can thận, vị, bàng quang.

Công năng, chủ trị
Phân thanh trừ trọc, khu phong trừ thấp. Chủ trị: Cao lâm (đái đục), bạch đới quá nhiều; sang độc do thấp nhiệt, đau lưng đầu gối.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 9 g đến 15 g, dạng thuốc sắc, phối hợp trong các bài thuốc.

Kiêng kỵ
Không dùng cho người âm hư hỏa vượng, đau lưng do thận hư.

UY LINH TIÊN (Rễ và Thân rễ)

Radix et rhizoma Clematidis

Rễ và thân rễ đã phơi khô của cây Uy linh tiên (*Clematis chinensis* Osbeck) và một số loài khác cùng chi (*Clematis hexapetala* Pall., *Clematis manshurica* Rupr.), họ Hoàng liên (Ranunculaceae).

Mô tả

Clematis chinensis: Thân rễ hình trụ, dài 1,5 cm đến 10 cm, đường kính 0,3 cm đến 1,5 cm, mặt ngoài màu vàng hơi nhạt, gốc thân còn sót lại ở đỉnh, phần dưới thân rễ mang nhiều rễ nhỏ. Chất tương đối bền, dai, mặt bẻ có xơ sợi.

Rễ hình trụ thon hơi cong, dài 7 cm đến 15 cm, đường kính 1 mm đến 3 mm, mặt ngoài màu nâu đen, có vân dọc nhỏ, đôi khi vỏ ngoài thoái hóa rơi rụng, để lộ ra gỗ màu vàng nhạt. Chất cứng và giòn, dễ gãy, vết gãy có phần vỏ tương đối rộng, gỗ màu hơi vàng, hơi vuông, thường có khe nứt giữa phần vỏ và phần gỗ. Mùi nhẹ, vị nhạt.

Clematis hexapetala: Thân rễ ngắn, hình trụ, dài 1 cm đến 4 cm, đường kính 0,5 cm đến 2,5 cm. Rễ dài 4 cm đến 20 cm, đường kính 0,1 cm đến 0,2 cm, mặt ngoài màu nâu đến nâu đen, phần gỗ ở mặt gãy hình hơi tròn. Vị mặn.

Clematis manshurica: Thân rễ hình trụ, dài 1 cm đến 11 cm, đường kính 0,5 cm đến 2,5 cm. Rễ tương đối dày đặc, dài 5 cm đến 23 cm, đường kính 0,1 cm đến 0,4 cm, mặt ngoài màu nâu đen, phần gỗ ở mặt gãy hình hơi tròn. Vị cay.

Uy linh tiên cắt khúc: Các đoạn không đều. Bên ngoài màu nâu đen, nâu hoặc đen nâu, có các vết nhăn dọc nhỏ, đôi khi thấy có gỗ màu hơi vàng ở chỗ phần vỏ bị rơi rụng. Mặt cắt có phần vỏ rộng và phần gỗ màu vàng nhạt hình gần tròn hoặc hơi vuông, thường có khe nứt giữa phần vỏ và phần gỗ.

Vi phẫu (mặt cắt ngang của rễ)

Clematis chinensis: Thành ngoài tế bào biểu bì dày lên, màu nâu đen. Vỏ rộng, gồm các tế bào mô mềm, tế bào biểu bì xếp kéo dài theo hướng tiếp tuyến; nội bì rõ. Phía ngoài libe thường có các bó sợi và các tế bào đá, đường kính sợi 18 µm đến 43 µm. Tầng phát sinh libe-gỗ rõ, phần gỗ hoàn toàn hóa gỗ. Tế bào mô mềm chứa các hạt tinh bột.

Clematis hexapetala: Tế bào biểu bì xếp kéo dài theo hướng xuyên tâm và 1 đến 2 hàng tế bào kèm có thành hơi dày. Phía ngoài libe không có bó sợi và tế bào đá.

Clematis manshurica: Các tế bào biểu bì xếp kéo dài theo hướng xuyên tâm, trong rễ già các tế bào này xếp hơi kéo dài theo đường tiếp tuyến. Đôi khi thấy phía ngoài của libe có các bó sợi và tế bào đá.

Định tính

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Toluen - ethyl acetat - acid formic (20 : 3 : 0,2).

Dung dịch thử: Lấy khoảng 1 g bột dược liệu, thêm 50 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun hồi lưu trong cách thủy 2 h, để nguội, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến còn khoảng 20 ml, thêm 3 ml *acid hydrocloric (TT)*, đun sôi hồi lưu trong cách thủy 1 h, thêm 10 ml *nước*, để nguội, chuyển vào bình gạn, lắc kỹ với 25 ml *ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C)*. Gạn lấy dịch chiết ether, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa tan cắn trong 10 ml *ethanol (TT)* được dung dịch chấm sắc ký.

Dung dịch chất đối chiếu: Hoà tan acid oleanolic chuẩn trong *ethanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 0,45 mg/ml.

Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có acid oleanolic chuẩn, lấy khoảng 1 g bột Uy linh tiên (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 3 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*, sấy ở 105 °C cho đến khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng thường hoặc ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu sắc và giá trị R_f với vết của acid oleanolic trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu hoặc có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 15,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần

Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 4,0 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu

Không dưới 15,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10). Dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu. Đào lấy rễ, loại bỏ thân, lá, rửa sạch, phơi khô.

Uy linh tiên cắt khúc: Loại bỏ tạp chất và thân còn sót lại, rửa sạch, ủ cho mềm, cắt khúc, phơi khô.

Bảo quản

Để nơi khô.

Tính vị, quy kinh

Tân, hàm, ôn. Vào kinh bàng quang.

Công năng, chủ trị

Khu phong, trừ thấp, thông kinh lạc, chỉ thống. Chủ trị: Phong tê thấp các khớp chi, gân mạch co rút khó cử động, dân gian dùng chữa họng hóc xương cá.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 9 g, dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ
Huyết hư gây gân co rút, không phong thấp thực tà thì không dùng.

VÀNG ĐẮNG (Thân)
Caulis Coscinii fenestrati

Thân đã phơi hoặc sấy khô của cây Vàng đắng [*Coscinium fenestratum* (Gaertn.) Colebr., Syn. *Menispermum fenestratum* Gaertn.], họ Tiết dê (Menispermaceae).

Mô tả
Thân hình trụ tròn, đường kính 2 cm trở lên, gần thẳng hoặc hơi cong, đôi khi có bướu phình to. Mặt ngoài màu vàng đất hoặc nâu, có khi loang lổ, nhiều vết nhăn dọc, nông, đôi khi có vết sẹo tròn do vết tích của cành con. Mặt cắt ngang để lộ lớp vỏ mỏng, vòng gỗ dày chiếm khoảng 4/5 đường kính thân, màu vàng rơm, có tia hình nan hoa bánh xe, lỗ chỗ nhiều chấm nhỏ (mạch gỗ). Chất cứng khó bẻ, không mùi, vị đắng.

Vi phẫu
Lớp bần tế bào hình chữ nhật dẹt, xếp đều đặn. Mô mềm vỏ rải rác có nhiều đám tế bào mô cứng, thành dày, có ống trao đổi. Đám sợi đứng trước libe (cách vòng mô cứng), vòng mô cứng ngoài liên tục, bao lên đầu các đám libe hình bán nguyệt. Tầng sinh gỗ. Gỗ cấp 2, mạch gỗ tròn to, tế bào mô mềm gỗ thành dày. Tia tủy rộng. Vòng mô cứng trong liên tục gồm tế bào thành dày có vân đồng tâm, trong tủy rải rác có tế bào mô cứng riêng lẻ.

Bột
Mảnh mạch mạng, mạch điểm, có nhiều tế bào mô cứng màu vàng tươi hình thoi, hình nhiều cạnh, hình chữ nhật thành dày khoang rộng hay hẹp. Sợi có thành dày, ống trao đổi rõ hoặc không có. Hạt tinh bột hình chuông đứng riêng lẻ hay kép đôi, kép ba, đường kính 8 µm đến 10 µm. Tinh thể calci oxalat hình que nhỏ, dài khoảng 8 µm rải rác trong mô mềm, đôi khi có tinh thể calci oxalat hình lăng trụ trong khoang tế bào mô cứng.

Định tính
A. Lấy 0,10 g bột dược liệu cho vào ống nghiệm, thêm 10 ml *nước* ngâm khoảng 2 h, lọc lấy 2 ml dịch lọc cho vào ống nghiệm khác, nhỏ thêm 1 ml *acid sulfuric (TT)*, để nguội, nhỏ từ từ theo thành ống 1 ml *nước brom bão hòa (TT)*, ở giữa hai lớp dung dịch xuất hiện một vòng đỏ sẫm.
B. Lấy 0,10 g bột dược liệu cho vào ống nghiệm, thêm 1 ml *ethanol 90 % (TT)*, ngâm 10 min đến 15 min, nhỏ 1 đến 2 giọt dịch chiết ethanol lên phiến kính, hơ nóng nhẹ đến gần khô, thêm 1 giọt *acid hydrocloric (TT)*, đậy lá kính, để yên 5 min đến 10 min, soi kính hiển vi thấy nhiều tinh thể hình kim màu vàng riêng lẻ và xếp thành bó.
C. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm, bột dược liệu phát quang màu vàng sáng.
D. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: n-Butanol - acid acetic - nước (7 : 1 : 2).
Dung dịch thử: Lấy 0,10 g bột dược liệu, thêm 5 ml *ethanol 90 % (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 15 min. Lọc, được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan berberin clorid chuẩn vào *ethanol 90 % (TT)* để được dung dịch có nồng độ 0,1 %.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, phun lên bản mỏng *thuốc thử Dragendorff (TT)*. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu đỏ cam và cùng giá trị R_f với vết berberin thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 4 h).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Dược liệu bị biến màu: Không quá 2,0 %.
Tỉ lệ thân đường kính dưới 2 cm: Không quá 2,0 %.
Tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Tro toàn phần
Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Hỗn hợp gồm *Acetonitril - dung dịch acid phosphoric 0,1%* (50 : 50), thêm vào mỗi 100 ml hỗn hợp 0,1 g *natri dodecylsulfonat (TT)*.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan berberin clorid chuẩn trong pha động để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,1 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,1 g bột dược liệu (qua rây 710) vào bình định mức 100 ml, thêm 80 ml pha động, lắc siêu âm trong 40 min, để nguội, thêm pha động đến vạch, lắc đều, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 265 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 - 1,5 ml/min.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký 5 µl dung dịch chuẩn, số đĩa lý thuyết của cột tính theo pic berberin clorid không được thấp hơn 4000.
Tiến hành sắc ký riêng biệt 5 µl dung dịch chuẩn và 5 - 20 µl dung dịch thử (dùng thể tích tiêm thích hợp sao cho diện tích pic berberin trong sắc ký đồ của dung dịch thử tương ứng với dung dịch chuẩn). Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{20}H_{18}NO_4Cl$ của berberin clorid chuẩn, tính hàm lượng berberin clorid trong dược liệu.
Hàm lượng berberin clorid ($C_{20}H_{18}NO_4Cl$) trong dược liệu không được ít hơn 1,5 %, tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hái quanh năm, cạo vỏ, cắt thành đoạn dài 10 cm đến 13 cm, phơi hoặc sấy khô ở nhiệt độ từ 50 °C đến 60 °C.

Bào chế
Rửa sạch, thái thành lát mỏng, phơi, hoặc sấy khô ở nhiệt độ từ 50 °C đến 60 °C. Có thể dùng để tán bột và chiết xuất.

Bảo quản
Nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Khổ, hàn. Vào kinh tỳ, vị, can, đơm, đại tràng.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt, giải độc, sát trùng, lợi thấp, lợi mật. Chủ trị: Viêm ruột, ỉa chảy, viêm túi mật, viêm gan.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 10 g đến 16 g, dạng bột thuốc hay thuốc sắc.

VIỄN CHÍ (Rễ)
Radix Polygalae

Rễ phơi hay sấy khô của cây Viễn chí lá nhỏ (*Polygala tenuifolia* Willd.) và cây Viễn chí Xiberi tức Viễn chí lá trứng (*Polygala sibirica* L.), họ Viễn chí (Polygalaceae).

Mô tả
Dược liệu có dạng hình trụ, rỗng, hơi cong queo, dài 3 cm đến 15 cm, đường kính 0,3 cm đến 0,8 cm. Mặt ngoài màu vàng xám hoặc xám tro, có các nếp nhăn ngang dày đặc, các vết nứt ngang, các vết nhăn dọc nhỏ (rễ già có các nếp nhăn và nứt ngang sâu hơn) và các vết sẹo của rễ nhánh dạng núm nhỏ. Chất cứng và giòn, dễ bẻ gãy, mặt gãy có phần vỏ màu vàng nâu, hoặc màu nâu nhạt, ruột rỗng (đối với rễ đã bỏ lõi); đối với rễ chưa bỏ lõi gỗ, khi cắt ngang thấy lớp lõi gỗ có màu trắng ngà, vỏ dễ bong khỏi lõi gỗ. Mùi nhẹ. Vị đắng, hơi cay, kích thích họng khi nhai.

Vi phẫu
Lớp bần gồm các tế bào bần màu nâu nhạt, xếp thành hàng. Vỏ gồm các tế bào mô mềm và có các khe nứt. Libe tương đối rộng; tế bào mô mềm trong libe có chứa các giọt dầu, một số chứa đám tinh thể calci oxalat. Tầng phát sinh libe-gỗ thành vòng liên tục. Rễ chưa bỏ lõi có phần gỗ phát triển, tia gỗ gồm 1 đến 2 dãy tế bào.

Bột
Bột màu vàng xám đến nâu vàng. Soi dưới kính hiển vi thấy: Mảnh bần màu vàng nâu nhạt. Nhiều mảnh mô mềm tế bào dài hoặc hơi tròn chứa nhiều giọt dầu. Có những giọt dầu đứng riêng lẻ. Mạnh ống mạch, mạch vạch, đôi khi kèm theo sợi gỗ. Nếu bỏ hết lõi gỗ thì không thấy mảnh mạch ở bột. Đôi khi thấy đám tinh thể calci oxalat.

Định tính
A. Lấy 0,5 g bột dược liệu, cho vào ống có nút mài, thêm 10 ml *nước* nóng, duy trì nhiệt độ khoảng 10 min, lắc mạnh trong 1 min, bọt hình thành bền ít nhất 10 min.
B. Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 2 ml *anhydrid acetic (TT)*, lắc mạnh, để lắng 2 min, lọc. Lấy dịch lọc thêm 1 ml *acid sulfuric (TT)* để có hai lớp dung dịch phân tách rõ, phần tiếp giáp giữa 2 dung dịch này sẽ hiện ra màu nâu đỏ rồi chuyển dần sang màu lục đen.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel $60F_{254}$.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol - nước (7 : 3 : 1).
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 1 g bột dược liệu (qua rây số 355) vào một bình nón nút mài, thêm chính xác 50 ml *methanol 70 %(TT)*, đậy nút và cân. Lắc siêu âm trong 1 h, để nguội và cân lại. Bổ sung *methanol 70 % (TT)* để được khối lượng ban đầu, lắc đều, lọc. Lấy chính xác 25 ml dịch lọc vào bình đáy tròn, bay hơi đến khô. Thêm 50 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, đun hồi lưu 2 h, để nguội, điều chỉnh đến pH 4 - 5 bằng *acid hydrocloric (TT)*. Lắc dung dịch thu được với *n-butanol bão hòa nước (TT)* 3 lần, mỗi lần 50 ml, gộp các dịch chiết n-butanol và bay hơi trên cách thủy đến khô. Dùng *methanol (TT)* để hòa tan và chuyển toàn bộ cắn vào bình định mức 25 ml, thêm *methanol (TT)* đến vạch, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm. Một phần dung dịch thu được dùng để chấm sắc ký, một phần dùng để sử dụng cho phép thử Định lượng.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan tenuifolin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 1 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Lấy 1 g Viễn chí (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl dung dịch thử và 4 µl dung dịch chất đối chiếu hoặc 20 µl dung dịch dược liệu đối chiếu. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô trong không khí. Phun lên bản mỏng *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)* và sấy ở 105 °C đến khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu sắc và giá trị R_f với vết của tenuifolin trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu hoặc có các vết cùng màu sắc và cùng giá trị R_f với vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm
Không được quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C đến 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không được quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không được quá 1,5 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Lõi gỗ còn sót lại: Không được quá 3,0 %.
Thân lá còn sót lại: Không được quá 2,0 %.
Tạp chất khác: Không được quá 1,0 %.

Chất chiết được trong dược liệu
Cân chính xác khoảng 4 g bột thô dược liệu, thêm 40 ml *ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (TT)*, đun hồi lưu 1 h, lọc và rửa dược liệu bằng *ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (TT)*, loại bỏ dịch ether dầu hỏa và để dược liệu bay hơi kiệt dung môi. Tiếp tục tiến hành xác định chất chiết được trong dược liệu (Phụ lục 12.10), dùng phương pháp chiết nóng, sử dụng *ethanol 70 % (TT)* làm dung môi.
Lượng chất chiết được không được ít hơn 30,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - dung dịch acid phosphoric 0,05 % (70 : 30).
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng tenuifolin chuẩn, hòa tan trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 1 mg/ml.
Dung dịch thử: Dùng dung dịch thu được trong phần Dung dịch thử của phép thử định tính C.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký dung dịch chuẩn và tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột tính theo pic tenuifolin phải không dưới 3000.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng tenuifolin trong dược liệu dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn, hàm lượng $C_{36}H_{56}O_{12}$ của tenuifolin chuẩn.
Dược liệu phải chứa không ít hơn 2,0 % tenuifolin ($C_{36}H_{56}O_{12}$), tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa xuân, mùa thu, đào lấy rễ Viễn chí, bỏ lõi và tạp chất, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô. Trước khi dùng rửa nhanh, ủ mềm, cắt đoạn, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế
Viễn chí chế: Lấy Cam thảo, thêm nước thích hợp, sắc lấy nước bỏ bã, cho Viễn chí đã cắt đoạn vào đun nhẹ cho hút hết hết nước sắc Cam thảo, lấy ra phơi hoặc sấy khô. Cứ 100 kg Viễn chí dùng 6 kg Cam thảo.

Bảo quản
Để nơi khô.

Tính vị, quy kinh
Khổ, tân, ôn. Vào kinh tâm, thận, phế.

Công năng, chủ trị
An thần ích trí, trừ đờm chỉ khái. Chủ trị: Mất ngủ, hay mê, hay quên, hồi hộp, đánh trống ngực, tinh thần hoảng hốt. Ho đờm nhiều. Mụn nhọt, vú sưng đau.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán, thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ
Người viêm loét dạ dày, phụ nữ có thai, người trầm cảm không nên dùng.

VỌNG CÁCH (Lá)
Folium Premnae corymbosae

Lá đã phơi hay sấy khô của cây Vọng cách [*Premna corymbosa* (Burm.f.) Rottl. et Willd.], họ Cỏ roi ngựa (Verbenaceae).

Mô tả
Lá hình trái xoan dài 12 cm đến 15 cm, rộng 5 cm đến 10 cm, gốc lá tròn hay hơi hình tim, đầu tù hay có mũi nhọn ngắn, mặt trên nhẵn có màu nâu nhạt, mặt dưới có lông mịn, mép lá nguyên hoặc có khía răng cưa nhỏ ở phía đầu lá, cuống lá dài 1 cm đến 4 cm.

Vi phẫu
Gân chính: Gân lá phía trên hơi lồi, phía dưới lồi nhiều. Biểu bì trên và dưới là một hàng tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn, rải rác mang lông che chở đa bào và lông tiết đơn bào. Dưới biểu bì là lớp mô dày gồm các tế bào hình trứng có thành dày lên ở góc. Mô mềm là các tế bào hình trứng không đều có thành mỏng. Ở giữa gân lá là những bó libe-gỗ xếp thành hình cung khép kín, libe ở phía ngoài, gỗ phía trong. Phía ngoài bó libe-gỗ là những đám sợi. Trong cùng là mô mềm ruột gồm những tế bào hình đa giác thành mỏng.
Phiến lá: Dưới lớp biểu bì trên là 2 đến 3 hàng tế bào mô giậu, mô mềm là các tế bào hình đa giác thành mỏng, rải rác trong mô mềm có các bó libe-gỗ của gân phụ.

Bột
Bột có màu xanh nhạt, mùi thơm hắc, vị hơi đắng. Quan sát dưới kính hiển vi thấy: Mảnh biểu bì mang lỗ khí, lông che chở đa bào, lông tiết chân đơn bào, đầu đa bào. Bó sợi, mảnh mạch điểm.

Định tính
Lấy khoảng 10 g bột dược liệu, ngâm trong 100 ml *methanol (TT)* ở nhiệt độ phòng trong 12 h. Rút lấy dịch chiết, cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm còn khoảng 5 ml, thêm đồng lượng *nước cất* rồi cho chảy qua cột đã được chuẩn bị như sau:
Chuẩn bị cột: Cột thủy tinh có đường kính 2 cm, dài 30 cm. Nhồi vào cột 2 g hỗn hợp than hoạt tính - cát (tỉ lệ 1 : 10), rửa kỹ cột bằng *nước cất* tới trung tính (thử bằng giấy quỳ).
Cho dịch chiết đã pha thêm đồng lượng nước ở trên chảy qua cột, rửa cột bằng *nước cất* cho tới khi dịch rửa giải không còn lên màu với *thuốc thử Fehling (TT)*. Ngâm cột với khoảng 30 ml hỗn hợp *ethanol - nước* (50 : 48) trong

12 h. Rút dịch chiết với tốc độ 6 giọt/min cho tới kiệt. Cô dịch chiết còn khoảng 5 ml (dung dịch A) để làm các phản ứng sau:
A. Lấy 0,2 ml dung dịch A cho vào ống nghiệm, thêm 2 ml *ethanol (TT)*, 1 ml *thuốc thử Stalia 1 %*, đun cách thủy trong 5 min sẽ xuất hiện màu xanh tím.
Thuốc thử Stalia 1 %: Lấy 1 g *p-dimethylaminobenzaldehyd (TT)* hòa tan trong 100 ml *ethanol (TT)* có chứa 5 % *acid hydrocloric (TT)*.
B. Lấy 0,2 ml dung dịch A, thêm 2 ml *methanol (TT)* và 1 ml *thuốc thử Bekon-Egelman*, hơ nóng khoảng 5 min sẽ xuất hiện màu nâu xám.
Thuốc thử Bekon-Egelman: Lấy 1 g *benzidin (TT)* và 20 g *acid tricloacetic (TT)* hòa tan trong 100 ml *methanol (TT)*.
Ghi chú: Than hoạt tính sử dụng ở trên phải đáp ứng yêu cầu của Dược điển Việt Nam.
Cát: Những hạt silic màu trắng hoặc xám nhạt, kích thước hạt từ 150 µm đến 300 µm.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Ethanol - cloroform (3 : 7) hoặc *ethyl acetat - cloroform - acid formic - ethanol* (5 : 8 : 1 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 4 ml dung dịch A, cô trong cách thủy tới khô, hòa cặn trong 1 ml *methanol (TT)* được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 10 g bột lá Vọng cách (mẫu chuẩn) và tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng. Phun lên bản mỏng *thuốc thử Stalia 1 %*, sấy ở 80 °C trong vài phút để các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 3 g, 100 °C, 5 h).

Tạp chất (Phụ lục 12.11).
Tạp chất lạ như đất, sỏi, cát: Không được có.
Bộ phận khác của cây: Không quá 1 %.

Kim loại nặng
Không quá 6,0 phần triệu Pb; 0,5 phần triệu Cd; 0,5 phần triệu Hg; 1,5 phần triệu As (Phụ lục 9.4.11).

Chế biến
Hái các lá bánh tẻ, phơi khô hoặc sấy khô ở nhiệt độ 50 °C đến 60 °C. Khi dùng, thái nhỏ, sao vàng.

Bảo quản
Để nơi khô mát, tránh ẩm, mốc mọt.

Tính vị, quy kinh
Vị đắng nhẹ. Tính mát. Vào vào kinh tâm, can, tỳ.

Công năng, chủ trị
Thanh tràng chỉ lỵ, lợi niệu. Chủ trị: Lỵ ra máu, đau dạ dày, tiêu hóa kém, tiểu tiện khó khăn, ít sữa, còn dùng chữa sốt, viêm gan, chứng vàng da sau sinh.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 30 g đến 40 g dưới dạng thuốc sắc; cũng có thể dùng lá tươi vò nát lấy nước, thêm chút muối hoặc đường cho dễ uống.

VỐI (Lá)
Folium Cleistocalysis operculati

Lá đã phơi hay sấy khô của cây Vối [*Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr. et Perry], họ Sim (Myrtaceae).

Mô tả
Lá dày, hình trái xoan hay bầu dục dài 8 cm đến 15 cm, rộng 5 cm đến 7 cm, gốc tròn, đầu lá nhọn. Hai mặt lá có hai màu khác nhau, mặt trên màu nâu xám, mặt dưới màu lục nhạt. Không mùi, vị hơi chát.

Vi phẫu
Phần gân lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới là một hàng tế bào nhỏ xếp thành hàng đều đặn, ngoài có lớp cutin dày. Mô mềm gồm những tế bào hình tròn thành mỏng, kích thước không đều. Trong mô mềm vỏ có túi tiết tinh dầu nằm sát lớp biểu bì. Vòng mô cứng gần như liên tục bao quanh bó libe-gỗ. Bó libe-gỗ hình cung, libe bao quanh gỗ. Trong libe có tinh thể calci oxalat hình cầu gai nằm rải rác. Gỗ gồm các mạch gỗ, có 1 đến 2 bó mạch gỗ xếp rời cạnh mạch gỗ chính hình cung.
Phiến lá: Biểu bì trên và biểu bì dưới là một hàng tế bào nhỏ xếp thành hàng đều đặn, ngoài có lớp cutin dày. Mô giậu gồm một hàng tế bào xếp vuông góc với biểu bì trên. Mô mềm gồm những tế bào tròn, to nhỏ không đều, thành mỏng. Hạ bì gồm 2 đến 3 lớp tế bào nhỏ sát lớp biểu bì dưới.

Bột
Màu nâu, vị chát. Có các đặc điểm: Mảnh mô mềm, túi tiết tinh dầu, mảnh mạch xoắn, sợi đứng riêng lẻ hay xếp thành bó, tinh thể caclci oxalat hình cầu gai, tế bào mô cứng hình nhiều cạnh thành dày.

Định tính
A. Lấy 3 g bột dược liệu, thêm 30 ml *ethanol 90 % (TT)*, đun sôi 3 min trên cách thủy, lọc, lấy dịch lọc (dung dịch A) làm các phản ứng sau và làm dung dịch thử trong phép thử B.
Lấy 2 ml dung dịch A, thêm 3 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, lắc nhẹ, dung dịch có màu xanh đen.
Nhỏ 1 giọt dung dịch A lên miếng giấy lọc, hơ nhẹ cho khô, vết có màu vàng nhạt, hơ lên miệng lọ amoniac đã được mở nút, màu vàng của vết đậm lên.
Lấy 1 ml dung dịch A, thêm 3 giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, xuất hiện tủa màu vàng nâu.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Toluen - ethyl acetat - acid formic (6 : 4 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 5 ml dung dịch A, bốc hơi trên cách thủy còn khoảng 1 ml.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 3 g bột lá vối (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phép thử định tính A. Lấy 5 ml dịch lọc, bốc hơi trên cách thủy còn khoảng 1 ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*, sấy bản mỏng ở 100 °C đến khi xuất hiện các vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và cùng giá trị R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không được quá 8,0 % (Phụ lục 9.6, 70 °C, 1 g, 4 h).

Tro toàn phần
Không được quá 9,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không được quá 2 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Cân chính xác khoảng 10 g bột dược liệu cho vào bình Soxhlet, chiết bằng *ethanol 90 % (TT)* trong 4 h. Lấy dịch chiết, cất thu hồi dung môi rồi cô trên cách thủy đến cắn. Hòa tan cắn 3 lần, mỗi lần với 20 ml *nước* nóng, lọc. Gộp các dịch lọc vào bình gạn, chiết 5 lần, mỗi lần với 20 ml *ethyl acetat (TT)*, gộp dịch chiết ethyl acetat, cất thu hồi dung môi, chuyển phần còn lại vào một cốc đã cân bì, bay hơi trên cách thủy đến cắn, sấy cắn ở nhiệt độ 60 °C đến khối lượng không đổi. Tính hàm lượng chất chiết được trong dược liệu.
Dược liệu phải chứa không ít hơn 1,0 % chất chiết được trong ethyl acetat tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hái lá, loại bỏ tạp chất, phơi hoặc sấy khô.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô, tránh nấm mốc.

Bào chế
Thu hái lá bánh tẻ, ngâm trong nước sạch khoảng 20 min đến 30 min. Vớt ra, phơi đến khi lá khô tái (độ ẩm khoảng 50 %). Ủ 30 min đến 1 h để lá có màu hơi vàng và có mùi thơm. Tiếp tục phơi khô. Lá vối khô có màu hơi vàng xám, mùi thơm đặc trưng. Cắt đoạn 3 mm đến 5 mm theo chiều vuông góc với lá hoặc tán thành bột thô.

Tính vị, quy kinh
Vị đắng, chát, tính hàn. Vào kinh tỳ, vị.

Công năng, chủ trị
Giải biểu, khử thấp, hóa trệ, tiêu thực, sát trùng. Chủ trị: Ăn uống kém tiêu, đầy bụng, đau bụng, lỵ.
Dùng ngoài, nấu nước rửa vết thương, mụn nhọt, lở ngứa.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 16 g đến 20 g. Dạng thuốc sắc, chè, uống lúc nóng.

Kiêng kỵ
Tỳ vị hư hàn, ỉa chảy không dùng.

VỐI (Nụ hoa)
Flos Cleistocalysis operculati

Nụ hoa đã phơi hay sấy nhẹ đến khô của cây Vối [*Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr. et Perry], họ Sim (Myrtaceae).

Mô tả
Nụ hoa hình ovan, hai đầu thuôn nhọn, dài 4 mm đến 6 mm, rộng 2 mm đến 3 mm, màu vàng nâu. Đài hoa hình chuông, màu xám dài bằng 1/3 - 1/2 hoa, phía trên xẻ thành 4 răng nông. Hoa nhỏ màu trắng lục nhạt lúc tươi, sau khi chế biến có màu hơi xám vàng, mùi thơm đặc trưng. Vị hơi chát.

Bột
Bột màu vàng nhạt, có các đặc điểm: Lông che chở, mảnh mô mềm là những tế bào hình đa giác. Hạt phấn hình cầu có 3 lỗ rãnh. Mảnh cánh hoa, mạch xoắn, mảnh mạch.

Định tính
A. Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol (90%) (TT)*, đun sôi 2 min trên cách thủy, lọc. Dịch lọc (dung dịch A) dùng làm các phản ứng sau và làm dung dịch thử trong phép thử B.
Lấy 2 ml dung dịch A, thêm 5 giọt *acid hydrocloric (TT)* và một ít bột *magnesi (TT)*, sau vài phút dung dịch chuyển từ màu vàng sang màu hồng.
Lấy 1 ml dung dịch A, thêm 3 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, lắc nhẹ, dung dịch có màu xanh đen.
Lấy 1 ml dung dịch A, thêm 2 đến 3 giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, xuất hiện tủa màu vàng, tủa sẽ tan trong lượng dư *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Toluen - ethyl acetat - acid formic (6 : 4 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 5 ml dung dịch A, bốc hơi trên cách thủy còn khoảng 1 ml.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 3 g bột nụ hoa vối (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phép thử định tính A. Lấy 5 ml dịch lọc, bốc hơi trên cách thủy còn khoảng 1 ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 254 nm phải có các vết phát quang màu xanh lơ. Tiếp tục phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*, sấy bản mỏng ở 100 °C tới khi xuất hiện vết có màu

tím đỏ. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không được quá 10,0 % (Phụ lục 9.6, 70 °C, 1 g, 4 h)

Tro toàn phần
Không được quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Tỷ lệ hoa đã nở: Không được quá 10 %.
Tạp chất khác: Không được quá 3 %.

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 15,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 70 % (TT)* làm dung môi.

Chế biến
Thu hái các cánh mang nụ hoa, ngâm trong nước sạch khoảng 20 min đến 30 min. Vớt ra, để khô se, tuốt lấy nụ hoa. Phơi khô đến độ ẩm khoảng 50 %. Ủ 30 min đến 1 h để nụ có màu hơi vàng và có mùi thơm. Tiếp tục phơi khô. Nụ vối cho màu hơi xám vàng, mùi thơm đặc trưng.

Bảo quản
Trong bao bì kín, nơi khô mát, thoáng gió, tránh nấm mốc.

Tính vị, quy kinh
Đắng, chát, tính hàn. Vào kinh tỳ, vị, phế, thận.

Công năng, chủ trị
Khử thấp, hóa trệ, kích thích tiêu hóa, giải phiền khát, sát trùng. Chủ trị: Ăn uống kém tiêu, đầy bụng, viêm dạ dày, ruột cấp, lỵ trực trùng, tiểu đường.
Dùng ngoài, nấu nước rửa vết thương, mụn nhọt, lở ngứa.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 8 g đến 12 g. Dạng thuốc sắc, chè, uống lúc nóng.

Kiêng kỵ
Tỳ vị hư hàn, ỉa chảy không dùng.

VÔNG NEM (Lá)

Folium Erythrinae variegatae

Lá đã phơi khô của cây Vông nem (*Erythrina variegata* L. = *Erythrina indica* Lamk.), họ Đậu (Fabaceae).

Mô tả
Lá có cuống dài gồm ba lá chét. Mỗi lá chét hình gần như ba cạnh, đầu lá thuôn nhọn, đáy vát tròn, mép lá nguyên, mặt lá nhẵn. Mỗi lá chét dài 6 cm đến 13 cm, rộng 6 cm đến 15 cm. Lá chét giữa thường có chiều rộng lớn hơn chiều dài, lá khô có màu lục xám, nhăn nheo, nhàu nát. Thường được cắt bỏ cuống hoặc để cuống dài dưới 1 cm.

Vi phẫu
Phần gân giữa: Biểu bì trên và biểu bì dưới gồm một lớp tế bào xếp đều đặn, riêng biểu bì dưới có mang lỗ khí và lông tiết hình trứng, đầu đa bào, chân đơn bào rất ngắn. Sát lớp biểu bì trên và dưới có mô dày. Trong mô mềm rải rác có calci oxalat hình thoi và hình đa giác. Libe-gỗ xếp thành một vòng ở chính giữa gân lá. Vòng mô cứng bao bọc bên ngoài các bó libe-gỗ. Mô mềm gồm những tế bào hình tròn to, thành mỏng.
Phần phiến lá: Dưới biểu bì trên là mô mềm giậu gồm 2 lớp tế bào dài, dưới là mô mềm khuyết. Từng quãng có những bó libe-gỗ của gân nhỏ nối liền biểu bì trên và biểu bì dưới, cắt ngang mô mềm giậu và mô mềm khuyết. Rải rác có calci oxalat hình thoi và hình đa giác.

Bột
Mảnh biểu bì trên gồm tế bào nhiều cạnh, ngoằn ngoèo, thành mỏng. Mảnh biểu bì dưới có lỗ khí kiểu hạt cà phê và lông tiết hình trứng đầu đa bào (gồm 4 đến 6 tế bào xếp chồng lên nhau), chân đơn bào rất ngắn, mảnh gân lá tế bào hình chữ nhật thành mỏng, có chứa calci oxalat hình thoi và hình đa giác. Mảnh mô mềm giậu, bó sợi thành hơi dày. Mảnh mạch mạng, mạch xoắn.

Định tính
Lấy 5 g bột dược liệu cho vào bình nón dung tích 50 ml, thấm ẩm bằng *amoniac đậm đặc (TT)*, rồi cho vào bình 40 ml *cloroform (TT)*, lắc nhẹ, đặt trên cách thủy sôi trong 3 min, lọc vào bình gạn qua giấy lọc đã được thấm ẩm bằng *cloroform (TT)*. Lắc 2 lần, mỗi lần với 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (TT)*. Để yên cho dung dịch tách thành 2 lớp, gạn lấy lớp acid. Gộp dịch chiết acid rồi chia vào 3 ống nghiệm để làm các phản ứng sau:
Ống 1: Thêm 2 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)*, xuất hiện tủa nâu.
Ống 2: Thêm 2 giọt *thuốc thử Mayer (TT)*, xuất hiện tủa vàng nhạt.
Ống 3: Thêm 2 giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)*, xuất hiện tủa vàng cam.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 4 h).

Tro toàn phần
Không quá 8,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric
Không quá 2,5 % (Phụ lục 9.7).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Kim loại nặng
Không quá 10 phần triệu Pb; 0,5 phần triệu Cd; 1 phần triệu Hg; 5 phần triệu As (Phụ lục 9.4.11).

Định lượng
Cân chính xác khoảng 10 g bột dược liệu (qua rây số 355) cho vào bình nón 250 ml, thêm 100 ml *ethanol 96 % (TT)*,

đun hồi lưu trong cách thủy trong 30 min. Lọc qua bông. Làm lại như trên vài lần cho đến hết alcaloid (dùng *thuốc thử Dragendorff (TT)*, Phụ lục 12.3). Gộp toàn bộ dịch chiết, bốc hơi dung môi đến cắn. Hòa tan cắn với *dung dịch acid sulfuric 2 % (TT)* (3 lần, mỗi lần 10 ml). Lọc dung dịch acid này qua bông vào bình lắng gạn, rửa bông với một ít *dung dịch acid sulfuric 2 % (TT)*. Gộp dịch chiết và dịch rửa. Kiềm hóa dịch acid này bằng *amoniac đậm đặc (TT)* đến pH 10. Sau đó chiết bằng *cloroform (TT)* 5 lần, mỗi lần 10 ml. Gộp toàn bộ dịch chiết cloroform, làm khan nước bằng *natri sulfat khan (TT)*, lọc vào chén cân đã sấy khô và cân bì trước, rửa natri sulfat bằng 5 ml *cloroform (TT)* rồi lọc vào chén cân. bốc hơi cloroform trên cách thủy đến cắn. Sấy ở 100 °C đến khối lượng không đổi và đem cân.

Hàm lượng alcaloid toàn phần trong dược liệu không ít hơn 0,15 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa xuân, khi trời khô ráo, cắt lấy lá bánh tẻ không bị sâu hại, phơi âm can hoặc sấy nhẹ (ở 40 °C đến 50 °C) đến khô.

Bảo quản

Nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh

Khô, bình. Quy vào kinh tâm, tỳ.

Công năng, chủ trị

An thần, sát trùng. Chủ trị: Mất ngủ (uống), mụn nhọt, loét, trĩ, lậu (đắp ngoài).

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 4 g đến 6 g, dạng thuốc sắc. Thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Dùng ngoài lượng thích hợp.

VỪNG ĐEN (Hạt)

Semen Sesami Nigrum

Mè đen

Hạt già phơi khô của cây Vừng đen (*Sesamum indicum* DC.), họ Vừng (Pedaliaceae).

Mô tả

Hạt dẹt, hình trứng dài, 1 đầu nhọn, 1 đầu tròn, dài chừng 3 mm (có khi tới 5 mm), rộng 2 mm. Mặt ngoài màu đen, nhẵn bóng hoặc hơi có vân lưới. Có hạt noãn màu nâu ở đỉnh quả (đầu nhọn). Vỏ hạt mỏng, 2 lá mầm màu trắng có dầu. Mùi thơm, vị hơi ngọt.

Bột

Bột màu nâu xám hoặc đen nâu, có mùi thơm, vị hơi ngọt, miết lên tay thấy nhờn, bết dính.

Soi kính hiển vi thấy: Mảnh mô mềm gồm các tế bào hình đa giác, thành mỏng, chứa đầy tinh bột và những giọt dầu; Nhiều hạt tinh bột đính nhau thành đám hoặc nằm riêng rẽ, kích thước thay đổi, hình đa giác hoặc bầu dục, rốn hạt rõ. Tinh thể calci oxalat hình cầu hoặc gần cầu rải rác hoặc nằm trong tế bào biểu bì vỏ quả, đường kính 14 µm đến 38 µm. Tinh thể calci oxalat hình trụ rải rác, đường kính 2 µm đến 12 µm, dài 24 µm.

Định tính

A. Lấy 1 g dược liệu đã giã dập, thêm 10 ml *ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C) (TT)*, ngâm trong 1 h. Gạn lớp chất lỏng vào một ống nghiệm, thêm 10 ml *acid hydrocloric (TT)* có chứa 0,1 g *đường trắng (TT)*, lắc trong 30 s, màu hồng xuất hiện trong lớp acid và dần dần chuyển sang màu đỏ khi để yên.

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cyclohexan - ether - ethyl acetat (20 : 5,5 : 2,5).

Dung dịch thử: Tán nhỏ 0,5 g dược liệu, thêm 20 ml *ethanol (TT)*, lắc siêu âm 20 min, lọc, bay hơi dịch lọc trên cách thủy tới khô. Hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*, để yên, dùng lớp dung dịch ở phía trên làm dung dịch chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Dùng 0,5 g hạt Vừng đen (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*, sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C cho đến khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không được quá 7,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất

Không được quá 3 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không được quá 8,0 % (Phụ lục 9.8).

Dùng 1,0 g dược liệu.

Tro không tan trong acid

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.7).

Hàm lượng chất béo

Không ít hơn 30,0 % tính theo dược liệu khô kiệt

Cân chính xác khoảng 10 g dược liệu (bột nửa thô), đặt vào dụng cụ Soxhlet, thêm 100 ml *ether ethylic (TT)*, đun trên cách thủy sôi 5 h. Chuyển dịch chiết vào bình thủy tinh đã cân bì trước, cô trên cách thủy đến cạn. Sấy cắn ở 105 °C trong 3 h, lấy ra để nguội trong bình hút ẩm 60 min, cân xác định khối lượng cắn.

Tính phần trăm lượng cắn thu được theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch vào mùa thu. Khi quả chín, cắt cả cây đem phơi khô, đập lấy hạt, loại bỏ tạp chất, phơi khô.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô ráo. Tránh mọt.

Bào chế
Khi dùng, đem hạt vừng sao nhỏ lửa tới khi hạt nổ lách tách, phồng đều, mùi thơm đặc trưng, lấy ra, tãi mỏng cho nguội.

Tính vị, quy kinh
Vị ngọt, tính bình, không độc. Vào các kinh tỳ, can, thận.

Công năng, chủ trị
Bổ can thận, dưỡng huyết, chỉ huyết, nhuận tràng thông tiện, lợi sữa. Chủ trị: Thiếu máu do huyết hư, tóc bạc sớm, xuất huyết do giảm tiểu cầu, táo bón, sau đẻ ít sữa.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 12 g đến 60 g. Dạng bột hoặc nấu cháo.

Kiêng kỵ
Tỳ vị hư hàn, ỉa chảy không dùng.

XÀ SÀNG (Quả)
Fructus Cnidii
Giản sàng

Quả chín đã phơi hay sấy khô của cây Xà sàng (*Cnidium monnieri* L.), họ Hoa tán (Apiaceae).

Mô tả
Quả đóng với hai phân quả dính nhau ở một mặt tạo thành hình trứng nhỏ, có khía lồi; dài 2 mm đến 4 mm, đường kính 1 mm đến 2 mm. Mặt ngoài màu vàng nhạt hoặc vàng sẫm. Đỉnh có hai vòi mảnh, dài khoảng 2 mm đến 4 mm. Mỗi phân quả có 5 khía lồi nhô cao xen kẽ với 4 rãnh khá sâu, trông giống như quả có cánh; giữa là một hạt hình trứng. Mặt tiếp xúc giữa hai phân quả là mặt phẳng, có 2 đường chỉ dọc nổi lên màu nâu. Mặt cắt ngang qua tâm của quả nguyên vẹn gồm hai phần là hai phân quả dính liền nhau. Nếu vết cắt không ở ngay giữa thì hai phân quả có thể tách rời. Mỗi phân quả có thể nhìn thấy 6 vết tròn nhỏ tương ứng với 6 ống tiết. Hạt nhỏ, màu nâu xám, có dầu. Quả có mùi thơm, vị cay.

Vi phẫu
Quả: Vỏ quả ngoài là một lớp gồm các tế bào hình chữ nhật nhỏ, thành mỏng, có cutin hơi răng cưa ở mặt ngoài. Kế đến là 1 đến 2 lớp tế bào mô mềm hình chữ nhật. Vùng mô mềm tương ứng với cạnh lồi có bó libe-gỗ nhỏ gồm libe và gỗ liền nhau, rải rác có tinh thể calci oxalat hình khối nhỏ. Xung quanh bó libe-gỗ, các tế bào của vùng vỏ quả giữa có một phần hóa mô cứng, nhưng thành tế bào khá mỏng, có cấu tạo giống như mạch mạng. Vỏ quả trong là một lớp tế bào tạo thành vòng liên tục, hơi uốn lượn mặp mô, thành tế bào khá dày. Ở mặt tiếp giáp của hai phân quả, mỗi bên có hai ống tiết, bốn ống tiết còn lại nằm trong mô mềm của vỏ quả giữa, bên dưới bốn rãnh sâu. Ống tiết kiểu ly bào với các tế bào xung quanh còn khá nguyên vẹn, bên trong chứa tinh dầu dưới dạng giọt tròn màu vàng. Ở vùng giữa mặt tiếp hợp, chỗ hạt đính vào, mỗi bên phân quả có một bó libe-gỗ nhỏ (sống noãn) gồm gỗ ở giữa, bao quanh là libe.
Hạt: Vỏ hạt gồm một vòng tế bào mô mềm hình chữ nhật, thành mỏng, xếp sít nhau theo hướng xuyên tâm. Bên trong là nội nhũ gồm các tế bào hình đa giác, thành mỏng, chứa đầy dầu béo.

Bột
Bột có màu vàng nâu, mùi thơm, vị cay. Soi kính hiển vi thấy: Mảnh vỏ quả gồm các tế bào hình chữ nhật hay đa giác, thành mỏng, chứa chất có màu vàng, mảnh ống tiết bị vỡ, mảnh mô cứng gồm các tế bào hình chữ nhật hay đa giác có thành tế bào cấu tạo như mạch mạng, mảnh mạch vạch, mạch xoắn nhỏ và hiếm, mảnh nội nhũ chứa nhiều giọt dầu béo to nhỏ không đều, tinh thể calci oxalat hình khối.

Định tính
A. Lấy 2 g bột dược liệu, thêm 20 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun hồi lưu trong cách thủy 10 min. Lọc, lấy dịch lọc làm các phản ứng sau:
Dịch lọc đem quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở 366 nm, có huỳnh quang màu đỏ tía.
Lấy 2 ml dịch lọc, nhỏ vài giọt *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)*. Xuất hiện có tủa dục. Nhỏ tiếp khoảng 10 giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)* cho đến pH kiềm. Dung dịch trở nên trong và tăng màu vàng.
Lấy 2 ml dịch lọc, thêm đồng thể tích *dung dịch natri carbonat 3 % (TT)*, đun nóng nhẹ trong 5 min. Để nguội, thêm 1 đến 2 giọt *hỗn hợp diazo p-nitroanilin*, xuất hiện màu đỏ anh đào.
Cách pha hỗn hợp diazo p-nitroanilin: Hòa tan 0,4 g *p-nitroanilin (TT)* trong một hỗn hợp gồm 20 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và 40 ml *nước*, làm lạnh ở 15 °C và thêm *dung dịch acid nitric 10 % (TT)* cho đến khi một giọt dung dịch làm giấy hồ tinh bột có iodid chuyển thành màu xanh.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Cloroform - ethyl acetat (9 : 1).
Dung dịch thử: Lấy khoảng 0,3 g bột dược liệu thô, thêm 5 ml *ethanol 96 % (TT)*, siêu âm trong 5 min, để lắng, lấy phần dịch trong ở trên làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,3 g bột Xà sàng (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng
Tiến hành phương pháp Định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Lấy khoảng 30 g dược liệu khô, thêm khoảng 200 ml *nước*; cất trong 3 h với tốc độ 2,5 ml/min đến 3,5 ml/min.
Dược liệu phải chứa ít nhất 1,0 % tinh dầu tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hoạch bằng cách nhổ hay cắt cả cây, phơi hoặc sấy nhẹ cho đến khô. Đập lấy quả, loại bỏ tạp chất, phơi hay sấy khô.

Bảo quản
Để nơi khô, thoáng mát, tránh làm mất tinh dầu.

Tính vị, quy kinh
Khổ, vi tân, mùi thơm hắc, ôn, hơi có độc. Vào hai kinh thận, tam tiêu.

Công năng, chủ trị
Cường dương, ôn thận, sát trùng, tán hàn. Chủ trị: Liệt dương, di tinh, mộng tinh, hoạt tinh, viêm loét âm đạo, âm hộ ngứa, ra khí hư đỏ lẫn trắng, phong thấp, đau khớp, nhiễm trùng ngoài da.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 3 g đến 9 g, dạng thuốc sắc.
Dùng ngoài: Nấu nước xông, rửa, lượng thích hợp.

Kiêng kỵ
Người thận suy, hỏa bốc hay cường dương không nên dùng.

XÍCH ĐỒNG NAM (Rễ)
Radix Clerodendri japonici
Mò đỏ

Rễ đã phơi hay sấy khô của cây Xích đồng nam (*Clerodendrum japonicum* (Thunb.) Sweet.), họ Cỏ roi ngựa (Verbenaceae). Tên đồng nghĩa: *Volkameria japonica* Thunb.; *Volkameria kaemperi* Jacq.; *Clerodendrum squamatum* Vahl; *Clerodendrum kaempferi* (Jacq.) Sieb. ex Steud.; *Clerodendrum infortunatum* auct. Non. L.

Mô tả
Rễ hình trụ, thẳng hoặc hơi cong, dài 10 cm đến 30 cm, đường kính 0,5 cm đến 2 cm và có nhiều rễ con. Mặt ngoài màu vàng xám, có những vết nhăn theo chiều dọc. Mặt cắt ngang màu vàng nhạt. Chất giòn cứng, dễ bẻ gãy, mùi thơm nhẹ, vị nhạt.

Vi phẫu
Lớp bần gồm tế bào hình chữ nhật xếp đều đặn, xếp thành hàng có nhiều chỗ bị nứt, rách. Mô mềm vỏ gồm các tế bào hình trứng, thành mỏng. Mô cứng gồm các tế bào, thành dày hóa gỗ, tụ thành đám rải rác thành vòng bao ngoài lớp libe, trong có chứa nhiều tinh thể calci oxalat hình khối. Libe gồm các tế bào nhỏ bao ngoài lớp gỗ. Tầng phát sinh libe-gỗ gồm một hàng tế bào thành mỏng. Gỗ gồm các mạch to nhỏ khác nhau, bó gỗ xuất phát từ tâm. Trong cùng là lớp mô mềm ruột, bao gồm những tế bào hình đa giác.

Soi bột
Các hạt tinh bột tròn, đứng riêng lẻ hoặc tập trung thành các dạng kép 2, kép 3 hoặc 4. Mảnh bần màu nâu đỏ bao gồm các tế bào hình chữ nhật dài, thành mỏng. Mảnh mô mềm chứa các hạt tinh bột. Tinh thể calci oxalat hình khối đứng riêng lẻ hoặc tập trung thành từng đám trong tế bào mô cứng. Các tế bào mô cứng thành dày, đứng riêng lẻ hoặc tập trung thành đám. Mảnh mạch điểm.

Định tính
A. Lấy khoảng 5 g bột dược liệu cho vào bình nón có dung tích 100 ml, thêm 50 ml *ethanol 90 % (TT)*. Lắc kỹ, đun trong cách thủy 10 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến khi còn khoảng 5 ml để làm các phản ứng sau:
Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 5 giọt *acid hydrocloric (TT)* và ít bột *magnesi (TT)*, lắc đều, xuất hiện màu đỏ hồng.
Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 2 giọt *dung dịch natri hydroxyd 20 % (TT)*, xuất hiện tủa vàng cam, tủa sẽ tan trong lượng dư thuốc thử.
Lấy 1 ml dịch lọc, thêm 1 ml *ethanol 90 % (TT)*, lắc đều, thêm 3 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, dung dịch thu được chuyển từ xanh nhạt sang xanh đen.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Toluen - ethyl acetat - acid formic (4 : 4 : 0,5).
Dung dịch thử: Lấy khoảng 10 g bột dược liệu, thêm 100 ml *methanol (TT)*. Đun hồi lưu trong cách thủy 15 min. Lấy dịch chiết, lọc qua giấy lọc, cô dịch lọc trên cách thủy đến còn 5 ml để làm dịch chấm sắc ký.
Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 10 g bột rễ Xích đồng nam (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng để khô trong không khí. Quan sát sắc ký đồ dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm và hiện màu bằng hơi iod. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất
Không quá 2 % (Phụ lục 12.11).

Định lượng
Cân chính xác khoảng 10 g bột dược liệu (qua rây số 355) cho vào bình nón. Thêm 100 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm 30 min, gạn lấy dịch chiết. Bã được chiết như trên 2 lần nữa. Gộp các dịch chiết methanol, cất thu hồi methanol dưới áp suất giảm đến còn khoảng 20 ml dịch chiết. Thêm 10 ml *nước* nóng, đun trong cách thủy 60 °C trong 30 min, khuấy kỹ để hòa tan. Lọc nóng qua bông, sau đó lọc tiếp qua giấy lọc gấp nếp. Lọc và tráng nhiều lần để thu dịch lọc (5 ml *nước* nóng/1 lần × 5 lần). Để nguội, gộp dịch lọc và dịch tráng vào bình gạn, lắc với *ethyl acetat (TT)* 5 lần, mỗi lần 50 ml. Gộp dịch chiết ethyl acetat, cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm còn khoảng 20 ml, cho dịch chiết này vào cốc đã cân bì. Bốc hơi trên cách thủy tới cắn. Sấy cắn ở 60 °C đến khối lượng không đổi, để nguội trong bình hút ẩm 30 min rồi đem cân ngay. Tính hàm lượng cắn thu được. Hàm lượng cắn thu được phải không được ít hơn 0,2 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Rễ thu hoạch vào mùa đông, rửa sạch, phơi khô.

Bào chế
Rễ thái phiến chéo dày 2 mm đến 3 mm, sao vàng.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ẩm, để nơi khô ráo.

Tính vị, quy kinh
Vị khổ, lương, vào 2 kinh tâm, tỳ.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt giải độc, khu phong trừ thấp, tiêu viêm. Chủ trị: Thấp khớp, đau lưng, đau gối, tê bại chân tay, viêm mật, vàng da, niêm mạc mắt bị vàng thẫm, nước tiểu có sắc tố mật.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 12 g đến 16 g, dưới dạng thuốc sắc. Thường phối hợp với một số vị thuốc khác.

XÍCH THƯỢC (Rễ)
Radix Paeoniae

Rễ đã phơi khô của cây Thược dược (*Paeonia lactiflora* Pall.) hoặc cây Xuyên xích thược (*Paeonia veitchii* Lynch), họ Hoàng Liên (Paeoniaceae).

Mô tả
Rễ hình trụ hơi cong, dài 5 cm đến 40 cm, đường kính 0,5 cm đến 3 cm. Mặt ngoài màu nâu, thô, có vân nhăn và rãnh dọc, có vết của rễ con và lỗ vỏ nhô lên theo chiều ngang, đôi khi vỏ ngoài dễ bị tróc. Chất cứng và giòn, dễ bẻ gẫy, mặt bẻ màu trắng phấn hoặc hồng, vỏ hẹp, gỗ có vân xuyên tâm rõ, đôi khi có khe nứt. Mùi hơi thơm, vị hơi đắng, chua và chát.
Dược liệu thái phiến: Các phiến dày hình gần tròn hoặc gần chữ nhật, bên ngoài và mép phiến màu nâu, bề mặt màu trắng vàng hoặc hồng; vỏ mỏng, gỗ xếp thành tia xuyên tâm, đôi khi có khe nứt.

Vi phẫu
Bần gồm vài hàng tế bào nâu. Tế bào mô mềm của vỏ dạng kéo dài ra theo hướng tiếp tuyến. Libe tương đối hẹp. Tầng phát sinh xếp thành một vòng. Tia gỗ tương đối rộng, mạch gỗ xếp theo hướng xuyên tâm, kèm theo có các sợi gỗ. Các tế bào mô mềm chứa các cụm tinh thể calci oxalat và hạt tinh bột. Tia gỗ, mạch gỗ, sợi gỗ nằm trong mô gỗ không hoá gỗ.

Định tính
A. Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 30 ml *ethanol 96 % (TT)*, lắc trong 15 min và lọc. Lắc 3 ml dịch lọc với 1 giọt *dung dịch sắt (III) clorid (TT)*, xuất hiện màu tía xanh da trời tới màu lục lam sau đó chuyển thành màu tía xanh da trời rồi đến màu lục tối.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Cloroform - ethyl acetat - methanol - acid formic (40 : 5 : 10 : 0,2).
Dung dịch thử: Lấy 0,5 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ethanol (TT)*, lắc kỹ trong 5 min, lọc. Bốc hơi dịch lọc đến khô, hòa tan cắn trong 2 ml *ethanol 96 % (TT)*.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan paeoniflorin chuẩn trong *ethanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 2 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có paeoniflorin chuẩn thì dùng 0,5 g bột Xích thược (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 4 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Phun *dung dịch vanilin 5 % trong acid sulfuric (TT)*, sấy ở 105 °C đến khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng giá trị R_f và màu sắc với vết của paeoniflorin trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu. Hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm
Không được quá 14,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 6 h).

Tro toàn phần
Không được quá 6,5 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.7).

Chất chiết được trong dược liệu
Không được dưới 28,0 %, tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết lạnh (Phụ lục 12.10). Dùng *nước* làm dung môi.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8, phương pháp 3).
Dùng 1 g bột dược liệu và 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị dung dịch đối chiếu.

Arsen
Không được quá 5 phần triệu (Phụ lục 9.4.2, phương pháp A).
Lấy 0,4 g bột dược liệu vào 1 chén bằng sứ hoặc thạch anh có nắp đậy, thêm 10 ml dung dịch *magnesi nitrat hexahydrat (TT)* 2 % trong *ethanol 96 % (TT)*, đốt hết ethanol, nung nóng từ từ cho đến khi than hóa, nếu chưa than hóa hoàn toàn thì làm ẩm cẩn bằng một lượng nhỏ *acid nitric (TT)*, tiếp tục nung tương tự như trên cho đến khi than hóa hoàn toàn. Để nguội, thêm 3 ml *acid hydrocloric (TT)*, hòa tan cẩn bằng cách đun nóng trên cách thủy. Lấy dung dịch này tiếp tục tiến hành thử theo phương pháp A, Phụ lục 9.4.2, dùng 2 ml *dung dịch arsen mẫu 1 phần triệu As (TT)*.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - dung dịch kali dihydro phosphat 0,05 M (40 : 65).
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng paeoniflorin chuẩn và hòa tan trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 50 µg/ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,5 g bột thô dược liệu vào bình nón nút mài có dung tích thích hợp, thêm chính xác 25,0 ml *methanol (TT)*, đậy nút, cân xác định khối lượng. Ngâm trong 4 h, lắc siêu âm trong 20 min, để nguội, cân lại và bổ sung *methanol (TT)* để được khối lượng ban đầu. Lắc đều, lọc qua giấy lọc thường, bỏ 10 ml dịch lọc đầu, lọc dịch lọc sau qua màng lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký dung dịch chuẩn theo điều kiện đã mô tả, tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết tính theo pic paeoniflorin không được dưới 3000.
Tiêm riêng biệt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Căn cứ vào diện tích pic thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{23}H_{28}O_{11}$ của paeoniflorin chuẩn, tính hàm lượng paeoniflorin trong dược liệu.
Dược liệu phải chứa ít nhất 1,8 % paeoniflorin ($C_{23}H_{28}O_{11}$) tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Thu hái vào mùa xuân, thu. Đào lấy rễ, loại bỏ thân, rễ con, đất cát, phơi khô.
Dược liệu thái lát: Lấy rễ đã phơi khô, phân loại lớn nhỏ, rửa sạch, ủ mềm, thái lát dày, phơi khô.

Bảo quản
Để nơi khô, thoáng mát.

Tính vị, quy kinh
Toan, khổ, vi hàn. Vào kinh can, tỳ.

Công năng, chủ trị
Lương huyết, tán ứ, giảm đau. Chủ trị: Ôn độc phát ban, ỉa máu, chảy máu cam, mắt đỏ sưng đau, can uất, sườn đau, kinh bế, hành kinh đau bụng, hòn cục trong bụng, sưng đau do sang chấn, nhọt độc sưng đau.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc.

Kiêng kỵ
Không dùng phối hợp với Lê lô.

XUYÊN KHUNG (Thân rễ)
Rhizoma Ligustici wallichii

Thân rễ đã phơi hay sấy khô của cây Xuyên khung (*Ligusticum wallichii* Franch.), Họ Hoa tán (Apiaceae).

Mô tả
Thân rễ (quen gọi là củ) có hình khối méo mó, nhiều dạng, đường kính 2 cm đến 5 cm, có nhiều u không đều nổi lên. Bề ngoài màu nâu đất, có nếp nhăn, xù xì, có vết tích của rễ con còn sót lại. Phía đỉnh có vết thân cây cắt đi, hình tròn, lõm xuống. Chất cứng, khó bẻ gãy. Mặt cắt ngang màu vàng nâu. Mùi thơm, vị cay hơi tê.

Vi phẫu
Bần gồm nhiều lớp tế bào. Mô mềm vỏ tế bào hình tròn, rải rác có những đám khuyết to và có nhiều ống tiết màu vàng nâu nhạt, bên trong có chứa chất tiết. Chất tiết này bắt màu đỏ cam, khi nhỏ lên vi phẫu vài giọt *dung dịch Sudan III (TT)*. Libe cấp 2 gồm nhiều lớp tế bào. Rải rác có ống tiết. Gỗ cấp 2 gồm các mạch gỗ rải rác. Mô mềm gỗ có tế bào gỗ chưa hóa gỗ (màu hồng). Libe và gỗ không xếp thành vòng liên tục vì bị cắt bởi các tia ruột rộng. Trong mô mềm ruột rải rác có các ống tiết.

Bột
Nhiều hạt tinh bột hình tròn, bầu dục, hình thận đường kính 5 µm đến 16 µm. Rốn hình chấm, hình vạch ngang, hạt đơn hoặc hạt kép. Mảnh bần màu nâu. Mảnh mạch mạng, mạch vạch, mạch thang. Sợi có thành dày. Mảnh tế bào mô mềm có nhiều hạt tinh bột và có ống tiết.

Định tính

A. Lấy 3 g bột dược liệu làm ẩm bằng *amoniac (TT)*, để yên trong 30 min, thêm 20 ml *cloroform (TT)*, ngâm 4 h, lắc siêu âm trong 30 min, lọc. Dịch lọc cho vào bình gạn, thêm 5 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*, lắc, để yên cho dung dịch tách thành 2 lớp, gạn lấy dịch acid cho vào 2 ống nghiệm, mỗi ống 1 ml.

Ống 1: Thêm 1 giọt *thuốc thử Dragendorff (TT)* có tủa màu đỏ gạch.

Ống 2: Thêm 1 giọt *thuốc thử Bouchardat (TT)* có tủa đỏ nâu.

B. Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 5 ml *ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (TT)*, để yên 10 min ở nhiệt độ phòng, thỉnh thoảng lắc rồi để yên. Gạn lấy 1 ml dịch chiết ether dầu hỏa đem bốc hơi đến cắn khô, thêm 3 giọt *dung dịch acid 3,5-dinitrobenzoic 2 %* trong *methanol (TT)* và 2 giọt *methanol (TT)* bão hòa *kali hydroxyd (TT)*, xuất hiện màu tím hồng.

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

Bản mỏng: Silica gel 60F$_{254}$.

Dung môi khai triển: n-Hexan - ethyl acetat (3 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu thêm 20 ml *ether (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 1 h, để nguội, lọc. Bốc hơi dịch lọc trên cách thủy đến cắn. Hòa tan cắn trong 2 ml *ethyl aceat (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Xuyên khung (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra khỏi bình sắc ký, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Tro toàn phần

Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 9,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol* 96 % *(TT)* làm dung môi.

Định lượng

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Acetonitril - dung dịch acid phosphoric 0,085 % (17 : 83).

Dung dịch chuẩn: Hòa tan acid ferulic chuẩn trong *methanol 70 % (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 20 µg/ml.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,5 g bột dược liệu (qua rây số 355) vào bình nón nút mài dung tích 100 ml, thêm chính xác 50,0 ml *methanol 70 % (TT)*, đậy nắp, cân xác định khối lượng. Đun sôi hồi lưu cách thủy 30 min, để nguội, cân lại và bổ sung khối lượng mất đi bằng *methanol 70 % (TT)* nếu cần, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 321 nm.

Tốc độ dòng: 1,3 ml/min.

Thể tích tiêm: 10 µl.

Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký dung dịch chuẩn và ghi sắc ký đồ. Số đĩa lý thuyết của cột tính theo pic của acid ferulic không được ít hơn 5000.

Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, dung dịch thử.

Tính hàm lượng acid ferulic trong dược liệu dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{10}H_{10}O_4$ của acid ferulic chuẩn. Hàm lượng acid ferulic ($C_{10}H_{10}O_4$) không được ít hơn 0,05 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Lấy thân rễ, cắt bỏ gốc thân, rửa sạch, phơi hoặc sấy nhẹ cho khô. Khi dùng thái phiến, vi sao.

Bảo quản

Để nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Tân, ôn. Vào các kinh can, đởm, tâm bào.

Công năng, chủ trị

Hành khí hoạt huyết, trừ phong, giảm đau. Chủ trị: Điều kinh, nhức đầu, hoa mắt, cảm mạo phong hàn, phong thấp nhức mỏi, ngực bụng đau tức, nhọt độc sưng đau.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 6 g đến 12 g, dạng thuốc sắc, thuốc bột hay rượu thuốc.

Kiêng kỵ

Người âm hư hỏa vượng không nên dùng.

XUYÊN SƠN GIÁP

Squama Manis

Vẩy Tê tê, vẩy Trút

Vẩy đã rửa sạch phơi hay sấy khô của con Tê tê *(Manis pentadactyla* L.), họ Tê tê (Manidae).

Mô tả

Vẩy tê tê rời có hình mảnh dẹt, hình quạt xòe, hình vỏ hến, giữa dày, mép mỏng, rộng khoảng 1,5 cm đến 4 cm. Mặt lưng màu đen hơi xanh bóng có nhiều vân thẳng hình nan quạt, mép có ít vân vòng cung. Mặt trong màu hơi nhạt hơn, nhẵn, ở giữa có đường nổi hình nắp vung chữ V, đầu nhọn, hướng tâm. Chất sừng, chắc, hơi dẻo, hơi trong. Mùi hôi khó chịu, vị nhạt.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Toluen - aceton (20 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu thêm 60 ml *cloroform (TT)* đun hồi lưu trên cách thủy trong 4 h, để nguội. Lọc. Bốc hơi dịch lọc đến cạn, hòa cặn trong 1 ml *cloroform (TT)*, được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Xuyên sơn giáp (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun lên bản mỏng hỗn hợp *anhydrid acetic (TT)* và *acid sulfuric (TT)* (9 : 1). Sấy ở 80 °C trong vài phút.
Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm, các vết phát quang trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết phát quang trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tạp chất
Không quá 4,0 % (Phụ lục 12.11).

Chế biến
Bắt con Tê tê, lột lấy cả tấm da nguyên vảy, nhúng hoặc luộc trong nước sôi, tách lấy vảy, rửa sạch, phơi hoặc sấy khô ở nhiệt độ thấp.

Bào chế
Xuyên sơn giáp sống: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, sấy khô ở nhiệt độ thấp.
Xuyên sơn giáp sao cách cát: Phân loại vảy Tê tê theo cùng kích thước, cho cát đã rửa sạch vào chảo, đun to lửa (lửa vô) cho nóng, cho Xuyên sơn giáp vào, đảo đều cho đến khi tất cả thuốc đã phồng giòn màu vàng đều, lấy ra sàng loại bỏ cát và để nguội. Giã dập trước khi dùng.
Thổ xuyên sơn giáp: Phân loại Xuyên sơn giáp có cùng kích cỡ. Cho cát đã rửa sạch vào chảo, sao to lửa, thêm tiếp xuyên sơn giáp sạch vào sao cho đến khi Xuyên sơn giáp phồng giòn, sàng loại bỏ cát, nhúng hoặc vảy dấm vào Xuyên sơn giáp nóng, sấy khô, giã dập trước khi dùng. Dùng 3 L dấm cho 10 kg Xuyên sơn giáp.

Bảo quản
Nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh
Hàm, hơi hàn. Quy vào các kinh can, vị.

Công năng, chủ trị
Hoạt huyết khứ ứ, thông tuyến sữa, tiêu sưng bài mủ, trừ phong kinh lạc. Chủ trị: Kinh bế, kết cục ở bụng, mất sữa, mụn nhọt, phong tê thấp.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 6 g đến 9 g, (sắc) dạng bột sau khi đã chế. Hoặc 1 g đến 2 g thuốc tán/lần.

Kiêng kỵ
Không nên dùng cho phụ nữ có thai, mụn nhọt đã phá miệng, người hư nhược.

XUYÊN TÂM LIÊN
Herba Andrographii

Bộ phận trên mặt đất đã phơi hay sấy khô của cây Xuyên tâm liên [*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees], họ Ô rô (Acanthaceae).

Mô tả
Thân hình vuông, thường phân nhánh, đốt hơi phình ra, kết cấu mỏng manh, dễ gãy. Lá đơn, mọc đối, có cuống ngắn, hình mác, dài 3 cm đến 10 cm, rộng 1 cm đến 2 cm, gốc thuôn, đầu nhọn dài, hai mặt nhẵn, mặt trên màu xanh đậm, mặt dưới màu xanh nhạt. Hoa nhỏ, mọc thành chùm ở nách lá và ở ngọn cành. Mùi nhẹ, đặc trưng, vị rất đắng.

Vi phẫu
Lá: Tế bào biểu bì trên hình gần vuông hoặc hình chữ nhật, các tế bào biểu bì dưới tương đối nhỏ, cả hai bề mặt biểu bì đều có tế bào rộng chứa nang thạch hình tròn, hình bầu dục hoặc hình chùy, đường kính tới 36 µm và dài 180 µm. Có lông tiết, đôi khi có lông che chở. Đầu lông tiết dẹt, có 4, 6 hoặc 8 tế bào, đường kính tới 40 µm, cuống rất ngắn. Lông che chở gồm 1 đến 4 tế bào, dài tới 160 µm, đường kính 40 µm, bề mặt có phủ lớp cutin. Lỗ khí có nhiều ở biểu bì dưới, các tế bào phụ thay đổi nhiều về kích thước. Mô dày nằm sát biểu bì trên và biểu bì dưới của gân lá. Cung libe-gỗ nằm ở giữa gân lá, bó mạch gỗ ở phía trên và libe ở phía dưới. Mô mềm. Mô giậu gồm một hàng tế bào hình chữ nhật, xếp thẳng đứng. Mô khuyết chiếm 2/3 bề dày của phiến lá.
Thân: Biểu bì có lông tiết và lông che chở. Mô dày tập trung nhiều ở bốn góc của thân. Mô mềm vỏ. Nội bì gồm một hàng tế bào có thành dày. Bó libe-gỗ. Phần ruột gồm những tế bào mô mềm lớn. Các tinh thể calci oxalat hình kim nhỏ rải rác trong mô mềm vỏ và mô mềm ruột.

Bột
Bột màu xanh, mùi nhẹ, đặc trưng, vị rất đắng. Soi bột dưới kính hiển vi thấy: Mảnh tế bào biểu bì trên của lá với mô giậu và nang thạch nằm ở dưới; biểu bì dưới có tế bào lỗ khí, nang thạch và lông tiết. Mảnh tế bào mô mềm. Mảnh mạch hình thang, mạch xoắn, mạch điểm. Các bó sợi. Các mảnh tế bào biểu bì của thân cùng khí khổng, nang thạch và lông tiết. Rải rác có nang thạch, lông đơn bảo và đa bào. Hạt phấn hình cầu, đường kính khoảng 4 µm đến 6 µm, màu vàng nâu.

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol (1 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 1,0 g bột dược liệu qua (qua rây số 250), thêm 30 ml *ethanol 96 % (TT)*, chiết siêu âm 30 min. Lọc dịch chiết, dùng 300 mg than hoạt để loại màu. Lọc lại dịch chiết và cô dưới áp suất giảm đến cắn. Hòa cắn trong 1 ml *methanol (TT)*.
Dung dịch chất đối chiếu: Hòa tan andrographolid chuẩn trong *ethanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml.
Dung dịch dược liệu đối chiếu: Nếu không có chất chuẩn trên, dùng 1,0 g bột Xuyên tâm liên (mẫu chuẩn) và tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra để khô ngoài không khí. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm, xuất hiện các vết tắt quang. Phun lên bản mỏng *dung dịch vanilin 2 % trong acid sulfuric (TT)*. Sấy bản mỏng ở 110 °C trong 5 min. Quan sát dưới sánh sáng thường.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết có cùng giá trị R_f và màu sắc với vết của andrographolid trên sắc ký đồ của dung dịch chất đối chiếu. Hoặc trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có 5 vết màu hồng, tím đến tím đậm, cùng màu và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch dược liệu đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 4 h).

Tro không tan trong acid hydrocloric
Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.7).

Lá
Không ít hơn 30 % (Phụ lục 12.11).

Tạp chất
Không quá 2 % (Phụ lục 12.11).

Chất chiết được trong dược liệu
Không ít hơn 8,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.
Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol 96 % (TT)* làm dung môi.

Định lượng diterpen lacton
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg andrographolid chuẩn, cho vào bình định mức 50 ml, thêm *ethanol 96 % (TT)* lắc cho tan, thêm cùng dung môi đến vạch, lắc đều, được dung dịch có nồng độ khoảng 1000 µg/ml.
Lập đường chuẩn:
Từ dung dịch có nồng độ 1000 µg/ml, pha các dung dịch chuẩn trong *ethanol 96 % (TT)* có các nồng độ lần lượt là 25, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 400, 500 µg/ml.
Lấy chính xác 1,0 ml của mỗi dung dịch, cho vào 9 ống, để bay hết dung môi trên cách thủy đến cắn. Thêm vào mỗi ống 3 ml *ethanol 96 % (TT)*, lắc đều. Ngay trước khi tiến hành đo quang, thêm vào mỗi ống 500 µl *thuốc thử Kedde* (250 µl Kedde A và 250 µl Kedde B). Đo độ hấp thụ ở bước sóng 544 nm (Phụ lục 4.1), với mẫu trắng là 3 ml *ethanol 96 % (TT)* và 500 µl *thuốc thử Kedde* được thêm vào ngay trước khi đo. Vẽ đường chuẩn biểu thị sự liên hệ giữa độ hấp thụ và nồng độ dung dịch.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 1 g bột dược liệu (qua rây số 125), chiết siêu âm 3 lần, mỗi lần 30 min với 20 ml *ethanol 96 % (TT)*. Lọc, gộp các dịch lọc, dùng 300 mg than hoạt để loại màu. Lọc lấy dịch chiết, rửa giấy lọc bằng *ethanol 96 % (TT)*, gộp dịch lọc và dịch rửa. Cô dưới áp suất giảm đến cắn. Hòa tan cắn trong *ethanol 96 % (TT)*, chuyển dịch ethanol vào bình định mức 100 ml, thêm *ethanol 96 % (TT)* đến vạch, lắc kỹ. Lấy chính xác 20,0 ml dung dịch trên cho vào bình định mức 50 ml, thêm *ethanol 96 % (TT)* đến vạch, lắc kỹ, được dung dịch thử. Lấy chính xác 1,0 ml dung dịch thử, cho vào ống đo, để bay hết dung môi trên cách thủy đến cắn. Thêm vào ống 3 ml *ethanol 96 % (TT)*, lắc đều. Ngay trước khi tiến hành đo quang, thêm vào mỗi ống 500 µl *thuốc thử Kedde* (250 µl Kedde A và 250 µl Kedde B). Đo độ hấp thụ ở bước sóng 544 nm (Phụ lục 4.1), với mẫu trắng là 3 ml *ethanol 96 % (TT)* và 500 µl *thuốc thử Kedde* được thêm vào ngay trước khi đo. Dựa vào đường chuẩn đã lập ở trên, tính nồng độ (µg/ml) của dung dịch thử, từ đó tính hàm lượng phần trăm diterpen lacton trong dược liệu theo andrographolid ($C_{20}H_{30}O_5$).
Hàm lượng diterpen lacton toàn phần không ít hơn 6,0 % tính theo andrographolid ($C_{20}H_{30}O_5$) trên dược liệu khô kiệt.
Ghi chú:
Thuốc thử Kedde A: Dung dịch *acid 3,5-dinitrobenzoic* 2 % trong *ethanol (TT)*.
Thuốc thử Kedde B: Dung dịch *kali hydroxyd (TT)* 5,7 % trong *ethanol (TT)*.
Phản ứng của andrographolid và thuốc thử Kedde nhanh mất màu nên quá trình đo quang cần tiến hành ngay sau khi thực hiện phản ứng tạo màu.

Chế biến
Thu hái khi cây bắt đầu ra nụ hoặc nở hoa. Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, thái thành từng đoạn, phơi hay sấy ở 50 °C đến 60 °C đến khô.

Bào chế
Lấy dược liệu khô, sạch cắt nhỏ, sao hơi vàng.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát. Tránh sâu mọt, nấm mốc.

Tính vị, quy kinh
Vị rất đắng, tính hàn. Vào kinh phế, can, tỳ.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt giải độc, thanh nhiệt táo thấp, thanh tràng chỉ lỵ, thanh phế chỉ khái. Chủ trị các bệnh viêm ruột, lỵ cấp tính, viêm phổi, viêm họng, amidan, ho, ho gà, viêm gan virus, viêm đường tiết niệu, mụn nhọt, ung thũng dinh độc, rắn độc cắn.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 4 g đến 16 g dưới dạng thuốc sắc, hoặc bột. Dùng ngoài: Ngày dùng 20 g đến 40 g lá tươi, giã nát để đắp, hoặc sắc lấy nước rửa chỗ mụn nhọt, ngứa lở.

Kiêng kỵ
Do vị thuốc có vị rất đắng nên không dùng thời gian dài, ảnh hưởng đến tiêu hóa.

XUYÊN TIÊU (Quả)

Fructus Zanthoxyli
Hoa tiêu

Quả đã phơi khô của nhiều loài Xuyên tiêu (*Zanhoxylum* sp.), họ Cam (Rutaceae).

Mô tả
Quả nhỏ, khô, thường tập trung từ 1 đến 3 hoặc 5 quả trên một cuống chùm quả, xếp thành hình sao. Quả nang, đường kính 3 mm đến 5 mm, khi chín nứt thành hai mảnh vỏ, mặt ngoài màu nâu xám, có nhiều điểm tinh dầu và vân sần sùi hình mạng; mặt trong màu trắng xám, nhẵn bóng. Hạt hình trứng, đường kính 2 mm đến 3 mm, màu đen, nhẵn bóng. Mùi thơm, vị cay tê lưỡi.

Bột
Màu nâu hơi ánh vàng, vị cay. Soi kính hiển vi thấy: Đám sợi dài của vỏ quả ngoài, tế bào mô mềm của vỏ quả hình chữ nhật hoặc đa giác dài, không màu. Mảnh vỏ hạt màu nâu đen khó nhìn rõ tế bào, đôi khi thấy rõ từng đám tế bào gần như hình nhiều cạnh, màu vàng nâu. Các mảnh mạch của cuống quả. Mảnh nội nhũ chứa hạt aleuron và các giọt dầu.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Ethyl acetat - ethanol 95 % - nước (8 : 2 : 1).
Dung dịch thử: 1,0 g dược liệu đã nghiền nhỏ, thêm 100 ml *ethanol 70 % (TT)*, lắc kỹ trong 30 min, lọc lấy dịch lọc làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 1,0 g Xuyên tiêu (mẫu chuẩn) nghiền nhỏ, chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai xong, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 12.0 % (Phụ lục 12.13). Dùng 10 g dược liệu đã nghiền nhỏ.

Tạp chất (Phụ lục 12.11)
Tỷ lệ hạt đã rời hẳn ra ngoài: Không quá 2.0 %.
Cuống hoa và cành: Không quá 5,0 %.
Các tạp chất khác: Không quá 1,0 %.

Tro toàn phần
Không quá 6,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không quá 1,5 % (Phụ lục 9.7).

Định lượng
Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Hàm lượng tinh dầu không ít hơn 2,0 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến
Hái các chùm quả già đã chín, vỏ quả đã mở, đem phơi thật khô (tuốt lấy quả), khi dùng sao đến có mùi thơm là được.

Bảo quản
Để nơi khô mát.

Tính vị, quy kinh
Tân, ôn. Vào ba kinh: Phế, tỳ, thận.

Công năng, chủ trị
Ôn trung tán hàn, trừ thấp, sát trùng. Chủ trị: Đau bụng lạnh, nôn mửa, ỉa chảy, phong thấp, đau răng, đau bụng giun.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng từ 4 g đến 8 g, dạng thuốc sắc hoặc bột. Khi chữa đau răng, dùng nước sắc đặc ngậm nhiều lần rồi nhổ đi.

Kiêng kỵ
Huyết áp cao, âm hư hỏa vượng, táo bón không nên dùng.

XƯƠNG BỒ

Rhizoma Acori
Thạch xương bồ lá to, Thủy xương bồ

Xương bồ là thân rễ đã phơi khô, hoặc sấy khô của cây Thạch xương bồ lá to (*Acorus gramineus* Soland. var. *macrospadiceus* Yamamoto Contr.), và cây Thủy Xương bồ (*Acorus calamus* L. var. *angustatus* Bess.), họ Ráy (Araceae).

Mô tả
Thạch xương bồ lá to: Thân rễ hình trụ dẹt, dài 20 cm đến 5 cm, đường kính 5 mm đến 7 mm, đốt dài 7 mm đến 8 mm, hoặc 1 cm về phía ngọn. Phía ngọn đôi khi phân 2 đến 3 nhánh phụ, mỗi nhánh dài khoảng 5 cm, ở mỗi đốt có các rễ thưa và cứng. Khi khô vỏ thân rễ có màu nâu gỉ sắt. Thể chất cứng, vết bẻ có nhiều xơ. Thân rễ có mùi thơm đặc trưng.
Thủy xương bồ: Thân rễ hình trụ dẹt, dài trung bình 50 cm đến 60 cm, có khi tới 1 m, dày 0,5 cm đến 1 cm, đốt dài 1 cm, mang về phía gốc và phía ngọn, đôi khi phân 2 đến 3 nhánh phụ, mỗi nhánh dài khoảng 5 cm, ở mỗi đốt có các rễ

phụ thưa. Khi khô vỏ rễ có màu nâu gỉ sắt, điểm nhiều chấm đen. Thể chất dai, xốp. Thân rễ có mùi thơm đặc trưng.

Vi phẫu

Thạch xương bồ lá to: Thiết diện của thân rễ hình trái xoan. Tỷ lệ giữa phần từ lớp bần đến vòng nội bì và từ nội bì vào trung tâm là 2 : 1.

Lớp biểu bì gồm những tế bào nhỏ, thành dày hóa gỗ. Phần mô mềm vỏ có nhiều bó sợi hình tròn, đường kính khoảng 102 µm. Nhiều bó sợi bên ngoài có tinh thể calci oxalat. Có nhiều tế bào chứa tinh dầu, kích thước khoảng 50 µm. Nhiều hạt tinh bột đơn hoặc kép. Sát vòng nội bì có một lớp bó libe-gỗ xếp thưa. Mỗi bó có đường kính khoảng 306 µm. Libe ở hai đầu, gỗ ở giữa.

Vòng nội bì có một lớp tế bào hình chữ nhật. Phần mô ruột có nhiều bó libe-gỗ, mỗi bó có gỗ ở ngoài, libe ở trong. Có một vòng bó libe-gỗ thưa xếp sát vòng nội bì. Ngoài ra còn có nhiều bó libe-gỗ xếp lộn xộn.

Thủy xương bồ: Vi phẫu cắt ngang có hình tròn hơi dẹt. Tỷ lệ giữa phần từ lớp bần đến vòng nội bì và từ nội bì vào trung tâm là 0,7 : 1. Lớp biểu bì gồm những tế bào nhỏ, thành dày hóa gỗ, dễ bong ra. Phần mô mềm vỏ có nhiều khuyết, đường kính khuyết trung bình 102 µm, có nhiều bó sợi hình tròn, đường kính 102 µm. Nhiều tế bào chứa tinh dầu màu vàng nhạt. Nhiều hạt tinh bột đơn hoặc kép trong tế bào mô mềm. Sát vòng nội bì có một lớp bó libe-gỗ xếp thưa, mỗi bó đường kính trung bình 306 µm, ở giữa có các tế bào chứa các tinh thể calci oxalat bám sát ở bên ngoài các bó sợi. Vòng nội bì có một lớp tế bào hình chữ nhật.

Phần mô ruột: Sát vòng nội bì có một lớp bó libe-gỗ, kích thước tương tự nhau (306 µm) xếp đều đặn. Bên trong ruột cũng có các bó libe-gỗ sắp xếp lộn xộn.

Bột

Thạch xương bồ lá to: Bột hơi màu vàng, mùi thơm đặc trưng. Mảnh mô mềm gồm tế bào thành mỏng có nhiều hạt tinh bột đơn hoặc kép. Các tế bào chứa tinh dầu màu nâu nhạt. Nhiều đám sợi có tinh thể calci oxalat hình khối lăng trụ. Tinh thể calci oxalat hình khối nằm rải rác, hoặc tập trung trong bó sợi, đường kính 10 µm đến 40 µm. Các mảnh mạch vạch rải rác riêng lẻ hoặc tập trung thành bó. Nhiều hạt tinh bột hình gần tròn, đường kính 3 µm đến 15 µm, nằm rải rác hoặc trong các mảnh mô mềm.

Thủy xương bồ: Màu nâu nhạt, mùi thơm đặc trưng. Soi kính hiển vi thấy: Nhiều hạt tinh bột đơn hoặc kép, đường kính 3 µm đến 5 µm. Mảnh mô mềm gồm nhiều tế bào thành mỏng, chứa tinh bột.

Rải rác có mảnh mạch, sợi và tinh thể calci oxalat hình nhiều cạnh. Tế bào chứa tinh dầu màu nâu nhạt. Mảnh bần gồm tế bào nhiều cạnh, màu nâu.

Định tính

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

Bản mỏng: *Silica gel G.*

Dung môi khai triển: *n-Hexan - ethyl acetat* (85 : 15).

Dung dịch thử: Lấy phần tinh dầu sau khi định lượng hòa tan trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 5 % (tt/tt).

Dung dịch đối chiếu: Lấy thân rễ Thạch xương bồ (mẫu chuẩn), tiến hành như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí. Phun *dung dịch vanilin trong ethanol 96 % (TT)*. Sấy bản mỏng ở 105 °C cho đến khi hiện rõ các vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 12.13).

Tạp chất

Không quá 1,0 % (Phụ lục 12.11).

Tro toàn phần

Không quá 4,6 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid

Không quá 1,3 % (Phụ lục 9.7).

Định lượng

Tiến hành theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7). Hàm lượng tinh dầu không ít hơn 1,5 % đối với Thạch xương bồ và 2,0 % đối với Thủy xương bồ, tính theo dược liệu khô kiệt.

Chế biến

Thu hoạch vào mùa thu, đào lấy thân rễ, rửa sạch, loại bỏ rễ con, phơi khô.

Bào chế

Loại bỏ tạp chất, ngâm dược liệu trong nước cho mềm, cắt thành phiến, dài 3 cm đến 5 cm, dày 2 mm đến 3 mm phơi khô. Khi dùng sao với cám gạo tới khi có mùi thơm, màu hơi vàng.

Bảo quản

Để nơi khô, mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Tân, ôn. Vào các kinh tâm, can, tỳ.

Công năng, chủ trị

Thông khiếu, trục đờm, tăng trí nhớ, tán phong, khoan trung khứ thấp, giải độc, sát trùng. Chủ trị: Bệnh phong điên gian, đờm vít tắc, hôn mê, hay quên, mộng nhiều, viêm phế quản, tai điếc, đi lỵ đau bụng. Dùng ngoài, trị mụn nhọt, ghẻ lở chảy nước.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 4 g đến 8 g, dạng thuốc sắc hoặc hoàn tán, thường phối hợp với các vị thuốc khác.

Kiêng kỵ

Âm hư, hoạt tinh, ra nhiều mồ hôi, không nên dùng.

Ý DĨ (Hạt)

Semen Coicis

Hạt của quả chín đã phơi hay sấy khô của cây Ý dĩ (*Coix lacrymajobi* var. *mayuen* (Rom.Caill.) Stapf), họ Lúa (Poaceae).

Mô tả

Hạt hình trứng ngắn hay hơi tròn, dài 0,5 cm đến 0,8 cm, đường kính 0,2 cm đến 0,5 cm. Mặt ngoài màu trắng hay trắng ngà, hơi bóng, đôi khi còn sót lại những mảnh vỏ quả màu đỏ nâu. Mặt trong có rãnh hình máng, đôi khi còn sót lại vỏ, ở đầu rãnh có một chấm màu nâu đen. Đôi khi nhìn rõ vết của cuống quả. Chất rắn chắc. Chỗ vỡ màu trắng ngà, có bột.

Vi phẫu

Cắt dọc theo rãnh: Nội nhũ chiếm phần lớn, màu trắng, có nhiều tinh bột, phôi hẹp và dài, nằm ở một bên rãnh.

Bột

Nhiều hạt tinh bột. Thường thấy hạt tinh bột đơn hình đĩa, một số hạt hình nhẫn, đường kính 2 µm đến 21 µm, rốn thường phân nhánh hình sao. Ít thấy hạt tinh bột kép, thường kép 2 hoặc 3.

Định tính

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

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C) - ethyl acetat - acid acetic* (10 : 3 : 0,1).

Dung dịch thử: Lấy 1 g bột dược liệu, thêm 10 ml *ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C) (TT)*, chiết siêu âm 30 min, để nguội, lọc. Bốc hơi dịch lọc trên cách thủy tới cắn, hòa cắn trong 1 ml *ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C) (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Ý dĩ (mẫu chuẩn), chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C, 4 h).

Tro toàn phần

Không quá 2,0 % (Phụ lục 9.8).

Tạp chất

Không quá 0,5 % (Phụ lục 12.11).

Tỉ lệ vụn nát

Qua rây có kích thước mắt rây 2 mm: Không quá 2 % (Phụ lục 12.12).

Chất chiết được trong dược liệu

Không ít hơn 5,5 % tính theo dược liệu khô kiệt.

Tiến hành theo phương pháp chiết nóng (Phụ lục 12.10), dùng *ethanol (TT)* làm dung môi.

Chế biến

Ý dĩ được thu hoạch vào mùa thu khi quả đã chín già, cắt lấy quả, phơi khô, đập lấy hạt phơi khô, loại bỏ quả non, lép. Rồi xay xát thu lấy nhân trắng, phơi hoặc sấy khô.

Bào chế

Ý dĩ sống: Loại bỏ tạp chất.

Ý dĩ sao cám: Cho cám vào chảo, đun đến khi có khói, cho ý dĩ vào chảo và khuấy nhanh tay đến khi bề mặt thuốc chuyển màu vàng nhạt. Đổ ra ngoài, để nguội, sàng loại bỏ cám. Dùng 1 kg cám cho 10 kg Ý dĩ.

Bảo quản

Nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Tính vị, quy kinh

Cam, hàn. Quy vào kinh tỳ, phế.

Công năng, chủ trị

Kiện tỳ, bổ phế, thanh nhiệt, chỉ tả, bài nùng, lợi thấp. Chủ trị: Phù thũng, tê thấp chân tay co rút, ỉa chảy do tỳ hư, phế ung, trường ung, cước khí, bí tiểu.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng từ 10 g đến 30 g.

Các chuyên luận

CAO DƯỢC LIỆU, DẦU, TINH DẦU

CAO ĐẶC ACTISÔ

Extractum Cynarae spissum

Cao đặc actisô được bào chế từ lá cây Actisô (*Cynara scolymus* L.) họ Cúc (Asteraceae) theo phương pháp thích hợp, để chế phẩm có hàm lượng cynarin ổn định.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Cao thuốc" (Phụ lục 1.1) và các yêu cầu sau đây:

Mô tả
Cao đặc actisô có thể chất mềm, đồng nhất. Màu nâu sẫm. Mùi đặc biệt. Vị hơi mặn chát và hơi đắng.

Định tính
A. Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong khoảng 20 ml *ethanol 96 % (TT)*, lọc. Được dịch lọc A.
Lấy 1 ml dịch lọc A cho vào ống nghiệm, thêm 0,1 g bột *magnesi (TT)* và 2 ml *acid hydrocloric (TT)*, để yên, xuất hiện màu hồng đến đỏ.
Lấy 1 ml dịch lọc A cho vào một ống nghiệm, thêm 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 N (TT)* và 0,5 ml *dung dịch natri nitrit 10 % (TT)*. Để lạnh ở 10 °C trong khoảng 20 min. Thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, sẽ xuất hiện màu hồng bền vững.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Acid formic khan - acid acetic khan - nước - ethyl acetat (5 : 5 : 10 : 100).
Dung dịch thử: Dịch lọc A được cô tới cắn, hòa cắn trong 10 ml *ethanol 60 % (TT)*, lắc với 5 ml *ethyl acetat (TT)*, tách lấy dịch chiết ethyl acetat làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan cynarin trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 1 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 15 µl dung dịch thử và 10 µl dung dịch đối chiếu. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch natri nitrit 10 % (TT)* sau đó vài phút phun *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*.
Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải có một vết màu vàng (flavonoid) có giá trị R_f khoảng 0,30 và một vết màu hồng (giá trị R_f khoảng 0,55) tương đương với vết cynarin chuẩn trong sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu.

Cắn không tan trong nước
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 50 ml *nước cất*, lọc, rửa cắn bằng *nước cất* đến khi nước rửa không màu, thu cắn và sấy khô ở 100 °C đến 105 °C đến khối lượng không đổi. Lượng cắn không được quá 3,0 % tính theo chế phẩm khô kiệt.

pH
Dung dịch cao đặc actisô 1 % (kl/tt) trong *nước* phải có pH từ 5,0 đến 6,0 (Phụ lục 6.2).

Mất khối lượng do làm khô
Không quá 20,0 %. Dùng 1,0 g chế phẩm sấy ở 70 °C đến khối lượng không đổi (Phụ lục 9.6).

Tro toàn phần
Không quá 35,0 %. Dùng 1,0 g chế phẩm (Phụ lục 9.8).

Định lượng
Cân khoảng 0,800 g cao, cho vào ống ly tâm và thêm 10 ml nước cất, trộn thật đều. Thêm 20 ml *dung dịch chì acetat 10 % (TT)*, lắc đều và ly tâm với tốc độ 3000 r/min, trong 15 min. Gạn bỏ nước, trộn đều cắn với 5 ml *dung dịch acid acetic 10 % (TT)* rồi thêm 25 ml *dung dịch acid sulfuric 1 N (TT)*. Chuyển hết dung dịch vào bình định mức màu nâu 100 ml, lắc đều trong 60 min, sau đó thêm nước cất đến vạch. Lấy 20 ml dung dịch này cho vào ống ly tâm và ly tâm với tốc độ 3000 r/min, trong 15 min. Lấy chính xác 2 ml dịch trong ở phía trên, cho vào bình định mức 50 ml. Thêm *methanol (TT)* đến vạch. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 325 nm (Phụ lục 3.1), dùng *methanol (TT)* làm mẫu trắng. Tính hàm lượng cynarin theo A (1 %, 1 cm), lấy 616 là giá trị A (1 %, 1 cm) của cynarin ở bước sóng 325 nm.
Hàm lượng cynarin ($C_{25}H_{24}O_{12}$) không được nhỏ hơn 2,5 % tính theo chế phẩm khô kiệt.

Bảo quản
Trong bao bì kín, chống ẩm. Để nơi khô, mát.

CAO ĐẶC DIỆP HẠ CHÂU ĐẮNG

Extractum Phyllanthi amari spissum

Cao đặc diệp hạ châu đắng được bào chế từ lá cây Diệp hạ châu đắng (*Phyllanthus amarus* Schum. et Thonn.) họ Thầu dầu (Euphorbiaceae) bằng phương pháp thích hợp để chế phẩm có hàm lượng phyllanthin ổn định.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Cao thuốc" (Phụ lục 1.1) và các yêu cầu sau đây:

Mô tả
Thể chất mềm, dẻo, đồng nhất. Màu nâu sẫm đến đen. Mùi hăng đặc biệt. Vị rất đắng.

Định tính
A. Lấy 0,5 g chế phẩm, thêm 50 ml *ethanol 90 % (TT)*, lắc đều, đun hồi lưu trong cách thủy 30 min. Lọc, bay hơi dịch lọc trên cách thủy đến còn khoảng 10 ml, chuyển vào 2 ống nghiệm, mỗi ống 2 ml dịch chiết để làm các phản ứng sau đây:
Ống 1: Thêm 4 - 5 giọt *acid hydrocloric (TT)*, rồi thêm một ít bột *magnesi (TT)*, xuất hiện màu đỏ.
Ống 2: Thêm 3 - 4 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 9 % (TT)*, xuất hiện màu xanh tím.
B. Lấy 0,1 g chế phẩm, thêm 5 ml *nước*, đun sôi trong vài phút rồi lọc. Để nguội, lấy 2 ml dịch lọc thêm 2 - 3 giọt dung dịch *gelatin 1 % (TT)*, xuất hiện tủa bông trắng.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel $60F_{254}$.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol (7 : 3).
Dung dịch thử: Lấy 0,5 g chế phẩm, hòa tan trong 20 ml *nước* nóng, để nguội, kiềm hóa bằng *amoniac (TT)* đến pH 9 - 10, lắc dung dịch thu được với *cloroform (TT)* 2 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp các dịch chiết cloroform, bay hơi trên cách thủy đến còn khoảng 2 ml, dùng làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 5 g Diệp hạ châu đắng (mẫu chuẩn), thêm 100 ml *nước*, đun sôi nhẹ trong 30 min, để nguội, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến còn 20 ml, để nguội, kiềm hóa bằng *amoniac (TT)* đến pH 9 - 10, lắc dung dịch thu được với *cloroform (TT)* 2 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp các dịch chiết cloroform, bay hơi trên cách thủy đến còn khoảng 2 ml, dùng làm dung dịch đối chiếu.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên cùng bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí rồi phun *thuốc thử Dragendorff (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải có vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
D. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel $60F_{254}$.
Dung môi khai triển: n-Hexan - ethyl acetat (2 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 0,4 g chế phẩm, hòa tan trong 20 ml *nước* nóng, để nguội, lắc kỹ dung dịch thu được với *cloroform (TT)* 2 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp các dịch chiết cloroform, bay hơi trên cách thủy đến cắn, hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*, dùng làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu (1): Lấy 4 g Diệp hạ châu đắng đã cắt nhỏ (mẫu chuẩn), thêm 100 ml *nước*, đun sôi nhẹ trong 30 min, để nguội, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến còn 20 ml, để nguội, lắc dịch thu được với *cloroform (TT)* 2 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp các dịch chiết cloroform, bay hơi trên cách thủy đến cắn, hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan phyllanthin chuẩn trong *ethanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 2 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên cùng bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí rồi phun *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*. Sấy bản mỏng ở 120 °C đến khi hiện rõ vết. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng thường hoặc ánh sáng tử ngoại tại bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch thử phải có vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và (2).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 20,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không được quá 10,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid hydrocloric
Không được quá 0,15 % (Phụ lục 9.7).

Cắn không tan trong nước
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 50 ml *nước cất* nóng, lọc qua giấy lọc đã cân bì, rửa cắn và giấy lọc bằng *nước cất* cho tới khi nước rửa không màu, sấy cắn và giấy lọc ở 100 °C đến 105 °C trong 3 h, lấy ra để nguội trong bình hút ẩm 30 min, cân nhanh để xác định khối lượng cắn. Lượng cắn không được quá 1,0 % tính theo chế phẩm khô kiệt.

pH
Dung dịch chế phẩm 1,0 % trong *nước* phải có pH từ 6,0 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1 g chế phẩm, tiến hành theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động:
Pha động A: *Methanol (TT)*.
Pha động B: *Dung dịch acid phosphoric 0,1 % (TT)*.
Dung dịch chuẩn: Hoà tan phyllanthin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 30 µg/ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,2 g chế phẩm đã xác định độ ẩm vào bình định mức dung tích 50 ml, thêm 5 ml *nước*, lắc kỹ để phân tán mẫu đều. Thêm 30 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm trong 30 min. Để nguội, bổ sung *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 230 nm.
Tốc độ dòng: 1,3 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 – 25	65	35
25 – 26	65 → 80	35 → 20
26 – 34	80	20
34 – 35	80 → 65	20 → 35
35 – 45	65	35

Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn, dung dịch thử. Ghi sắc ký đồ. Tính hàm lượng phyllanthin trong chế phẩm dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{24}H_{34}O_6$ trong phyllathin chuẩn. Hàm lượng phyllanthin ($C_{24}H_{34}O_6$) không được ít hơn 0,5 % tính theo chế phẩm khô kiệt.

Bảo quản
Bảo quản trong bao bì hút chân không, chống ẩm. Để nơi khô, mát.

CAO ĐẶC ĐINH LĂNG
Extractum Polysciacis fruticosae spissum

Cao đặc đinh lăng được điều chế từ rễ cây Đinh lăng (*Polyscias fruticosa* Harms), họ Nhân sâm (Araliaceae) bằng phương pháp thích hợp để chế phẩm có hàm lượng acid oleanolic ổn định.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Cao thuốc" (Phụ lục 1.1) và các yêu cầu sau đây:

Mô tả
Thể chất mềm dẻo, đồng nhất, màu nâu đen, mùi thơm.

Định tính
A. Hòa tan 1 g chế phẩm trong 20 ml *methanol (TT)* bằng cách dùng đũa thủy tinh khuấy kỹ, lắc siêu âm trong 15 min, lọc. Được dịch lọc A.
Cho 5 ml dịch lọc A vào ống nghiệm, cô cạn, thêm 10 ml nước cất, bịt miệng ống nghiệm, lắc trong 15 s. Xuất hiện cột bọt bền ít nhất trong vòng 10 min.
Cho 1 ml dịch lọc A vào ống nghiệm sạch, cô cạn, hòa tan cắn bằng 1 ml *cloroform (TT)*. Thêm 1 ml *anhydrid acetic (TT)*, thêm từ từ theo thành ống 1 ml *acid sulfuric (TT)*. Xuất hiện vòng có màu từ hồng đến tím đậm giữa 2 lớp dung dịch.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel 60GF_{254} đã hoạt hoá ở 100 °C trong 30 min.
Dung môi khai triển: n-Butanol - acid acetic - nước (4 : 1 : 5), lắc hỗn hợp trong 5 min, để yên, lấy lớp trên.
Dung dịch thử: Lấy 10 ml dịch lọc A cô đến cắn, hòa cắn với 10 ml *nước cất*. Lắc dung dịch thu được với *diethyl ether (TT)* cho đến khi lớp ether không màu hoặc màu rất nhạt. Tiếp tục lắc lớp nước hai lần, mỗi lần với 10 ml *n-butanol bão hòa nước (TT)*, gộp dịch chiết n-butanol, bốc hơi trên cách thủy đến cắn. Hòa cắn với 1 ml *methanol (TT)* được dịch chấm sắc ký.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 10 g rễ Đinh lăng (mẫu chuẩn) đã cắt nhỏ, đun hồi lưu trên cách thủy sôi với 30 ml *methanol (TT)* trong 2 h, lọc. Lấy dịch methanol cất thu hồi dung môi và cô trên cách thủy đến cắn. Tiếp tục tiến hành chiết như mô tả tại phần Dung dịch thử, bắt đầu từ "hòa cắn với 10 ml *nước cất*...".
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*, sấy bản mỏng ở 105 °C cho tới khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường và dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel 60GF_{254} đã hoạt hoá ở 100 °C trong 30 min.
Dung môi khai triển: Toluen - ethyl acetat (7 : 3).
Dung dịch thử: Lấy 0,1 g chế phẩm, thêm 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 4 M (TT)*, đun hồi lưu trong 4 h. Để nguội, lọc, lắc dịch lọc 3 lần, mỗi lần với 10 ml *cloroform (TT)*. Rửa dịch cloroform với *nước cất* đến pH trung tính. Tập trung dịch chiết cloroform và bốc hơi trên cách thủy đến còn khoảng 1 ml.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch acid oleanolic chuẩn 0,1 % trong *cloroform (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*, sấy bản mỏng ở 105 °C cho tới khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường và dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho vết có cùng màu và giá trị R_f với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 20,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 105 °C đến khối lượng không đổi).

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu.
Tiến hành phép thử giới hạn kim loại nặng (Phụ lục 9.4.8, phương pháp 3), sử dụng 1 g chế phẩm và 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)*.

Định lượng acid oleanolic
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - nước (80 : 20).
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 5 g chế phẩm vào bình nón nút mài 100 ml, thêm 40 ml *dung dịch acid hydrocloric 4 M (TT)*, lắc siêu âm 10 min. Đun sôi hồi lưu trong 3 h, để nguội, lọc dịch thủy phân lấy cắn. Dùng 30 ml nước (chia làm 3 lần) tráng bình thủy phân và gộp nước rửa và lọc qua giấy lọc trên. Dùng *nước* để rửa giấy lọc và cắn đến khi nước rửa trung tính (thử bằng giấy quỳ). Sấy cắn và giấy lọc ở 60 °C đến khô (khoảng 2 h). Thêm vào cắn 30 ml *cloroform (TT)*, đun sôi nhẹ trên cách thủy 5 min, lọc. Chiết lại cắn như trên 2 lần nữa, tập trung các dịch chiết cloroform, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa tan cắn vừa đủ trong 5 ml *methanol (TT)*, trộn đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 10 mg acid oleanolic chuẩn vào bình định mức 10 ml, thêm 8 ml *methanol (TT)*, lắc kỹ để hòa tan, bổ sung *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch, trộn đều. Lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký :
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) hoặc tương đương (cột Inertsil C18 là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 205 nm.
Tốc độ dòng: 1,3 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Tính hàm lượng acid oleanolic dựa vào diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và nồng độ của dung dịch acid oleanolic chuẩn.
Hàm lượng acid oleanolic ($C_{30}H_{48}O_3$) trong chế phẩm không được ít hơn 0,04 % tính theo chế phẩm khô kiệt.

Bảo quản
Trong bao bì kín, chống ẩm. Để nơi khô ráo, mát.

CAO ĐẶC ÍCH MẪU

Extractum Leonuri japonici spissum

Cao đặc ích mẫu được bào chế từ phần trên mặt đất của cây Ích mẫu (*Leonurus japonicus* Houtt.), họ Bạc hà (Lamiaceae) bằng phương pháp thích hợp để chế phẩm có hàm lượng stachydrin ổn định.
Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu trong chuyên luận "Cao thuốc" (Phụ lục 1.1) và các yêu cầu sau đây:

Mô tả
Khối đồng nhất, màu đen, thể chất mềm, dẻo. Mùi hăng đặc biệt. Vị đắng.

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: n-Butanol - acid hydrocloric - ethyl acetat (8 : 2 : 0,5).
Dung dịch thử: Lấy 3 ml dung dịch thử thu được trong phần Định lượng, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 0,5 ml *ethanol (TT)* được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu (1): Cân chính xác khoảng 1 g bột thô Ích mẫu (mẫu chuẩn), chuyển vào túi giấy lọc, đặt vào bình Soxhlet và tiến hành chiết bằng *ethanol (TT)* trong khoảng 4 h. Lấy dịch chiết ethanol, cô dưới áp suất giảm đến còn khoảng 5 ml, chuyển vào cột chứa *nhôm oxyd trung tính (TT)* đã được chuẩn bị trước {lấy 10 g *nhôm oxyd trung tính (TT)*, nhồi ướt bằng *ethanol 95 % (TT)* vào cột thủy tinh có khóa đường kính trong khoảng 1,5 - 1,8 cm để có chiều cao khoảng 4 cm trong cột}. Rửa giải bằng 200 ml *ethanol (TT)*, tập trung dịch rửa giải vào bình cầu 250 ml, cô cạn dưới áp suất giảm. Hòa tan cắn trong 3 ml *ethanol (TT)*, được dung dịch chấm sắc ký.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan stachydrin hydroclorid chuẩn trong *ethanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 1 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *thuốc thử Dragendorff (TT)* đến khi hiện rõ vết. Quan sát bản mỏng dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) và (2).

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 20,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 5 h).

Tro toàn phần
Không được quá 30,0 % (Phụ lục 9.8).

Tro không tan trong acid
Không được quá 3,0 % (Phụ lục 9.7).

Cắn không tan trong nước
Không được quá 10,0 % tính theo chế phẩm khô kiệt.
Hòa tan 1,0 g chế phẩm trong 50 ml *nước cất* nóng, lọc qua giấy lọc đã cân bì trước, rửa giấy lọc và cắn bằng *nước cất* nóng đến khi nước rửa không màu, sấy cắn và giấy lọc ở 100 - 150 °C trong 3 h, để nguội trong bình hút ẩm 30 min, cân nhanh để xác định khối lượng.

pH
5,0 đến 7,0 (Phụ lục 6.2).
Dùng dung dịch chế phẩm 1,0 % trong *nước* để đo.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - nước (91 : 9).
Dung dịch chuẩn: Hòa tan stachydrin hydroclorid trong *ethanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,6 mg/ml.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 1,0 g chế phẩm vào bình nón nút mài dung tích 100 ml, thêm 3 ml *nước*, lắc siêu âm để mẫu phân tán đều, thêm 60 ml *ethanol (TT)*, lắc siêu âm trong 5 min, đun sôi hồi lưu trong cách thủy 2 h, để nguội, lọc lấy dịch lọc. Tráng rửa bình và giấy lọc bằng 150 ml *ethanol (TT)*, gộp dịch rửa vào dịch lọc trên, cô dưới áp suất giảm đến còn khoảng 5 ml, chuyển vào cột chứa *nhôm oxyd trung tính (TT)* đã được chuẩn bị trước {lấy 10 g *nhôm oxyd trung tính (TT)*, nhồi ướt bằng *ethanol 95 % (TT)* vào trong cột thủy tinh có khóa, đường kính 1,5 cm đến 1,8 cm để có chiều cao khoảng 4 cm trong cột}. Rửa giải bằng 200 ml *ethanol (TT)*, tập trung dịch rửa giải vào bình cầu 250 ml, cô cạn dưới áp suất giảm. Hòa tan cắn vừa đủ trong 20 ml *hỗn hợp acetonitril - dung dịch acid acetic 0,1 %* (8 : 2), lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (15 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh aminopropyl liên kết silica gel (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại ở bước sóng 203 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành: Tiêm riêng biệt dung dịch chuẩn, dung dịch thử vào hệ thống sắc ký. Dựa vào diện tích pic thu được từ dung dịch chuẩn, dung dịch thử và hàm lượng $C_7H_{13}NO_2.HCl$ trong stachydrin hydroclorid chuẩn, tính hàm lượng stachydrin hydroclorid trong chế phẩm.
Hàm lượng stachydrin hydroclorid không ít hơn 1,2 % ($C_7H_{13}NO_2.HCl$) tính theo chế phẩm khô kiệt.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát.

CAO KHÔ CHÈ DÂY

Extractum Ampelopsis siccus

Cao khô chè dây được điều chế từ lá của cây Chè dây (*Ampelopsis cantoniensis* Planch.), họ Nho (Vitaceae) bằng phương pháp thích hợp để chế phẩm có tổng hàm lượng myricetin và dihydromyricetin ổn định.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Cao thuốc" (Phụ lục 1.1) và các yêu cầu sau đây:

Mô tả
Bột màu vàng nâu, vị đắng hơi chát.

Định tính
A. Lấy khoảng 1,0 g bột chế phẩm cho vào một ống nghiệm, thêm 10 ml *ethanol 90 % (TT)*, lắc kỹ, đặt trên cách thủy khoảng 1 min cho tan, lọc. Lấy 1 ml dịch chiết cho vào ống nghiệm nhỏ, thêm một ít *bột magnesi (TT)* và 2 giọt *acid hydrocloric (TT)*, dung dịch xuất hiện màu đỏ.
B. Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Điều kiện sắc ký. Dung dịch thử: Chuẩn bị như mục Định lượng.
Dung dịch chuẩn (1): Hòa tan dihydromyricetin chuẩn trong *methanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,2 mg/ml.
Dung dịch chuẩn (2): Hòa tan myricetin chuẩn trong *methanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,01 mg/ml.
Tiêm lần lượt dung dịch thử và các dung dịch chuẩn (1) và (2) vào hệ thống sắc ký theo các điều kiện đã nêu, ghi sắc ký đồ.
Sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho 2 pic có thời gian lưu tương tự với thời gian lưu của pic dihydromyricetin và myricetin trên sắc ký đồ của các dung dịch chuẩn (1) và (2).
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254} tráng sẵn (TT), hoạt hóa bản mỏng ở 105 °C trong 30 min.
Dung môi khai triển: Toluen - ethyl acetat - aceton - acid formic (5 : 2 : 2 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 0,1 g chế phẩm, thêm 10 ml *ethanol (TT)*, lắc siêu âm trong 10 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol (TT)* được dung dịch chấm sắc ký.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột lá Chè dây (mẫu chuẩn), thêm 50 ml *ethanol 70 % (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 30 min, lọc, chiết lại bã như trên 1 lần nữa. Tập trung dịch chiết ethanol, cô trên cách thủy đến cạn. Khuấy kỹ cắn với *n-butanol (TT)* 3 lần, mỗi lần 10 ml, lọc, gộp dịch lọc butanol, cất thu hồi dung môi đến cạn, cô trên cách thủy đến cắn. Hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol (TT)* được dung dịch chấm sắc ký.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 12 cm đến 14 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun hỗn hợp dung dịch *acid boric (TT)* 10 % và dung dịch *acid oxalic (TT)* 10 % (2 : 1) và sấy bản mỏng ở 100 °C đến khi xuất hiện các vết. Quan sát dưới ánh sáng thường.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và cùng giá trị R_f với các vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không quá 5,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, đến khối lượng không đổi).

Kim loại nặng
Không quá 25 phần triệu (Phụ lục 9.4.8, phương pháp 3).
Dùng 1,0 g chế phẩm và 2,5 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)*.

Tro sulfat
Không quá 10,0 % (Phụ lục 9.9).

Giới hạn nhiễm khuẩn
Đáp ứng yêu cầu về Giới hạn nhiễm khuẩn đối với thuốc đông dược có nguồn gốc từ động, thực vật (Phụ lục 13.6, phương pháp đĩa thạch).
Tổng số vi sinh vật hiếu khí: Không quá 10^4 CFU/g.
Tổng số nấm: Không quá 10^2 CFU/g.
Không được có vi khuẩn gây bệnh *Escherichia coli, Salmonella, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus*.
Cân chính xác khoảng 5 g chế phẩm vào bình nón nút mài 200 ml đã được tiệt trùng và đã cân bì. Thêm một lượng *dung dịch natri clorid 0,9 % vô trùng* vừa đủ để thu được dung dịch có nồng độ 10^{-1}, lắc đều. Từ dung dịch trên pha loãng thành các dung dịch có nồng độ 10^{-2}, 10^{-3}... rồi tiến hành thử theo Phụ lục 13.6.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Acetonitril - dung dịch acid phosphoric 0,01 M (25 : 75).
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,1 g chế phẩm cho vào một bình định mức 50 ml, thêm khoảng 30 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm 15 min, để nguội, thêm *methanol (TT)* đến vạch, lắc đều. Ly tâm lấy dịch trong, hút chính xác 2 ml dịch trong ở phía trên cho vào bình định mức 25 ml, thêm *methanol (TT)* đến vạch, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan dihydromyricetin và myricetin chuẩn trong *methanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 0,04 mg dihydromyricetin trong 1 ml và 0,025 mg myricetin trong 1 ml, lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (250 mm × 4 mm), nhồi pha tĩnh C (5 µm). Cột Lichrosorb RP 18 là thích hợp.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 260 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Nhiệt độ phân tích: Nhiệt độ phòng.
Tiến hành sắc ký theo điều kiện đã nêu. Dựa vào diện tích pic của dihydromyricetin và myricetin trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử, nồng độ các dung dịch chuẩn để tính hàm lượng dihydromyricetin và myricetin trong chế phẩm.
Tổng hàm lượng dihydromyricetin ($C_{15}H_{12}O_8$) và myricetin ($C_{15}H_{10}O_8$) không dưới 30,0 % (theo khối lượng) tính theo chế phẩm khô kiệt.

Bảo quản
Bảo quản trong bao bì kín, để nơi khô ráo thoáng mát.

CAO KHÔ HUYẾT GIÁC

Extractum Dracaenae siccus

Cao khô Huyết giác được điều chế từ phần gỗ có chứa nhựa của cây Huyết giác *Dracaena cambodiana* Pierre ex Gagnep hoặc *Dracaena cochinchinensis* (Lour.) S.C.Chen, họ Huyết giác (Dracaenaceae) bằng cách chiết bằng ethanol 96 % hay bằng dung môi thích hợp khác.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Cao thuốc" (Phụ lục 1.1) và các yêu cầu sau đây:

Mô tả

Bột màu nâu đỏ, mùi thơm nhẹ đặc trưng, vị hơi chát. Không tan trong nước, ether và các dung dịch acid loãng; tan trong methanol, ethanol và các dung dịch kiềm loãng.

Định tính

A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel HF_{254} chứa 0,3 % *natri carboxymethylcelulose*, hoạt hóa ở 105 °C trong 30 min.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol (99 : 1).
Dung dịch thử: Lấy khoảng 0,5 g chế phẩm, thêm 25 ml *ether dầu hỏa (40 °C đến 60 °C) (TT)* lắc siêu âm trong 15 min. Để nguội, lọc, giữ lại cắn cho phép thử B. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn, hòa cắn trong 1 ml *cloroform (TT)* được dung dịch chấm sắc ký.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 3 g bột Huyết giác (mẫu chuẩn) cho vào bình nón, thêm 20 ml *ethanol 96 % (TT)*, lắc siêu âm trong 15 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Thêm vào cắn 25 ml *ether dầu hỏa (40 °C đến 60 °C) (TT)* lắc siêu âm trong 15 min. Để nguội, lọc, giữ lại cắn cho phép thử B. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn, hòa cắn trong 1 ml *cloroform (TT)* được dung dịch chấm sắc ký.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol*
Sấy bản mỏng ở 110 °C đến khi hiện rõ vết. Quan sát bản mỏng dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel HF_{254} chứa 0,3 % *natri carboxymethylcelulose*, hoạt hóa ở 105 °C trong 30 min.
Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa (40 °C đến 60 °C) - ethyl acetat (10 : 1).
Dung dịch thử: Lấy cắn thu được ở phần dung dịch thử trong phép thử A, để trên cách thủy cho bay hơi hết ether dầu hỏa, thêm 25 ml *ethyl acetat (TT)*, lắc siêu âm trong 15 min, để nguội, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến khi còn khoảng 5 ml, để nguội rồi chuyển lên cột thủy tinh đường kính khoảng 10 mm có chứa 1 g chất nhồi polyamid đã được xử lý, kích thước hạt 14 - 20 µm, được nhồi ướt. Rửa giải bằng 100 ml *ethanol 50 % (TT)* với tốc độ 1,5 ml/min, loại bỏ dịch rửa giải. Tiếp tục rửa giải bằng 50 ml *ethanol (TT)* với tốc độ 1,5 ml/min, gộp dịch rửa giải, cô trên cách thủy đến cạn, hòa cắn trong 1 ml *cloroform (TT)* được dung dịch chấm sắc ký.
Dung dịch đối chiếu: Lấy cắn thu được ở phần dung dịch đối chiếu trong phép thử A, tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*. Sấy bản mỏng ở 110 °C đến khi hiện rõ vết. Quan sát bản mỏng dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
Xử lý polyamid: Lấy polyamid vào cốc có mỏ, thêm *ethanol 96 % (TT)* ngập bề mặt, khuấy đều, sau khi hết bọt khí thì chuyển toàn bộ hỗn hợp vào cột thủy tinh có khóa, đường kính thích hợp (từ 10 mm trở lên), dùng *ethanol 90 - 95 % (TT)* để rửa cho đến khi dịch rửa trong suốt. Rửa tiếp bằng hỗn hợp *dung dịch natri hydroxyd 5 % - nước cất* (2,5 : 1) có chứa 2,5 % *acid acetic (TT)*, cuối cùng rửa bằng *nước cất* đến khi nước rửa trung tính, lấy polyamid đã rửa ra để khô ở nhiệt độ phòng.
C. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel $60F_{254}$, hoạt hóa ở 105 °C trong 30 min.
Dung môi khai triển: Toluen - ethyl acetat (9 : 1).
Dung dịch thử: Hòa tan 0,15 g chế phẩm trong 10 ml *ethanol 96 % (TT)* được dung dịch chấm sắc ký.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g bột Huyết giác (mẫu chuẩn) cho vào bình nón, thêm 10 ml *ethanol 96 % (TT)*, lắc siêu âm trong 10 min, lọc, dùng dịch lọc làm dung dịch chấm sắc ký.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*. Sấy bản mỏng ở 110 °C đến khi hiện rõ vết. Quan sát bản mỏng ở ánh sáng thường và dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
D. Trong phần định lượng, sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho pic có cùng thời gian lưu với thời gian lưu của pic loureirin B trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Độ hấp thụ

Cân chính xác khoảng 20 mg chế phẩm vào bình định mức 50 ml, thêm 30 ml *ethanol (TT)*, lắc kỹ để hòa tan, thêm *ethanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc. Loại bỏ 10 ml dịch lọc đầu, hút chính xác 5,0 ml dịch lọc sau vào bình định mức 100 ml, thêm *ethanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Đo độ hấp thụ của dung dịch thu được (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 284 nm, mẫu trắng là *ethanol (TT)*.
Độ hấp thụ đo được không được dưới 0,40.

Cắn không tan trong ethanol

Không được quá 1,5 % tính theo chế phẩm khô kiệt.

Cân chính xác khoảng 1,0 g chế phẩm vào bình nón nút mài 100 ml, thêm 50 ml *ethanol (TT)*, ngâm trong 30 min, tiếp tục lắc mạnh để hòa tan trong 20 min. Lọc qua giấy lọc (đã được sấy ở 105 °C trong 3 h và cân trước), rửa cặn bằng *ethanol (TT)* đến khi dịch lọc không màu. Sấy giấy lọc và cặn ở 105 °C trong 3 h. Để nguội trong bình hút ẩm 30 min và cân nhanh.

Tro toàn phần
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.8, phương pháp 1).

Kim loại nặng
Không quá 20 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Lấy 1 g chế phẩm, tiến hành thử theo phương pháp 3. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị dung dịch đối chiếu.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 7,0 % (Phụ lục 9.6).
(1 g; 100 °C; 5 h).

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch acid acetic 1 % - acetonitril (61 : 39), điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 3,5 g chế phẩm vào bình định mức 50 ml, thêm 40 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm trong 15 min, để nguội, thêm *methanol (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều. Lọc, loại bỏ 10 ml dịch lọc đầu, hút chính xác 5,0 ml dịch lọc sau vào bình định mức 50 ml, thêm pha động vừa đủ đến vạch, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan Loureirin B chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 0,45 mg/ml. Hút chính xác 5,0 ml dung dịch trên vào bình định mức 50 ml, thêm pha động vừa đủ đến vạch, lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (250 mm × 4,6 mm), nhồi pha tĩnh C (5 µm) hoặc tương đương. Cột Inertsil ODS-3 là thích hợp.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 276 nm.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm riêng biệt dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tiến hành sắc ký theo điều kiện đã nêu, ghi lại thời gian lưu, diện tích của pic loureirin B. Dựa vào diện tích pic của loureirin B trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và hàm lượng $C_{18}H_{20}O_5$ trong loureirin B chuẩn để tính hàm lượng loureirin B trong chế phẩm.
Hàm lượng loureirin B ($C_{18}H_{20}O_5$) trong chế phẩm không ít hơn 0,45 % tính theo chế phẩm khô kiệt.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô ráo, thoáng mát, tránh ánh sáng.

CAO KHÔ LÁ BẠCH QUẢ
Extractum Folii Ginkgo siccus

Cao khô lá bạch quả được bào chế từ lá cây Bạch quả *(Ginkgo biloba* L.), họ Bạch quả (Ginkgoaceae) theo phương pháp thích hợp để chế phẩm có hàm lượng flavonol glycosid và terpen lacton ổn định.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Cao thuốc" (Phụ lục 1.1) và các yêu cầu sau đây:

Mô tả
Bột có màu nâu vàng nhạt hoặc nâu đậm. Vị hơi đắng.

Định tính
A. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel $G60F_{254}$.
Dung môi khai triển: Ethyl acetat - butan-2-on - acid formic - nước (5 : 3 : 1 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 0,2 g chế phẩm, thêm 15 ml *n-butanol (TT)*, ngâm trong cách thủy ấm 15 min, thỉnh thoảng lắc đều, để nguội, lọc, bay hơi dịch lọc tới cắn khô. Hòa tan cắn trong 6 ml *ethanol 95 % (TT)* được dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,2 g cao khô Bạch quả (mẫu chuẩn), chiết bằng cách tương tự như dung dịch thử, được dung dịch đối chiếu.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 10 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô trong không khí, phun *dung dịch nhôm clorid 3 % trong ethanol (TT)*, sấy bản mỏng ở 120 °C trong 10 min. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Các vết phát huỳnh quang thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel 60 F_{254} tráng sẵn nhúng khoảng 2 s trong dung dịch gồm 8 g *natri acetat (TT)* hòa trong 200 ml *methanol (TT)*, sau đó sấy ở 70 °C trong 10 min.
Dung môi khai triển: Toluen - ethyl acetat - aceton - methanol (10 : 5 : 5 : 0,6).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 15 µl mỗi dung dịch thử và dung dịch chuẩn trong mục Terpen lacton lên bản mỏng. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng, phun *anhydrid acetic (TT)*, sấy bản mỏng ở 160 °C trong 10 min, để nguội. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm.
Các vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
C. Trong phần Định lượng flavonol glycosid toàn phần: Thời gian lưu của các pic quercetin, isorhamnetin và kaempferol trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải tương ứng với thời gian lưu của các chất đó trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn. Tỷ lệ diện tích pic của quercetin và kaempferol là 0,8 đến 1,2 và tỷ lệ diện tích pic của isorhamnetin và quercetin phải lớn hơn 0,15.

Mất khối lượng do làm khô
Không được quá 5,0 % (Phụ lục 12.16, dùng 1 g chế phẩm để tiến hành thử).

Cắn sau khi nung
Không được quá 0,8 %.
Lấy một chén sứ hoặc chén platin nung tới đỏ trong 30 min. Để nguội trong bình hút ẩm rồi cân. Lấy chính xác 1 g chế phẩm rải đều vào chén nung, đốt nhẹ để than hóa hoàn toàn, để nguội, làm ẩm cắn bằng 0,5 ml đến 1 ml *acid sulfuric (TT)*. Đốt nhẹ cho đến khi không còn khói trắng bay lên, rồi đem nung trong lò nung ở 500 °C đến 600 °C cho đến khi vô cơ hóa hoàn toàn (cắn màu trắng hay xám nhạt). Để nguội trong bình hút ẩm và cân, nung lại ở 500 °C đến 600 °C đến khối lượng không đổi.

Kim loại nặng
Không được quá 20 phần triệu.
Tiến hành phép thử giới hạn kim loại nặng (Phụ lục 9.4.8, phương pháp 3), sử dụng 1 g chế phẩm và 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị dung dịch đối chiếu.

Acid ginkgolic toàn phần
Không được quá 10 phần triệu tính theo chế phẩm khô kiệt.
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - dung dịch acid acetic băng 1 % (90 : 10).
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 10 g chế phẩm vào bình nón nút mài, thêm chính xác 50 ml *ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C) (TT)* và cân. Đun hồi lưu trong 2 h, để nguội, cân lại, bù khối lượng bị mất bằng *ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C) (TT)*, lắc kỹ, lọc. Lấy chính xác 25 ml dịch lọc, thu hồi dung môi tới khô trong chân không, thêm chính xác 2 ml *methanol (TT)*, đậy kín và lắc đều.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng acid ginkgoneolic chuẩn trong *methanol (TT)* để có dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 5 µg/ml.
Hòa tan một lượng acid ginkgolic toàn phần trong *methanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 100 µg/ml để làm dung dịch chuẩn cho việc nhận dạng các pic.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm) hoặc tương đương (cột RP 18 là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 310 nm.
Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột không được ít hơn 4000 tính theo pic acid ginkgoneolic.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Xác định tổng diện tích pic của các acid ginkgolic trong dung dịch thử, xác định những pic này bằng cách đối chiếu với những pic tương ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn chứa acid ginkgolic toàn phần, tính hàm lượng acid ginkgolic toàn phần theo acid ginkgoneolic.

Định lượng flavonol glycosid toàn phần
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - dung dịch acid phosphoric 0,4 % (55 : 45).
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 35 mg chế phẩm, thêm 25 ml hỗn hợp *methanol (TT)* và *dung dịch acid hydroclorie 25 % (TT)* (4 : 1). Đun hồi lưu trên cách thủy trong 30 min, làm nguội đến nhiệt độ phòng ngay lập tức, chuyển toàn bộ hỗn hợp vào bình định mức 50 ml, pha loãng bằng *methanol (TT)* tới vạch, lắc đều, lọc, dùng dịch lọc làm dung dịch thử.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan lần lượt quercetin chuẩn, kaempferol chuẩn và isorhamnetin chuẩn trong *methanol (TT)* để có dung dịch có nồng độ chính xác lần lượt khoảng 30 µg, 30 µg và 20 µg/ml mỗi chất trên. Hoặc cân chính xác 35 mg cao khô Bạch quả chuẩn đã biết hàm lượng quercetin, kaempferol và isorhamnetin, tiến hành theo như mô tả ở mục Dung dịch thử để chuẩn bị dung dịch chuẩn.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) hoặc tương đương (cột RP 18 là thích hợp).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 360 nm.
Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn. Tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột không được ít hơn 2500 tính theo pic quercetin.
Tiến hành sắc ký lần lượt dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Tính hàm lượng quercetin, kaempferol và isorhamnetin dựa vào diện tích các pic thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn, sau đó chuyển đổi thành hàm lượng flavonol glycosid toàn phần (X %) theo công thức (1) sau đây:

$$X\,(\%) = (X_q + X_k + X_{iso}) \times 2{,}51 \times \frac{100}{(100 - b)} \quad (1)$$

Trong đó:
X_q là hàm lượng quercetin (%).
X_k là hàm lượng kaempferol (%).
X_{iso} là hàm lượng isorhamnetin (%).
2,51 là hệ số chuyển đổi.
b là độ ẩm của chế phẩm thử (%).
Hàm lượng flavonoid toàn phần tính theo flavonol glycosid (P.t.l = 756,7) không được ít hơn 24,0 % tính theo chế phẩm khô kiệt.

Terpen lacton
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - nước theo chương trình dung môi.
Các dung dịch chuẩn: Hòa tan lần lượt bilobalid chuẩn, ginkgolid A, B, C chuẩn (cân chính xác) trong *methanol*

(TT) để được các dung dịch chuẩn hỗn hợp có nồng độ lần lượt như sau để xây dựng đường chuẩn:

Dung dịch chuẩn 1: Dung dịch có chứa bilobalid 1,0 mg/ml, ginkgolid A 0,5 mg/ml, ginkgolid B 0,5 mg/ml, ginkgolid C 0,5 mg/ml.

Dung dịch chuẩn 2: Dung dịch có chứa bilobalid 0,5 mg/ml, ginkgolid A 0,25 mg/ml, ginkgolid B 0,25 mg/ml, ginkgolid C 0,25 mg/ml.

Dung dịch chuẩn 3: Dung dịch có chứa bilobalid 0,25 mg/ml, ginkgolid A 0,125 mg/ml, ginkgolid B 0,125 mg/ml, ginkgolid C 0,125 mg/ml.

Dung dịch thử: Cân chính xác 0,15 g chế phẩm, thêm 10 ml *nước*, làm rã trong cách thủy ấm, thêm 2 giọt *dung dịch acid hydrocloric 2 % (TT)*, chiết 4 lần với *ethyl acetat (TT)*, lần thứ nhất với 15 ml, ba lần tiếp theo mỗi lần với 10 ml, gộp các dịch chiết ethyl acetat và rửa với 20 ml *dung dịch natri acetat 5 % (TT)*, rửa lớp dung dịch natri acetat bằng 10 ml *ethyl acetat (TT)*. Gộp các dịch chiết và dịch rửa ethyl acetat, rửa 2 lần, mỗi lần bằng 20 ml *nước*, tách lớp nước và rửa bằng 10 ml *ethyl acetat (TT)*. Gộp tất cả các dịch ethyl acetat, cất thu hồi dung môi tới cắn khô hoặc cô trên cách thủy đến cắn. Dùng *methanol (TT)* để hòa tan và chuyển toàn bộ cắn vào bình định mức 5 ml và thêm *methanol (TT)* đến vạch.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (0,25 m × 4,6 mm), nhồi pha tĩnh C (5 µm) dùng cho sắc ký.

Detector tán xạ bay hơi: 105 °C, khí nitrogen 2 L/min.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Nước (% tt/tt)	Methanol (% tt/tt)
0 → 45	75 → 52	25 → 48
45 → 45,1	52 → 75	48 → 25
45 → 50	75	25

Kiểm tra sự thích hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn bilobalid. Tính số đĩa lý thuyết của cột. Số đĩa lý thuyết của cột không ít hơn 2500 tính theo pic bilobalid.

Tiến hành sắc ký lần lượt với các dung dịch chuẩn ở trên, ghi sắc ký đồ, tính diện tích pic. Vẽ đồ thị tương quan giữa logarit (ln) của nồng độ và logarit (ln) của diện tích pic của từng chất.

Tiêm dung dịch thử vào hệ thống sắc ký, tiến hành sắc ký theo điều kiện đã mô tả, ghi sắc ký đồ, thời gian lưu và diện tích pic từng chất.

Hàm lượng mỗi terpen lacton được tính dựa trên diện tích pic trong dung dịch thử và đường chuẩn tương ứng, cụ thể như sau :

Nồng độ (mg/ml) của terpen lacton trong dung dịch thử được tính theo công thức (2) sau đây:

$$C(mg/ml) = e^{\left(\frac{\ln A - b}{a}\right)} \quad (2)$$

Trong đó:

C là nồng độ terpen lacton (mg/ml) trong dung dịch thử,

A là diện tích pic của terpen lacton.

a, b là các giá trị tìm được từ phương trình hồi qui tuyến tính (y = ax + b) của terpen lacton tương ứng thu được từ đường chuẩn sau khi đã chuyển đổi sang ln.

Hàm lượng phần trăm của mỗi terpen lacton được tính theo công thức (3) sau đây:

$$P(\%) = \frac{C}{1000} \times 10 \times 100 \times \frac{100}{m \times (100 - b)} \quad (3)$$

Trong đó:

P là hàm lượng phần trăm (kl/kl) của mỗi terpen lacton,

C là nồng độ terpen lacton (mg/ml) trong dung dịch thử được tính từ đường chuẩn như trên,

m là khối lượng cân (g) của mẫu thử,

b là độ ẩm của mẫu thử (%).

Hàm lượng terpen lacton toàn phần bằng tổng hàm lượng mỗi terpen lacton được tính ở trên.

Hàm lượng terpen lacton toàn phần trong chế phẩm không được ít hơn 6,0 % tính theo tổng hàm lượng của bilobalid ($C_{15}H_{18}O_8$), ginkgolid A ($C_{20}H_{24}O_9$), ginkgolid B ($C_{20}H_{24}O_{10}$), ginkgolid C ($C_{20}H_{24}O_{11}$), tính theo chế phẩm khô kiệt.

Bảo quản

Trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

DẦU GẤC

Oleum Momordicae

Dầu ép từ màng đỏ phơi hay sấy khô của hạt cây Gấc *(Momordica cochinchinensis* (Lour.) Spreng), họ Bí (Cucurbitaceae).

Tính chất

Chất lỏng sánh, trong, màu đỏ, mùi thơm ngọt đặc biệt, vị béo không khé cổ. Có thể có cặn carotenoid khi để lâu hoặc khi để ở nhiệt độ 0 °C đến 5 °C.

Tỷ trọng

Ở 20 °C: 0,916 đến 0,925 (Phụ lục 6.5, phương pháp dùng picnomet).

Chỉ số khúc xạ

Ở 20 °C: 1,470 đến 1,472 (Phụ lục 6.1).

Chỉ số iod

72 đến 88 (Phụ lục 7.5, phương pháp iod bromid).

Độ nhiễm khuẩn

Đáp ứng yêu cầu đối với thuốc uống có nguồn gốc tự nhiên (Phụ lục 13.6). Cụ thể như sau:

Tổng số vi sinh vật hiếu khí: Không được quá 10^3 CFU/ml.
Tổng số nấm: Không được quá 10^2 CFU/ml.
Không được quá 10^2 CFU vi khuẩn Gram âm dung nạp mật trong 1 ml.
Không được có *Salmonella* trong 10 ml.
Không được có *E. coli*, *S. aureus* trong 1 ml.

Định tính

A. Định tính β-caroten và lycopen: Trong phép thử định lượng β-caroten và lycopen, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic β-caroten và lycopen trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

B. Định tính acid linoleic và acid oleic: Trong phép thử định lượng acid béo không no, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các pic có thời gian lưu tương ứng với thời gian lưu của pic acid oleic và acid linoleic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

Định lượng

Định lượng β-caroten và lycopen

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Pha động: Hỗn hợp dung môi *acetonitril - methanol - dicloromethan* được sử dụng theo chương trình dung môi.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan lycopen và β-caroten chuẩn trong *dicloromethan (TT)* để được dung dịch chứa lycopen và β-caroten có nồng độ lần lượt chính xác khoảng 10 µg/ml và 5 µg/ml.

Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 1 g chế phẩm vào bình định mức 25 ml, thêm 10 ml *ether dầu hỏa (40 °C đến 60 °C) (TT)*, lắc kỹ cho tan, thêm *ether dầu hỏa (40 °C đến 60 °C) (TT)* đến vạch, lắc đều. Hút chính xác 2,0 ml dung dịch thu được chuyển vào một cột thủy tinh (dài khoảng 20 cm, đường kính trong khoảng 1,2 cm, phía dưới có vòi khóa để điều chỉnh tốc độ dòng) có chứa 1 g bột nhôm oxyd trung tính (cỡ hạt 63 - 200 µm và đã được sấy ở 120 °C trong 3 h để hoạt hóa). Cho 20 ml *ether dầu hỏa (40 °C đến 60 °C) (TT)* chảy qua cột với tốc độ khoảng 30 giọt/phút. Hứng lấy dịch chiết ether dầu hỏa, tiếp tục cho 30 ml *dicloromethan (TT)* chảy qua cột với tốc độ như trên. Gộp dịch chiết dicloromethan và dịch chiết ether dầu hỏa, làm bay hơi dung môi đến gần khô bằng dòng khí nitrogen. Dùng *dicloromethan (TT)* để hòa tan và chuyển toàn bộ cắn vào bình định mức thủy tinh màu nâu 20 ml, thêm *dicloromethan (TT)* đến vạch, lắc đều, lọc qua màng lọc 0,45 µm, thu được dung dịch thử.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (10 µm).
Nhiệt độ cột: 30 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 476 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Acetonitril (% tt/tt)	Methanol (% tt/tt)	Diclomethan (% tt/tt)
0 - 15	100 - 20	0 - 10	0 - 70
16 - 25	20	10	70

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống. Tiêm 6 lần lặp lại hỗn hợp dung dịch hai chuẩn lycopen và β-caroten có nồng độ lần lượt là 10 µg/ml và 5 µg/ml, độ lệch chuẩn tương đối của các diện tích pic lycopen và β-caroten không được lớn hơn 2,0 %.

Tiêm dung dịch thử và dung dịch chuẩn, ghi thời gian lưu và diện tích pic của lycopen và β-caroten trong mỗi dung dịch. Tính hàm lượng lycopen và β-caroten trong chế phẩm dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn, dung dịch thử và nồng độ lycopen và β-caroten trong dung dịch chuẩn.

Hàm lượng lycopen ($C_{40}H_{56}$) không được dưới 0,05 %, β-caroten ($C_{40}H_{56}$) trong chế phẩm không được dưới 0,1 % dầu Gấc.

Định lượng acid béo không no

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan *acid pentadecanoic* trong *n-hexan (TT)* để được dung dịch có nồng độ chính xác khoảng 100 µg/ml.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg mỗi chất chuẩn acid linoleic, acid oleic cho vào bình định mức 100 ml, hòa tan trong *n-hexan (TT)* và thêm *n-hexan (TT)* đến vạch, lắc đều, thu được dung dịch hỗn hợp acid linoleic, acid oleic có nồng độ mỗi chất khoảng 500 µg/ml. Lấy 100 µl dung dịch trên cho vào ống nghiệm 20 ml có nút xoáy, đệm cao su, thêm 1 ml dung dịch chuẩn nội. Loại dung môi n-hexan bằng khí nitrogen. Thêm vào ống nghiệm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,5 N trong methanol (TT)*, đậy kín nắp, đun trong cách thủy ở 70 °C trong 20 min, cho tiếp 2 ml dung dịch *boron trifluorid 20 % trong methanol*, sục khí nitrogen, đun trong cách thủy ở 70 °C trong 30 min. Chiết bằng *n-hexan (TT)* 3 lần, mỗi lần 5 ml. Gộp dịch chiết n-hexan, làm bay hơi dung môi bằng dòng khí nitrogen có gia nhiệt ở 60 °C đến cắn, hòa tan cắn bằng 1 ml *n-hexan (TT)*.

Dung dịch thử: Cân chính xác 500 mg chế phẩm cho vào bình định mức có thể tích 100 ml, hòa tan bằng *n-hexan (TT)* và thêm *n-hexan (TT)* đến vạch, lắc đều, lấy chính xác 0,1 ml cho vào ống nghiệm 20 ml có nút xoáy, thêm 1 ml dung dịch chất chuẩn nội. Loại dung môi bằng khí nitrogen. Sau đó tiến hành tương tự như mô tả ở phần Dung dịch chuẩn bắt đầu từ câu "Thêm vào ống nghiệm 2 ml... hòa tan cắn bằng 1 ml *n-hexan (TT)*".

Điều kiện sắc ký khí:

Cột sắc ký khí mao quản HP-1 kích thước (30 m × 0,32 mm × 0,25 µm) hoặc tương đương.
Detector ion hoá ngọn lửa, nhiệt độ: 290 °C.
Tốc độ dòng khí detector: Hydrogen là 35 ml/min, không khí là 400 ml/min.
Nhiệt độ buồng tiêm mẫu 250 °C.
Nhiệt độ cột: Nhiệt độ ban đầu 100 °C giữ trong 2 min, tăng đến 200 °C với tốc độ 10 °C/min, giữ trong 3 min; tăng đến 250 °C với tốc độ 5 °C/min, giữ trong 5 min.

Khí mang nitrogen với tốc độ dòng 1 ml/min.
Bơm mẫu theo kiểu chia dòng với tỷ lệ 5 : 1.
Thể tích tiêm: 1 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống. Tiêm 6 lần lặp lại dung dịch chuẩn. Độ lệch chuẩn tương đối của các tỷ lệ diện tích pic giữa acid linoleic và acid oleic với diện tích pic của chuẩn nội không được lớn hơn 1,5 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Ghi thời gian lưu và diện tích pic acid linoleic, acid oleic, chuẩn nội trong mỗi dung dịch. Độ phân giải giữa pic methyl linoleat và pic methyl oleat không dưới 1,5.
Tính hàm lượng của acid linoleic, acid oleic theo tỷ lệ diện tích giữa pic acid tương ứng so với pic chuẩn nội thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử, dung dịch chuẩn và nồng độ acid linoleic và acid oleic trong dung dịch chuẩn.
Hàm lượng acid linoleic ($C_{18}H_{32}O_2$) không được dưới 10 %, acid oleic ($C_{18}H_{34}O_2$) không được dưới 30 %.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

DẦU MÙ U
Oleum Calophylli inophylli

Dầu ép từ hạt của cây Mù u (*Calophyllum inophyllum* L.), họ Bứa (Clusiaceae) đã được tinh chế loại bỏ phần "nhựa".

Mô tả
Dầu lỏng sánh, màu vàng tới vàng đậm, mùi thơm hắc đặc trưng.

Tỉ trọng tương đối
0,9135 đến 0,9275 (Phụ lục 6.5, phương pháp dùng picnomet).

Chỉ số acid
1 đến 45 (Phụ lục 7.2).

Chỉ số xà phòng
171 đến 228 (Phụ lục 7.7).

Định tính
A. Lấy 0,5 ml chế phẩm, thêm vào 2 ml *ether ethylic (TT)*, lắc đều cho tan. Thêm 2 ml *ethanol 95 % (TT)* lắc đều cho tan. Chia đều dung dịch vào 2 ống nghiệm.
Ống 1: Thêm 2 giọt đến 3 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % trong ethanol (TT)*, lắc đều, dung dịch có màu xanh dương đậm.
Ống 2: Thêm 0,5 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol (TT)*, lắc đều, thêm vài giọt *thuốc thử diazo (TT)*. Dung dịch có màu đỏ cam.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel F_{254}
Dung môi khai triển: Toluen - ethyl acetat (8 : 2)
Dung dịch thử: Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 5 ml *ether ethylic (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,1 g dầu Mù u (mẫu chuẩn) trong 5 ml *ether ethylic (TT)*. Nếu không có dầu Mù u mẫu chuẩn thì hòa tan calophyllolid chuẩn trong *ether ethylic (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 0,06 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng khoảng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng.
Nếu dùng dung dịch calophyllolid làm dung dịch đối chiếu thì quan sát bản mỏng dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm, trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết có cùng màu và giá trị R_f với vết của calophyllolid trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
Nếu dùng dung dịch dầu mù u làm dung dịch đối chiếu: Phun lên bản mỏng *dung dịch vanilin - acid sulfuric (TT)*. Sấy bản mỏng ở 100 °C đến 105 °C trong khoảng 5 min. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Định lượng
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3). Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.
Pha động A: Acetonitril.
Pha động B: Dung dịch acid acetic 2,5 %.
Dung dịch thử: Cân chính xác khoảng 0,24 g chế phẩm cho vào bình định mức 20 ml, làm ấm ở 60 °C trong 10 min rồi thêm 12 ml hỗn hợp *methanol - nước* (9 : 1), siêu âm trong 15 min. Bổ sung hỗn hợp *methanol - nước* (9 : 1) đến vừa đủ 20,0 ml. Lọc dung dịch thu được qua màng lọc 0,45 µm.
Dung dịch chuẩn: Pha các dung dịch calophyllolid chuẩn trong *methanol (TT)* có nồng độ khoảng 175; 87,5 và 35 µg/ml. Lọc các dung dịch thu được qua màng lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm) (cột Zorbax SB-C18 là phù hợp).
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Nhiệt độ cột: 40 °C.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 270 nm.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký theo chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0	20	80
30	80	20
35	20	80
40	20	80

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Tiến hành sắc ký với dung dịch calophyllolid chuẩn 87,5 (µg/ml). Hệ số đối xứng thu được từ pic calophyllolid phải nằm trong khoảng 0,8 - 1,5, độ lệch chuẩn tương đối của diện tích

pic calophyllolid trong 6 lần tiêm lặp lại không được quá 2,0 %, số đĩa lý thuyết tính theo pic calophyllolid phải không được dưới 200000.

Tiêm lần lượt các dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Ghi các sắc ký đồ và diện tích pic.

Vẽ đồ thị biểu diễn sự tương quan giữa diện tích pic calophyllolid và nồng độ của calophyllolid trong các dung dịch chuẩn và xác lập phương trình hồi quy tuyến tính, dựa vào đó tính nồng độ calophyllolid trong dung dịch thử (µg/ml).

Tính hàm lượng phần trăm (kl/kl) calophyllolid, $C_{26}H_{24}O_5$, trong chế phẩm theo công thức:

$$X\ \%\ (g/100\ g) = 2C_1/m_1$$

Trong đó:

C_1 là nồng độ calophyllolid trong dung dịch thử (µg/ml).

m_1 là khối lượng dầu (mg).

Chế phẩm phải chứa không dưới 0,36 % (kl/kl) calophyllolid ($C_{26}H_{24}O_5$).

Bảo quản

Giữ trong chai đầy, đậy nắp kín. Bảo quản nơi mát, tránh ánh sáng.

TINH DẦU BẠC HÀ

Aetheroleum Menthae arvensis

Được lấy từ các bộ phận trên mặt đất của cây Bạc hà (*Mentha arvensis* L.), họ Bạc hà (Lamiaceae), bằng phương pháp cất kéo hơi nước và đã được làm khan nước.

Tính chất

Chất lỏng, trong, không màu hoặc vàng nhạt, mùi thơm đặc biệt, vị cay mát.

Rất dễ tan trong ethanol, cloroform và ether, tan trong 2 đến 3 thể tích ethanol 70 %.

Tỷ trọng

Ở 20 °C: Từ 0,890 đến 0,922 (Phụ lục 6.5).

Chỉ số khúc xạ

Ở 20 °C: Từ 1,455 đến 1,465 (Phụ lục 6.1).

Góc quay cực riêng

Ở 20 °C: Từ -40° đến -20° (Phụ lục 6.4).

Định tính

Nhỏ 1 giọt tinh dầu lên lỗ khay sứ, thêm 3 giọt đến 5 giọt *acid sulfuric (TT)* và vài tinh thể *vanilin (TT)*, sẽ xuất hiện màu đỏ cam, thêm 1 giọt nước sẽ chuyển sang màu tím.

Kiểm tra các chất pha trộn trong tinh dầu

A. Ethanol: Lấy 5 ml tinh dầu cho vào ống nghiệm. Thêm từ từ từng giọt *nước cất* (không lắc). Phần tinh dầu ở trên phải trong suốt, không được đục.

B. Nhựa và dầu béo: Nhỏ vài giọt tinh dầu lên giấy lọc, hơ nóng giấy lọc trên bếp điện, giấy phải không có vết dầu loang.

C. Dầu hỏa, dầu mazut: Trong một ống đong dựng khoảng 80 ml *ethanol 80 % (TT)*, nhỏ từng giọt (không lắc) cho đến hết 10 ml tinh dầu, dung dịch phải trong, không có phần không tan nổi ở trên.

Định lượng

A. Định lượng menthol este hóa

Cân chính xác khoảng 3 g tinh dầu, thêm 6 ml *ethanol 96 % (TT)* và trung hòa bằng *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol (CĐ)*, chỉ thị là *dung dịch phenolphtalein (TT)*. Thêm chính xác 20 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol (CĐ)* và đun nóng 60 min trong cách thủy có lắp ống sinh hàn ngược. Để nguội, pha loãng với 50 ml *nước cất* mới đun sôi để nguội, rồi chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,5 N (CĐ)* cho đến khi mất màu. Song song tiến hành một mẫu trắng trong cùng điều kiện.

1 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N (CĐ)* tương ứng với 0,09915 g menthyl acetat ($C_{12}H_{22}O_2$). Hàm lượng phần trăm menthol este của tinh dầu được tính theo công thức:

$$\frac{(V_1 - V_2)\times 9{,}915}{G}$$

Trong đó:

V_1 là số ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N (CĐ)* dùng để xà phòng hóa tinh dầu dùng trong mẫu thử;

V_2 là số ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N (CĐ)* dùng trong mẫu trắng;

G là khối lượng tinh dầu lấy để thử (g).

B. Định lượng menthol toàn phần.

Lấy chính xác 5 ml tinh dầu cho vào một bình acetyl hóa, thêm 5 g *anhydrid acetic (TT)* và 1 g *natri acetat khan (TT)*, đun sôi 60 min. Sau khi nguội, thêm 20 ml nước cất, vừa đun vừa lắc 15 min trên cách thủy. Để nguội, chuyển vào bình gạn, loại bỏ lớp nước, rửa lớp tinh dầu 2 lần, mỗi lần 20 ml *dung dịch natri clorid 10 % (TT)*. Sau đó, rửa lại nhiều lần bằng nước cất, mỗi lần 10 ml, cho đến khi nước rửa có phản ứng trung tính với giấy quỳ. Làm khan tinh dầu bằng *natri sulfat khan (TT)*. Lọc.

Cân chính xác khoảng 1,5 g tinh dầu đã acetyl hóa, hòa tan trong 3 ml *ethanol 96 % (TT)* và trung hòa bằng *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol (CĐ)*, với chỉ thị màu là *dung dịch phenolphtalein (TT)*. Sau đó thêm chính xác 20 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol (CĐ)*. Đun trong cách thủy 60 min với ống sinh hàn ngược. Để nguội, thêm 50 ml nước cất mới đun sôi để nguội, rồi chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,5 N (CĐ)* cho đến khi mất màu.

1 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N (CĐ)* tương ứng với 0,07814 g menthol ($C_{10}H_{22}O$). Hàm lượng phần trăm menthol toàn phần trong tinh dầu được tính theo công thức:

$$\frac{V\times 7{,}814}{G - (0{,}021\times V)}$$

Trong đó:

V là số ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N (CĐ)* dùng để xà phòng hóa tinh dầu đã acetyl hóa;

G là khối lượng tinh dầu đã acetyl hóa (g).
Tinh dầu Bạc hà phải chứa ít nhất 55,0 % menthol toàn phần và từ 3,0 % đến 9,0 % menthol este hóa, biểu thị bằng menthyl acetat.

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ánh sáng, để ở nơi mát.

TINH DẦU BẠCH ĐÀN
Aetheroleum Eucalypti

Lấy từ lá của nhiều loài Bạch đàn (*Eucalyptus camaldulensis* Dehnh, *Eucalyptus exserta* F. Muell.) và một số loài Bạch đàn khác, họ Sim (Myrtaceae), bằng cách cất kéo hơi nước, sau đó tinh chế bằng phương pháp cất lại.

Tính chất
Chất lỏng trong, không màu hay màu vàng nhạt, mùi đặc biệt, vị cay sau mát. Dễ tan trong ethanol 70 %.

Tỷ trọng
Ở 20 °C: Từ 0,900 đến 0,925 (Phụ lục 6.5).

Chỉ số khúc xạ
Ở 20 °C: Từ 1,454 đến 1,470 (Phụ lục 6.1).

Góc quay cực
Ở 20 °C: Từ 0 ° đến +10 ° (Phụ lục 6.4).

Aldehyd
Cho 10 ml tinh dầu vào bình nón nút mài dung tích 100 ml. Thêm vào đó 5 ml *toluen (TT)* và 4 ml *dung dịch hydroxylamin hydroclorid trong ethanol 60 % (TT)*. Lắc mạnh và chuẩn độ ngay bằng *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol 60 % (CĐ)* đến khi màu đỏ chuyển sang màu vàng. Tiếp tục lắc và chuẩn độ tới khi lớp dưới có màu vàng bền vững sau khi đã lắc mạnh 2 min và để yên cho tách lớp; phản ứng xảy ra hoàn toàn trong khoảng 15 min. Lặp lại quy trình định lượng như trên với 10 ml tinh dầu khác, dùng dung dịch đã chuẩn độ sơ bộ ở trên thêm 0,5 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol 60 % (CĐ)* làm chuẩn màu cho điểm kết thúc định lượng. Lượng *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol 60 % (CĐ)* dùng cho chuẩn độ không được quá 2,0 ml.

Định lượng
Dùng bình Cassia có dung tích 100 ml, ở cổ có khắc ngấn 4 ml và chia độ từng 0,1 ml. Cho vào bình 3,0 ml tinh dầu và 75 ml *dung dịch resorcin (TT)*. Lắc hỗn hợp trong 15 min. Để yên cho tách thành 2 lớp, cho thêm *dung dịch resorcin (TT)* vào bình sao cho lớp tinh dầu nằm vào khoảng chia độ ở cổ bình. Sau 1 h, đọc thể tích tinh dầu không kết hợp với resorcin. Nhiệt độ của tinh dầu lấy để thử và nhiệt độ của phần tinh dầu không kết hợp với *resorcin (TT)* lúc đọc kết quả phải giống nhau.
Hàm lượng phần trăm cineol trong tinh dầu (X%) tính theo công thức:

$$X\% = \frac{(3 - a) \times 100}{b}$$

Trong đó:
a là thể tích tinh dầu đọc được (ml);
b là thể tích mẫu thử (ml).
Tinh dầu Bạch đàn phải có ít nhất 60 % (tt/tt) cineol ($C_{10}H_{18}O$).

Bảo quản
Tránh ánh sáng, đựng đầy lọ, đậy nút kín, để nơi, mát.

TINH DẦU GỪNG
Aetheroleum Zingiberis

Tinh dầu thu được từ thân rễ cây Gừng (*Zingiber officinale* Rosc.), họ Gừng (Zingiberaceae) bằng phương pháp cất kéo hơi nước.

Tính chất
Chất lỏng trong, màu vàng nhạt đến vàng, mùi thơm gừng đặc trưng, vị hơi cay nóng, dễ tan trong ether, cloroform, tan trong ethanol 96 %.

Tỷ trọng
Ở 20 °C: Từ 0,865 đến 0,885 (Phụ lục 6.5).

Chỉ số khúc xạ
Ở 20 °C: Từ 1,484 đến 1,494 (Phụ lục 6.1).

Góc quay cực riêng
Ở 20 °C: Từ -15° đến -48° (Phụ lục 6.4).

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: n-Hexan - ether (3 : 7).
Dung dịch thử: Dung dịch tinh dầu 1 % trong *cloroform (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch tinh dầu gừng (mẫu chuẩn) 1 % trong *cloroform (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho tới khi dung môi đi được khoảng 10 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*. Sấy bản mỏng ở nhiệt độ 105 °C trong 5 min. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết chính cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Cắn sau khi bay hơi
Không quá 5 g/l (Phụ lục 12.8).

Bảo quản
Đóng đầy, đựng trong chai nút kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

TINH DẦU HỒI

Aetheroleum Anisi stellati

Lấy từ quả chín đã phơi khô của cây Hồi (*Illicium verum* Hook.f.), họ Hồi (Illiciaceae), bằng cách cất kéo hơi nước.

Tính chất

Chất lỏng không màu hay màu vàng nhạt, mùi hơi đặc biệt, vị ngọt. Kết tinh khi để lạnh.

Tan trong 1 đến 3 thể tích ethanol 90 % (dung dịch trong suốt hoặc hơi đục), tan trong ether, ether dầu hỏa.

Tỷ trọng

Ở 20 °C: Từ 0,978 đến 0,988 (Phụ lục 6.5).

Chỉ số khúc xạ

Ở 20 °C: Từ 1,552 đến 1,560 (Phụ lục 6.1).

Góc quay cực riêng

Ở 20 °C: Từ -2° đến 1° (Phụ lục 6.4).

Định tính

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

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung dịch thử: Dung dịch tinh dầu 0,1 % trong *cloroform (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch *anethol* 0,1 % trong *cloroform (TT)* hoặc dung dịch tinh dầu Hồi (mẫu chuẩn) 0,1 % trong *cloroform (TT)*.

Dung môi khai triển: *Ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) - ether* (95 : 5).

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Phun *dung dịch mới pha vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*. Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 5 min. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử sẽ xuất hiện một vết lớn nhất màu đỏ, sau chuyển sang màu tím (với R_f khoảng 0,49 đến 0,50) cùng màu sắc và giá trị R_f với vết của anethol trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Nếu dùng tinh dầu Hồi mới cất để chuẩn bị dung dịch đối chiếu thì trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Điểm đông đặc: Tinh dầu phải có điểm đông đặc không dưới 15 °C (Phụ lục 6.6) tương ứng với hàm lượng từ 85 % đến 95 % anethol ($C_{10}H_{12}O$).

Bảo quản

Đựng trong bình đóng đầy, nút kín. Để chỗ mát, tránh ánh sáng.

Chú ý

Nếu bị đục hoặc kết tinh, đun nóng trên cách thủy và lắc trước khi dùng.

TINH DẦU HÚNG CHANH

Aetheroleum Plectranthi amboinici

Tinh dầu Tần dày lá

Tinh dầu thu được từ lá tươi của cây Húng chanh *[Plectranthus amboinicus* (Lour.) Spreng.], họ Bạc hà (Lamiaceae), bằng cách cất kéo hơi nước.

Tính chất

Chất lỏng trong suốt, có màu vàng đến màu vàng sậm, đôi khi có ánh xanh nhạt, mùi đặc biệt, vị cay nóng. Dễ tan trong cloroform, ether dầu hỏa, ethanol 96 %.

Tỷ trọng

Ở 20 °C: Từ 0,890 đến 0,920 (Phụ lục 6.5).

Chỉ số khúc xạ

Ở 20 °C: Từ 1,480 đến 1,510 (Phụ lục 6.1).

Góc quay cực riêng

Ở 20 °C: Từ -25° đến -3° (Phụ lục 6.4).

Định tính

A. Hòa tan 2 giọt tinh dầu trong 5 ml *ethanol 90 % (TT)*, thêm 2 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 3 %*, dung dịch phải có màu xanh rêu đậm.

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

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Ether dầu hỏa - ethyl acetat* (80 : 20).

Dung dịch thử: Dung dịch tinh dầu 0,1 % trong *cloroform (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Dung dịch tinh dầu Húng chanh (mẫu chuẩn) 0,1 % trong *cloroform (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm 20 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)* mới pha. Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 5 min. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử sẽ xuất hiện các vết: 2 vết màu tím có R_f khoảng 0,55 đến 0,70; một vết màu hồng đỏ có R_f khoảng 0,45 và một vết màu xanh đậm có R_f khoảng 0,33 cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Cắn sau khi bay hơi

Không quá 0,5 % (theo khối lượng) (Phụ lục 12.8).

Cân 2 g chế phẩm, thêm 5 ml *nước*. Bốc hơi trên cách thủy đến khô, sấy chén ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C trong 1 h. Lượng cắn còn lại không được quá 1,0 mg.

Bảo quản

Trong bình nút kín, để chỗ mát, tránh ánh sáng.

TINH DẦU HƯƠNG NHU TRẮNG

Aetheroleum Ocimi gratissimi

Lấy từ cành mang lá, hoa, quả của cây Hương nhu trắng (*Ocimum gratissimum* L.), họ Bạc hà (Lamiaceae), bằng cách cất kéo hơi nước.

Tính chất
Chất lỏng trong, màu vàng nhạt. Mùi thơm đặc trưng, vị cay, nóng, nếm có cảm giác tê lưỡi.
Dễ tan trong ethanol, ether hoặc acid acetic băng. Thực tế không tan trong nước.

Tỷ trọng
Ở 20 °C: Từ 1,030 đến 1,050 (Phụ lục 6.5).

Chỉ số khúc xạ
Ở 20 °C: Từ 1,530 đến 1,540 (Phụ lục 6.1).

Góc quay cực riêng
Ở 20 °C: Từ -15,6° đến 20,2° (Phụ lục 6.4).

Định tính
A. Hòa tan 2 giọt tinh dầu trong 5 ml *ethanol 90 % (TT)*, thêm 2 giọt dung dịch *sắt (III) clorid (TT)* 3 %, dung dịch phải có màu xanh rêu thẫm.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Toluen - ethyl acetat (9 : 1).
Dung dịch thử: Dung dịch tinh dầu 0,1 % trong *cloroform (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Dùng eugenol chuẩn hoặc tinh dầu Hương nhu trắng (mẫu chuẩn) làm dung dịch đối chiếu với nồng độ tương đương dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên, triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun dung dịch *sắt (III) clorid (TT)* 3 %. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ, dung dịch thử xuất hiện vết màu nâu sẫm với giá trị R_f khoảng 0,81 - 0,82 tương ứng với vết eugenol, hoặc dung dịch thử và dung dịch đối chiếu xuất hiện các vết có cùng màu sắc và giá trị R_f.

Các phenol tan trong nước
Lấy 1 ml tinh dầu, thêm 20 ml *nước* nóng, lắc đều, để nguội. Lọc qua giấy lọc ẩm. Thêm 1 giọt *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)* vào dịch lọc, không được có màu xanh lam hoặc đỏ tía ngoại trừ một màu xanh lục xám không bền.

Kim loại nặng
Không được quá 10 phần triệu.
Lấy 1 g tinh dầu để chuẩn bị dung dịch thử. Dùng 1,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu* để chuẩn bị dung dịch đối chiếu. Cách tiến hành: Xem chuyên luận "Tinh dầu quế".

Định lượng
Lấy chính xác 5,0 ml tinh dầu vào một bình Cassia 100 ml. Thêm 75 ml *dung dịch kali hydroxyd 5 % (TT)*, lắc trong 5 min. Đun nóng trên cách thủy trong 10 min, thỉnh thoảng lắc. Để nguội đến khi 2 lớp chất lỏng tách ra, thêm từ từ *dung dịch kali hydroxyd 5 % (TT)* đến khi lớp tinh dầu không phản ứng đáng lên tới phần chia độ ở cổ bình. Quay tròn và vỗ nhẹ bình để các giọt tinh dầu bám vào thành bình nổi lên. Sau khi để yên từ 12 h đến 24 h, xác định thể tích tinh dầu không phản ứng [a (ml)].
Hàm lượng phần trăm eugenol toàn phần trong tinh dầu (X%) được tính theo công thức:

$$X(\%) = \frac{(5 - a) \times 100}{5}$$

Tinh dầu phải chứa ít nhất 60 % (tt/tt) eugenol ($C_{10}H_{12}O_2$) toàn phần.

Bảo quản
Đựng trong bình nút kín, đóng đầy. Để nơi khô, mát, tránh ánh sáng.

TINH DẦU LONG NÃO
Aetheroleum Cinnamomi camphorae

Lấy từ gỗ và lá của cây Long não [*Cinnamomum camphora* (L.) Presl. = *Laurus camphora* L.], họ Long não (Lauraceae), bằng cách cất kéo hơi nước.

Tính chất
Chất lỏng không màu hay màu vàng nhạt, mùi thơm đặc biệt của long não.

Tỷ trọng
Ở 20 °C: Từ 0,923 đến 0,930 (Phụ lục 6.5).

Chỉ số khúc xạ
Ở 20 °C: Từ 1,461 đến 1,470 (Phụ lục 6.1).

Góc quay cực riêng
Ở 20 °C: Từ +17° đến +22° (Phụ lục 6.4).

Kiểm tra các chất pha trộn trong tinh dầu
A. Ethanol: Lấy 1 ml tinh dầu cho vào ống nghiệm, đậy bằng nút bông xốp, ở giữa bông có tinh thể *fuchsin (TT)*, rồi đun nóng tinh dầu, nếu có ethanol sẽ làm bông chuyển sang màu đỏ.
B. Dầu béo: Nhỏ vài giọt tinh dầu lên giấy lọc, hơ nóng giấy lọc, giấy phải không có vết dầu loang.
C. Dầu mỏ: Lấy 1 ml tinh dầu cho vào ống đong 10 ml chia vạch, cho tiếp 9 ml *ethanol 80 % (TT)*. Dung dịch phải trong suốt, không vẩn đục.

Định lượng
Trong một bình cầu 300 ml có nút mài, cân chính xác khoảng 0,45 g tinh dầu và hòa tan trong 15 ml *ethanol không có aldehyd (TT)*. Thêm từ từ 80 ml *dung dịch 2,4-dinitrophenylhydrazin trong acid hydrocloric (TT)*. Lắp ống sinh hàn ngược, đun trên cách thủy 4 h. Để nguội, thêm 100 ml *dung dịch acid sulfuric 2 % (TT)*. Để yên 24 h ở chỗ tối. Lọc lấy tủa trên một phễu thủy tinh xốp đã cân trước. Tráng bình cầu 2 lần (mỗi lần với 10 ml dịch lọc) để lấy hết tủa. Rửa tủa và bình 6 lần, mỗi lần với 10 ml *nước*. Sấy phễu thủy tinh xốp chứa tủa trong tủ sấy

ở 80 °C trong một giờ. Để nguội trong bình hút ẩm, rồi cân tủa 2,4-dinitrophenylhydrazon thu được.
1 g tủa tương ứng với 0,458 g camphor ($C_{10}H_{16}O$).
Hàm lượng phần trăm camphor trong tinh dầu (X%) được tính bằng công thức:

$$X(\%) = \frac{(a \times 45,8)}{b}$$

trong đó:
a là khối lượng tủa thu được (g);
b là khối lượng tinh dầu lấy để thử (g).
Tinh dầu phải chứa ít nhất 35,0 % camphor.

Bảo quản
Trong lọ thủy tinh nút kín. Để chỗ mát, tránh ánh sáng.

TINH DẦU NGHỆ
Aetheroleum Curcumae

Tinh dầu thu được từ thân rễ cây Nghệ (*Curcuma longa* L.), họ Gừng (Zingiberaceae) bằng phương pháp cất kéo hơi nước.

Tính chất
Chất lỏng trong, màu vàng nhạt đến vàng cam, mùi nghệ đặc trưng, dễ tan trong ether, cloroform, ethyl acetat, aceton, methanol, ethanol.

Tỷ trọng
Ở 20 °C: Từ 0,925 đến 0,935 (Phụ lục 6.5).

Chỉ số khúc xạ
Ở 20 °C: Từ 1,4850 đến 1,5250 (Phụ lục 6.1).

Góc quay cực riêng
Ở 20 °C: Từ -27° đến -24° (Phụ lục 6.4).

Định tính
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung dịch thử: Dung dịch tinh dầu 1 % trong *cloroform (TT).*
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch tinh dầu Nghệ (mẫu chuẩn) 1 % trong *cloroform (TT).*
Dung môi khai triển: Toluen - ethyl acetat (97 : 3).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên thành vạch dài 3 mm. Triển khai sắc ký cho tới khi dung môi đi được khoảng 10 cm. Lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng và phun *dung dịch vanilin - acid sulfuric (TT).* Sấy bản mỏng ở nhiệt độ 105 °C trong 5 min. Quan sát dưới ánh sáng thường. Sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết chính cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Cắn sau khi bay hơi
Không quá 5 g/l (Phụ lục 12.8).

Bảo quản
Đóng đầy, đựng trong chai nút kín, để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

TINH DẦU QUẾ
Aetheroleum Cinnamomi

Lấy từ vỏ thân hoặc vỏ cành Quế (*Cinnamomum cassia* Presl. = *Cinnamomum aromaticum* Ne) hoặc một số loài Quế khác (*Cinnamomum* spp.), họ Long não (Lauraceae), bằng cách cất kéo hơi nước.

Tính chất
Chất lỏng trong, màu vàng đến nâu đỏ (chuyển màu dần theo thời gian). Mùi thơm, vị cay nóng rất đặc trưng. Dễ tan trong ethanol 70 % và acid acetic khan.

Tỷ trọng
Ở 20 °C: Từ 1,040 đến 1,072 (Phụ lục 6.5).

Chỉ số khúc xạ
Ở 20 °C: Từ 1,590 đến 1,610 (Phụ lục 6.1).

Góc quay cực riêng
Ở 20 °C: Từ -1° đến +1° (Phụ lục 6.4).

Định tính
A. Lấy 4 giọt tinh dầu trộn với 4 giọt *acid nitric (TT)* ở nhiệt độ dưới 5 °C, xuất hiện tinh thể trắng hoặc vàng sáng.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cyclohexan - ethyl acetat (9 : 1).
Dung dịch thử: Dung dịch tinh dầu 0,1 % trong *cloroform (TT).*
Dung dịch đối chiếu: Dung dịch tinh dầu Quế (mẫu chuẩn) 0,1 % trong *cloroform (TT).*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, phun *dung dịch 2,4-dinitrophenylhydrazin (TT).* Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu sắc (màu da cam) và cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Rosin
Trộn 1,0 ml tinh dầu quế với 5 ml *ethanol 95 % (TT),* sau đó thêm 3 ml *dung dịch chì acetat bão hòa ethanol* mới pha chế. Không được có tủa xuất hiện.

Kim loại nặng
Không được quá 40 phần triệu.
Dung dịch thử: Lấy 1,0 ml chế phẩm vào 1 chén bằng sứ hoặc thạch anh, có nắp đậy, carbon hóa bằng cách nung nhẹ. Để nguội, thêm 2 ml *acid nitric (TT)* và 5 giọt *acid sulfuric (TT),* đốt nóng cẩn thận cho đến khi hết khói trắng bay ra, than hóa bằng cách nung ở 500 °C đến 600 °C. Để nguội, thêm 2 ml *acid hydrocloric (TT),* bốc hơi tới khô trên cách thủy. Làm ẩm cắn bằng 3 giọt *acid hydrocloric (TT),* thêm 10 ml *nước* nóng và làm ẩm trong 2 min. Sau đó thêm 1 giọt *dung dịch phenolphtalein (TT),* thêm từng giọt *amoniac đậm đặc (TT)* cho đến khi dung dịch xuất hiện màu hồng nhạt, thêm 2 ml *acid acetic loãng (TT),* lọc nếu cần, rửa phễu và cắn bằng 10 ml *nước.* Chuyển dịch lọc

và dịch rửa vào ống thử Nessler, thêm *nước* vừa đủ 50 ml.
Dung dịch đối chiếu: Bốc hơi hỗn hợp 2 ml *acid nitric (TT)*, 5 giọt *acid sulfuric (TT)* và 2 ml *acid hydrocloric (TT)* trên cách thủy, làm ẩm cắn bằng 3 giọt *acid hydrocloric (TT)*. Sau đó tiến hành như chỉ dẫn với dung dịch thử, sau đó thêm 4,0 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 50 ml.
Cách tiến hành: Thêm 1 giọt *dung dịch natri sulfid (TT)* vào dung dịch thử và dung dịch đối chiếu, lắc mạnh, để yên 5 min. So sánh màu của 2 ống nghiệm bằng cách nhìn dọc ống hoặc quan sát trên nền trắng. Dung dịch thử không được đậm màu hơn dung dịch đối chiếu.

Định lượng
Lấy chính xác 10,0 ml tinh dầu, cho vào bình Cassia 100 ml, thêm 50 ml *dung dịch natri sulfit bão hòa (TT)* mới pha đã trung tính [thêm từng giọt *dung dịch natri bisulfit 30 % (TT)* vào *dung dịch natri sulfit* cho đến khi trung tính, chỉ thị là *dung dịch phenolphtalein (TT)*], trộn đều. Thêm 2 giọt *dung dịch phenolphtalein (TT)* và đun nóng ngay trong cách thủy, lắc liên tục. Thêm từng giọt *dung dịch natri bisulfit 30 % (TT)* để làm mất màu dung dịch đang đun, thêm vài giọt *phenolphtalein (TT)* nữa và tiếp tục đun trong 15 min. Khi dung dịch đun mất màu hoàn toàn, lấy bình ra, để nguội ở nhiệt độ phòng; hoặc thêm từng giọt *dung dịch natri bisulfit 30 % (TT)* để làm mất màu đỏ tạo thành khi đun nóng. Làm lại quá trình trên cho đến khi không có màu đỏ trong dung dịch đun, lấy bình ra để nguội và để yên cho tách lớp. Thêm *dung dịch natri sulfit trung tính bão hòa* cho đến khi lớp tinh dầu nổi lên phần chia vạch ở cổ bình. Để yên 18 h cho đến khi phân lớp rõ. Đọc thể tích của lớp tinh dầu đã tách ra (a ml). Hàm lượng phần trăm của aldehyd cinnamic (X%) trong tinh dầu tính theo công thức sau:

$$X(\%) = (10 - a) \times 10$$

Tinh dầu Quế phải chứa ít nhất 85,0 % (tt/tt) aldehyd cinnamic.

Bảo quản
Đựng trong bình nút kín, đóng đầy. Để nơi khô, mát, nhiệt độ không quá 25 °C. Tránh ánh sáng.

TINH DẦU TRÀM
Aetheroleum Cajuputi

Tinh dầu lấy từ lá tươi của cây Tràm gió, còn gọi là cây Chè đồng (*Melaleuca cajuputi* Powell), họ Sim (Myrtaceae), bằng cách cất kéo hơi nước.

Tính chất
Chất lỏng trong, không màu hay màu lục nhạt đến vàng nhạt. Mùi đặc biệt. Tan trong 1 đến 2 thể tích ethanol 80 %.

Tỷ trọng
Ở 20 °C: Từ 0,900 đến 0,925 (Phụ lục 6.5).

Chỉ số khúc xạ
Ở 20 °C: Từ 1,466 đến 1,472 (Phụ lục 6.1).

Góc quay cực riêng
Ở 20 °C: Từ -3° đến -1° (Phụ lục 6.4).

Giới hạn aldehyd
Cho 10 ml tinh dầu vào bình nón nút mài dung tích 100 ml. Thêm vào đó 5 ml *toluen (TT)* và 4 ml *dung dịch hydroxylamin hydroclorid trong ethanol 60 % (TT)*. Lắc mạnh và chuẩn độ ngay bằng *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol 60 % (CĐ)* đến khi màu đỏ chuyển sang màu vàng. Tiếp tục lắc và chuẩn độ tới khi lớp dưới có màu vàng bền vững sau khi đã lắc mạnh 2 min và để yên cho tách lớp: phản ứng xảy ra hoàn toàn trong khoảng 15 min. Lặp lại quy trình định lượng như trên với 10 ml tinh dầu khác, dùng dung dịch đã chuẩn độ sơ bộ ở trên thêm 0,5 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol 60 % (CĐ)* làm chuẩn màu cho điểm kết thúc định lượng. Lượng *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol 60 % (CĐ)* dùng cho chuẩn độ không được quá 2,0 ml.

Định tính
A. Cho vào 1 ống nghiệm khô 1 ml tinh dầu (đã làm khan trước bằng *natri sulfat khan (TT)*) và 1 ml *acid phosphoric (TT)*. Đặt ống nghiệm vào một cốc nước đá và khuấy kỹ trong vài phút, sẽ thấy một hợp chất cộng được tạo thành có thể chất như kem, màu từ trắng ngà đến đỏ cam tùy theo độ tinh khiết của tinh dầu.
B. Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Benzen - ethyl acetat (9 : 1).
Dung dịch thử: Tinh dầu pha loãng trong *dicloromethan (TT)* với tỷ lệ 1 : 1.
Dung dịch đối chiếu: Cineol pha loãng trong *dicloromethan (TT)* với tỷ lệ 1 : 1.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên cùng một bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra để khô ở nhiệt độ phòng, phun thuốc thử *vanilin - sulfuric (TT)*. Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 5 min đến 10 min. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết chính có cùng màu và cùng giá trị R_f với vết cineol của dung dịch đối chiếu.

Định lượng
Định lượng theo phương pháp đo điểm đông đặc của hợp chất cộng giữa cineol và O-cresol (Phụ lục 12.5).
Hàm lượng cineol ($C_{10}H_{18}O$) trong tinh dầu tràm phải không ít hơn 40,0 %.

Bảo quản
Trong bình nút kín, để chỗ mát, tránh ánh sáng.

Các chuyên luận
THUỐC CỔ TRUYỀN

BỘT BÌNH VỊ

Công thức

Thương truật (*Rhizoma Atractylodis*)	80 g
Hậu phác (*Cortex Magnoliae officinalis*)	50 g
Trần bì (*Pericarpium Citri reticulatae perenne*)	50 g
Cam thảo (*Radix Glycyrrhizae*)	30 g

Bào chế

Thương truật: Rửa sạch, phơi khô, thái mỏng. Sao với cám gạo tới màu vàng đậm, mùi thơm đặc trưng.

Hậu phác: Chích gừng.

Trần bì: Bỏ màng trắng, thái chỉ, vi sao, hoặc sao vàng.

Cân đủ số lượng các vị thuốc trong công thức trên, tán thành bột mịn, rây và trộn kỹ, sấy khô đến độ ẩm qui định. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc bột" (Phụ lục 1.7).

Tính chất

Bột có màu vàng nhạt, vị đắng, hơi ngọt, mùi thơm nhẹ.

Định tính

A. Soi bột: Soi bột chế phẩm dưới kính hiển vi, với thị kính số 5, vật kính 40, so sánh với bột mẫu chuẩn của Cam thảo, Trần bì và Thương truật, bột chế phẩm phải có các sợi chứa tinh thể calci oxalat của Cam thảo, và các tinh thể calci oxalat hình khối vuông hoặc hình quả trám của Trần bì, tinh thể calci oxalat hình kim của Thương truật.

B. Lấy khoảng 10 g chế phẩm, cho vào bình nón có nút mài. Thêm 50 ml *ethanol 70 % (TT)*, quấy đều, đun trên cách thủy 15 min. Để nguội, lọc lấy dịch chiết. Cất thu hồi dung môi. Hòa cắn với 10 ml *nước cất* nóng. Lọc. Lấy dịch lọc. Lắc với *ethyl acetat (TT)* 3 lần, mỗi lần 5 ml. Gộp dịch chiết ethyl acetat, bay hơi đến còn khoảng 3 ml, lấy dịch chiết này cho vào 3 ống nghiệm nhỏ, mỗi ống 1 ml dịch chiết để tiến hành các phản ứng sau:

Ống 1: Thêm một ít bột *magnesi (TT)*, thêm từ từ vài giọt *acid hydrocloric (TT)*, đun nóng nhẹ, dung dịch xuất hiện màu đỏ cam.

Ống 2: Thêm vài giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, xuất hiện màu vàng cam.

Ống 3: Thêm vài giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, xuất hiện màu xanh đen.

Độ ẩm

Không quá 9,0 % (Phụ lục 12.13).

Độ mịn

Lấy 20 g chế phẩm, rây qua rây số 335 (Phụ lục 3.5), phần còn lại không quá 5 %.

Độ đồng nhất

Lấy 20 g chế phẩm, cho vào tờ giấy trắng đặt trong khay men, dùng một thìa nhẵn ấn nhẹ trên mặt lớp bột thành một vệt lồm. Quan sát vị trí vệt, màu của chế phẩm phải đồng nhất, không được có màu lốm đốm.

Định lượng

Cân chính xác khoảng 10 g bột chế phẩm, cho vào bình Soxhlet, thêm 80 ml *ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy 4 h, để nguội, bỏ dịch chiết, lấy bã tãi mỏng để bay hơi hết ether dầu hỏa, cho bã vào bình Soxhlet, thêm 80 ml *ethanol 70 % (TT)*, đun hồi lưu trong cách thủy khoảng 3 h để chiết hết flavonoid. Để nguội, cất thu hồi dung môi dưới áp suất giảm, thêm 10 ml *nước cất* nóng, khuấy kỹ, lọc, lặp lại với 10 ml *nước cất* nóng khác. Lắc dịch lọc thu được với *ethyl acetat (TT)* 5 lần, mỗi lần 10 ml. Gộp dịch chiết ethyl acetat vào cốc đã cân bì, bay hơi dung môi đến cắn, sấy cắn thu được đến khối lượng không đổi ở nhiệt độ dưới 80 °C. Cân và tính hàm lượng flavonoid toàn phần.

Hàm lượng flavonoid toàn phần không được dưới 1,0 %.

Độ nhiễm khuẩn

Theo yêu cầu ghi trong Phụ lục 13.6.

Bảo quản

Đóng trong bao bì kín, để nơi khô ráo thoáng mát.

Công năng, chủ trị

Kiện tỳ táo thấp, hành khí hòa vị. Chủ trị: Các trường hợp bụng đầy trướng, căng tức, nôn mửa, tiêu chảy.

Cách dùng, liều dùng

Ngày dùng từ 12 g đến 16 g, chia 2 đến 3 lần, uống với nước sắc của 2 lát gừng và 2 quả táo tầu.

CAO BỔ PHỔI

Công thức

Bách bộ (*Radix Stemonae tuberosae*)	50 g
Xương bồ (*Rhizoma Acori*)	22 g
Bọ mắm (*Herba Pouzolziae*)	120 g
Cam thảo (*Radix Glycyrrhizae*)	11 g
Trần bì (*Pericarpium Citri reticulatae perenne*)	17 g
Cát cánh (*Radix Platycodi grandiflori*)	12 g
Mạch môn (*Radix Ophiopogonis japonici*)	50 g
Tinh dầu Bạc hà (*Oleum Menthae arvensis*)	0,2 ml
Acid Benzoic (*Acidum Benzoicum*)	2 g
Menthol (*Metholum*)	0,2 g
Đường trắng (*Saccharum*)	900 g
Ethanol 50 % (*Ethanolum 50 %*)	110 ml
Nước vừa đủ (*Aqua q.s*)	1000 g

Bào chế

Trần bì: Rửa sạch, thái nhỏ, ngâm với 90 ml *ethanol 50 % (TT)* trong 7 ngày, gạn dịch chiết, ép, lọc lấy hết dịch.

Menthol và acid benzoic: Hòa tan với 20 ml *ethanol 50 % (TT)*.

Các vị thuốc còn lại (trừ đường trắng và tinh dầu Bạc hà): Rửa sạch, thái lát, xếp vào nồi dùng vỉ ghìm chặt để khỏi bồng khi sôi, đổ ngập nước 10 cm. Đun sôi 2 h đến 3 h (chú ý bổ sung bù lượng nước bay hơi). Rút

dịch chiết. Dun và rút dịch dịch chiết như trên 2 lần đến 3 lần nữa. Gộp các dịch chiết, cô còn khoảng 1000 ml. Thêm đường trắng, đun sôi để hòa tan và cô còn khoảng 950 ml. Lọc nóng, để nguội. Thêm cồn Trần bì, menthol, acid benzoic, tinh dầu Bạc hà, bổ sung nước vừa đủ 1000 ml, khuấy đều, đóng chai.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu ghi trong chuyên luận "Cao thuốc" (Phụ lục 1.1) và các yêu cầu sau:

Tính chất

Chất lỏng sánh, màu vàng nâu cánh gián, thơm mùi Bạc hà, vị ngọt, hơi cay.

Định tính

A. Định tính menthol

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

Bản mỏng: *Silica gel G.*

Dung môi khai triển: *n-Hexan - ethyl acetat* (2 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 100 ml chế phẩm, lắc với *ether (TT)* 2 lần, mỗi lần 30 ml. Gộp các dịch chiết ether và để bay hơi tự nhiên tới cạn. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,05 g menthol chuẩn trong 2 ml *ethanol (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*. Sấy bản mỏng ở 120 °C trong 5 min. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng màu, cùng giá trị R_f với vết menthol trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Định tính Bách bộ

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

Bản mỏng: *Silica gel G.*

Dung môi khai triển: *Ethyl acetat - methanol - nước - amoniac* (100 : 17 : 13 : 3).

Dung dịch thử: Lấy 40 ml chế phẩm, pha loãng với 40 ml *nước*, kiềm hoá bằng *amoniac (TT)* tới pH 10 đến 11. Chiết bằng *cloroform (TT)* 2 lần, mỗi lần 30 ml. Gộp các dịch chiết cloroform, cô trên cách thủy tới cạn. Hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 2 g Bách bộ đã cắt nhỏ, thêm 100 ml *nước*, đun sôi nhẹ 30 min, lọc. Cô dịch lọc đến khi còn khoảng 30 ml, để nguội và tiến hành chiết tiếp như đối với dung dịch thử, bắt đầu từ "kiềm hóa bằng *amoniac (TT)*...".

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *thuốc thử Dragendorff (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu, cùng giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

C. Định tính Trần bì

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

Bản mỏng: *Silica gel G.*

Dung môi khai triển: *Toluen - cloroform - aceton* (40 : 25 : 35).

Dung dịch thử: Lấy 60 ml chế phẩm cho vào bình gạn, pha loãng với 30 ml *nước*, kiềm hóa bằng *amoniac (TT)* đến pH 9 đến 10, lắc đều, để yên 30 min rồi lắc với 30 ml *ethyl acetat (TT)*. Gạn lấy dịch chiết ethyl acetat, cô trên cách thủy tới cạn. Hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g Trần bì đã cắt nhỏ, thêm 100 ml *nước*, đun sôi nhẹ 30 min, lọc. Cô dịch lọc còn khoảng 30 ml, để nguội, chuyển vào bình gạn. Kiềm hóa dung dịch bằng *amoniac (TT)* đến pH 9 đến 10, lắc đều, để yên 30 min rồi lắc với 30 ml *ethyl acetat (TT)*. Gạn lấy dịch chiết ethyl acetat, cô trên cách thủy tới cạn. Hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid phosphoric*. Sấy bản mỏng ở 120 °C trong 5 min cho đến khi hiện rõ các vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

D. Định tính Bọ mắm

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

Bản mỏng: *Silica gel G.*

Dung môi khai triển: *n-Butanol - acid acetic - nước* (4 : 5 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 25 ml chế phẩm, pha loãng với 25 ml *nước*, lắc với *ethyl acetat (TT)* 2 lần, mỗi lần 25 ml. Gộp các dịch chiết ethyl acetat, cô trên cách thủy tới cắn. Hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 3 g Bọ mắm (mẫu chuẩn) đã cắt nhỏ, đun trên cách thủy 30 min 2 lần, mỗi lần với 40 ml *ethanol 50 % (TT)*. Gộp các dịch chiết ethanol, cô trên cách thủy tới cạn. Hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 30 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, đặt vào bình đã bão hòa hơi *amoniac (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ trong và độ đồng nhất

Sánh, đồng nhất, không được có váng mốc, bã dược liệu và vật lạ (Phụ lục 1.1).

Tỷ trọng

Ở 20 °C: Từ 1,30 đến 1.33 (Phụ lục 6.5, phương pháp dùng tỷ trọng kế).

Bảo quản

Trong lọ kín để nơi mát.

Công năng, chủ trị

Nhuận phế, chỉ khái. Chủ trị: Các chứng ho gió, ho lâu ngày, rát cổ, ráo phổi.

Cách dùng, liều lượng

Ngày dùng 50 ml, chia làm 2 đến 3 lần. Trẻ em tùy tuổi.

CAO LỎNG HOẮC HƯƠNG CHÍNH KHÍ

Công thức

Bạch chỉ *(Radix Angelicae dahuricae)*	240 g
Hậu phác *(Cortex Magnoliae officinalis)* chế gừng	160 g
Bán hạ *(Rhizoma Pinelliae)* chế	160 g
Hoắc hương *(Folium Pogostemonis)*	240 g
Cam thảo *(Radix Glycyrrhizae)*	80 g
Bạch linh *(Poria)*	240 g
Thương truật *(Rhizoma Atractylodis)*	160 g
Đại phúc bì *(Pericarpium Arecae catechi)*	240 g
Tía tô *(Folium Perillae frutescensis)*	240 g
Trần bì *(Pericarpium Citri reticulatae perenne)*	160 g
Đại táo (*Fructus Ziziphi jujubae*)	130 g
Cát cánh (*Radix Platycodi grandiflori*)	160 g
Nước vừa đủ (*Aqua q.s*)	2000 ml

Điều chế

Hậu phác chế gừng, Bán hạ chế gừng theo quy định trong chuyên luận riêng.

Hậu phác: Chiết hồi lưu với 300 ml ethanol 60 % trong 1 h, lọc lấy dịch chiết.

Thương truật, Trần bì, Bạch chỉ, Hoắc hương, Tía tô: Chiết bằng cất kéo hơi nước, thu được dịch cất chứa các chất bay hơi.

Bạch linh: Cho nước vừa ngập dược liệu, đun đến sôi và giữ nóng ở 80 °C, tiến hành 2 lần, lần 1 trong 3 h, lần 2 trong 2 h, lọc, gộp các dịch lọc.

Ngâm Bán hạ chế, Đại phúc bì đến trương nở, sắc trong 3 h và lọc, tiến hành làm 2 lần. Cam thảo được sắc kỹ, lọc. Gộp các dịch lọc trên và cô đến còn khoảng 1000 ml. Để nguội, thêm ethanol 96 % đến khi tủa hoàn toàn (để yên 24 h) và lọc. Thêm dịch chiết của Hậu phác. Phối hợp các dịch cất có chứa các chất bay hơi ở trên, trộn kỹ và thêm nước tới khoảng 1900 ml, để nơi mát 24 h và lọc. Thêm chất bảo quản, thêm nước vừa đủ tới 2000 ml. Lọc, đóng lọ 10 ml.

Chế phẩm phải đạt các yêu cầu trong chuyên luận "Cao thuốc" (Phụ lục 1.1) và các yêu cầu sau:

Tính chất

Dung dịch nâu trong, vị cay, đắng.

Định tính

A. Định tính Thương truật

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Ether dầu hỏa - ethyl acetat (20 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 30 ml chế phẩm cho vào bình nón có nút mài, thêm 40 ml *n-hexan (TT)* lắc kỹ 15 min, để qua đêm, gạn lấy dịch chiết n-hexan, cho bay hơi hết dung môi. Hòa cắn vào 1 ml *ethanol (TT)* được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g Thương truật (mẫu chuẩn) đã tán nhỏ và tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử bắt đầu từ "thêm 40 ml *n-hexan (TT)*".

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra, bay hơi dung môi, sấy nhẹ ở 70 °C đến 80 °C rồi phun *dung dịch p-dimethyl aminobenzadehyd 5%*, sấy bản mỏng ở 120 °C cho đến khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Định tính Hoắc hương

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Toluen.

Dung dịch thử: Lấy 50 ml chế phẩm, bốc hơi đến còn 10 ml, thêm 20 ml *n-hexan (TT)*, lắc kỹ, gạn lấy dịch n-hexan, bay hơi hết dung môi. Hòa cắn vào 1 ml *ethanol (TT)* được dung dịch chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 6 g Hoắc hương (mẫu chuẩn) tán nhỏ. Tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử bắt đầu từ "thêm 20 ml *n-hexan (TT)*".

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai, lấy bản mỏng ra, để bay hơi hết dung môi, sấy nhẹ ở 70 °C đến 80 °C rồi phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*, sấy bản mỏng ở 120 °C cho đến khi hiện màu rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

C. Định tính Bạch chỉ

Lấy khoảng 10 ml chế phẩm cho vào cốc sứ, dùng phễu thủy tinh cuống dài đậy lên cốc sứ, nút cuống bằng bông ẩm. Đun cách tầm amian trong khoảng 10 min, để nguội cho nước bay hơi, quan sát trên cuống phễu thủy tinh, phải có bột trắng hoặc các tinh thể hình trụ bám vào.

Độ trong và độ đồng nhất

Sánh, đồng nhất, không được có váng mốc, bã dược liệu và vật lạ (Phụ lục 1.1)

Tỷ trọng

Ở 20 °C: ≥ 1,01 (Phụ lục 6.5, phương pháp dùng tỷ trọng kế).

pH

4,5 đến 6,5 (Phụ lục 6.2).

Chất chiết được

Hàm lượng chất chiết được trong cao không được dưới 5,3 % (kl/kl) (Phụ lục 12.15).

Cân chính xác 10 g chế phẩm để thử.

Bảo quản

Trong lọ màu nâu kín, để nơi mát.

Công năng, chủ trị

Giải biểu hoá thấp, điều khí để điều hòa khí trung tiêu. Chủ trị: Ngoại cảm phong hàn, nội thương thấp trệ hay trúng thử gây nên đau đầu, chóng mặt, cảm giác nặng đầu, tức ngực, thượng vị đau trướng, nôn mửa, tiêu chảy, tỳ vị hàn.

Cách dùng, liều lượng

Dùng 5 ml/lần đến 10 ml/lần, 2 lần một ngày.

Lắc kỹ trước khi dùng.

Kiêng kỵ
Không nên ăn các thứ lạnh, khó tiêu. Thận trọng khi dùng cho người tân dịch thiếu, háo khát âm hư.

CAO HY THIÊM

Công thức

Hy thiêm (*Herba Siegesbeckiae*)	1000 g
Thiên niên kiện (*Rhizoma Homalomenae occultae*)	50 g
Ethanol 90 % (*Ethanolum*)	230 ml
Đường trắng (*Saccharum*)	130 g
Nước vừa đủ (*Aqua q.s*)	1000 ml

Bào chế
Hy thiêm loại bỏ tạp chất, rửa sạch, thái đoạn dài 10 cm đến 15 cm. Thiên niên kiện loại bỏ tạp chất, rửa sạch, thái mỏng. Cho các dược liệu vào thùng, dùng vỉ ghìm chặt cho dược liệu khỏi bồng lên, đổ ngập nước 10 cm. Đun sôi trong 2 h (chú ý bù lượng nước bay hơi). Gạn lấy dịch chiết. Chiết tiếp như trên thêm 2 lần nữa. Gộp các dịch chiết, cô còn khoảng 500 ml. Để lắng và lọc trong. Thêm đường trắng, đun sôi để hòa tan. Để nguội, thêm ethanol 90 %, khuấy đều, lọc. Thêm nước vừa đủ 1000 ml và đóng chai.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Cao thuốc" (Phụ lục 1.1) và các yêu cầu sau:

Tính chất
Chất lỏng màu đen, vị ngọt đắng, mùi thơm của Thiên niên kiện.

Định tính
Định tính Hy thiêm.
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cloroform - methanol (9 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 10 ml chế phẩm, pha loãng với 10 ml *nước*, chuyển vào bình gạn, lắc với *ethyl acetat (TT)* 2 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp các dịch chiết ethyl acetat, cô trên cách thủy tới cạn. Hòa cặn trong 2 ml *ethanol (TT).*
Dung dịch đối chiếu: Lấy 5 g Hy thiêm (mẫu chuẩn) đã cắt nhỏ, đun sôi nhẹ với 100 ml *nước* trong khoảng 1 h (chú ý bù nước bay hơi), lọc. Cô dịch lọc còn khoảng 30 ml, để nguội, chuyển vào bình gạn, lắc với *ethyl acetat (TT)* 2 lần, mỗi lần 25 ml. Gộp các dịch chiết ethyl acetat, cô trên cách thủy tới cạn. Hòa cặn trong 1 ml *ethanol (TT).*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT),* sấy bản mỏng ở 110 °C cho tới khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ trong và độ đồng nhất
Sánh, đồng nhất, không được có vảng mốc, bã dược liệu và vật lạ (Phụ lục 1.1).

Hàm lượng ethanol
18 % đến 20 % (tt/tt) (Phụ lục 10.12).

Tỷ trọng
Ở 20 °C: 1,05 đến 1,10 (Phụ lục 6.5, Phương pháp dùng tỷ trọng kế).

Bảo quản
Đựng trong lọ kín để nơi mát.

Công năng, chủ trị
Thanh nhiệt, trừ thấp, tán phong, thông kinh chỉ thống. Chủ trị: Các chứng phong thấp sưng nóng đỏ đau, chân tay tê bại, đau lưng mỏi gối do phong thấp nhiệt gây nên.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 60 ml, chia làm 3 lần. Bệnh nặng dùng nhiều hơn.

Kiêng kỵ
Không dùng cho người phong thấp có hư hàn.

CAO ÍCH MẪU

Công thức

Hương phụ (*Rhizoma Cyperi*) chế dấm	250 g
Ích mẫu (*Herba Leonuri japonici*)	800 g
Ngải cứu (*Herba Artemisiae vulgaris*)	200 g
Acid benzoic (*Acidum Benzoicum*)	2 g
Ethanol 90 % (*Ethanolum 90 %*)	180 ml
Đường trắng (*Saccharum*)	600 g
Nước vừa đủ (*Aqua q.s*)	1000 ml

Bào chế
Hương phụ chế dấm theo chuyên luận riêng. Ích mẫu, Ngải cứu loại bỏ tạp chất, rửa sạch, thái dài 5 cm đến 10 cm, trộn đều. Lấy một nửa lượng Ích mẫu và Ngải cứu xếp dưới đáy nồi, giữa để Hương phụ, trên cùng cho nốt phần Ích mẫu, Ngải cứu còn lại. Lấy vỉ ghìm chặt dược liệu, đổ nước ngập dược liệu 10 cm. Đun sôi đều trong 4 h (chú ý bù nước bay hơi). Gạn lấy dịch chiết, để lắng, lọc trong. Chiết tiếp như trên từ 2 đến 3 lần nữa. Gộp dịch chiết, cô đặc còn khoảng 600 ml, thêm đường trắng và đun sôi để hòa tan đường. Thêm ethanol 90 %, thêm acid benzoic và thêm nước vừa đủ 1000 ml. Lọc và đóng chai.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Cao thuốc" (Phụ lục 1.1) và các yêu cầu sau:

Tính chất
Chất lỏng sánh màu nâu đen, thơm mùi dược liệu, vị ngọt hơi đắng.

Định tính
A. Định tính Ích mẫu
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G
Dung môi khai triển: Toluen - ethyl acetat - aceton - acid formic (15 : 2 : 2 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 10 ml chế phẩm, pha loãng với 20 ml *nước*, chuyển vào bình gạn, lắc với 30 ml *ethyl acetat (TT)*. Gạn lấy dịch chiết ethyl acetat, bốc hơi trên cách thủy đến cạn. Hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol 96 % (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 6 g Ích mẫu (mẫu chuẩn) đã cắt nhỏ, thêm 100 ml *nước*, đun sôi nhẹ 1 h (chú ý bổ sung nước bay hơi), lọc. Cô dịch lọc trong cách thủy đến còn khoảng 30 ml, để nguội, chuyển vào bình gạn, lắc với 30 ml *ethyl acetat (TT)*. Gạn lấy dịch chiết ethyl acetat, bốc hơi trên cách thủy đến cạn. Hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol 96 % (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 14 cm đến 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun dung dịch *sắt (III) clorid 5 % trong ethanol (TT)*. Quan sát ở ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
B. Định tính Ngải cứu
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Toluen - ethyl acetat - aceton - acid formic* (15 : 2 : 2 : 1).
Dung dịch thử: Dùng dung dịch thử ở phần định tính Ích mẫu.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g Ngải cứu (mẫu chuẩn) đã cắt nhỏ, thêm 100 ml *nước*, đun sôi nhẹ 1 h (Chú ý bổ sung bù nước bay hơi), lọc. Cô dịch lọc trong cách thủy đến còn khoảng 30 ml, để nguội, chuyển vào bình gạn, lắc với 30 ml *ethyl acetat (TT)*. Gạn lấy dịch chiết ethyl acetat, bốc hơi trên cách thủy đến cạn. Hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol 96 % (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 14 cm đến 15 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, quan sát dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ trong và độ đồng nhất
Chất lỏng sánh, đồng nhất, không được có váng mốc, bã dược liệu và vật lạ (Phụ lục 1.1).
Thêm cùng thể tích *nước* không được đục.

Tỷ trọng
Ở 20 °C: Từ 1,20 đến 1,23 (Phụ lục 6.5, phương pháp dùng tỷ trọng kế).

Hàm lượng ethanol
14 % đến 17 % (Phụ lục 10.12).

Bảo quản
Trong lọ kín, để nơi mát.

Công năng, chủ trị
Hoạt huyết, điều kinh. Chủ trị: Kinh nguyệt không đều, khí hư bạch đới, rong huyết và băng huyết do huyết ứ, hành kinh đau bụng. Làm cho tử cung chóng co lại như cũ sau khi sinh.

Cách dùng, liều lượng
Ngày dùng 25 ml, chia làm 2 lần. Bệnh nặng dùng liều gấp đôi.

Kiêng kỵ
Phụ nữ có thai dùng nên thận trọng, kiêng ăn các thức ăn lạnh khi dùng thuốc.

CAO LỎNG TỨ NGHỊCH

Công thức

Hắc phụ tử *(Radix Aconiti lateralis)*	300 g
Can khương *(Rhizoma Zingiberis officinalis)*	200 g
Cam thảo *(Radix Glycyrrhizae)* chích mật	200 g
Siro đơn *(Sirupus simplex)*	300 ml
Nước vừa đủ *(Aqua q.s)*	1000 ml

Bào chế
Chế Hắc phụ tử và Cam thảo chích mật theo qui định trong chuyên luận riêng. Sắc Hắc Phụ tử và chích Cam thảo 2 lần, lần một trong 2 h, lần hai trong 1,5 h. Gộp dịch sắc và lọc. Dùng phương pháp cất kéo hơi nước để cất riêng tinh dầu, chất bay hơi của Can khương và dịch nước cất Can khương bão hòa tinh dầu để vào các dụng cụ riêng biệt. Sắc bã Can khương cùng với nước trong 1 h. Gộp dịch sắc Can khương và nước cất chứa tinh dầu của Can khương và lọc. Gộp dịch lọc với dịch sắc của Hắc phụ tử và chích Cam thảo, cô đặc đến còn khoảng 400 ml. Để nguội, thêm 1200 ml ethanol 95 %, khuấy kỹ, để yên trong 24 h, lọc và cô chân không đến dịch chiết đặc. Hòa loãng dịch đặc này với một lượng nước thích hợp, giữ ở chỗ mát trong 24 h và lọc. Thêm 300 ml siro đơn, chất bảo quản, tinh dầu và chất bay hơi Can khương ở trên. Thêm nước tới đủ 1000 ml, khuấy đều, đóng lọ 10 ml và tiệt trùng.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Cao thuốc" (Phụ lục 1.1) và các yêu cầu sau:

Tính chất
Chất lỏng hơi sánh, màu vàng hơi nâu, mùi thơm, vị ngọt hơi cay.

Định tính
A. Định tính Cam thảo.
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi khai triển: *Ethyl acetat - acid acetic băng - acid formic - nước* (15 : 1 : 1 : 2).
Dung dịch thử: Lấy 20 ml chế phẩm, chiết bằng 20 ml *n-butanol (TT)*, gạn lấy lớp n-butanol và cô thu hồi dung môi đến cắn khô và hòa cắn này vào 2 ml *methanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g Cam thảo (mẫu chuẩn), thêm 40 ml *ether (TT)*, đun hồi lưu trên cách thủy trong 1 h, bỏ dịch chiết ether. Thêm 30 ml *methanol (TT)* vào phần bã Cam thảo, đun hồi lưu trên cách thủy trong 1 h, lọc, bốc hơi dịch lọc đến khô, hòa tan cắn này trong 2 ml *methanol (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl của mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*, sấy ở 105 °C. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Các vết phát huỳnh quang trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng giá trị R_f và màu sắc với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

B. Định tính Can khương

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: Ethyl acetat - acid acetic băng - acid formic - nước (15 : 1 : 1 : 2).

Dung dịch thử: Dùng dung dịch thử ở phần định tính Cam thảo.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 4 g Can khương (mẫu chuẩn), thêm 30 ml *nước*, đun hồi lưu trong cách thủy 1 h, để nguội, lọc. Lắc dịch lọc với 40 ml *n-butanol*, gạn lấy lớp n-butanol, cô thu hồi dung môi đến khô. Hòa tan cắn trong 2 ml *methanol (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí, phun dung dịch *vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*, sấy ở 105 °C đến hiện rõ vết, quan sát dưới đèn tử ngoại bước sóng 366 nm. Các vết trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Thử giới hạn aconitin và hypacotin

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Cloroform - ethyl acetat - amoniac (5 : 5 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 70 ml chế phẩm, điều chỉnh đến pH 10 bằng *amoniac đậm đặc (TT)*. Chiết 3 lần, mỗi lần với 100 ml *ether (TT)*. Gộp dịch chiết ether và thu hồi ether đến cắn khô, hòa tan cắn vào 2 ml *ethanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan aconitin chuẩn và hypacotin chuẩn trong *ethanol (TT)* để được dung dịch chứa 2 mg mỗi chất chuẩn trong 1 ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 6 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí, phun *thuốc thử Dragendorff (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng thường. Các vết cùng giá trị R_f với các vết của aconitin và hypacotin trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử phải không xuất hiện hoặc nếu xuất hiện thì phải có kích thước nhỏ hơn và không đậm màu hơn so với các vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Tỷ trọng

Ở 20 °C: Từ 1,07 đến 1,09 (Phụ lục 6.5, phương pháp dùng tỷ trọng kế).

Độc tính bất thường

Đạt yêu cầu theo phương pháp thử độc tính bất thường (Phụ lục 13.5), cho chuột uống với liều 1 ml/chuột.

Bảo quản

Trong lọ nút kín, để nơi khô mát.

Công năng, chủ trị

Hồi dương cứu nghịch. Chủ trị: Hư thoát do vong dương với các biểu hiện toát mồ hôi lạnh, chân tay quyết lạnh, tiêu chảy sống phân, nôn mửa, bụng đau, mạch vi muốn tuyệt (mạch rất nhỏ, yếu, khó nhận thấy).

Cách dùng, liều lượng

Uống mỗi lần 10 ml đến 20 ml, ngày 3 lần hoặc theo chỉ dẫn của thầy thuốc.

CAO TANG CÚC ÂM

Công thức

Tang diệp (*Folium Mori albae*)	200 g
Cúc hoa vàng (*Flos Chrysanthemi indici*)	80 g
Liên kiều (*Fructus Forsythiae suspensae*)	120 g
Bạc hà (*Herba Menthae*)	60 g
Cam thảo (*Radix Glycyrrhizae*)	60 g
Khổ hạnh nhân (*Semen Armeniacae amarum*)	160 g
Cát cánh (*Radix Platycodi grandiflori*)	160 g
Lô căn (*Rhizoma Phragmitis*)	160 g
Nước vừa đủ (*Aqua q.s*)	1000 ml

Điều chế

Chế biến các vị thuốc theo qui định trong các chuyên luận riêng. Hạnh nhân và Bạc hà cất riêng theo phương pháp cất kéo hơi nước được nước cất Bạc hà - Hạnh nhân, để riêng. Bã Hạnh nhân, Bạc hà và các dược liệu còn lại được sắc với nước hai lần, mỗi lần 2 h đến 3 h, để nguội, lọc lấy các dịch chiết. Gộp và cô các dịch chiết còn khoảng 400 ml. Để nguội, thêm khoảng 1000 ml ethanol 96 %, khuấy đều, để lắng 24 h, lọc và cô đặc ở áp suất giảm tới cao đặc. Phối hợp nước cất Bạc hà - Hạnh nhân, thêm chất bảo quản, thêm nước vừa đủ 1000 ml. Đóng chai.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Cao thuốc" (Phụ lục 1.1) và các yêu cầu sau:

Tính chất

Chất lỏng màu nâu đen, mùi thơm, vị hơi ngọt đắng nhẹ.

Tỷ trọng

Ở 20 °C: Từ 1,03 đến 1,05 (Phụ lục 6.5, phương pháp dùng tỷ trọng kế).

Định lượng amygdalin

Lấy chính xác 100 ml chế phẩm cho vào bình cầu dung tích 250 ml. Lắp vào dụng cụ sinh hàn để cất thu hồi chất bay hơi. Cất lấy khoảng 10 ml dịch cất (đong chính xác) cho vào bình nón dung tích 100 ml, thêm 2 ml *dung dịch kali iodid (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* cho đến khi có màu trắng đục hơi vàng. Song song làm mẫu trắng. 1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 91,48 mg amygdalin.

Chế phẩm phải chứa hàm lượng amygdalin từ 0,65 % đến 0,79 %.

Bảo quản
Trong bao bì nút kín, để nơi khô mát.

Công năng, chủ trị
Sơ phong thanh nhiệt, tuyên phế chỉ khái. Chủ trị: Thái âm phế tỳ phong ôn, ho, cảm cúm, viêm phế quản, viêm đường hô hấp trên, miệng ho khan.

Cách dùng, liều lượng
Người lớn ngày uống 2 lần mỗi lần 25 ml.
Trẻ em tùy theo tuổi.

ĐỘC HOẠT KÝ SINH THANG

Thuốc sắc Độc hoạt ký sinh

Công thức

Độc hoạt (*Radix Angelicae pubescentis*)	12 g
Quế chi (*Ramulus Cinnamomi*)	8 g
Phòng phong (*Radix Saposhnikoviae divaricatae*)	8 g
Đương quy (*Radix Angelicae sinensis*)	8 g
Tế tân (*Herba Asari*)	8 g
Xuyên khung (*Rhizoma Ligustici wallichii*)	8 g
Tần giao (*Radix Gentianae macrophyllae*)	8 g
Bạch thược (*Radix Paeoniae lactiflorae*)	8 g
Tang ký sinh (*Herba Loranthi*)	8 g
Thục địa (*Radix Rehmanniae glutinosae praeparata*)	8 g
Đỗ trọng (*Cortex Eucommiae*) chích muối	8 g
Nhân sâm (*Radix Ginseng*)	8 g
Ngưu tất (*Radix Achysanthis bidentatae*)	8 g
Phục linh (*Poria*)	8 g
Cam thảo (*Radix Glycyrrhizae*)	8 g

Bào chế
Các vị thuốc được chế theo chuyên luận riêng.
Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc thang" (Phụ lục 1.23) và các yêu cầu sau:

Tính chất
Các vị thuốc trong thang phải khô, sạch, có mùi thơm. Thang thuốc có mùi đặc trưng của Độc hoạt.

Định tính
Thang thuốc phải có đủ và đúng các vị thuốc theo công thức.

Tạp chất
Không được có (Phụ lục 12.11).

Độ ẩm
Lấy 3 vị dược liệu bất kỳ trong thang thuốc, xác định độ ẩm theo Phụ lục 12.13 (đối với dược liệu chứa tinh dầu) hoặc theo Phụ lục 9.6 (đối với dược liệu khác). Các vị thuốc phải đạt yêu cầu về độ ẩm quy định ở từng chuyên luận.

Sai số khối lượng
Đối với từng vị thuốc: Khối lượng trên nhãn ± 10 % (đối với vị có khối lượng ≤ 10 g) hoặc ± 7,5 % (đối với vị có khối lượng > 10 g).
Đối với thang thuốc: Khối lượng trên nhãn ± 7,5 %.

Bảo quản
Nơi khô mát.

Công năng, chủ trị
Ích can thận, bổ khí huyết, khu phong tán hàn trừ thấp, thông kinh hoạt lạc. Chủ trị: Can, thận đều hư, phong hàn thấp gây đau nhức mỏi, thắt lưng, đầu gối, các chi dưới co duỗi khó khăn, cảm giác nặng nề.

Cách dùng, liều lượng
Thuốc sắc, ngày uống 1 thang, uống trước bữa ăn.

HOÀN AN THAI

Công thức

Cao ban long (*Colla Cornus Cervi*)	16 g
Sa nhân (*Fructus Amomi*)	20 g
Hoài sơn (*Tuber Dioscoreae persimilis*)	120 g
Thục địa (*Radix Rehmanniae glutinosae praeparata*)	80 g
Trữ ma căn (*Radix Boehmeriae niveae*)	80 g
Tô ngạnh (*Caulis Perillae*)	12 g
Hương phụ (*Rhizoma Cyperi*)	20 g
Tục đoạn (*Radix Dipsaci*)	42 g
Ngải cứu (*Herba Artemisiae vulgaris*)	80 g
Trần bì (*Pericarpium Citri reticulatae perenne*)	20 g
Mật ong vừa đủ (*Mel q.s*)	1000 g

Điều chế
Ngải cứu: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, thái ngắn, phơi khô. Tục đoạn: Loại bỏ tạp chất, rửa sạch, thái lát dày 2 mm đến 5 mm, phơi hoặc sấy nhẹ, tẩm với rượu đủ ẩm đều (khoảng 10 %), ủ cho thấm rồi sao vàng xém cạnh.
Hoài sơn, Trữ ma căn, Hương phụ, Thục địa: Chế theo chuyên luận riêng.
Sa nhân, Tô ngạnh, Trần bì: Loại tạp và vi sao.
Các vị thuốc được sấy khô ở nhiệt độ dưới 70 °C, tán bột và trộn đều qua rây số 180.
Thục địa nấu thành cao mềm có hàm ẩm 30 %. Rồi hòa nóng Cao ban long trong cao thục địa. Mật ong cô luyện.
Cứ 100 g bột dùng 90 g đến 120 g cao Thục địa - Cao Ban long và Mật ong.
Tất cả được trộn nóng tạo thành khối bột dẻo rồi chia thành viên 9 g.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc hoàn" Phụ lục 1.11 và các yêu cầu sau:

Tính chất
Hoàn mềm hình cầu nhuận dẻo, màu nâu đen bóng, đường kính 20 mm đến 22 mm, vị ngọt đắng nhẹ, thơm mùi Ngải cứu và Hương phụ.

Định tính
A. Soi bột: Lông che chở đầu đa bào 3 tế bào dài 13 µm đến 15 µm, chân đơn bào dài 3 µm đến 6 µm (hình chữ T).

Các tinh thể calci oxalat hình cầu có đường kính 5 µm đến 9 µm. Đám tế bào tiết tinh dầu chứa 3 đến 4 tế bào có đường kính 5 µm đến 20 µm. Túi tinh dầu nằm rải rác có đường kính 30 µm đến 40 µm. Mạch điểm rộng khoảng 30 µm.

B. Định tính Sa nhân

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Toluen - ethyl acetat (7 : 3).

Dung dịch thử: Lấy 20 g chế phẩm đã cắt nhỏ, thêm 40 ml *ethanol (TT)*, ngâm 4 h, lọc, để bay hơi dịch lọc ở nhiệt độ phòng đến cắn. Hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol (TT)* được dung dịch chấm sắc ký.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g Sa nhân (mẫu chuẩn), thêm 10 ml *ethanol (TT)*, ngâm trong 4 h, lọc. Để bay hơi tự nhiên dịch lọc đến cắn. Hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol (TT)* được dung dịch chấm sắc ký.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có 3 vết cùng giá trị R_f và màu sắc với 3 vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

C. Định tính Ngải cứu

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

Bản mỏng: Silica gel G.

Dung môi khai triển: Toluen - ethyl acetat - aceton - acid formic (15 : 2 : 2 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 10 g chế phẩm đã cắt nhỏ, thêm 50 ml *nước*, đun sôi trong 1 h. Để nguội, lọc, cô dịch lọc trong cách thủy đến cắn. Hòa tan cắn trong 10 ml *ethyl acetat (TT)*. Lọc, cô dịch lọc trên cách thủy tới cạn, hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g Ngải cứu (mẫu chuẩn) đã cắt nhỏ, thêm 50 ml *nước* và tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, quan sát dưới đèn tử ngoại, bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có màu sắc và giá trị R_f tương tự như các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không được quá 15.0 % (Phụ lục 12.13).

Định lượng chất bay hơi

Cân chính xác khoảng 100 g chế phẩm đã cắt nhỏ cho vào bình cầu. Tiến hành định lượng chất bay hơi trong chế phẩm theo phương pháp định lượng tinh dầu trong dược liệu (Phụ lục 12.7).

Chất bay hơi thu được trong chế phẩm xác định theo công thức:

$$X\% = \frac{(V_2 - V_1) \times 100}{m}$$

Trong đó:

V_1 là thể tích *xylen* cho vào bình hứng (1 ml);

V_2 là thể tích tinh dầu và xylen đọc được cuối cùng;

m là khối lượng mẫu cất chất bay hơi (g).

Chế phẩm phải chứa ít nhất 0,08 % chất bay hơi.

Bảo quản

Trong lọ kín, để nơi khô mát, tránh mốc mọt.

Công năng, chủ trị

An thai, dưỡng huyết, chỉ huyết. Chủ trị: Các trường hợp động thai, rong huyết, mệt mỏi, nôn, hoa mắt, chóng mặt, tiểu tiện vàng, đại tiện táo.

Cách dùng, liều lượng

Dùng 2 lần một ngày, mỗi lần 1 viên, uống với nước ấm.

HOÀN BÁT TRẬN

Công thức

Đảng sâm (*Radix Codonopsis pilosulae*)	100 g
Đương quy (*Radix Angelicae sinensis*) chế rượu	100 g
Bạch truật (*Rhizoma Atractylodis macrocephalae*) sao	100 g
Bạch thược (*Radix Paeoniae lactiflorae*)	100 g
Bạch linh (*Poria*)	100 g
Xuyên khung (*Rhizoma Ligustici wallichii*)	100 g
Cam thảo (*Radix Glycyrrhiae*)	50 g
Thục địa (*Radix Rehmaniae glutinosae praeparata*)	100 g
Mật ong vừa đủ (*Mel q.s*)	

Bào chế

Đương quy chế rượu, Bạch truật sao theo quy định trong chuyên luận riêng. Sấy khô ở nhiệt độ dưới 70 °C và nghiền 8 vị thuốc trên thành bột mịn, trộn đều thành bột kép, rây qua rây số 180. Nếu làm hoàn cứng, lấy 100 g bột kép, thêm 40 g đến 50 g mật luyện hòa loãng trong lượng nước sôi thích hợp, gây nhân, làm hoàn cứng và sấy khô. Nếu làm hoàn mềm, cứ 100 g bột kép, thêm 110 g đến 140 g mật ong luyện nóng, trộn mềm nhuyễn, chia viên hoàn 9 g.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc hoàn" (Phụ lục 1.11) và các yêu cầu sau:

Tính chất

Hoàn cứng màu đen hơi nâu.

Hoàn mềm màu đen hay nâu hơi đen, mềm, nhuyễn, có vị ngọt và hơi đắng.

Định tính

A. Bạch linh, Cam thảo: Soi bột chế phẩm dưới kính hiển vi với độ phóng đại thích hợp, so sánh với bột mẫu chuẩn của Bạch linh và Cam thảo, bột chế phẩm phải có các khối phân nhánh không đều, không màu; sợi nấm không màu hay nâu nhạt, hơi cong và phân nhánh của Bạch linh; các bó sợi mang tinh thể calci oxalat hình lăng trụ của Cam thảo.

B. Định tính Đương quy
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: n-Hexan - ethyl acetat (9 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 10 g chế phẩm, tán thành bột thô hoặc cắt nhỏ, thêm 30 ml *ether (TT)*, lắc trên máy lắc 30 min, lọc lấy dịch chiết. Chiết như trên thêm một lần nữa. Gộp các dịch chiết ether, để bay hơi tự nhiên đến khô. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 0,5 g bột Đương quy (mẫu chuẩn), thêm 15 ml *ether (TT)* rồi tiến hành chiết như dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 15 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
C. Định tính Đảng sâm
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: n-Hexan - ethyl acetat (2 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 10 g hoàn, nghiền nhỏ, nếu là hoàn mềm thì cắt nhỏ, thêm 50 ml *methanol (TT)*, đun sôi trên cách thủy 30 min, để nguội, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Khuấy kỹ cắn với *n-butanol (TT)* 3 lần, mỗi lần 10 ml. Gộp dịch chiết butanol, cô trên cách thủy đến cạn. Thêm vào cắn 30 ml *dung dịch acid sulfuric 20 % (TT)*, đun sôi hồi lưu trong 2 h, để nguội, lọc lấy tủa, rửa bằng *nước cất* cho hết phản ứng acid, sấy khô ở 70 °C. Thêm vào tủa 20 ml *cloroform (TT)*, đun trên cách thủy nóng, lọc, cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 12 g Đảng sâm (mẫu chuẩn) đã tán nhỏ, thêm 30 ml *n-butanol (TT)* và tiến hành chiết như đối với dung dịch thử.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*, sấy ở 110 °C cho đến khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Hoàn mềm: Không được quá 15,0 % (Phụ lục 12.13).
Hoàn cứng: Không được quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 5 h).

Bảo quản
Trong bao bì kín, tránh ẩm.

Công năng, chủ trị
Bổ khí, dưỡng huyết. Chủ trị: Khí huyết lưỡng hư có biểu hiện: mệt mỏi, chán ăn, lười nói, khí đoản, sắc mặt bệch, chóng mặt hoa mắt, tim đập hồi hộp.

Cách dùng, liều lượng
Mỗi lần 6 g hoàn cứng, hoặc 1 viên hoàn mềm, ngày uống 2 lần.

HOÀN BÁT VỊ

Công thức

Quế chi (*Ramulus Cinnamomi*)	22 g
Hắc Phụ tử (*Radix Aconiti lateralis*)	22 g
Thục địa (*Radix Rehmaniae glutinosae praeparata*)	176 g
Sơn thù (*Fructus Corni officinalis*)	88 g
Mẫu đơn bì (*Cortex Paeoniae suffruticosae*)	66 g
Hoài sơn (*Tuber Dioscoreae persimilis*)	88 g
Phục linh (*Poria*)	66 g
Trạch tả (*Rhizoma Alismatis*)	66 g
Mật ong vừa đủ (*Mel q.s*)	1000 g

Bào chế
Phụ tử chế Hắc phụ tử, Sơn thù chế rượu theo qui định trong chuyên luận riêng.
Quế chi thái phiến, tẩm nước Ngưu tất, Ngũ vị tử (100 ml nước sắc dùng 1 g Ngũ vị tử và 3 g Ngưu tất), ủ trong 12 h cho ngấm đều, sấy nhẹ cho khô (40 °C đến 50 °C), thái nhỏ. Thục địa thái lát dày 2 mm đến 3 mm, tẩm rượu cho mềm, trộn với các vị thuốc khác, giã nát với nhau, sấy khô nghiền thành bột mịn, trộn đều thành bột kép, rây qua rây số 180. Mật ong cô luyện thành châu. Cứ 100 g bột kép dùng 80 g đến 110 g mật luyện nóng, trộn đều đến nhuyễn. Chia thành các hoàn mềm 9 g.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc hoàn" (Phụ lục 1.11) và các yêu cầu sau:

Tính chất
Hoàn hình cầu màu nâu hơi đen bóng, vị ngọt hơi chua và cay.

Định tính
A. Hoài sơn, Bạch linh, Quế, Trạch tả: Soi bột chế phẩm dưới kính hiển vi với độ phóng đại thích hợp, so sánh với bột mẫu chuẩn của Hoài sơn, Trạch tả, Bạch linh và Quế chi thấy: Hạt tinh bột hình chuông, hình trứng, dài 10 µm đến 60 µm, rộng khoảng 20 µm, có vân đồng tâm, rốn lệch tâm, hình chấm hay hình vạch của Hoài sơn. Các hạt tinh bột hình trứng dài, hình bầu dục, đường kính 3 µm đến 14 µm, rốn hình khe ngắn, hình chữ Y, chữ V, đứng riêng lẻ hay kép đôi, kép 3 của Trạch tả. Các khối phân nhánh không đều, không màu; sợi nấm không màu, hơi cong và phân nhánh của Bạch linh. Các sợi dài đặc biệt hình thoi, màu vàng nâu, thành dày khoang hẹp, tế bào mô cứng hình chữ nhật hay hình trái xoan thành dày, khoang rộng có ống trao đổi rõ của Quế.
B. Định tính Thục địa
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cloroform - ethyl acetat (9 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 15 g chế phẩm, cắt nhỏ, thêm 40 ml *methanol (TT)*, đun sôi trên cách thủy 15 min, gạn

và lọc lấy dịch chiết. Bã được chiết như trên 2 lần nữa. Gộp các dịch chiết methanol, cô trên cách thủy tới cạn. Khuấy kỹ cặn với *n-butanol (TT)* 3 lần, mỗi lần 5 ml. Gộp các dịch chiết buthanol, bốc hơi trên cách thủy tới cạn. Hòa cặn trong 1 ml *ethanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1,5 g Thục địa (mẫu chuẩn), tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin 1 % trong hỗn hợp đồng thể tích acid phosphoric và ethanol*, sấy bản mỏng ở 110 °C đến khi hiện rõ các vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không được quá 15,0 % (Phụ lục 12.13).

Độc tính bất thường

Thử theo Phụ lục 13.5. Lấy 3 g bột viên, thêm 7,5 ml *nước cất*, nghiền nhuyễn và lắc đều. Cho chuột uống 1 ml/chuột.

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát.

Công năng, chủ trị

Ôn bổ thận dương. Chủ trị: Thận dương bất túc, thắt lưng đau gối mỏi, nửa người dưới thường có cảm giác lạnh, bụng dưới đau co lại, tiểu tiện hoặc ít hoặc nhiều. Có thể dùng cho đờm ẩm, cước khí, tiêu khát, chuột rút.

Cách dùng, liều lượng

Mỗi lần 1 hoàn, ngày 2 lần, uống lúc đói.

HOÀN BỔ TRUNG ÍCH KHÍ

Công thức

Hoàng kỳ (*Radix Astragali membranacei*)	100 g
Đảng sâm (*Radix Codonopsis pilosulae*)	30 g
Cam thảo (*Radix Glycyrrhizae*)	30 g
Bạch truật (*Radix Atractylodis macrocephalae*)	30 g
Đương quy (*Radix Angelicae sinensis*)	20 g
Thăng ma (*Rhizoma Cimicifugae*)	30 g
Sài hồ (*Radix Bupleuri*)	30 g
Trần bì (*Pericarpium Citri reticulatae perenne*)	30 g
Gừng tươi (*Rhizoma Zingiberis*)	12 g
Đại táo (*Fructus Ziziphi jujubae*)	102 g
Mật ong vừa đủ (*Mel q.s*)	1000 g

Bào chế

Hoàng kỳ chế mật, Cam thảo chích mật, Bạch truật tẩm hoàng thổ sao vàng. Đảng sâm tẩm nước cốt gừng sao khô. Trần bì thái sợi và vi sao theo chuyên luận riêng. Sấy khô các vị thuốc trên và Đương quy, Thăng ma, Sài hồ; nghiền thành bột mịn, trộn đều thành bột kép, rây qua rây số 180. Đại táo cùng với Gừng tươi còn lại cắt nhỏ, cho vào nấu 2 lần cho đến khi nhừ hết và tiết hết chất ngọt, lọc bỏ bã, cô đặc. Trộn bột kép với dịch cô đặc và mật luyện sôi cho nhuyễn. Cứ 100 g bột kép dùng 100 g đến 120 g mật luyện. Làm viên hoàn mềm 9 g.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc hoàn" (Phụ lục 1.11) và các yêu cầu sau:

Tính chất

Hoàn hình cầu màu đen, mùi thơm, vị ngọt sau hơi đắng, cay.

Định tính

A. Soi kính hiển vi thấy: Nhiều loại sợi khác nhau, riêng lẻ hay tập trung thành bó, một số sợi mang tinh thể calci oxalat hình khối. Nhiều tinh thể calci oxalat hình kim riêng lẻ hay tập trung thành đám. Tế bào cứng thành dày thấy rõ lỗ trao đổi. Mảnh mô mềm nhiều khi mang hạt tinh bột. Hạt tinh bột hình dạng khác nhau riêng lẻ hay tập trung thành khối. Mảnh vỏ quả ngoài gồm các tế bào hình dạng khác nhau, thành hơi dày. Mảnh bần, các mảnh mạch xoắn, mạch điểm, mạch vạch. Các hạt phấn hoa có hình dạng, kích thước khác nhau.

B. Định tính Cam thảo

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

Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.

Dung môi khai triển: *Cloroform - aceton* (7 : 3).

Dung dịch thử: Lấy 10 g chế phẩm, nghiền hoặc cắt nhỏ, thêm 20 ml *methanol (TT)*, dùng đũa thủy tinh dần nhuyễn, gạn, lọc. Bã được chiết như trên 2 lần nữa. Tập trung các dịch lọc, cô trên cách thủy tới còn khoảng 5 ml.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g Cam thảo (mẫu chuẩn) đã cắt nhỏ, thêm 20 ml *methanol (TT)*, đun sôi trên cách thủy 20 min, lọc, bã được chiết như trên 2 lần. Tập trung các dịch lọc, cô trên cách thủy còn khoảng 5 ml.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng rồi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại có bước sóng 254 nm và 366 nm, hoặc phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*, sấy bản mỏng ở 100 °C đến khi hiện rõ các vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết chính cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

C. Định tính Đương quy

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

Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.

Dung môi khai triển: *n-Hexan - ethyl acetat* (95 : 5).

Dung dịch thử: Dùng dịch chiết trong methanol của phần định tính Cam thảo.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,5 g bột Đương quy (mẫu chuẩn), thêm 5 ml *methanol (TT)*, lắc kỹ 10 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy tới cắn. Hòa cắn trong 1 ml *methanol (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai xong, để khô bản mỏng ở nhiệt độ phòng rồi quan sát dưới ánh sáng tử ngoại có

bước sóng 366 nm, hoặc phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*, sấy bản mỏng ở 100 °C đến khi hiện rõ các vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết chính cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 15,0 % (Phụ lục 12.13).

Bảo quản
Để nơi khô, trong bao bì kín.

Công năng, chủ trị
Bổ khí thăng đề. Chủ trị: Tỳ vị khí hư, biểu hiện mệt mỏi, chán ăn, trướng bụng; thiếu khí hạ hãm biểu hiện ở phân lỏng, ỉa chảy lâu ngày, thoát giang hay sa trực tràng, sa dạ con.

Cách dùng, liều lượng
Mỗi lần 1 hoàn, ngày 2 lần đến 3 lần, uống trước bữa ăn 2 h.

Kiêng kỵ
Nhiệt lỵ mới phát, đạo hãn, đau đầu, mất ngủ do huyết áp, thổ huyết, nục huyết, khí nghịch, suyễn thổ cấp. Kiêng ăn các thứ sống, lạnh khi đang dùng thuốc.

HOÀN LỤC VỊ

Công thức

Thục địa (*Radix Rehmanniae glutinosae praeparata*)	160 g
Hoài sơn (*Tuber Dioscoreae persimilis*)	80 g
Sơn thù (*Fructus Corni officinalis*) chế rượu	80 g
Mẫu đơn bì (*Cortex Paconiae suffruticosae*)	60 g
Phục linh (*Poria*)	60 g
Trạch tả (*Rhizoma Alismatis*)	60 g
Mật ong, tá dược vừa đủ (*Mel et excipient q.s*)	1000 g

Bào chế
Sơn thù chế rượu và các vị thuốc khác chế theo qui định trong chuyên luận riêng. Thục địa thái lát mỏng. Các vị thuốc được sấy khô, nghiền thành bột mịn. Trộn đều thành bột kép, rây qua rây số 180. Nếu làm hoàn cứng thì cứ 100 g bột kép trên thêm 35 g đến 50 g mật luyện hòa loãng bằng lượng nước sôi thích hợp, làm viên và sấy khô. Nếu làm thành hoàn mềm thì cứ 100 g bột kép trên thêm 80 g đến 110 g mật luyện sôi, trộn mềm nhuyễn, làm hoàn mềm 9 g. Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc hoàn" (Phụ lục 1.11) và các yêu cầu sau:

Tính chất
Hoàn cứng hình cầu màu đen nâu, mùi thơm của dược liệu, vị ngọt và chua.
Hoàn mềm hình cầu có màu đen nâu, mùi thơm của dược liệu có vị ngọt và chua.

Định tính
A. Định tính Hoài sơn, Trạch tả và Phục linh: Soi bột chế phẩm dưới kính hiển vi với độ phóng đại thích hợp, so sánh với bột mẫu chuẩn của Hoài sơn, Phục linh và Trạch tả, thấy: Các hạt tinh bột hình chuông, hình trứng, dài 10 µm đến 60 µm, rộng khoảng 20 µm, có vân đồng tâm, rốn lệch tâm, hình chấm hay hình vạch của Hoài sơn. Các hạt tinh bột hình trứng dài, hình bầu dục, đường kính 3 µm đến 14 µm, rốn hình khe ngắn, hình chữ Y, đứng riêng lẻ hay kép đôi, kép 3 của Trạch tả. Các khối phân nhánh không đều, không màu; các sợi nấm không màu, hơi cong và phân nhánh của Phục linh.
B. Cất kéo bằng hơi nước 10 g hoàn đã nghiền nhỏ và hứng lấy 20 ml dịch cất, lấy 2 ml dịch cất, thêm 0,5 ml *acid benzosulfonic (TT)* đã diazo hóa, 1 giọt đến 2 giọt *dung dịch natri carbonat (TT)* xuất hiện dần dần màu đỏ da cam.
C. Định tính Thục địa
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Cloroform - ethyl acetat (9 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 10 g chế phẩm, tán thành bột thô, nếu là hoàn mềm thì thái nhỏ, chiết bằng cách đun sôi trên cách thủy 15 min với *methanol (TT)* 2 lần, mỗi lần 30 ml. Gộp dịch chiết *methanol*, cô trên cách thủy đến cạn. Thêm vào cắn 10 ml *n-butanol (TT)*, đặt lên bếp cách thủy nóng, dùng đũa thủy tinh khuấy kỹ trong 5 min, gạn lấy dịch chiết butanol. Chiết lại cắn như trên thêm 1 lần nữa. Gộp các dịch chiết butanol, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol 96 % (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 1,5 g Thục địa (mẫu chuẩn) đã cắt nhỏ, tiến hành chiết như mô tả ở phần Dung dịch thử, bắt đầu từ "chiết bằng cách đun sôi trên cách thủy 15 min với *methanol (TT)*... Hòa cắn trong 1 ml *ethanol 96 % (TT)* ".
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 25 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*, sấy ở 120 °C đến khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.
D. Định tính Sơn thù
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: Cloroform - ethyl acetat - acid formic (5 : 4 : 1).
Dung dịch đối chiếu: Lấy 1,2 g sơn thù đã tán nhỏ, thêm 20 ml *ether ethylic (TT)*, lắc đều, đậy kín, để ngâm 2 h, thỉnh thoảng lắc, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*.
Dung dịch thử: Lấy 20 g chế phẩm, tán nhỏ, nếu là hoàn mềm thì cắt nhỏ, thêm 40 ml *ether ethylic (TT)*, lắc đều, đậy kín, để ngâm 2 h, thỉnh thoảng lắc, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 25 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 14 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở

nhiệt độ phòng, quan sát vết ở ánh sáng thường hoặc đặt bản mỏng vào bình đã bão hòa hơi *amoniac (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Hoàn mềm: Không quá 15,0 % (Phụ lục 12.13).
Hoàn cứng: Không quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 4 h).

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát.

Công năng, chủ trị
Tư bổ can thận. Chủ trị: Can thận âm hư gây chóng mặt, váng đầu, đau mỏi thắt lưng đầu gối, cốt chưng triều nhiệt, đạo hãn về đêm, di tinh, tiêu khát.

Cách dùng, liều lượng
Mỗi lần 6 g hoàn cứng, hoàn mềm mỗi lần 1 hoàn, ngày 2 lần.

HOÀN MINH MỤC ĐỊA HOÀNG

Công thức
Thục địa (*Radix Rehmanniae glutinosae praeparata*) 160 g
Sơn thù (*Fructus Corni officinalis*)(chế rượu) 80 g
Mẫu đơn bì (*Cortex Paeoniae suffruticosae*) 60 g
Hoài sơn (*Tuber Dioscoreae persimilis*) 80 g
Phục linh (*Poria*) 60 g
Trạch tả (*Rhizoma Alismatis*) 60 g
Câu kỷ tử (*Fructus Lycii*) 60 g
Cúc hoa vàng (*Flos Chrysanthemi indici*) 60 g
Đương quy (*Radix Angelicae sinensis*) 60 g
Bạch thược (*Radix Paeoniae lactiflorae*) 60 g
Bạch tật lê (*Fructus Tribuli terrestris*) 60 g
Thạch quyết minh (nung) (*Concha Haliotidis*) 80 g
Mật ong vừa đủ (*Mel q.s*)

Bào chế
Thục địa, Sơn thù chế theo qui định trong chuyên luận riêng, Thạch quyết minh nung đến khi nghiền được bột mịn. Sau đó Thục địa thái lát mỏng và sấy cùng tất cả các vị thuốc cho đến khô. Nghiền các vị thuốc trên thành bột mịn, trộn đều thành bột kép, rây qua rây số 180. Nếu làm hoàn cứng thì lấy 100 g bột kép thêm 30 g đến 50 g mật luyện và hòa loãng trong lượng nước sôi thích hợp. Nếu làm hoàn mềm, cứ 100 g bột kép dùng 90 g đến 110 g mật luyện sôi, trộn đều cho nhuyễn, làm viên hoàn mềm 9 g.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc hoàn" (Phụ lục 1.11) và các yêu cầu sau:

Tính chất
Hoàn cứng: Hình cầu cứng, màu đen đến nâu hơi đen, mùi thơm nhẹ của dược liệu, vị ngọt, sau đắng và se.
Hoàn mềm: Hình cầu mềm nhuyễn, màu đen, mùi thơm nhẹ của dược liệu, vị ngọt, sau đắng và se.

Định tính
A. Định tính Hoài sơn, Trạch tả, Bạch linh: Soi bột chế phẩm dưới kính hiển vi với độ phóng đại thích hợp, so sánh với bột mẫu chuẩn của Hoài sơn, Bạch linh và Trạch tả, thấy: Các hạt tinh bột hình chuông, hình trứng, dài 10 µm đến 60 µm, rộng khoảng 20 µm, có vân đồng tâm, rốn lệch tâm, hình chấm hay hình vạch. Các hạt tinh bột hình trứng dài, hình bầu dục, đường kính 3 µm đến 14 µm, rốn hình khe ngắn, hình chữ Y, đứng riêng lẻ hay kép đôi, kép 3. Các khối phân nhánh không đều, không màu; các sợi nấm không màu, hơi cong và phân nhánh.
B. Định tính Thạch quyết minh: Rửa 2 g hoàn trong một cốc có mỏ với *nước*, một ít tủa màu trắng hơi xám đọng ở đáy cốc, để lắng, gạn lấy riêng tủa. Thêm 2 giọt *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* vào tủa, thấy sủi bọt và giải phóng carbon dioxyd. Khí thoát ra được sục vào *dung dịch calci hydroxyd bão hòa (TT)* sẽ làm đục dung dịch calci hydroxyd. Thêm 2 ml *nước* vào cốc trên, khuấy và lọc. Điều chỉnh dịch lọc đến kiềm yếu rồi thêm một giọt *dung dịch amoni oxalat 4 % (TT)*, xuất hiện tủa trắng.
C. Định tính Cúc hoa vàng, Đương quy.
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G*.
Dung môi khai triển: *Toluen - ethyl acetat* (93 : 7).
Dung dịch thử: Lấy khoảng 10 g chế phẩm, nghiền mịn, thêm 50 ml *ethanol (TT)*, lắc đều, ngâm 1 h, thỉnh thoảng lắc (hoặc siêu âm 30 min), lọc. Nếu là hoàn mềm thì trộn 10 g chế phẩm đã cắt nhỏ với 10 g Kieselguhr, thêm 80 ml *ethanol (TT)*, siêu âm 30 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy tới cạn. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Lấy 1 g Cúc hoa vàng (mẫu chuẩn) đã cắt nhỏ, thêm 20 ml *ethanol (TT)*, lắc đều, ngâm 1 h, thỉnh thoảng lắc siêu âm, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy tới cạn. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (2): Lấy 1 g Đương quy (mẫu chuẩn) đã cắt nhỏ, chiết như đối với dung dịch đối chiếu (1).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 15 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*. Sấy bản mỏng ở 120 °C cho đến khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của các dung dịch đối chiếu (1) và (2).
D. Định tính Thục địa: Xem chuyên luận "Hoàn lục vị".

Độ ẩm
Hoàn mềm: Không quá 15,0 % (Phụ lục 12.13).
Hoàn cứng: Không được quá 13,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 4 h).

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi khô mát.

Công năng, chủ trị
Tư dưỡng can thận, minh mục. Chủ trị: Phong tà thừa lúc can thận âm hư xâm nhập kết hợp với nhiệt khí công lên mắt gây nên: Mắt có màng, chảy nước mắt, đồng tử dãn nhìn không rõ.

Cách dùng, liều lượng
Mỗi lần dùng 1 hoàn mềm hoặc 6 g đến 9 g hoàn cứng, ngày 2 lần.

HOÀN NGÂN KIỀU GIẢI ĐỘC

Công thức

Kim ngân hoa (*Flos Lonicerae*)	200 g
Liên kiều (*Fructus Forsythiae suspensae*)	200 g
Bạc hà (*Herba Menthae*)	120 g
Kinh giới tuệ (*Spica Elsholtziae ciliatae*)	80 g
Đạm đậu xị (Đỗ đen chế) (*Semen Viguae cylindricae preparata*)	100 g
Ngưu bàng tử (*Fructus Arctii lappae*) sao	120 g
Cát cánh (*Radix Platycodi grandiflori*)	80 g
Đạm trúc diệp (*Herba Lophatheri*)	80 g
Cam thảo (*Radix Glycyrrhizae*)	100 g
Mật ong vừa đủ (*Mel q.s*)	

Bào chế
Tán Kim ngân hoa và Cát cánh thành bột mịn và rây. Cất lấy tinh dầu Bạc hà và Kinh giới để riêng và thu lấy phần dịch nước vào bình đựng khác. Sắc bã Bạc hà và Kinh giới cùng 5 vị thuốc còn lại bằng nước trong 2 h, sắc làm 2 lần, gộp các dịch sắc và lọc. Phối hợp dịch lọc và dịch nước Bạc hà, Kinh giới ở trên, cô đến cao đặc. Thêm bột mịn Kim ngân và Cát cánh, trộn đều, sấy khô, tán thành bột mịn và rây. Phun tinh dầu Bạc hà và Kinh giới vào bột này rồi trộn đều. Cứ 100 g bột kép thêm 80 g đến 90 g mật ong luyện để chế thành hoàn mật 3 g.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc hoàn" (Phụ lục 1.11) và các yêu cầu sau:

Tính chất
Hoàn hình cầu, màu nâu, mùi thơm, vị hơi ngọt, đắng và cay. Mỗi hoàn 3 g.

Định tính
A. Soi kính hiển vi: Hạt phấn màu vàng, hình cầu, đường kính 54 µm đến 68 µm. Nhiều đám calci oxalat, đường kính 5 µm đến 17 µm, trong mảnh mô mềm có ống nhựa mủ nối liền nhau, đường kính 14 µm đến 25 µm, chứa hạt nhỏ, màu vàng nhạt.
B. Định tính Kinh giới, menthol
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi triển khai: n-Hexan - ethyl acetat (17 : 3).
Dung dịch thử: Lấy 4 hoàn, nghiền mịn, thêm 3 g *diatomit*, trộn đều, thêm 20 ml *ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C) (TT)*, nút kín, lắc liên tục 15 min rồi ngâm qua đêm, lọc. Bốc hơi dịch lọc trên cách thủy đến còn khoảng 1 ml dùng làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu (1): Lấy 1 g bột Kinh giới (mẫu chuẩn), thêm 20 ml *ether dầu hỏa (60 °C đến 90 °C) (TT)*, chiết như dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan menthol trong *ethanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 2 mg/ml.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng rồi phun *dung dịch anisaldehyd (TT)*. Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 10 min. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết giống với vết trên sắc ký đồ của các dung dịch đối chiếu về vị trí và màu sắc.
C. Định tính Liên kiều
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi triển khai: Cloroform - methanol (20 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 4 hoàn, nghiền mịn, thêm 3 g *diatomit*, trộn đều, thêm 30 ml *ethanol (TT)*, đun hồi lưu 1 h, để nguội, lọc. Bốc hơi dịch lọc trên cách thủy đến khô. Hòa cặn trong 2 ml *ethanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g bột Liên kiều (mẫu chuẩn), thêm 40 ml *nước*, ngâm trong cách thủy 1 h, lọc. Bốc hơi dịch lọc trên cách thủy tới cạn. Hòa cặn trong 2 ml *ethanol (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng rồi phun dung dịch gồm *anhydrid acetic - acid sulfuric* (20 : 1). Sấy bản mỏng ở 105 °C trong 10 min, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết huỳnh quang cùng màu và cùng R_f với các vết huỳnh quang trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
D. Định tính Ngưu bàng tử, Cam thảo.
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi triển khai: Cloroform - methanol (95 : 5).
Dung dịch thử: Dùng dung dịch thử ở phần định tính Liên kiều.
Dung dịch đối chiếu (1): Lấy 1,2 g Ngưu bàng tử (mẫu chuẩn), thêm 20 ml *ethanol (TT)*, đun sôi hồi lưu trong cách thủy 1 h, lọc. Bốc hơi dịch lọc trên cách thủy tới cặn. Hòa cặn trong 1 ml *ethanol (TT)*, lọc được dung dịch chấm sắc ký.
Dung dịch đối chiếu (2): Lấy 1,2 g Cam thảo (mẫu chuẩn), tiến hành như mẫu đối chiếu (1).
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng rồi phun *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)*. Sấy bản mỏng ở 105 °C cho đến khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có

các vết cùng màu, cùng R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
E. Định tính Kim ngân (hoa)
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.
Dung môi triển khai: *n-Hexan - ethyl acetat* (8 : 2).
Dung dịch thử: Dùng dung dịch thử ở phần định tính Liên kiều.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 1,2 g hoa Kim ngân (mẫu chuẩn), thêm 10 ml *ethanol (TT)*, ngâm trong 2 h, thỉnh thoảng lắc. Lọc, lấy dịch lọc cô trên cách thủy đến cắn. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)* được dung dịch chấm sắc ký.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng rồi phun *dung dịch vanilin 2 % trong acid sulfuric (TT)*. Sấy bản mỏng ở 105 °C cho đến khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm
Không quá 15,0 % (Phụ lục 12.13).

Bảo quản
Để nơi khô, mát, trong lọ kín.

Công năng, chủ trị
Tân lương giải biểu, thanh nhiệt giải độc. Chủ trị: Cảm mạo phong nhiệt kèm phát sốt, sợ phong hàn nhức đầu, ho, khô miệng, họng đau.

Cách dùng, liều lượng
Mỗi lần 1 hoàn, ngày 2 đến 3 lần, uống với nước sắc Lô căn hoặc nước đun sôi còn ấm.

HOÀN NHỊ TRẦN

Công thức

Trần bì (*Pericarpium Citri reticulatae perenne*)	200 g
Bán hạ (*Rhizoma Pinelliae*)(chế)	200 g
Bạch linh (*Poria*)	120 g
Cam thảo (*Radix Glycyrrhizae*)	60 g

Bào chế
Bán hạ: Có thể dùng Bán hạ nam (*Typhonium trilobatum*), được chế biến theo chuyên luận riêng.
Trần bì: Bỏ màng trắng, thái chỉ, vi sao, hoặc sao vàng.
Tán bốn vị thuốc trên thành bột mịn, rây qua rây số 355 và trộn đều. Ngoài ra, lấy 50 g Gừng tươi, giã, giã nát, thêm lượng nước thích hợp, vắt lấy nước. Lấy dịch nước gừng này, cùng với bột thuốc nói trên để bào chế thành hoàn theo phương pháp ghi trong chuyên luận "Thuốc hoàn".
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc hoàn" (Phụ lục 1, 11) và các yêu cầu sau:

Tính chất
Hoàn màu nâu tro đến màu nâu vàng; mùi thơm nhẹ; vị ngọt, hơi cay.

Định tính
A. Soi kính hiển vi thấy: Các sợi nấm không màu của Bạch linh, các sợi mang tinh thể calci oxalat của Cam thảo. Các mảnh mạch điểm của Trần bì, các mảnh mạch xoắn của Bán hạ. Có đối chiếu với bột Bạch linh, Cam thảo, Trần bì, Bán hạ chuẩn.
B. Lấy 2 g chế phẩm đã nghiền thành bột mịn, cho vào ống nghiệm, thêm 7 ml *ethyl acetat (TT)*. Lắc đều. Đun nóng trên cách thủy 5 min. Lọc, cho dịch lọc vào 3 ống nghiệm nhỏ, mỗi ống 1 ml, phần còn lại để dùng làm dung dịch thử trong sắc ký lớp mỏng.
Ống 1: Thêm ít bột *magnesi (TT)* và cho từ từ *acid hydrocloric (TT)* dọc theo thành ống nghiệm, đun nóng nhẹ. Xuất hiện màu tím hồng.
Ống 2: Thêm vài giọt *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, xuất hiện màu vàng cam.
Ống 3: Thêm vài giọt *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)*, xuất hiện màu xanh đen.
C. Định tính Trần bì.
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Dùng *Silica gel G* và *dung dịch natri hydroxyd 0,5 %* để tráng bản mỏng.
Dung môi khai triển:
Hệ 1: *Ethyl acetat - methanol - nước* (100 : 17 : 13).
Hệ 2: *Toluen - ethyl acetat - acid formic - nước* (20 : 10 : 1 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 5 g bột chế phẩm, thêm 30 ml *methanol (TT)*, đun hồi lưu trong cách thủy 30 min, lọc, cô dịch lọc còn khoảng 5 ml làm dung dịch thử.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan hesperidin chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch bão hòa.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch trên.
Triển khai sắc ký với hệ 1 đến khi dung môi đi được 3 cm, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí. Tiếp tục triển khai sắc ký với hệ 2 đến khi dung môi đi được 8 cm, lấy bản mỏng ra, để khô trong không khí. Phun dung dịch *nhôm clorid* 1 % [Hòa tan 1 g *nhôm clorid (TT)* trong *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ 100 ml], sấy bản mỏng ở 100 °C trong 5 min và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết phát quang cùng màu sắc và giá trị R_f với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.
D. Định tính Cam Thảo
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Dùng *Silica gel G* và *dung dịch natri hydroxyd 1 %* để tráng bản mỏng.
Dung môi khai triển: *Ethyl acetat - acid formic - acid acetic băng - nước* (15 : 1 : 1 : 2).
Dung dịch thử: Đun hồi lưu 10 g bột chế phẩm với 40 ml *ether (TT)* trong 1 h, lọc lấy cắn, thêm 50 ml *methanol*

(TT) và đun hồi lưu 1 h, lọc, bay hơi dịch lọc đến cắn. Hòa tan cắn trong 40 ml *nước* và chiết bằng *n-butanol bão hòa nước (TT)* 3 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp các dịch chiết butanol, rửa với *nước* 3 lần, mỗi lần 20 ml, bỏ nước rửa, bay hơi dịch chiết đến cắn và hòa tan cắn trong 5 ml *methanol (TT)* làm dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan amoni glycyrrhizat chuẩn trong *methanol (TT)* để được dung dịch chứa 2 mg/ml.

Dung dịch đối chiếu (2): Lấy 1 g bột rễ Cam thảo (mẫu chuẩn), chiết tương tự dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch trên. Sau khi triển khai sắc ký, lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí. Phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*. Sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết phát quang có cùng màu sắc và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) và trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có vết cùng giá trị R_f và màu sắc với vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).

Định lượng

Cân chính xác khoảng 20 g bột chế phẩm, cho vào túi giấy lọc, đặt vào dụng cụ Soxhlet, loại tạp bằng *ether dầu hỏa (30 °C đến 60 °C) (TT)* trong 4 h. Sau đó tãi bột cho bay hơi hết ether dầu hoả. Tiếp tục cho bã chế phẩm vào trong bình Soxhlet và chiết bằng *ethanol 70 % (TT)* cho đến khi hết flavonoid (dịch chiết không màu). Lấy dịch chiết, thu hồi dung môi dưới áp suất giảm. Thêm 10 ml đến 20 ml *nước cất* nóng vào cắn, khuấy cho tan. Lọc. Lắc dịch lọc với *ethyl acetat (TT)* đến hết flavonoid (5 lần mỗi lần 5 ml). Gộp dịch ethyl acetat, cất thu hồi dung môi, cắn thu được cho bay hết ethyl acetat rồi đem sấy ở nhiệt độ 70 °C cho tới khối lượng không đổi. Cân cắn và tính kết quả. Hàm lượng flavonoid toàn phần không ít hơn 1,0 %.

Độ ẩm

Không quá 9,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, sấy ở 60 °C đến 70 °C; 4 h).

Bảo quản

Để nơi khô, mát, trong bao bì kín.

Công năng, chủ trị

Táo thấp, trừ đờm, lý khí, hòa vị. Chủ trị: Ho, đờm nhiều, ngực và thượng vị trướng tức, buồn nôn, nôn.

Cách dùng, liều lượng

Uống ngày 2 lần, uống mỗi lần từ 9 g đến 15 g.

HOÀN NINH KHÔN

Ninh khôn chí bảo hoàn

Công thức

A giao (*Colla Corii Asini*)	25 g
Mộc hương (*Radix Saussureae lappae*)	25 g
Phục linh (*Poria*)	50 g
Ngưu tất (*Radix Achyranthis bidentatae*)	200 g
Bạch thược (*Radix Paeoniae lactiflorae*)	50 g
Ô dược (*Radix Linderae*)	50 g
Bạch truật (*Rhizoma Atractylodis macrocephalae*)	50 g
Trần bì (*Pericarpium Citri reticulatae perenne*)	50 g
Cam thảo (*Radix Glycyrrhizae*)	150 g
Sa nhân (*Fructus Amomi*)	25 g
Đảng sâm (*Radix Codonopsis pilosulae*)	40 g
Sinh địa (*Radix Rehmanniae glutinosae*)	50 g
Đương quy (*Radix Angelicae sinensis*)	50 g
Thục địa (*Radix Rehmanniae glutinosae praeparata*)	50 g
Hoàng cầm (*Radix Scutellariae*)	25 g
Tô diệp (*Folium Perillae frutescensis*)	25 g
Hổ phách (*Succinum*)	25 g
Trầm hương (*Lignum Aquilariae resinatum*)	50 g
Hương phụ (*Rhizoma Cyperi*) chế dấm	50 g
Xuyên khung (*Rhizoma Ligustici wallichii*)	50 g
Ích mẫu (*Herba Leonuri japonici*)	300 g
Mật ong và tá dược vừa đủ (*Mel et excipient q.s*)	1000 g

Bào chế

Đương quy, Ích mẫu, Xuyên khung: đồ chín, thái lát, sao vàng, sấy khô. A giao thái mỏng, sao với văn cáp cho phồng lên. Thục địa, Hương phụ chế theo chuyên luận riêng và sấy khô. Các dược liệu còn lại rửa sạch, loại bỏ tạp chất, thái lát, sấy khô. Tất cả các vị thuốc được tán thành bột mịn, trộn đều thành bột kép, rây qua rây số 180. Trộn bột kép với mật ong luyện cho mềm nhuyễn, cứ 100 g bột kép dùng 100 g đến 200 g mật luyện. Chia thành các viên hoàn 3 g.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc hoàn" (Phụ lục 1.11) và các yêu cầu sau:

Tính chất

Hoàn hình cầu, màu đen bóng, mềm nhuận, thơm mùi dược liệu, vị ngọt, hơi đắng và cay. Khối lượng mỗi hoàn 3 g.

Định tính

A. Định tính Bạch linh: Soi bột chế phẩm dưới kính hiển vi có độ phóng đại thích hợp, so sánh với bột Bạch linh (mẫu chuẩn), phải thấy: Các khối phân nhánh không đều, không màu; các sợi nấm không màu hoặc nâu nhạt, hơi cong và phân nhánh.

B. Định tính Mộc hương

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

Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.

Dung môi khai triển: *n-Hexan - ethyl acetat* (95 : 5).

Dung dịch thử: Lấy 3 hoàn, cắt nhỏ, thêm 40 ml *ether ethylic (TT)*, lắc đều, ngâm trong 4 h, thỉnh thoảng lắc, lọc.

Để bay hơi tự nhiên dịch lọc đến cạn. Hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,5 g Mộc hương (mẫu chuẩn) đã cắt nhỏ, thêm 10 ml *ether ethylic (TT)*, lắc đều, ngâm trong 4 h, thỉnh thoảng lắc, lọc. Để bay hơi tự nhiên dịch lọc đến cạn. Hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng rồi phun dung dịch *vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*, quan sát ở ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và cùng R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

C. Định tính Ích mẫu

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

Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.

Dung môi khai triển: *Toluen - aceton - ethanol - amoniac* (15 : 15 : 2 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 3 hoàn, cắt nhỏ, thêm 100 ml *nước cất* đã acid hóa bằng *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* đến pH 2 đến 3, đun sôi nhẹ 1 h, để nguội, ly tâm. Kiềm hóa dịch ly tâm bằng *amoniac (TT)* đến pH 10 đến 11, để yên 30 min, sau đó lắc với *cloroform (TT)* 2 lần, mỗi lần 30 ml. Gộp dịch chiết cloroform, lọc qua *natri sulfat khan (TT)*, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)* được dung dịch thử.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 6 g Ích mẫu (mẫu chuẩn) thêm 150 ml *nước cất* đã acid hóa bằng *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* đến pH 2 đến 3, đun sôi nhẹ 1 h, để nguội, ly tâm. Kiềm hóa dịch ly tâm bằng *amoniac (TT)* đến pH 10 đến 11, để yên 30 min, sau đó lắc với *cloroform (TT)* 2 lần, mỗi lần 30 ml. Gộp dịch chiết cloroform, lọc qua *natri sulfat khan (TT)*, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng rồi đặt vào bình đã bão hòa hơi *iod (TT)* cho đến khi hiện rõ vết. Quan sát ở ánh sáng thường.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu, cùng R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 15,0 % (Phụ lục 12.13).

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát.

Công năng, chủ trị

Điều hòa khí huyết, thông kinh chỉ thống. Chủ trị: Phụ nữ kinh nguyệt không đều, hư phiền, hành kinh đau bụng, suy nhược sau khi sinh.

Cách dùng, liều lượng

Mỗi lần 2 hoàn, ngày 2 lần.

Kiêng kỵ

Phụ nữ có thai hoặc đang hành kinh không nên dùng.

HOÀN PHỈ NHI

Công thức

Nhục đậu khấu (*Semen Myristicae*) (nướng)	50 g
Mộc hương (*Radix Saussureae lappae*)	20 g
Thần khúc (*Massa Medicata fermentata*) (sao)	100 g
Mạch nha (*Fructus Hordei germinatus*) (sao)	50 g
Hoàng liên (*Rhizoma Coptidis*)	100 g
Bình lang (*Semen Arecae catechi*)	50 g
Sử quân tử (*Semen Quisqualis*)	50 g
Mật ong vừa đủ (*Mel q.s*)	

Bào chế

Nhục đậu khấu nướng; Thần khúc, Mạch nha sao vàng. Tán 7 vị thuốc trên thành bột mịn, rây qua rây số 180 và trộn đều thành bột kép. Cứ 100 g bột thuốc thêm 100 g đến 130 g mật ong luyện, trộn đều cho mềm nhuận, chế thành viên hoàn mềm 3 g.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc hoàn" (Phụ lục 1.11) và các yêu cầu sau:

Tính chất

Hoàn màu nâu hơi đen đến màu nâu đen, mềm nhuyễn, mịn, vị hơi ngọt đắng.

Khối lượng hoàn 3 g.

Định tính

Soi kính hiển vi: Soi kính hiển vi có độ phóng đại thích hợp, so sánh với bột Nhục đậu khấu và Sử quân tử (mẫu chuẩn) thấy: Hạt tinh bột gần như tròn hoặc hình bầu dục, đường kính 8 µm đến 10 µm, rốn dạng khe. Các khối inulin hình dáng không đều, đôi khi nhìn thấy các vân nhỏ xuyên tâm. Các giọt dầu có nhiều với tinh thể hình cầu khi để lắng. Các tế bào biểu bì của vỏ ngoài màu hơi vàng, hình nhiều cạnh, thành mỏng và gập lại với tế bào mạng lưới ở bên dưới. Các mạch xoắn, đường kính 14 µm đến 17 µm. Các mảnh nội nhũ không màu, có các tế bào thành dày hơn với nhiều lỗ gần tròn, lớn.

Độ ẩm

Không quá 13,0 % (Phụ lục 12.13).

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát.

Công năng, chủ trị

Khu trùng, tiêu tích, kiện tỳ. Chủ trị: Trẻ đau bụng giun, tiêu hoá kém, yếu, nước da xanh xao vàng vọt, kém ăn, bụng trướng đầy, tiêu chảy, nóng sốt, hôi miệng.

Cách dùng, liều lượng

Mỗi lần 1 hoàn, ngày 2 lần. Trẻ em dưới 3 tuổi giảm liều cho thích hợp.

HOÀN QUY TỲ

Công thức

Đảng sâm (*Radix Codonopsis pilosulae*)	80 g
Bạch truật (*Radix Atractylodis macrocephalae*)	160 g
Hoàng kỳ (*Radix Astragali membranacei*) chế	160 g
Cam thảo (*Radix Glycyrrhizae*) chích mật	40 g
Phục linh (*Poria*)	160 g
Viễn chí (*Radix Polygalae*) chế	16 g
Toan táo nhân (*Semen Ziziphi mauritianae*)	160 g
Long nhãn (*Arillus Longan*)	160 g
Đương quy (*Radix Angelicae sinensis*)	16 g
Mộc hương (*Radix Saussureae lappae*)	80 g
Đại táo (*Fructus Ziziphi jujubae*) bỏ hạt	40 g
Mật ong vừa đủ (*Mel q.s*)	

Bào chế

Các vị thuốc chế theo chuyên luận riêng và sấy khô. Tán 11 vị thuốc thành bột mịn, trộn đều thành bột kép và rây qua rây số 180. Nếu làm hoàn cứng thì lấy 100 g bột kép trên, thêm 25 g đến 40 g mật ong luyện hòa loãng trong lượng nước sôi thích hợp, gây nhân và làm thành viên. Nếu làm hoàn mềm, cứ 100 g bột kép trên, thêm 80 g đến 90 g mật ong luyện sôi, trộn đều cho mềm nhuyễn, chia thành các viên 9 g.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc hoàn" (Phụ lục 1.11) và các yêu cầu sau:

Tính chất

Hoàn cứng: Hình cầu, mùi thơm nhẹ, vị ngọt sau hơi đắng và cay.

Hoàn mềm: Màu nâu, nhuận, mịn, mùi thơm nhẹ, vị ngọt sau hơi đắng và cay. Khối lượng mỗi hoàn 9 g.

Định tính

A. Định tính Hoàng kỳ, Bạch linh: Soi bột chế phẩm dưới kính hiển vi có độ phóng đại thích hợp, so sánh với bột Hoàng kỳ, Bạch linh (mẫu chuẩn) thấy: Sợi thành bó hay rải rác, thành dày với những kẽ nứt dọc trên bề mặt, hai đầu sợi thường bị gãy thành dạng tua như chổi hoặc gãy cụt của Hoàng kỳ. Các khối phân nhánh không đều, không màu; các sợi nấm không màu, hoặc nâu nhạt, hơi cong và phân nhánh, đường kính 3 µm đến 8 µm của Bạch linh

B. Định tính Toan táo nhân

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

Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.

Dung môi khai triển: *Ether dầu hỏa (60 °C đến 80 °C) - ether ethylic - acid acetic* (7,5 : 7,5 : 0,15)

Dung dịch thử: Lấy khoảng 30 g chế phẩm, tán hoặc cắt nhỏ (nếu là hoàn mềm), thêm 50 ml *ethanol (TT)*, lắc siêu âm 30 min, lọc lấy dịch chiết. Bã được chiết như trên một lần nữa. Gộp các dịch chiết ethanol, cô trên cách thủy tới cắn khô. Khuấy kỹ cắn với *ether dầu hỏa (60 °C đến 80 °C) (TT)* 2 lần, mỗi lần 10 ml. Gộp dịch ether dầu hỏa, bốc hơi trên cách thủy tới cạn. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 2,5 g bột thô Toan táo nhân (mẫu chuẩn) đã giã nhỏ, thêm 20 ml *ethanol (TT)*, tiếp tục chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng rồi đặt vào bình đã bão hòa hơi *iod (TT)* cho đến khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

C. Định tính Đương quy

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

Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.

Dung môi khai triển: *n-Hexan - ethyl acetat* (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 10 g chế phẩm, tán thành bột thô hoặc cắt nhỏ, thêm 30 ml *ethanol (TT)*, lắc kỹ, ngâm 30 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 1 g bột Đương quy (mẫu chuẩn), thêm 15 ml *ethanol (TT)* rồi tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 15 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

D. Định tính Đảng sâm

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

Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.

Dung môi khai triển: *Cloroform - ethyl acetat* (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 30 g chế phẩm, tán thành bột thô (hoặc cắt nhỏ nếu hoàn mềm), thêm 50 ml *methanol (TT)*, lắc siêu âm 30 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 1,5 g bột Đảng sâm (mẫu chuẩn), thêm 15 ml *methanol (TT)* rồi tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*. Sấy bản mỏng ở 105 °C đến khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Hoàn mềm: Không được quá 15,0 % (Phụ lục 12.13).

Hoàn cứng: Không được quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 100 °C, 4 h).

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát.

Công năng, chủ trị

Ích khí bổ huyết, kiện tỳ dưỡng tâm. Chủ trị: Tâm tỳ hư, khí huyết hư, biểu hiện: lo sợ, hay quên, đánh trống ngực,

hồi hộp, mất ngủ, ngủ mê, hơi thở ngắn, mệt mỏi, kém ăn. Tỳ không nhiếp huyết: Rong kinh, băng huyết, đại tiểu tiện ra huyết, đới hạ.

Cách dùng, liều lượng
Mỗi lần 6 g hoàn cứng hoặc 1 hoàn mềm, ngày 3 lần. Uống với nước ấm hoặc nước gừng tươi.

HOÀN SÂM NHUNG BỔ THẬN

Công thức

Ba kích (*Radix Morindae officinalis*)	30 g
Hà thủ ô đỏ (*Radix Fallopiae multiflorae*)	29 g
Bách hợp (*Bulbus Lilii*)	30 g
Nhân sâm (*Radix Ginseng*)	3,6 g
Bạch linh (*Poria*)	29 g
Nhục thung dung (*Herba Cistanches*)	12 g
Bạch truật (*Rhizoma Atractylodis macrocephalae*)	18 g
Nhung hươu (*Cornu Cervi pantotrichum*)	1,2 g
Cam thảo (*Radix Glycyrrhizae*)	2,5 g
Hạt sen (*Semen Nelumbinis nucifecae*)	44 g
Cao ban long (*Colla Cornus Cervi*)	3,6 g
Thỏ ty tử (*Semen Cuscutae*)	20 g
Câu kỷ tử (*Fructus Lycii*)	20 g
Thục địa (*Radix Rehmanniae glutinosae praeparata*)	120 g
Cẩu tích (*Rhizoma Cibotii*)	15 g
Trạch tả (*Rhizoma Alismatis*)	15 g
Hoài sơn (*Tuber Dioscoreae persimilis*)	38 g
Tục đoạn (*Radix Dipsaci*)	29 g
Dảng sâm (*Radix Codonopsis pilosulae*)	12 g
Xuyên khung (*Rhizoma Ligustici wallichii*)	15 g
Đỗ trọng (*Cortex Eucommiae*)	12 g
Viễn chí (*Radix Polygalae*)	8 g
Đương quy (*Radix Angelicae sinensis*)	20 g
Mật ong vừa đủ (*Mel q.s*)	

Bào chế
Bào chế cổ truyền: Ba kích (Diêm Ba kích nhục), Hà thủ ô (Chế Hà thủ ô), Phục linh, Bạch truật (Sao bạch truật), Cam thảo (Chích Cam thảo), Cẩu tích, Trạch tả (Diêm Trạch tả), Củ mài, Tục đoạn, Đỗ trọng (Diêm Đỗ trọng), Viễn chí (Viễn chí chế), Đương quy (Tửu Đương quy) chế theo các chuyên luận riêng. Bách hợp rửa sạch, sấy khô ở nhiệt độ dưới 60 °C. Nhân sâm thái mỏng, sấy khô ở nhiệt độ dưới 60 °C. Nhục thung dung rửa sạch bằng nước phèn, ngâm nước 3 h cho sạch muối, hấp chín, thái mỏng, sấy khô ở nhiệt độ dưới 60 °C. Nhung hươu hơ cháy lông trên ngọn lửa, cạo sạch thái lát nhỏ, nghiền nhỏ. Hạt sen loại bỏ vỏ sấy khô. Thỏ ty tử rửa sạch thêm rượu trắng bằng 1/2 lượng dược liệu cho thấm đều, nấu nhỏ lửa cho cạn hết rượu, hạt phồng lên, bề mặt có màu vàng nâu, có mùi thơm. Đảng sâm loại bỏ tạp chất, rửa sạch, hấp chín, thái đoạn, sấy khô ở nhiệt độ dưới 60 °C. Xuyên khung rửa sạch hoặc đồ mềm, thái lát, phơi se, tẩm rượu (lượng rượu bằng 1/10 lượng dược liệu), sấy khô ở nhiệt độ dưới 60 °C. Mật ong cô luyện thành châu.
Bào chế hoàn mật: Tất cả các vị thuốc sau khi chế khô, tán thành bột mịn, rây qua rây số 180. Trộn đều thành bột kép. Trộn đều bột kép với mật ong, cao ban long, theo tỷ lệ 100 : 120. Chia thành các viên hoàn mềm.
Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc hoàn" (Phụ lục 1.11) và các yêu cầu sau:

Tính chất
Hoàn hình cầu, màu đen nhánh, đồng nhất, mềm nhuyễn, mịn, mùi thơm đặc trưng, vị ngọt hơi đắng. Khối lượng 9 g.

Định tính
A. Định tính Hạt sen, Bạch linh và Củ mài: Soi bột chế phẩm dưới kính hiển vi với độ phóng đại thích hợp, so sánh với bột Hạt sen, Bạch linh và Củ mài (mẫu chuẩn), phải thấy: Các hạt tinh bột hình chuông, hình trứng, dài 10 µm đến 60 µm, rộng khoảng 20 µm, có vân đồng tâm, rốn lệch tâm, hình chẩm hay hình vạch của Củ mài. Hạt tinh bột hình trứng, hình bầu dục rộng 2 µm đến 6 µm, dài 4 µm đến 14 µm hoặc hình tròn có đường kính 2 µm đến 19 µm, rốn phân nhánh, vân không rõ của Hạt sen. Sợi nấm không màu hay nâu nhạt, hơi khúc khuỷu, phân nhánh của Bạch linh.
B. Định tính Thục địa
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển: Cloroform - ethyl acetat (9 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 20 g chế phẩm, cắt nhỏ, chiết bằng cách đun sôi trên cách thủy 15 min với *methanol (TT)* 2 lần, mỗi lần 30 ml. Gộp dịch chiết *methanol*, cô trên cách thủy đến cạn. Thêm vào cắn 10 ml *n-butanol (TT)*, đặt lên bếp cách thủy nóng, dùng đũa thủy tinh khuấy kỹ trong 5 min, gạn lấy dịch chiết butanol. Chiết lại cắn như trên thêm 1 lần nữa. Gộp các dịch chiết butanol, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Lấy 2 g Thục địa (mẫu chuẩn) đã cắt nhỏ, tiến hành chiết như dung dịch thử, bắt đầu từ "chiết bằng cách đun sôi trên cách thủy 15 min với *methanol (TT)*.... Hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*".
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm đến 14 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*, sấy ở 120 °C đến khi hiện rõ vết.
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.
C. Định tính Đương quy
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển: n-Hexan - ethyl acetat (9 : 1).
Dung dịch thử: Lấy 5 g chế phẩm, cắt nhỏ (hoặc nghiền mịn), thêm 30 ml *ether ethylic (TT)*, lắc 30 min, lọc. Để bay hơi tự nhiên dịch lọc đến cạn. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,5 g bột Đương quy (mẫu chuẩn), thêm 20 ml *ether ethylic (TT)*, lắc 30 min, lọc. Để bay hơi tự nhiên dịch lọc đến cạn. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại tại bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không quá 15,0 % (Phụ lục 12.13).

Công năng, chủ trị

Bổ thận, cố tinh. Chủ trị: Thận hư, phòng sự yếu, di mộng tinh, kinh nguyệt không đều, khí hư bạch đới, đau thắt lưng, mỏi gối, ù tai.

Cách dùng, liều lượng

Mỗi lần uống 1 hoàn mềm, ngày dùng 2 lần.

Kiêng kỵ

Không nên dùng thuốc trong trường hợp ngoại cảm, kiết lỵ. Kiêng các chất cay, nóng, chất kích thích.

HOÀN THẬP TOÀN ĐẠI BỔ

Công thức

Đảng sâm (*Radix Codonopsis pilosulae*)	150 g
Bạch truật (*Radix Atractylodis macrocephalae*)	100 g
Phục linh (*Poria*)	80 g
Cam thảo (*Radix Glycyrrhizae*)	80 g
Đương quy (*Radix Angelicae sinensis*)	100 g
Xuyên khung (*Rhizoma Ligustici wallichii*)	80 g
Bạch thược (*Radix Paeoniae lactiflorae*)	100 g
Thục địa (*Radix Rehmanniae glutinosae praeparata*)	150 g
Hoàng kỳ (*Radix Astragali membranacei*)	150 g
Quế nhục (*Cortex Cinnamomi*)	100 g
Mật ong vừa đủ (*Mel q.s*)	

Bào chế

Bạch truật sao vàng, Bạch thược chế rượu, Cam thảo chích mật, Hoàng kỳ tẩm mật theo qui định trong các chuyên luận riêng. Sau đó, Thục địa thái lát và sấy khô cùng các vị còn lại, nghiền thành bột mịn, trộn đều thành bột kép và rây qua rây số 180. Nếu làm hoàn cứng thì lấy 100 g bột kép thêm 30 g đến 50 g mật luyện và hòa loãng trong lượng nước sôi thích hợp và làm hoàn cứng. Nếu làm hoàn mềm, cứ 100 g bột kép dùng 100 g đến 120 g mật luyện sôi, trộn đều cho mềm nhuyễn, làm viên hoàn mềm 9 g.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc hoàn" (Phụ lục 1.11) và các yêu cầu sau:

Tính chất

Hoàn hình cầu, màu nâu đến nâu đen, mùi thơm, vị ngọt sau hơi đắng cay.

Định tính

A. Định tính Phục linh, Quế và Hoàng kỳ: Soi bột chế phẩm dưới kính hiển vi có độ phóng đại thích hợp, so sánh với bột Phục linh, bột Quế và bột Hoàng kỳ (mẫu chuẩn) thấy các khối phân nhánh không đều, không màu; các sợi nấm không màu hoặc nâu nhạt, hơi cong và phân nhánh của Phục linh. Các tế bào mô cứng màu vàng nâu, đứng riêng lẻ hay tụ thành đám, hình trái xoan hay hình chữ nhật với thành rất dày khoang rộng có ống trao đổi rõ, một số tế bào có thành mỏng về một phía của Quế. Sợi thành bó hay rải rác, thành dày với những kẽ nứt dọc trên bề mặt, hai đầu sợi thường bị gãy thành dạng tua như chổi hoặc gãy cụt của Hoàng kỳ.

B. Định tính Bạch thược

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

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *Ethyl acetat - acid acetic - acid formic - nước* (10 : 1 : 1 : 1).

Dung dịch thử: Nghiền 12 g hoàn với 6 g Kieselguhr, thêm 80 ml *ethanol (TT)*, lắc siêu âm 20 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn khô, hòa tan cắn khô trong 20 ml *nước*, lọc qua bông. Lắc dịch lọc với *n-butanol bão hòa nước (TT)* 2 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp các dịch chiết butanol, rửa bằng 20 ml *nước*, gạn bỏ nước rửa. Bốc hơi dịch chiết butanol trên cách thủy đến khô. Hòa tan cắn trong 2 ml *ethanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan paeoniflorin chuẩn trong *ethanol (TT)* để được dung dịch có nồng độ 2 mg/ml. Nếu không có paeoniflorin, lấy 2 g bột thô Bạch thược (mẫu chuẩn), thêm 20 ml *ethanol (TT)*, lắc siêu âm 20 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn khô, hòa tan cắn khô trong 20 ml *nước*, lọc qua bông. Lắc dịch lọc với *n-butanol bão hòa nước (TT)* 2 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp các dịch chiết butanol, rửa bằng 20 ml *nước*, gạn bỏ nước rửa. Bốc hơi dịch chiết butanol trên cách thủy đến khô. Hòa tan cắn trong 2 ml *ethanol (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 15 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*. Quan sát dưới ánh sáng thường. Sấy bản mỏng ở 110 °C cho đến khi các vết xuất hiện. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

C. Định tính Đảng sâm

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

Bản mỏng: *Silica gel G*.

Dung môi khai triển: *n-Hexan - ethyl acetat* (2 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 8 g hoàn, nghiền nhỏ, nếu là hoàn mềm thì cắt nhỏ, thêm 30 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun sôi trên cách thủy 30 min, để nguội, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Khuấy kỹ cắn với *n-butanol (TT)* 3 lần, mỗi lần 10 ml. Gộp dịch chiết butanol, cô trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 5 ml *ethanol (TT)*, thêm 30 ml *dung dịch acid sulfuric 20 % (TT)*, đun sôi hồi lưu trong 2 h,

để nguội, lọc lấy tủa, rửa bằng *nước cất* cho hết phản ứng acid, sấy khô ở 70 °C. Thêm vào tủa 20 ml *cloroform (TT)*, đun trên cách thủy nóng, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cạn. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 1 g Đảng sâm (mẫu chuẩn) đã tán nhỏ, thêm 20 ml *ethanol 96 % (TT)* và chiết như dung dịch thử, bắt đầu từ "đun sôi trên cách thủy 30 min...

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*, sấy ở 110 °C cho đến khi các vết xuất hiện. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

D. Định tính Đương quy

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: *n-Hexan - ethyl acetat* (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 5 g chế phẩm, cắt nhỏ (hoặc nghiền mịn), thêm 30 ml *ether ethylic (TT)*, lắc 30 min, lọc. Để bay hơi tự nhiên dịch lọc đến khô cạn. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,5 g bột Đương qui (mẫu chuẩn), thêm 20 ml *ether ethylic (TT)*, lắc 30 min, lọc. Để bay hơi tự nhiên dịch lọc đến khô cạn. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại tại bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

E. Định tính Thục địa

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển: *Cloroform - ethyl acetat* (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 20 g chế phẩm, cắt nhỏ cho vào cốc có mỏ. Thêm 20 ml *n-butanol (TT)*, lắc kỹ (chiết 2 lần), lấy dịch chiết n-butanol, cô tới cắn. Hòa tan cắn trong 1 ml *ethanol 96 % (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 20 g Thục địa (mẫu chuẩn) đã cắt nhỏ hoặc nghiền mịn, tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch acid sulfuric 10 % trong ethanol (TT)*, sấy ở 105 °C đến khi hiện rõ vết. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết cùng màu và giá trị R_f với các vết của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Hoàn mềm: Không được quá 15,0 % (Phụ lục 12.13).

Hoàn cứng: Không được quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 85 °C, 5 h).

Độ rã (Phụ lục 11.6)

Không quá 1 h (Chỉ áp dụng cho hoàn cứng).

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát.

Công năng, chủ trị

Ôn bổ khí huyết. Chữa trị: Khí huyết bất túc, hư lao, ho khan, ăn kém, di tinh, thắt lưng đau gối yếu, vết thương lâu lành; phụ nữ băng kinh.

Cách dùng, liều lượng

Mỗi lần uống 6 g hoàn cứng hoặc 1 hoàn mềm, ngày dùng 2 đến 3 lần.

HOÀN THIÊN VƯƠNG BỔ TÂM

Công thức

Đan sâm *(Radix Salviae miltiorrhizae)*	25 g
Huyền sâm *(Radix Scrophulariae)*	25 g
Đương qui *(Radix Angelicae sinensis)*	100 g
Viễn chí *(Radix Polygalae)* chế	25 g
Toan táo nhân *(Semen Ziziphi mauritianae)* sao	100 g
Đảng sâm *(Radix Codonopsis pilosulae)*	25 g
Bá tử nhân *(Semen Platycladi orientalis)*	100 g
Bạch linh *(Poria)*	25 g
Cát cánh *(Radix Platycodi grandiflori)*	25 g
Ngũ vị tử *(Fructus Schisandrae)*	50 g
Mạch môn *(Radix Ophiopogonis japonici)*	100 g
Chu sa *(Cinnabaris)*	10 g
Thiên môn đông *(Radix Asparagi cochinchinensis)*	100 g
Sinh địa *(Radix Rehmanniae glutinosae)*	200 g
Mật ong vừa đủ *(Mel q.s)*	

Bào chế

Viễn chí (chế), Toan táo nhân (sao) theo qui định trong chuyên luận riêng. Thủy phi Chu sa đạt yêu cầu thành bột rất mịn. Sấy khô và tán các vị thuốc còn lại thành bột mịn qua rây số 180. Trộn thật đều các vị với Chu sa theo nguyên tắc đồng lượng, rây. Nếu làm hoàn cứng thì lấy 100 g bột thuốc, thêm 20 g đến 30 g mật ong đã tinh chế với một lượng nước thích hợp. Nếu làm hoàn mềm thì lấy 100 g bột thuốc, thêm 50 g đến 70 g mật ong đã luyện thành châu.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc hoàn" (Phụ lục 1.11) và các yêu cầu sau:

Tính chất

Hoàn cứng màu đen hơi nâu.

Hoàn mềm màu đen nâu, mùi thơm nhẹ, vị ngọt, hơi đắng.

Định tính

A. Định tính Bạch linh, Ngũ vị tử, Mạch môn

Soi bột chế phẩm dưới kính hiển vi có độ phóng đại thích hợp, so sánh với bột của mẫu chuẩn Bạch linh, Ngũ vị tử, Mạch môn thấy: Những khối không màu, phân nhánh không đều, sợi nấm không màu hoặc nâu nhạt, đường kính

3 µm đến 8 µm của Bạch linh. Tế bào đá hình thoi hoặc hình nhiều góc với một đầu hơi nhọn và màng dày hơn, có những hố xếp rải rác. Tế bào đá màu nâu vàng nhạt hoặc không màu, hình chữ nhật nhỏ, tròn nhỏ, hay không đều, đường kính khoảng 94 µm. Tế bào đá hình chữ nhật hoặc hình dài dài, đường kính 50 µm đến 110 µm với nhiều hố nhỏ. Tế bào đá của vỏ biểu bì màu nâu vàng nhạt, nhìn theo bề mặt có hình đa diện nhỏ, màng dày có kênh lỗ dày đặc, khoang chứa chất màu nâu thẫm của Ngũ vị tử. Tinh thể calci oxalat hình kim tụ thành bó hoặc rải rác, dài 24 µm đến 50 µm, đường kính khoảng 3 µm của Mạch môn.

B. Định tính Chu sa: Rửa 1 g hoặc 1/2 viên hoàn bằng nước, sẽ thu được một lượng nhỏ tủa màu đỏ son. Lấy tủa ra, tẩm ướt bằng *acid hydrocloric (TT)* và cọ lên bề mặt nhẵn của một miếng đồng, thấy xuất hiện màu lấp lánh trắng bạc. Màu này sẽ mất đi khi hơ nóng hoặc nung.

C. Định tính Đương Quy

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

Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.

Dung môi khai triển: *n-hexan - ethyl acetat* (9 : 1)

Dung dịch thử: Lấy 10 g chế phẩm, tán thành bột thô hoặc cắt nhỏ, thêm 30 ml *ether ethylic (TT)*, lắc trên máy lắc 30 min, lọc lấy dịch chiết. Chiết như trên thêm một lần nữa. Gộp các dịch chiết ether, để bay hơi tự nhiên đến khô. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Lấy khoảng 0,5 g bột Đương quy (mẫu chuẩn), thêm 15 ml *ether ethylic (TT)* rồi tiến hành chiết như dung dịch thử.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 15 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải có các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Hoàn mềm: Không được quá 15,0 % (Phụ lục 12.13).

Hoàn cứng: Không được quá 12,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 85 °C, 5 h).

Độc tính bất thường

Thử theo Phụ lục 13.5. Lấy 3,2 g bột viên, thêm 10 ml *nước cất*, nghiền nhuyễn và lắc đều. Cho chuột uống với liều 1 ml/chuột.

Bảo quản

Để nơi khô mát, trong bao bì kín.

Công năng, chủ trị

Tư âm dưỡng huyết, bổ tâm an thần. Chủ trị: Âm huyết bất túc, hồi hộp, hay quên, tâm phiền mất ngủ, ngủ hay mê, táo bón.

Cách dùng, liều lượng

Uống một ngày hai lần, mỗi lần 6 g đến 9 g hoàn.

HOÀN TIÊU DAO

Công thức

Sài hồ (*Radix Bupleuri*)	100 g
Đương quy (*Radix Angelicae sinensis*)	100 g
Bạch thược (*Radix Paeoniae lactiflorae*)	100 g
Bạch truật (*Rhizoma Atractylodis macrocephalae*) sao	100 g
Bạch linh (*Poria*)	100 g
Cam thảo (*Radix Glycyrrhizae*) chích mật	80 g
Bạc hà (*Herba Menthae*)	20 g
Gừng tươi (*Rhizoma Zingiberis*) nướng	100 g

Bào chế

Cam thảo và Bạch truật chế theo chuyên luận riêng. Các vị thuốc còn lại làm sạch và sấy khô. Nghiền tất cả các vị thuốc thành bột mịn, trộn đều thành bột kép và rây qua rây số 180. Lấy 100 g Gừng tươi, rửa sạch, thái lát, sắc với nước vài lần, lọc. Gây nhân làm hoàn cứng với tá dược dính là nước sắc gừng và sấy khô.

Chế phẩm phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận "Thuốc hoàn" (Phụ lục 1.11) và các yêu cầu sau:

Tính chất

Hoàn cứng có màu nâu tới màu nâu hơi vàng, vị ngọt hơi cay.

Định tính

A. Định tính Bạch linh, Cam thảo: Soi bột chế phẩm dưới kính hiển vi với độ phóng đại thích hợp, so sánh với bột Bạch linh và Cam thảo (mẫu chuẩn), chế phẩm phải có các khối phân nhánh không đều, không màu, sợi nấm không màu hay nâu nhạt, hơi cong và phân nhánh của Bạch linh; các bó sợi mang tinh thể calci oxalat hình lăng trụ của Cam thảo.

B. Định tính Đương quy

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

Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.

Dung môi khai triển: *n-Hexan - ethyl acetat* (9 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 5 g chế phẩm đã tán thành bột mịn, thêm 30 ml *ether ethylic (TT)*, lắc trên máy lắc 30 min, lọc. Để bay hơi tự nhiên dịch lọc đến cạn khô. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*

Dung dịch đối chiếu: Lấy 0,5 g bột Đương quy (mẫu chuẩn), thêm 20 ml *ether ethylic (TT)*, lắc trên máy lắc 30 min, lọc. Để bay hơi tự nhiên dịch lọc đến cạn khô. Hòa cắn trong 1 ml *ethanol (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng. Quan sát dưới ánh sáng tử ngoại, bước sóng 366 nm. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho các vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

C. Định tính Bạch thược

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

Bản mỏng: *Silica gel* GF_{254}.

Dung môi khai triển: *Ethyl acetat - acid acetic - acid formic - nước* (10 : 1 : 1 : 1).

Dung dịch thử: Lấy 10 g hoàn đã nghiền mịn, thêm 80 ml *ethanol (TT)*, lắc siêu âm 20 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cắn khô, hòa tan cắn trong 20 ml *nước*, chiết bằng *n-butanol bão hòa nước (TT)* 3 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp các dịch chiết butanol, rửa bằng *nước* 3 lần, mỗi lần 15 ml, gạn bỏ nước rửa. Bốc hơi dịch chiết còn lại trên cách thủy đến cắn khô. Hòa tan cắn trong *ethanol (TT)*. *Dung dịch đối chiếu*: Lấy 2 g bột thô Bạch thược (mẫu chuẩn), thêm 20 ml *ethanol (TT)*, lắc siêu âm 20 min, lọc. Cô dịch lọc trên cách thủy đến cắn, hòa tan cắn trong 20 ml *nước*, chiết bằng *n-butanol bão hòa nước (TT)* 3 lần, mỗi lần 20 ml. Gộp các dịch chiết butanol, rửa bằng *nước* 3 lần, mỗi lần 15 ml, gạn bỏ nước rửa. Bốc hơi dịch chiết còn lại trên cách thủy đến cắn khô. Hòa tan cắn trong *ethanol (TT)*. *Cách tiến hành*: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký cho đến khi dung môi đi được khoảng 12 cm, lấy bản mỏng ra, để khô ở nhiệt độ phòng, phun *dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric (TT)*. Sấy bản mỏng ở 110 °C cho đến khi các vết hiện rõ. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải cho vết có cùng màu và giá trị R_f với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Độ ẩm

Không được quá 9,0 % (Phụ lục 9.6, 1 g, 100 °C, 4 h).

Bảo quản

Trong bao bì kín, để nơi khô mát, tránh ẩm.

Công năng, chủ trị

Sơ can, kiện tỳ. Chủ trị: Can khí uất tỳ hư gây nên ngực, sườn đau trướng, hoa mắt, chóng mặt, miệng, khô, họng táo, kém ăn, rối loạn kinh nguyệt.

Cách dùng, liều lượng

Mỗi lần 6 g đến 9 g hoàn, ngày 1 đến 2 lần.

PHỔ HẤP THỤ HỒNG NGOẠI

CHUẨN BỊ PHỔ HẤP THỤ HỒNG NGOẠI DÙNG ĐỂ ĐỐI CHIẾU

Tất cả các phổ có trong phụ lục này được ghi trên máy quang phổ hồng ngoại tán sắc Perkin Elmer model 682 hoặc ghi trên máy quang phổ hồng ngoại chuyển dạng Fourier Perkin Elmer model 16 PC hoặc Perkin Elmer model spectrum 100.

Dĩa nền có đường kính 13 mm được chuẩn bị với kali bromid hoặc kali clorid.

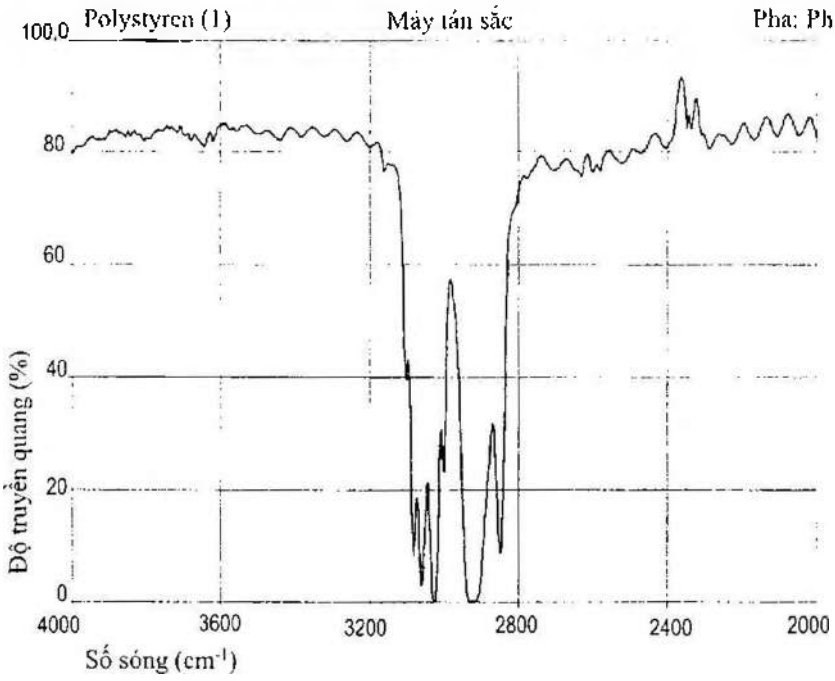
Bột nhão parafin và phim mỏng được chuẩn bị giữa 2 tấm phẳng kali bromid.

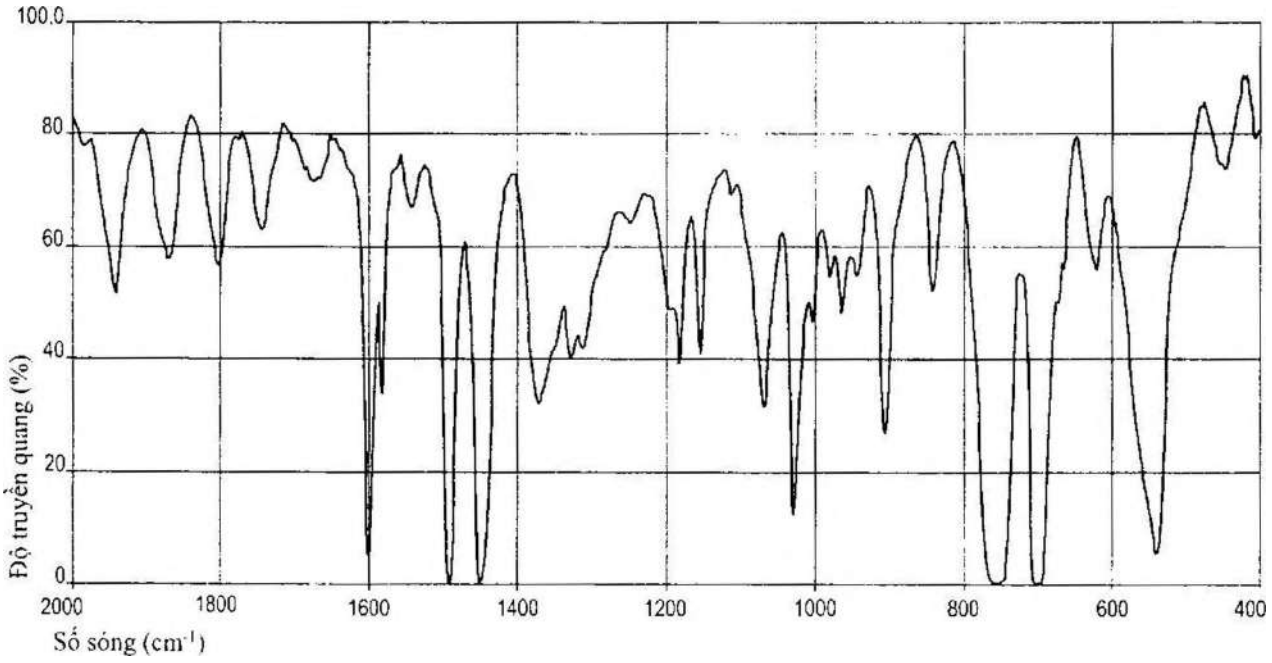
Đối với khí và dung dịch, dùng cóng đo có cửa sổ bằng kali bromid.

Phổ của dung dịch được ghi đối chiếu với dung môi, còn tất cả các phổ khác được ghi đối chiếu với không khí.

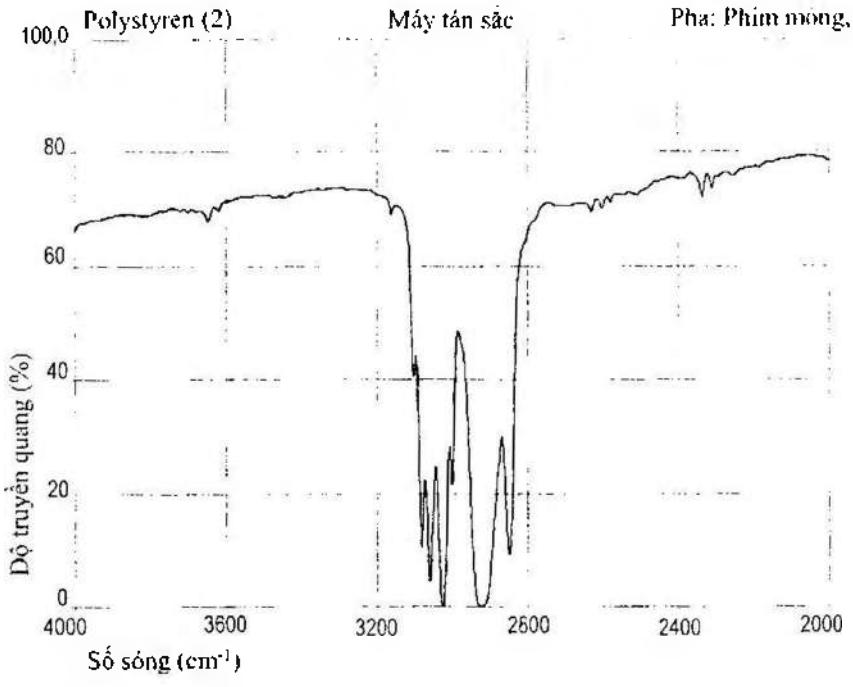
Đối với phổ của dung dịch, dải phổ mà ở đó sự hấp thụ của dung môi rất mạnh thì không cần quan tâm. Dải phổ này trong phổ đối chiếu là một đường thẳng nằm ngang.

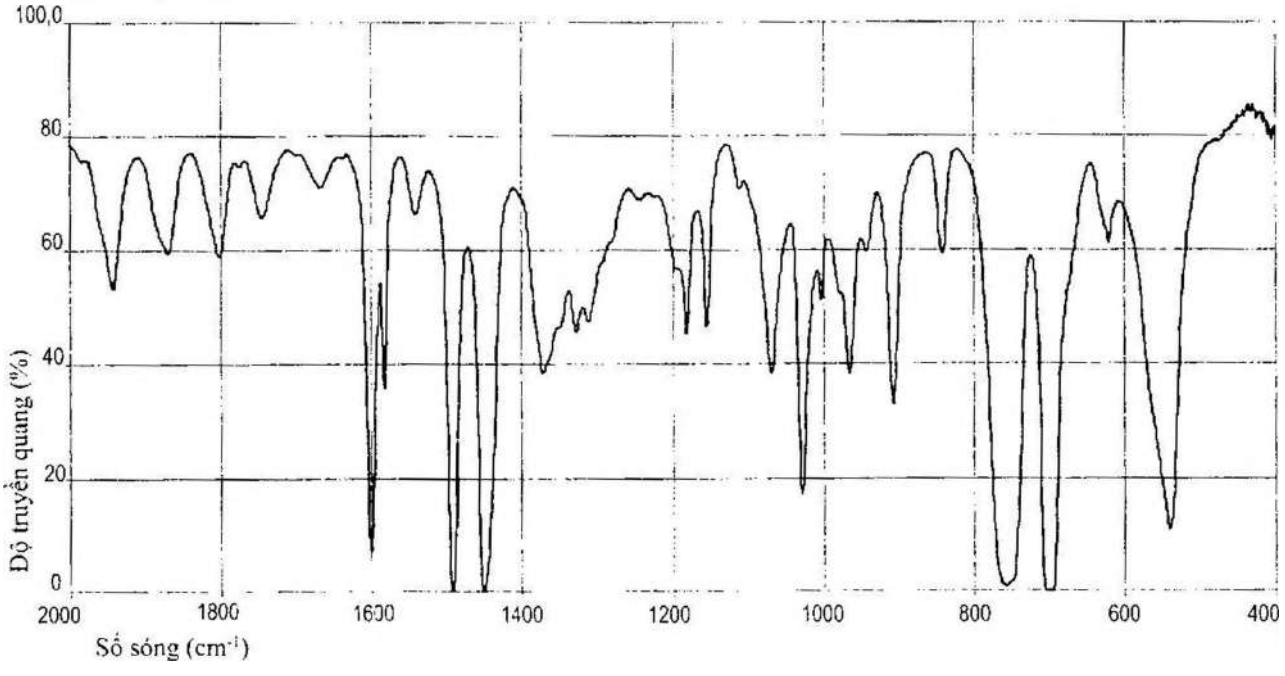
Polystyren (1)



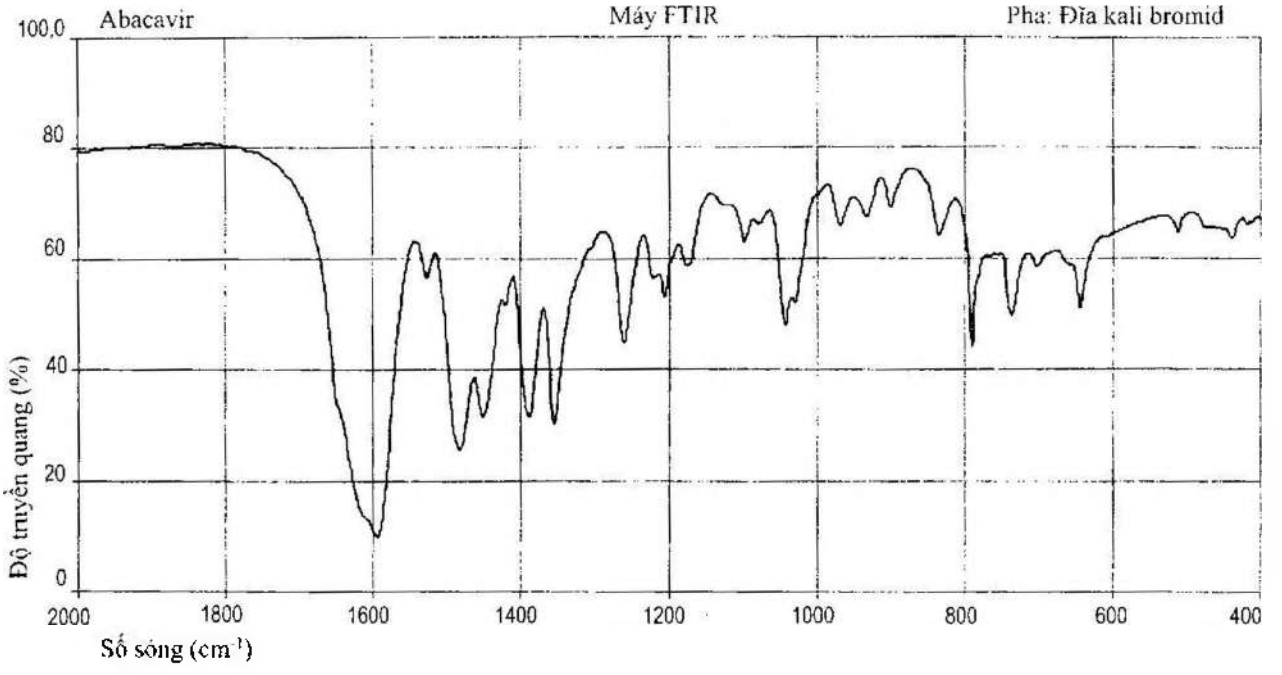


Polystyren (2)

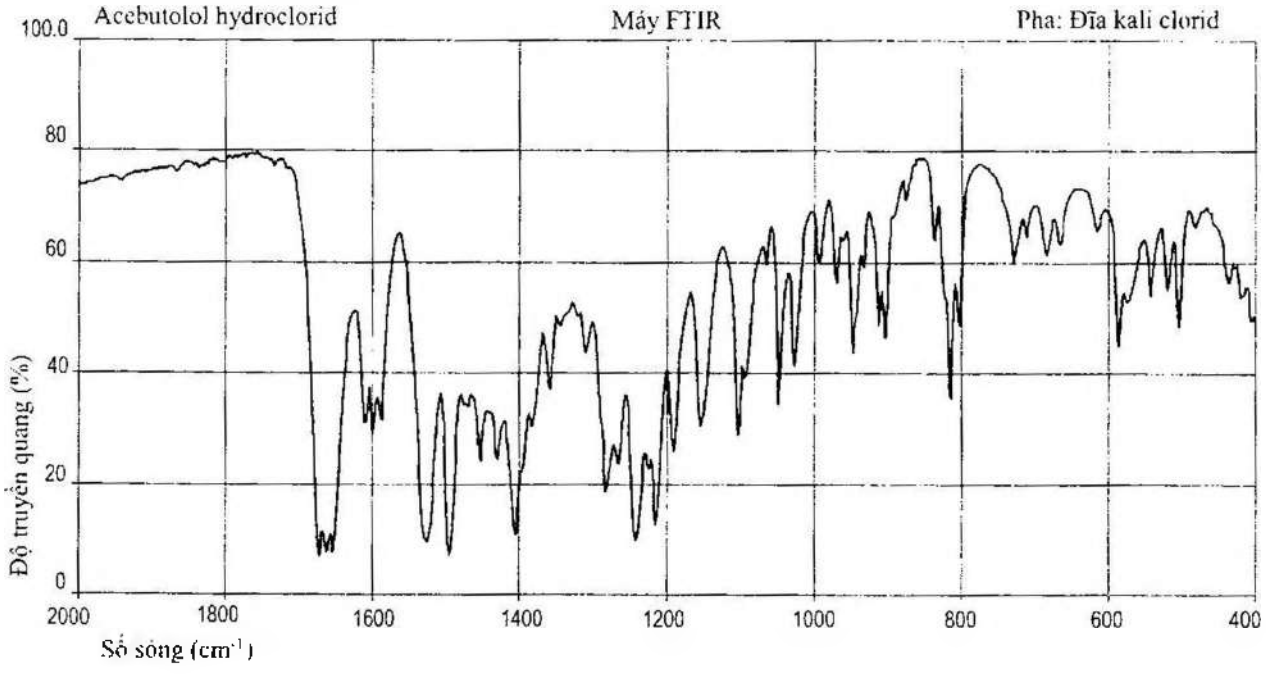




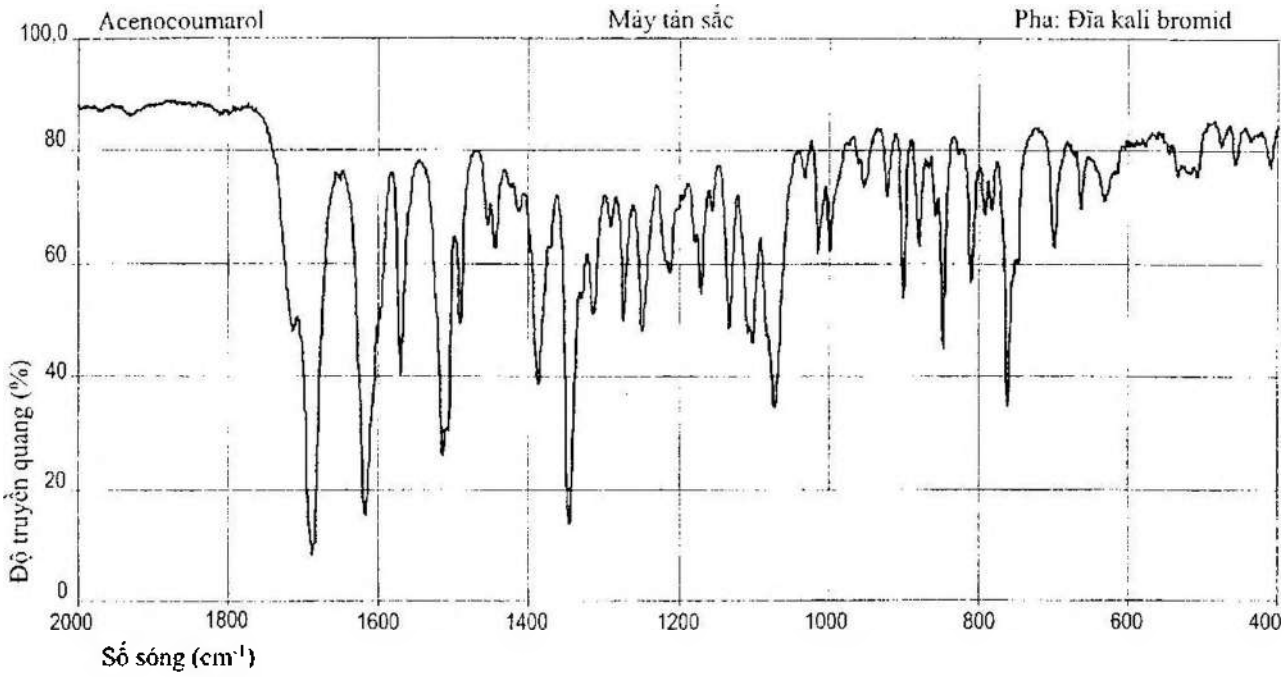
Abacavir



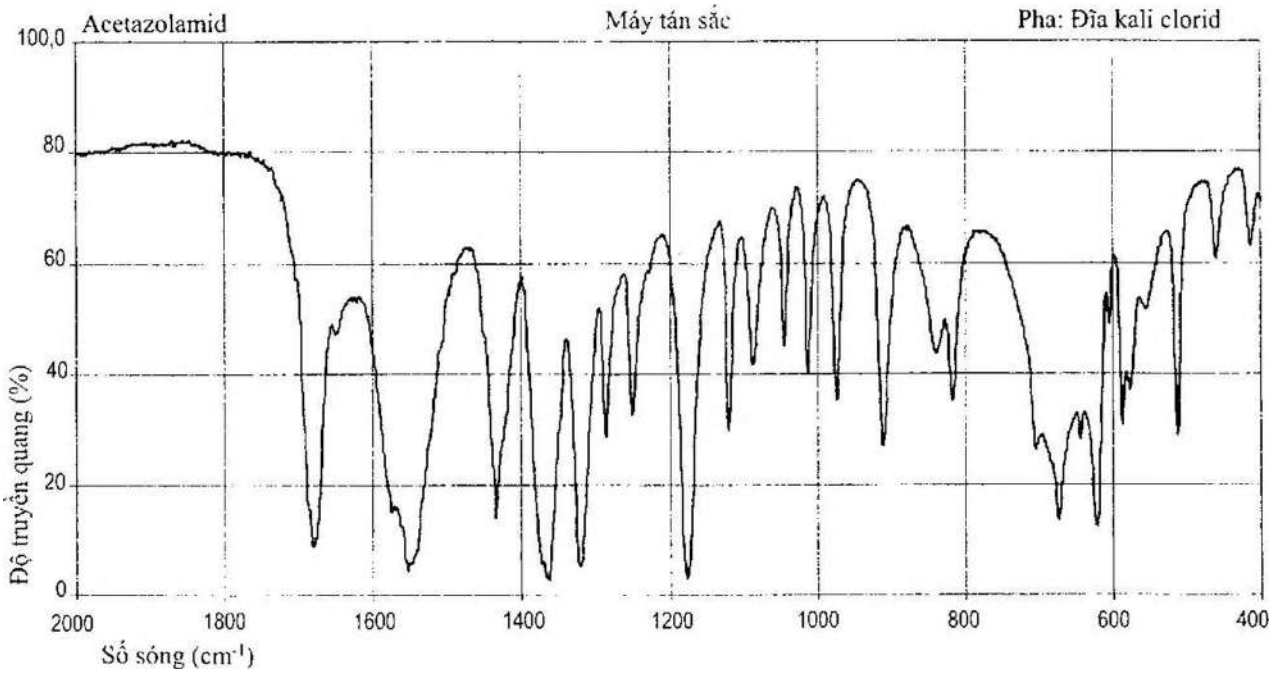
Acebutolol hydroclorid



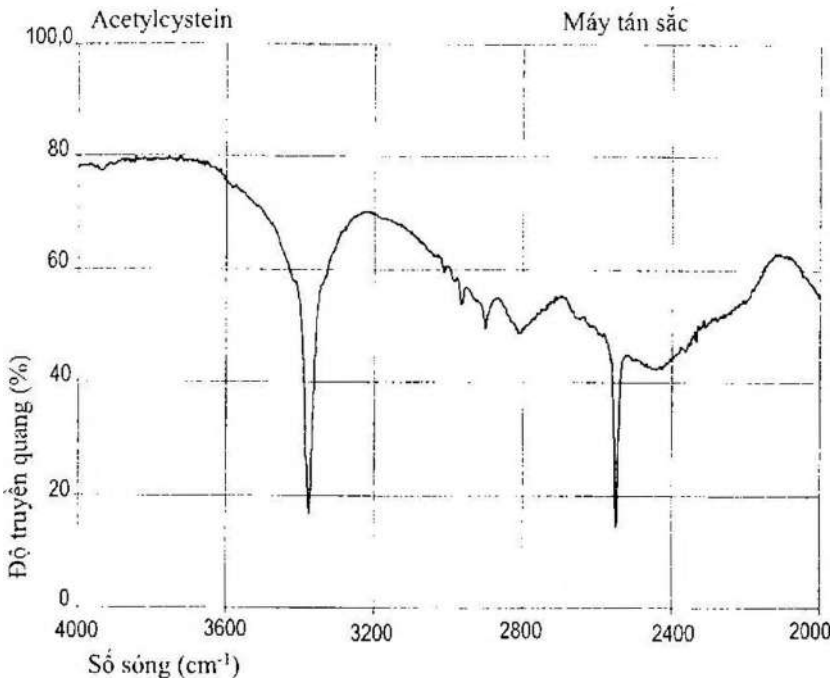
Acenocoumarol

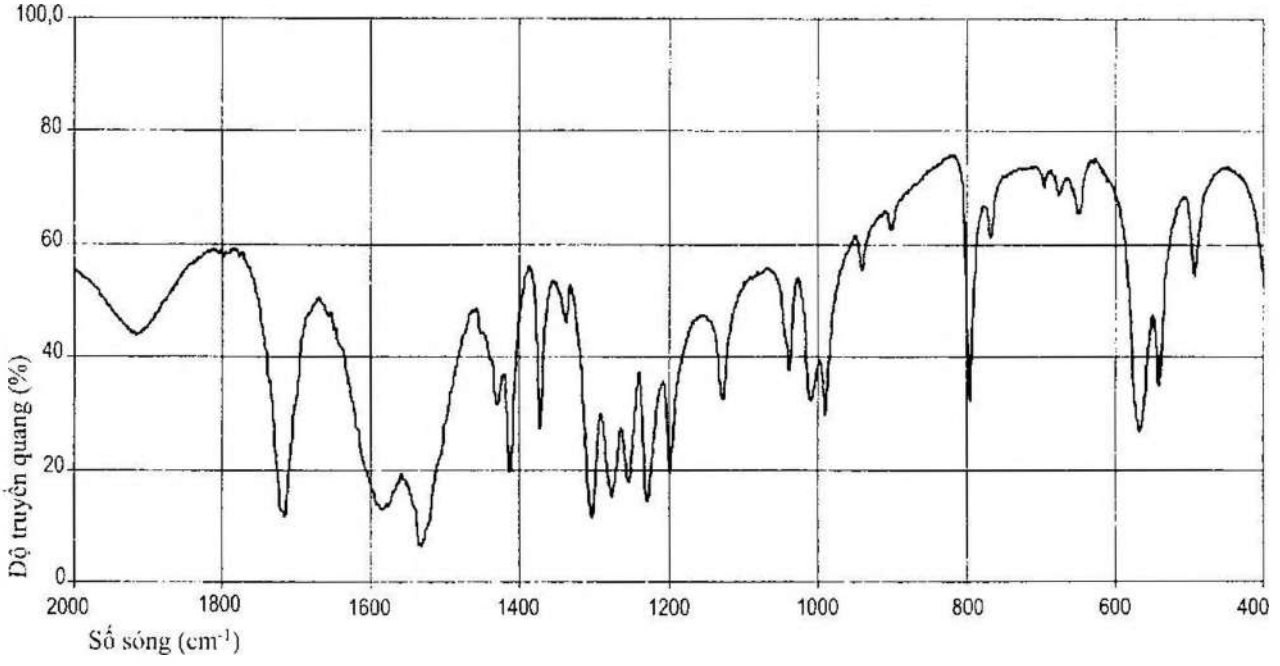


Acetazolamid

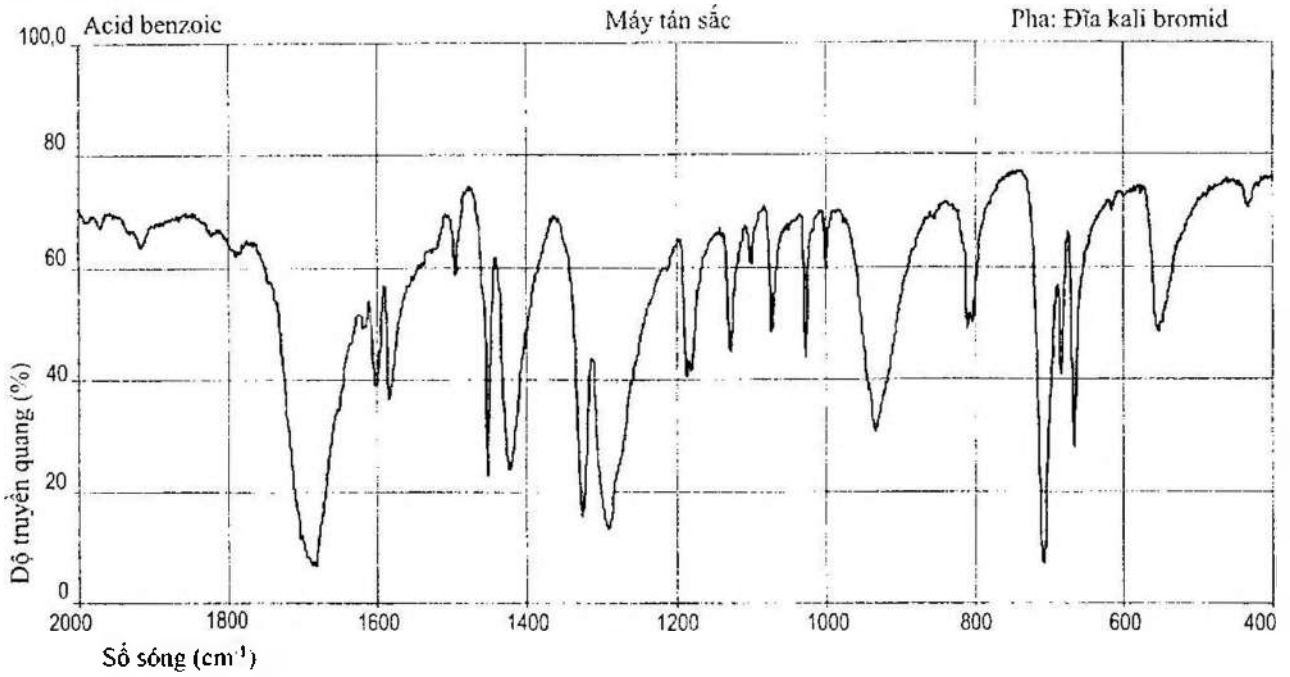


Acetylcystein

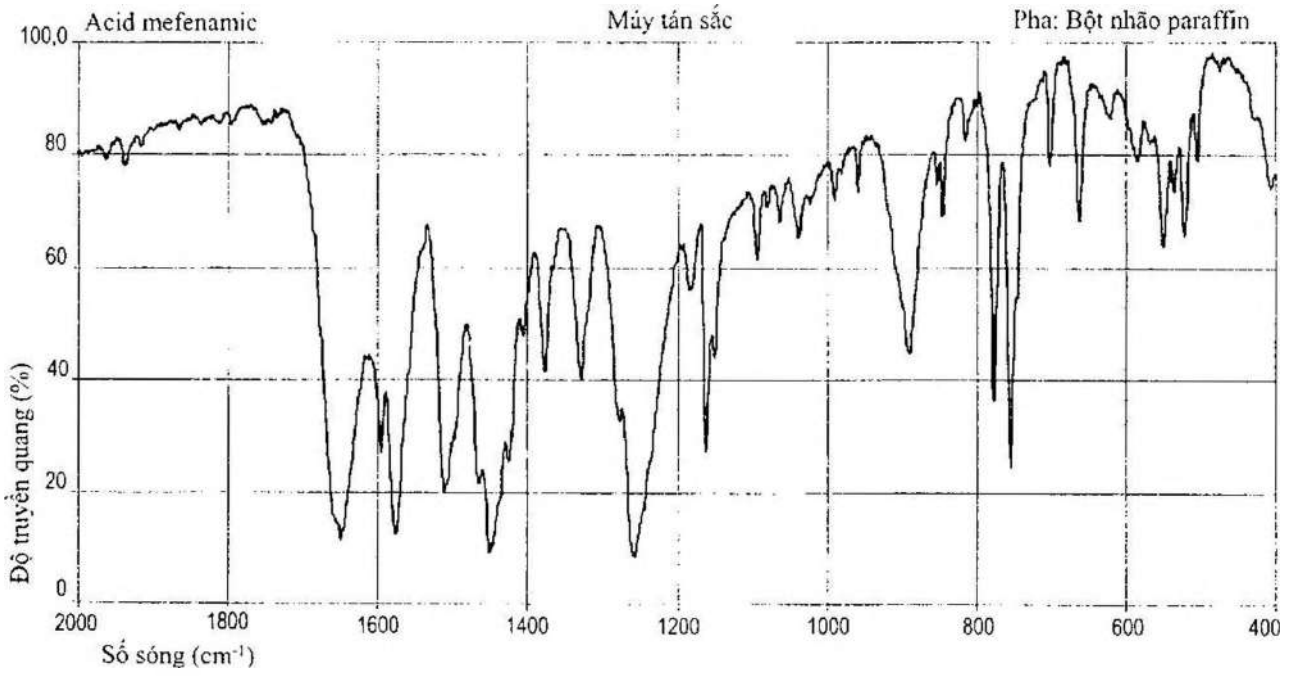




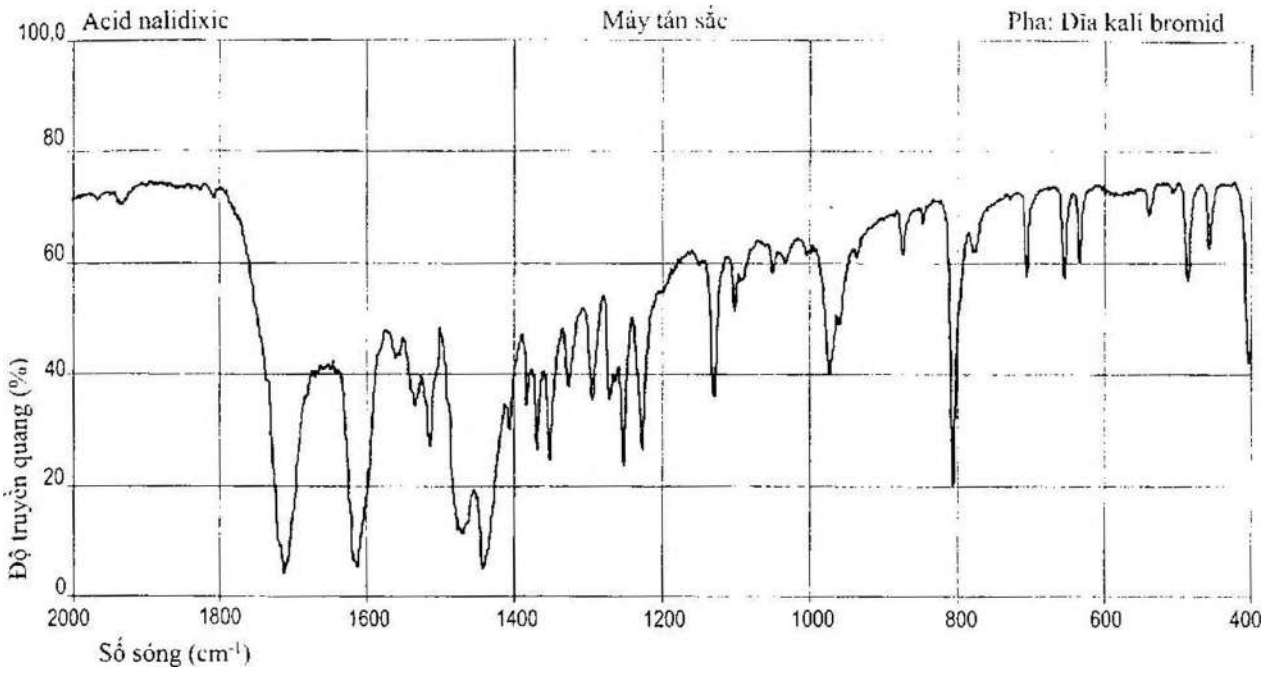
Acid benzoic



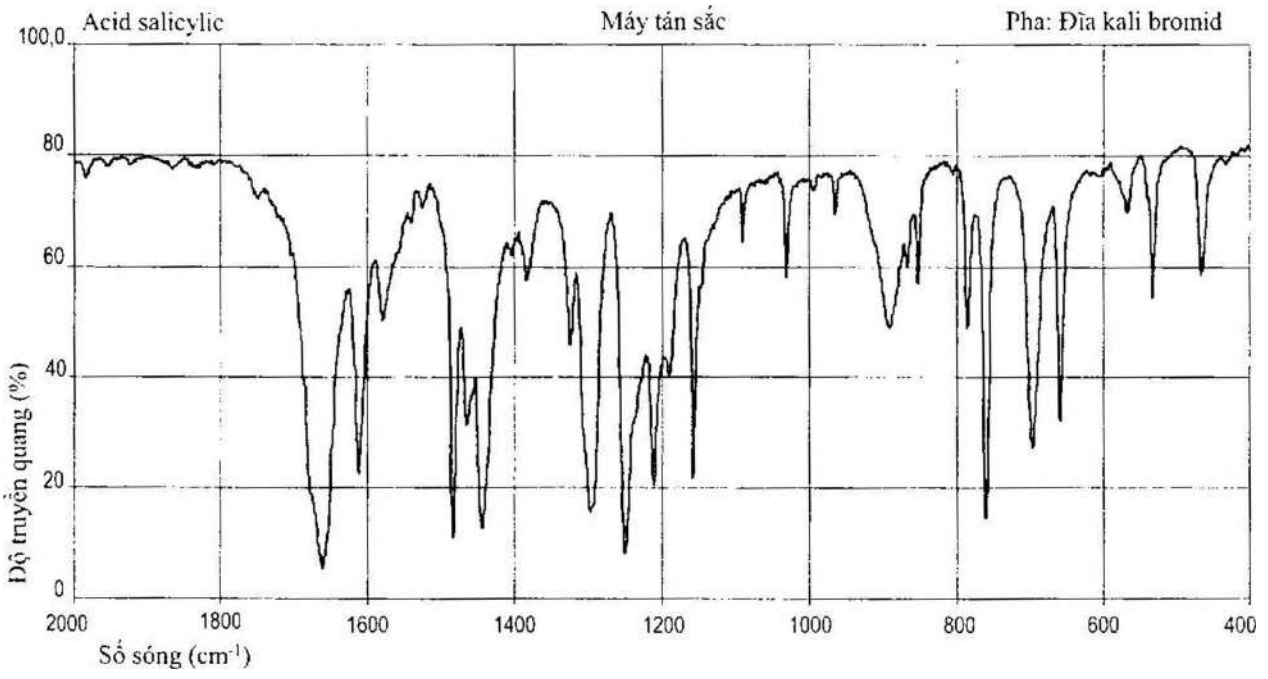
Acid mefenamic



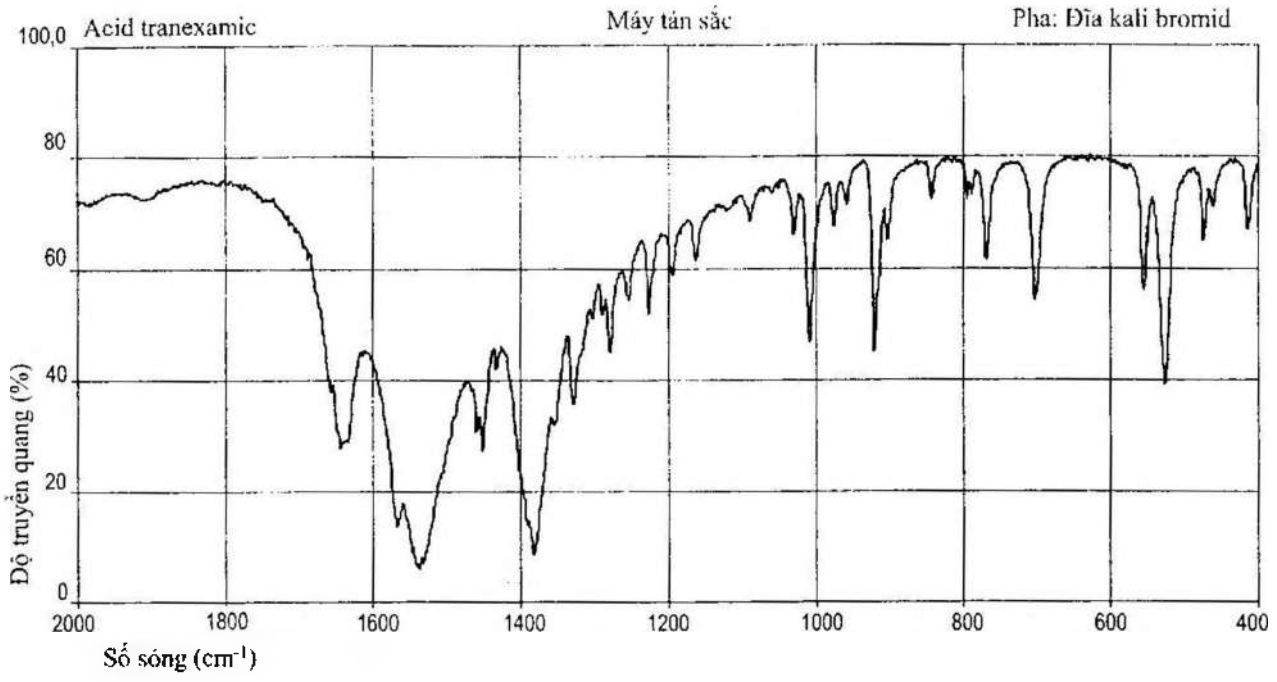
Acid nalidixic



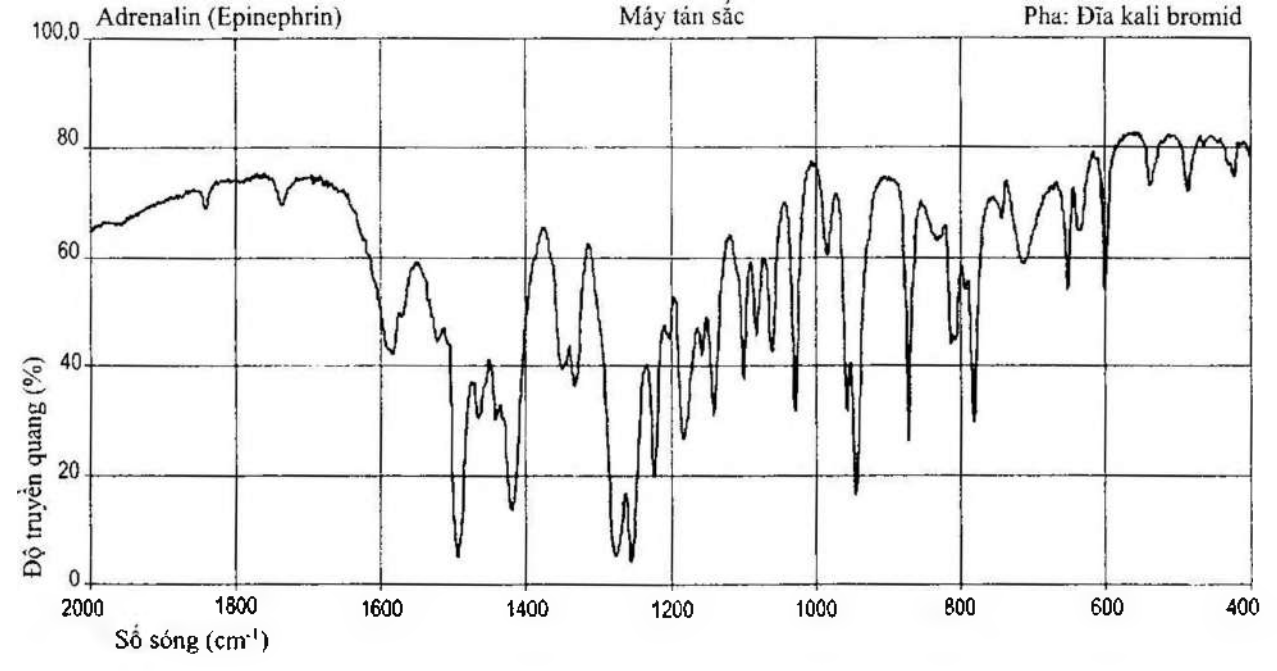
Acid salicylic



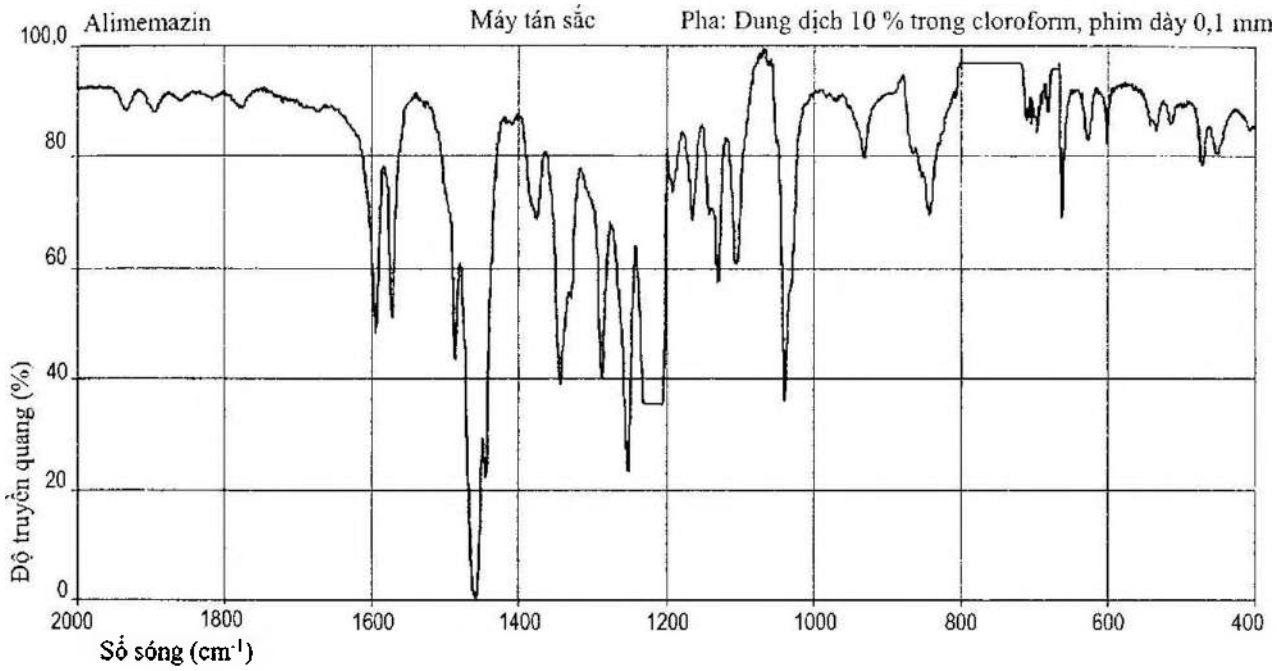
Acid tranexamic



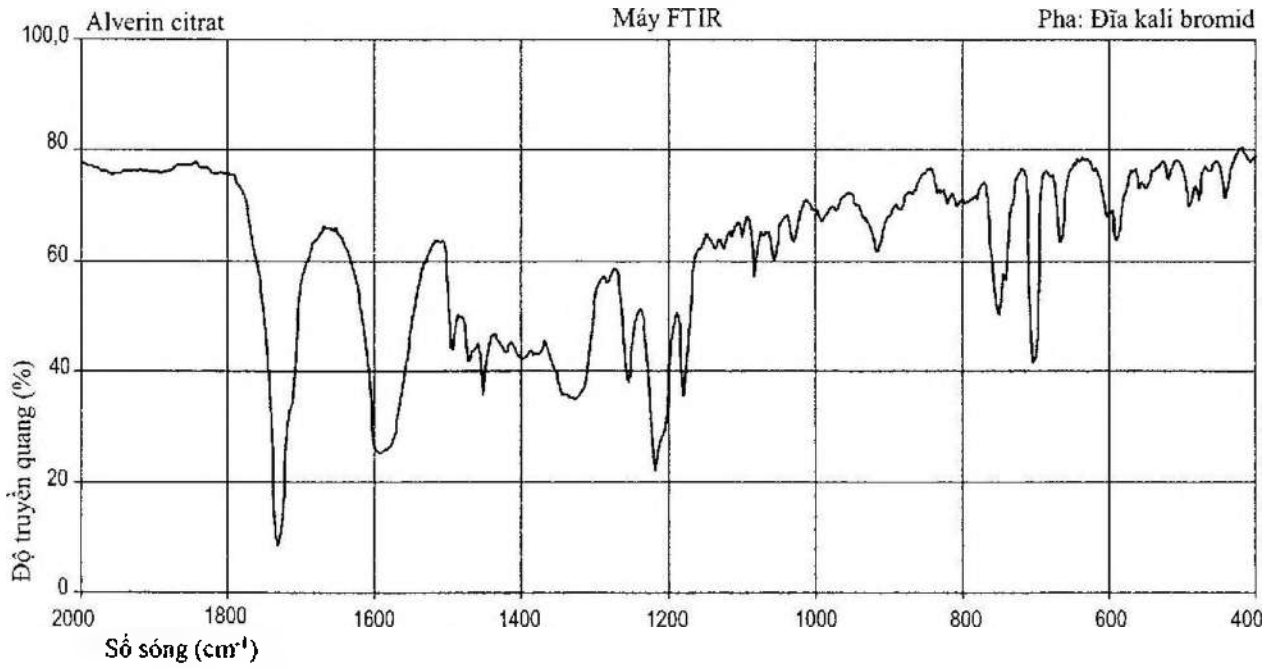
Adrenalin (epinephrin)



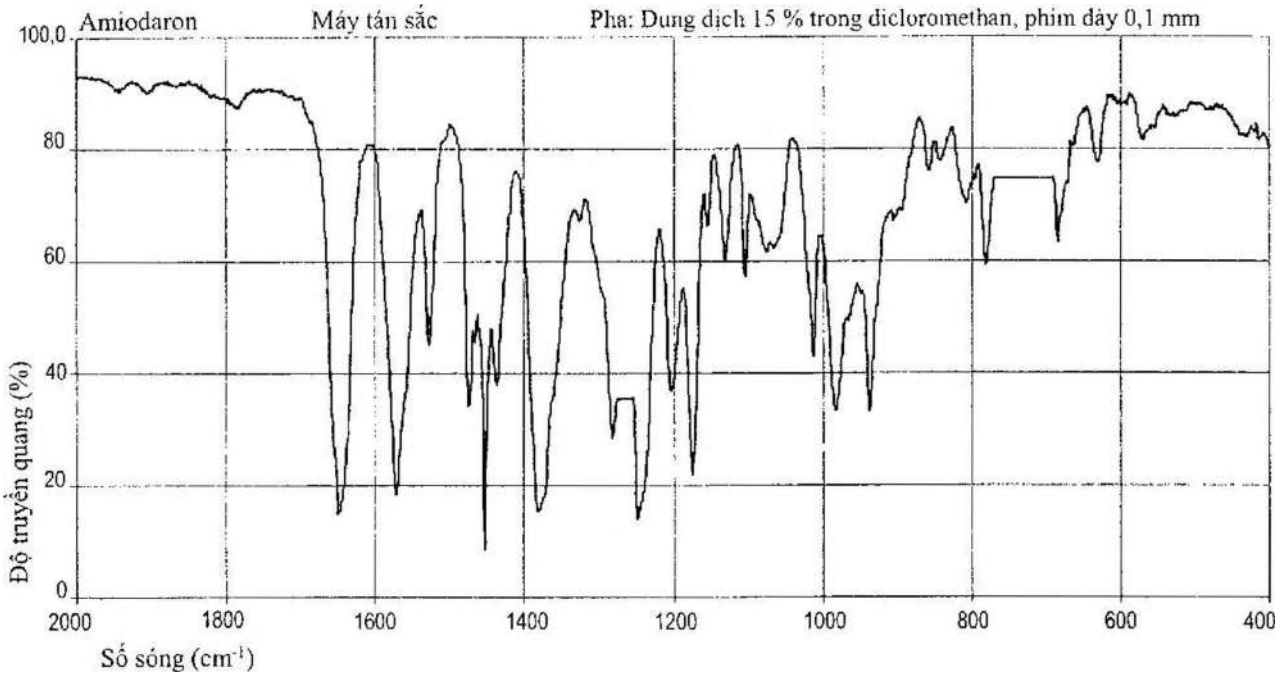
Alimemazin



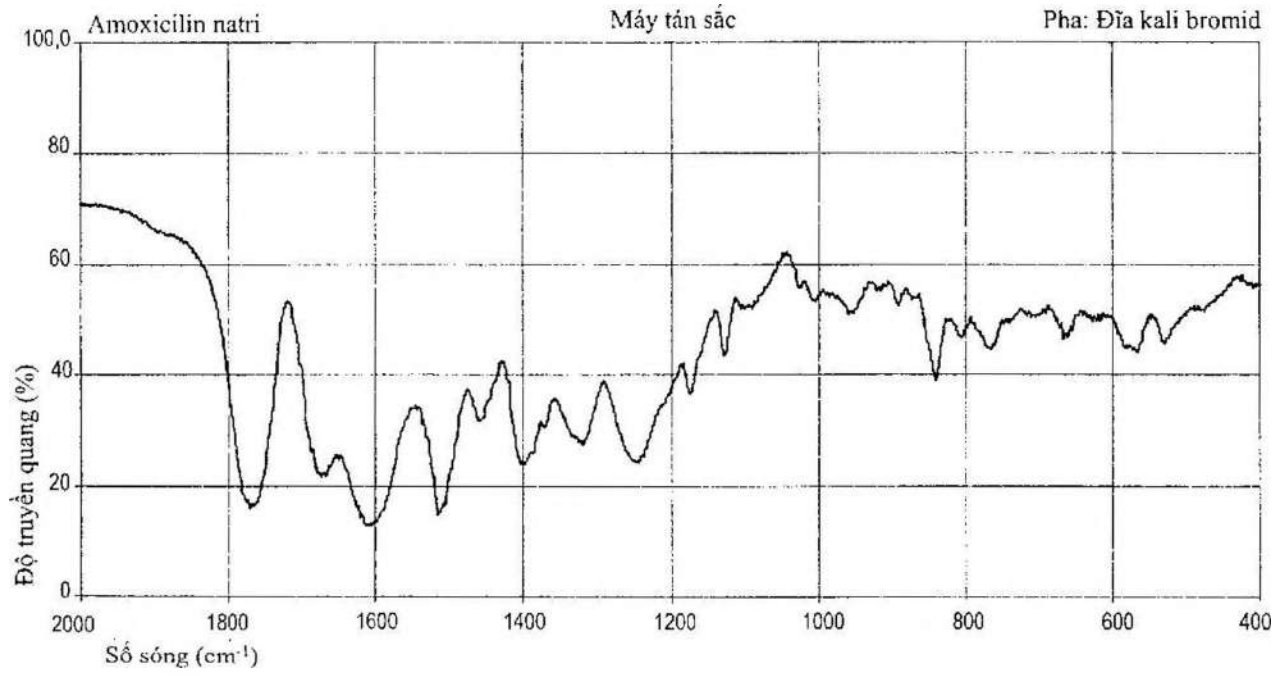
Alverin citrat



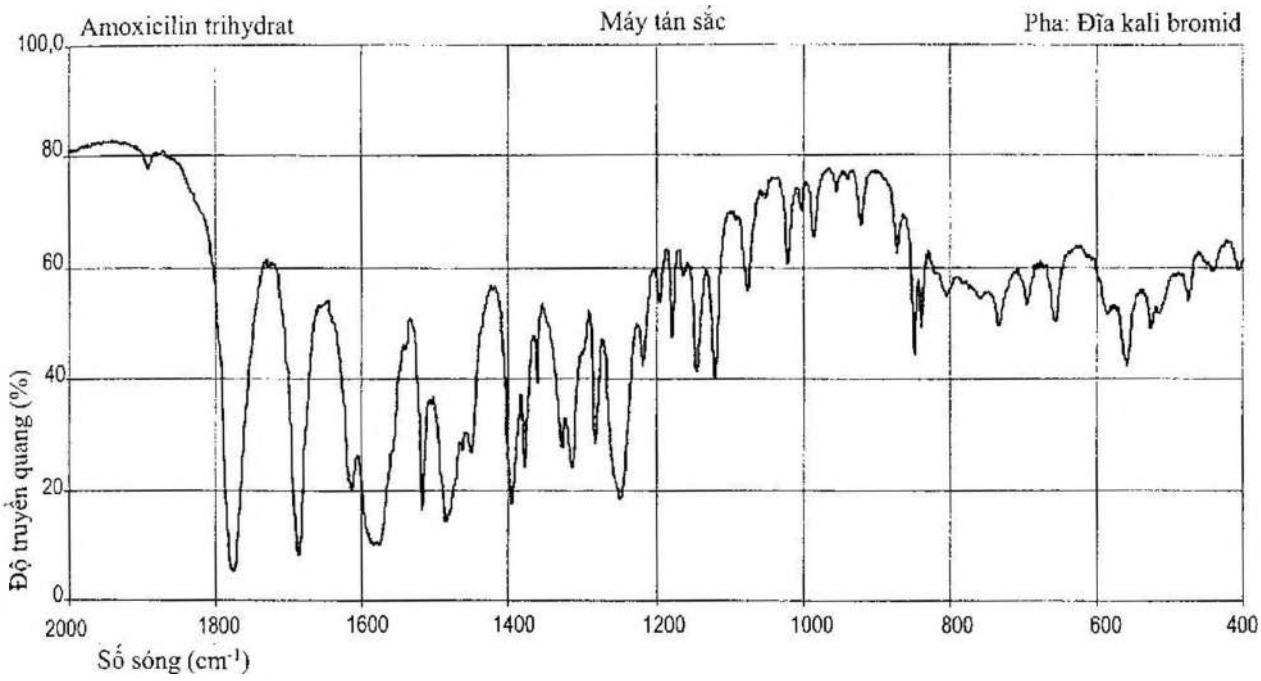
Amiodaron



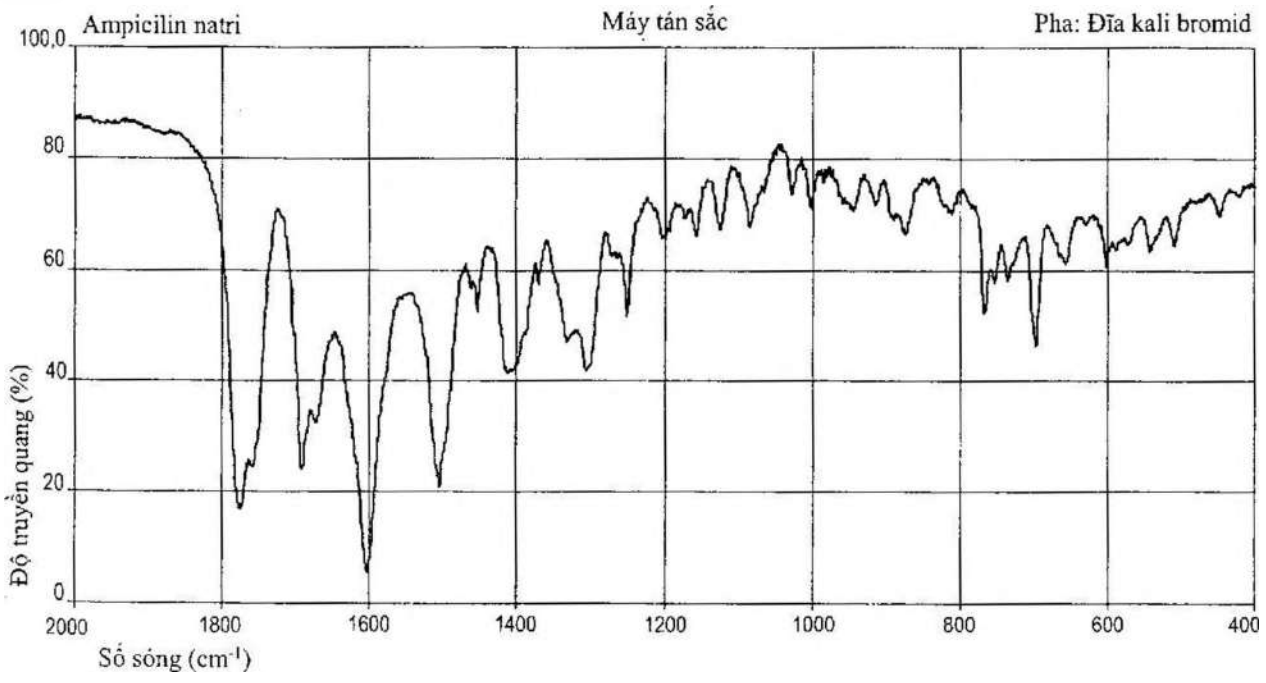
Amoxicilin natri



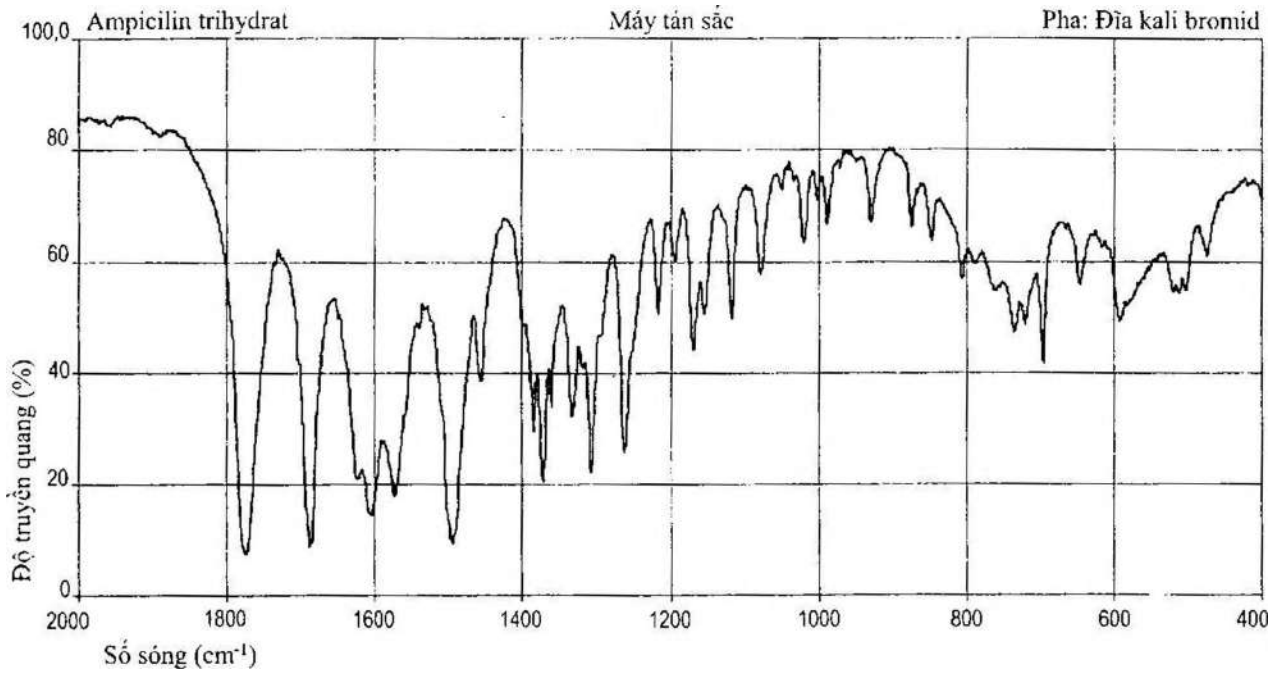
Amoxicilin trihydrat



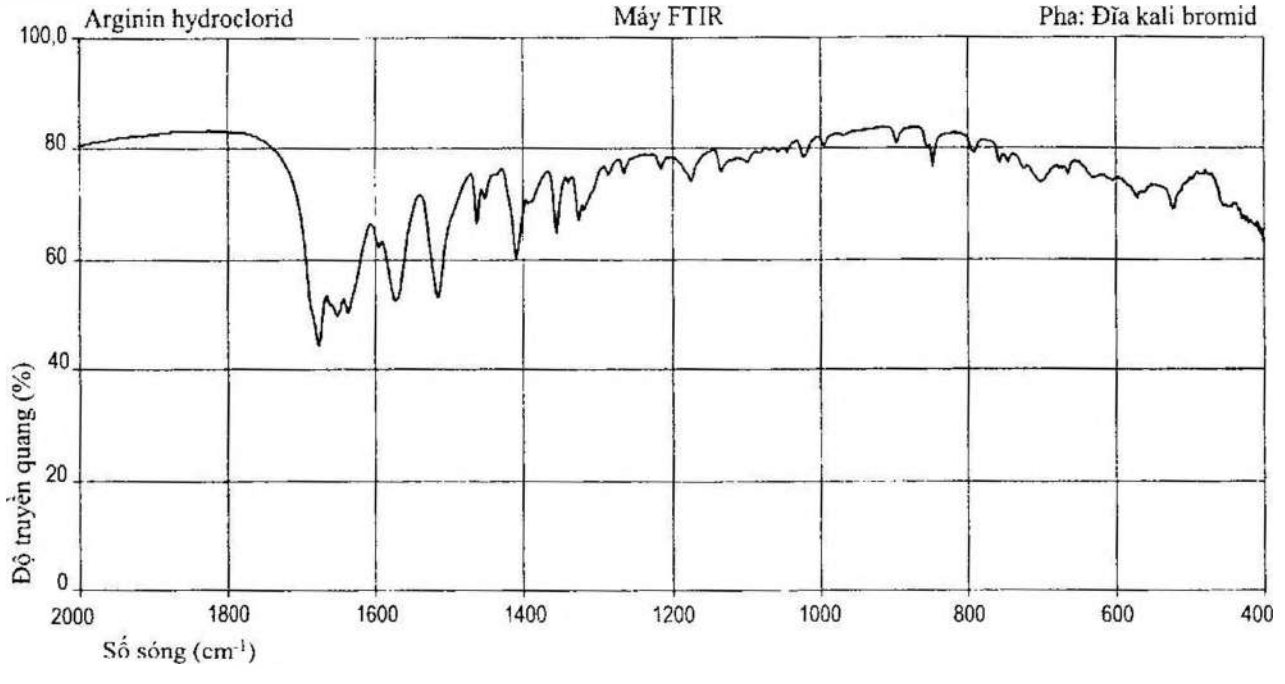
Ampicilin natri



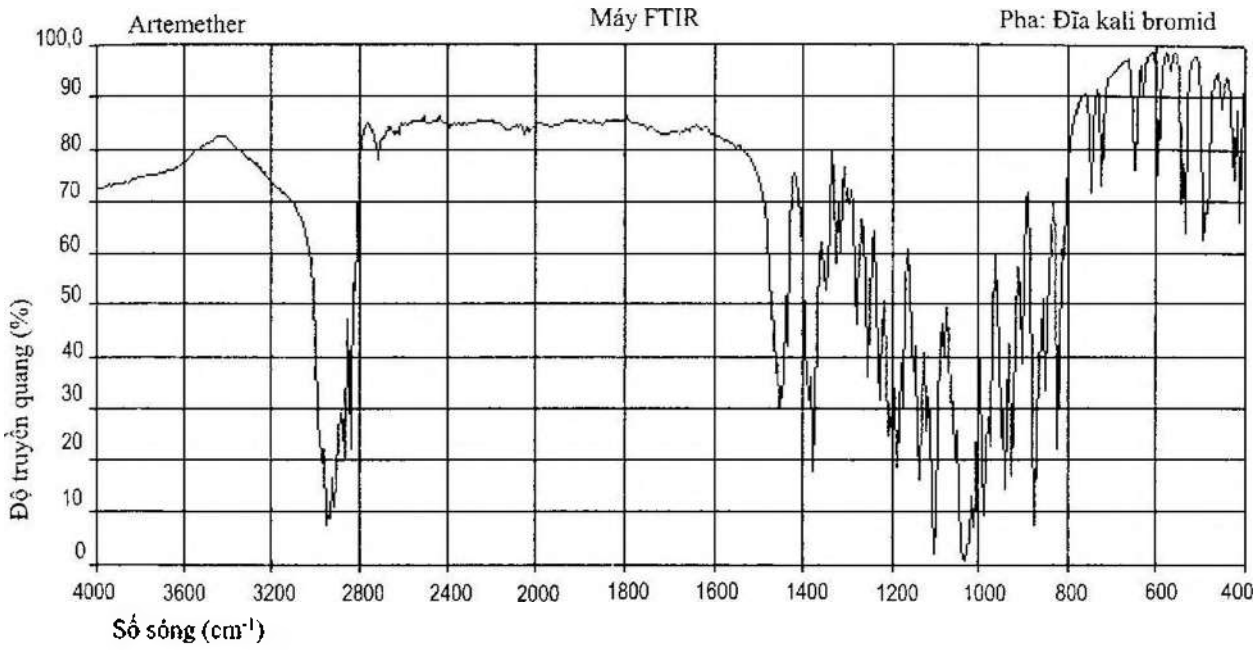
Ampicilin trihydrat



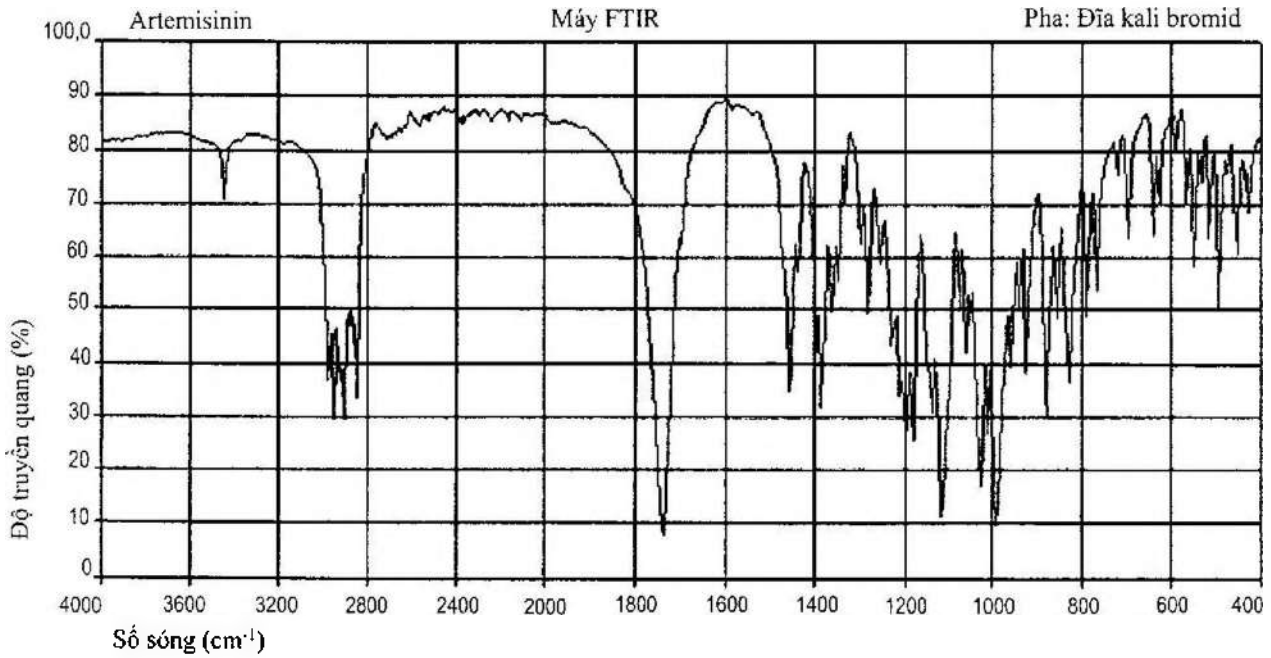
Arginin hydroclorid



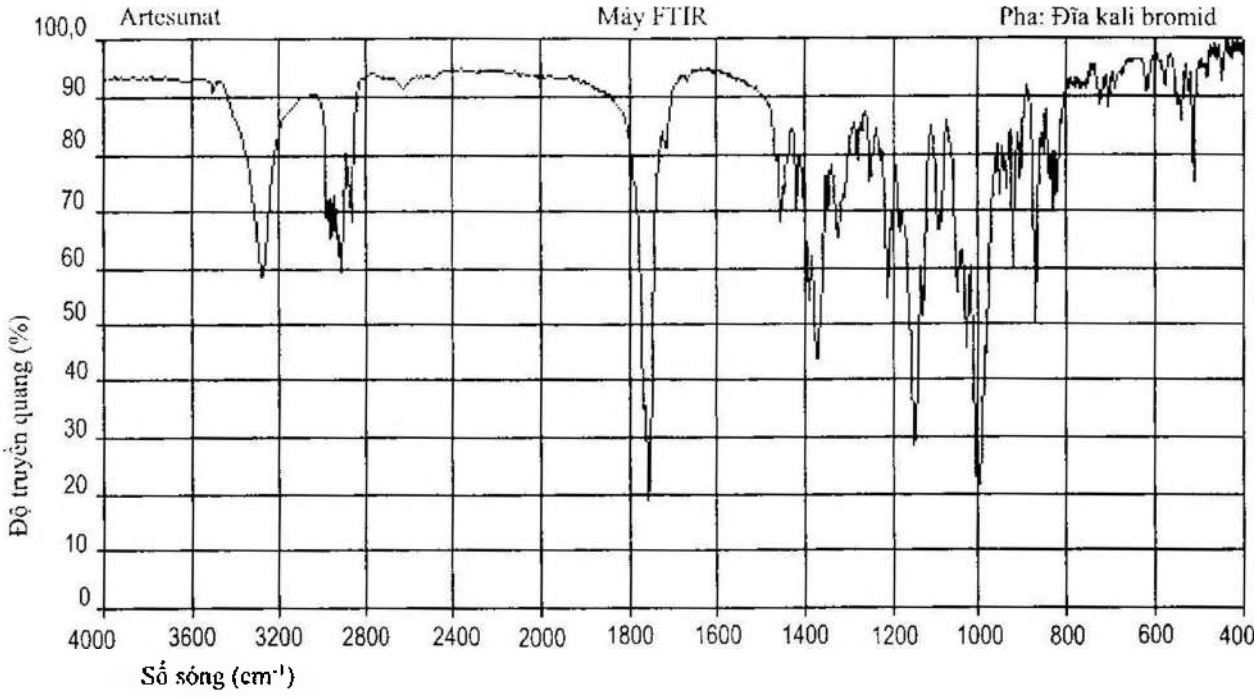
Artemether



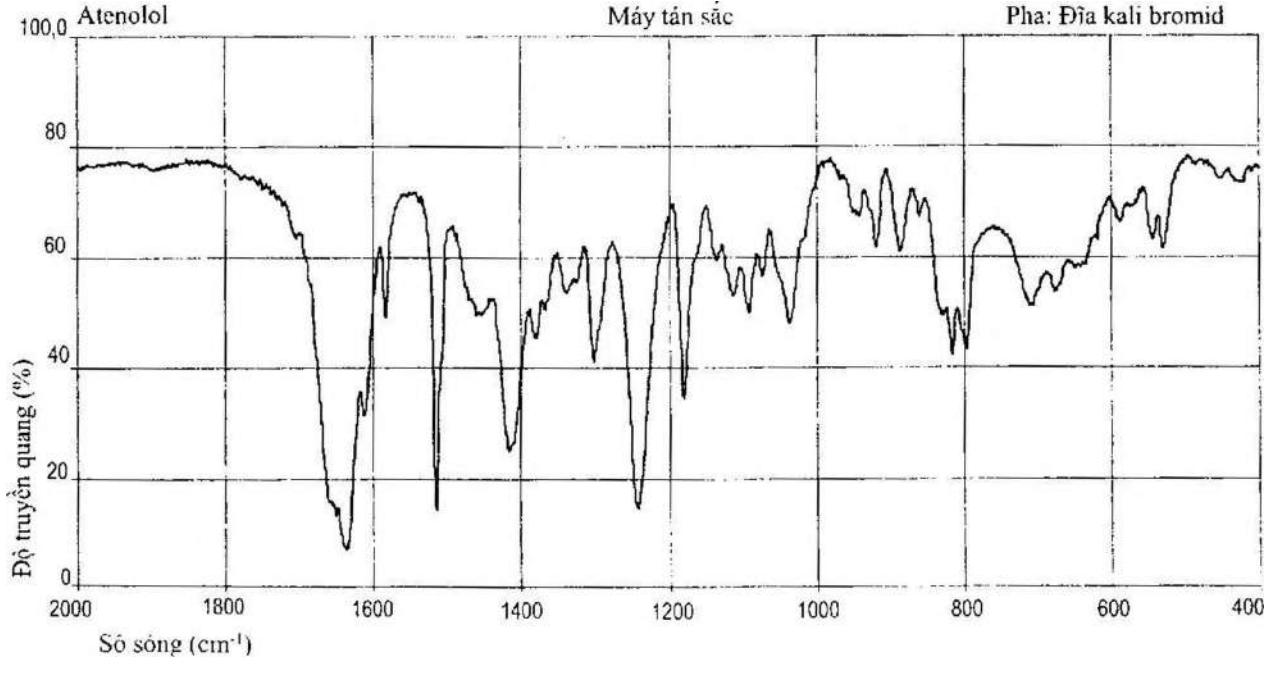
Artemisinin



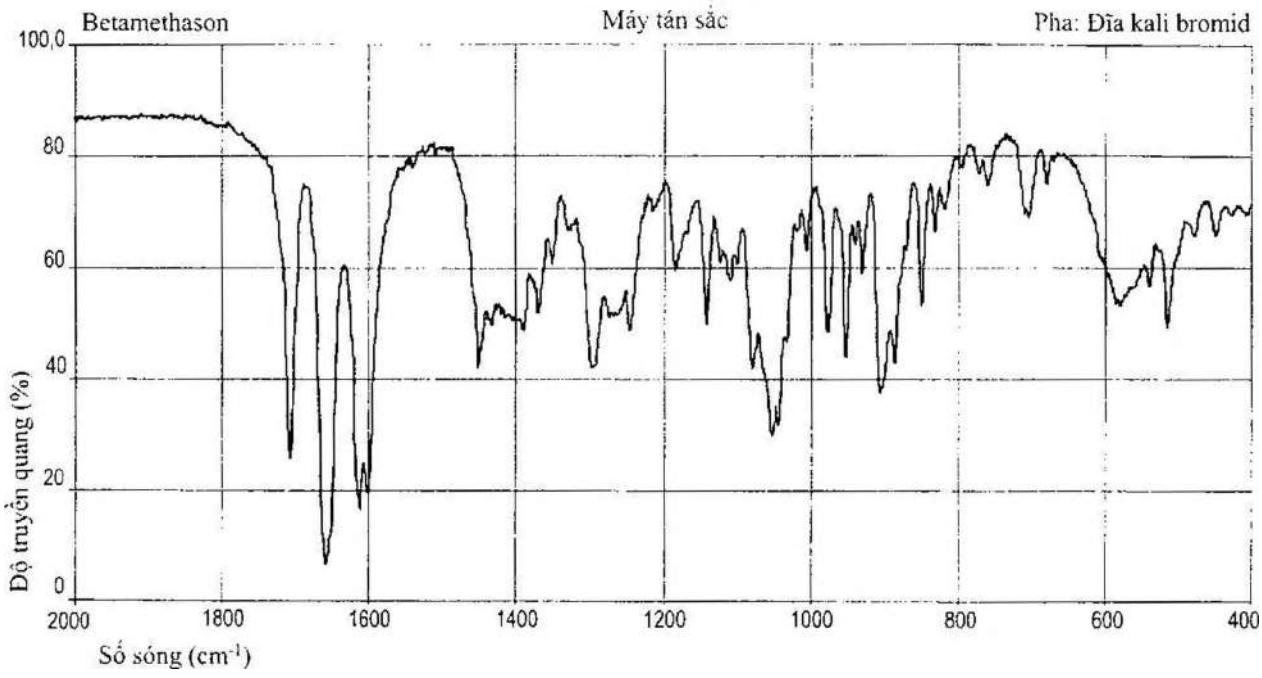
Artesunat



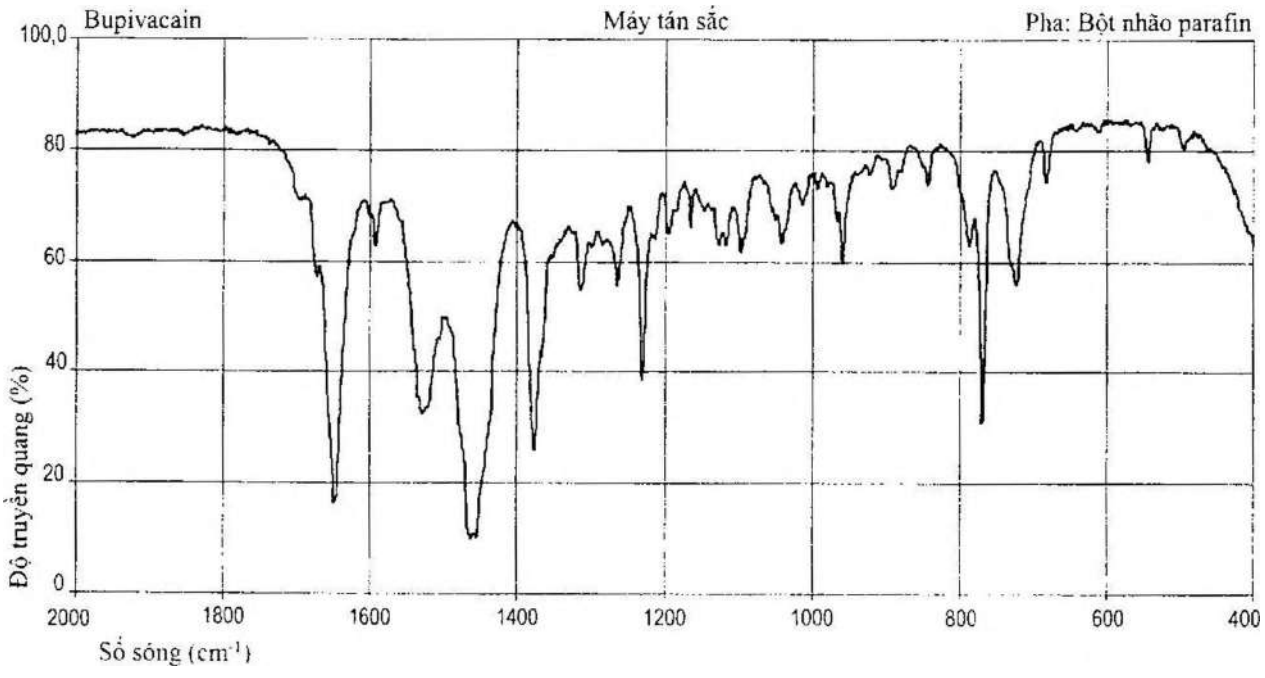
Atenolol



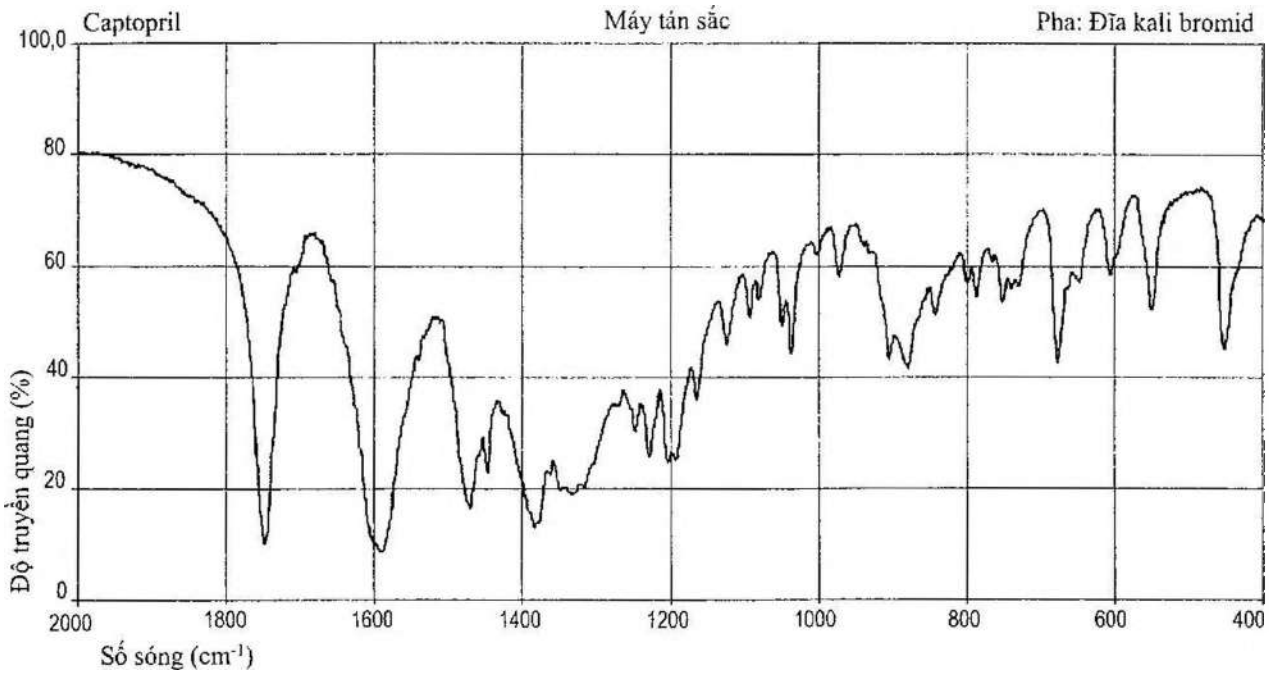
Betamethason



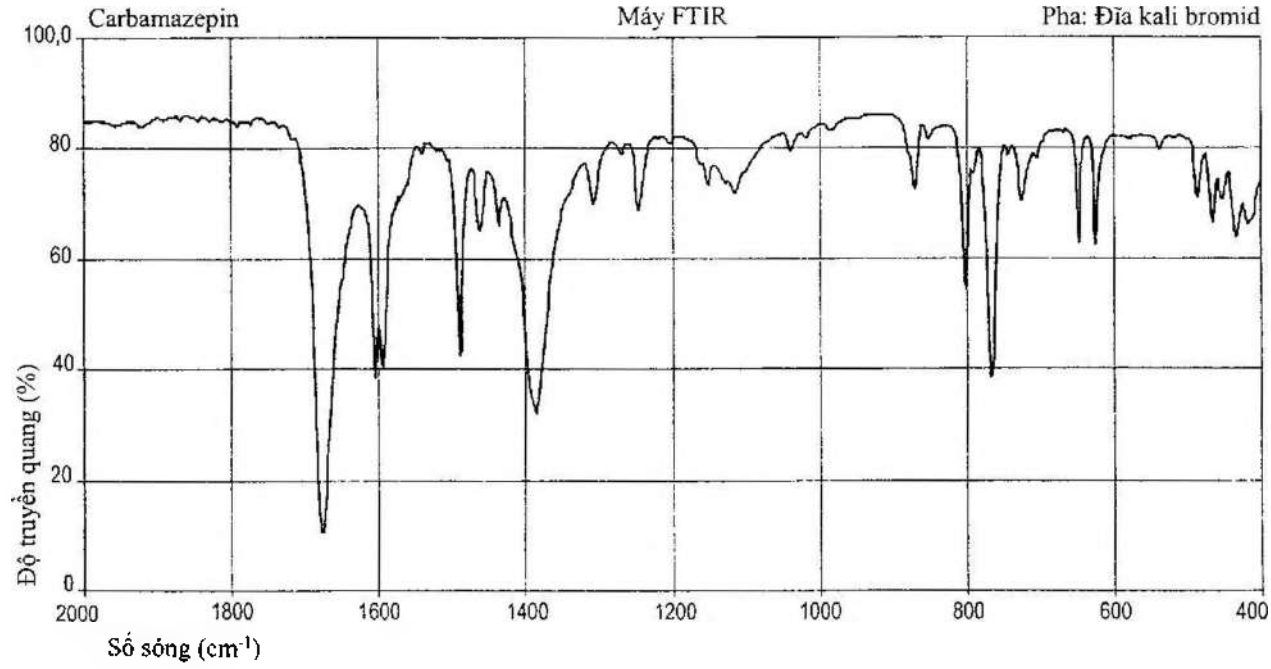
Bupivacain



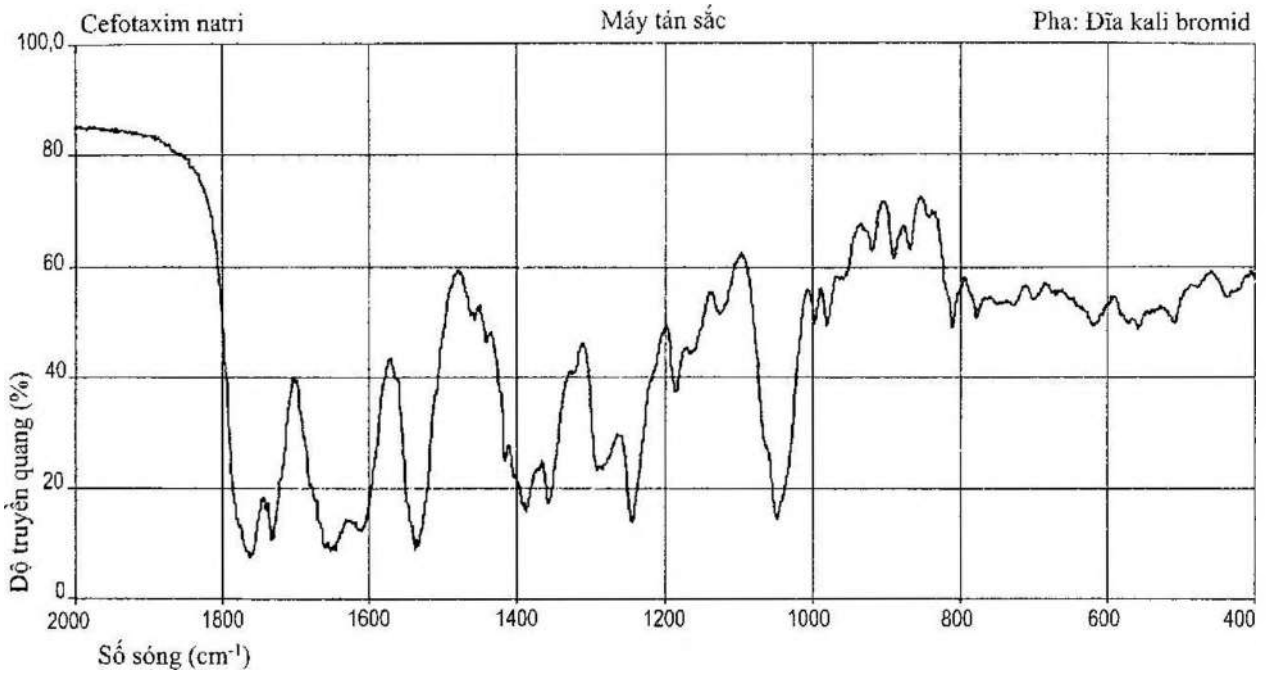
Captopril



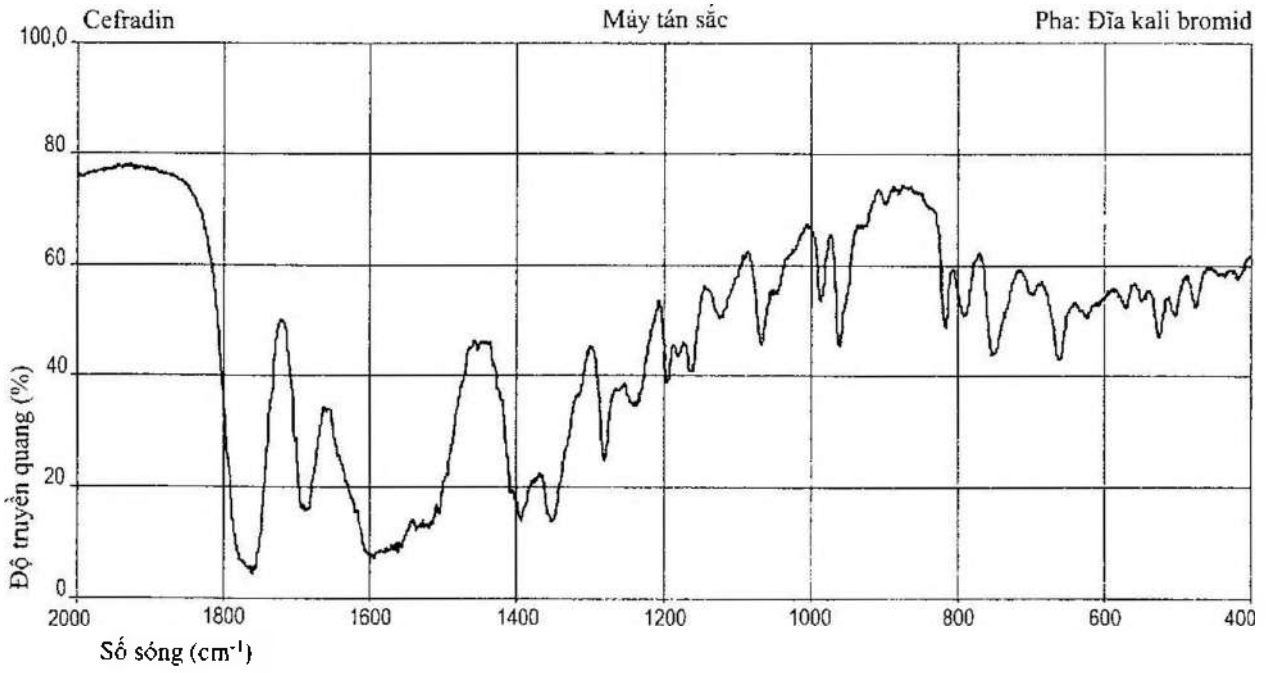
Carbamazepin



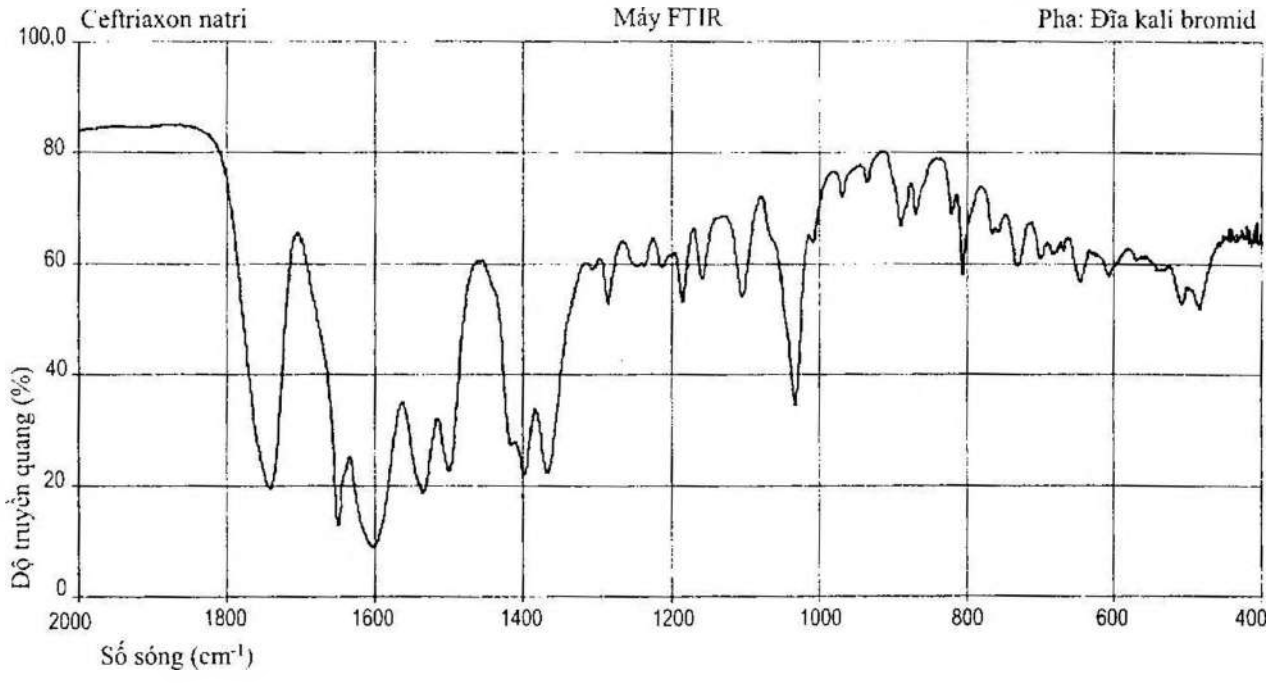
Cefotaxim natri



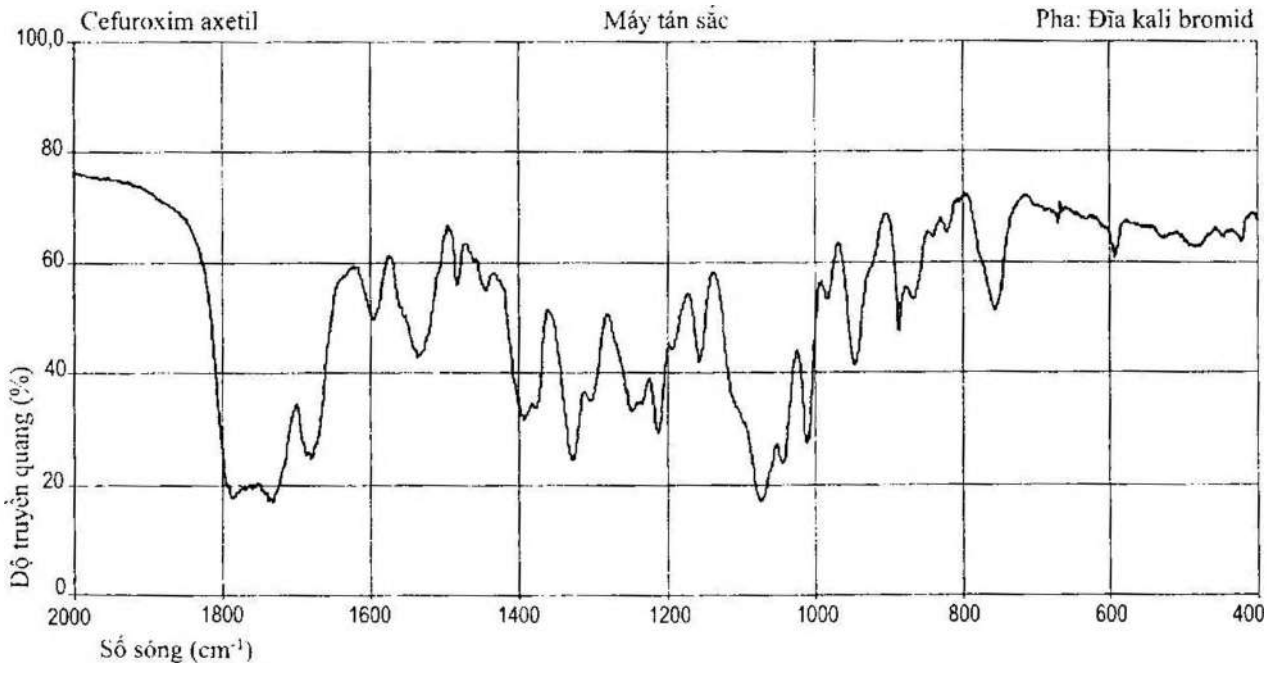
Cefradin



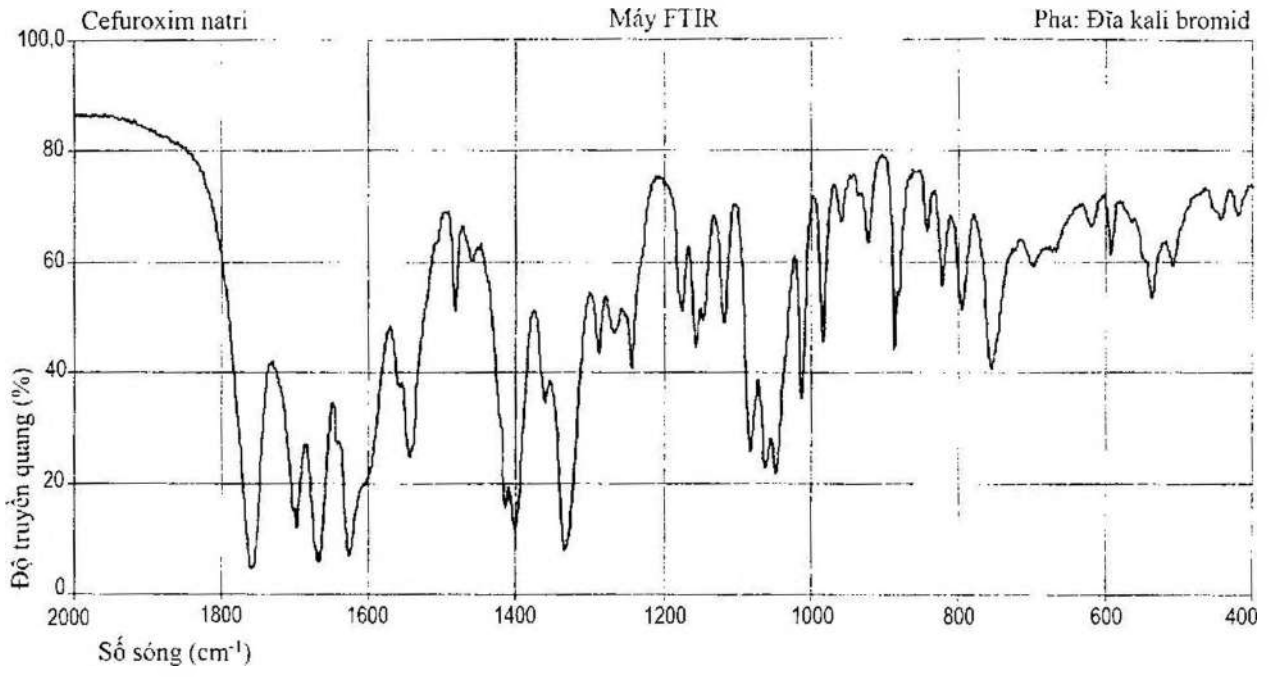
Ceftriaxon natri



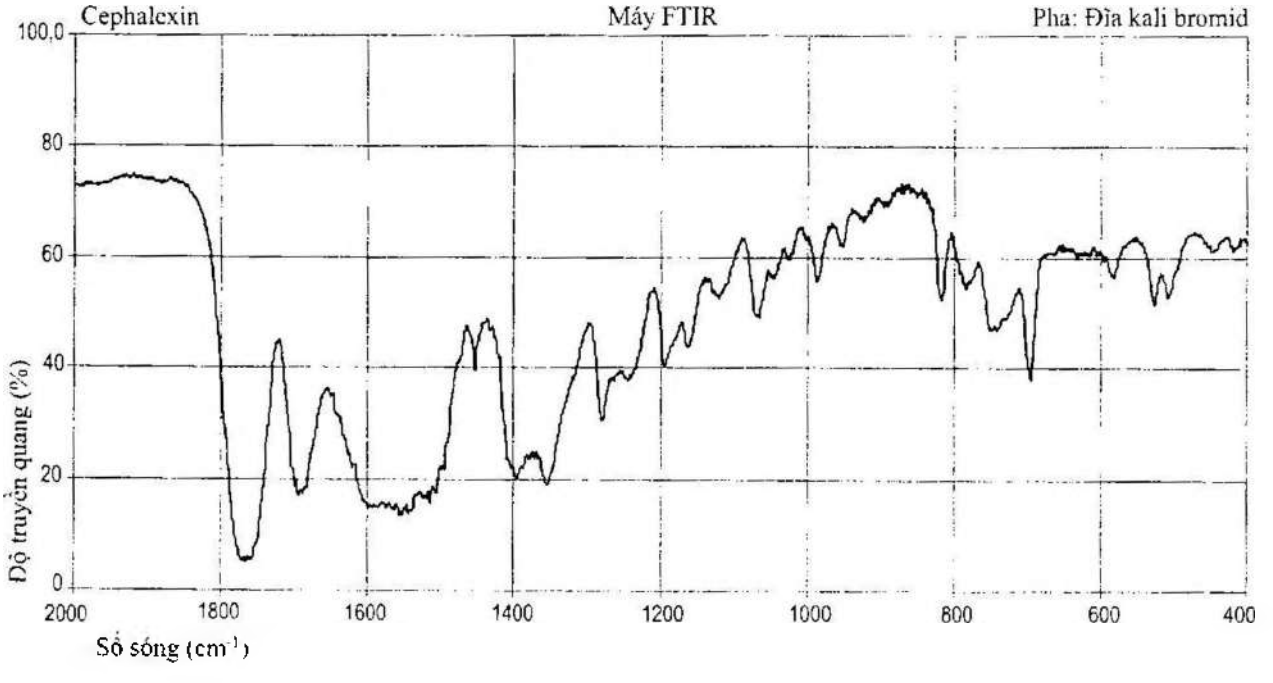
Cefuroxim axetil



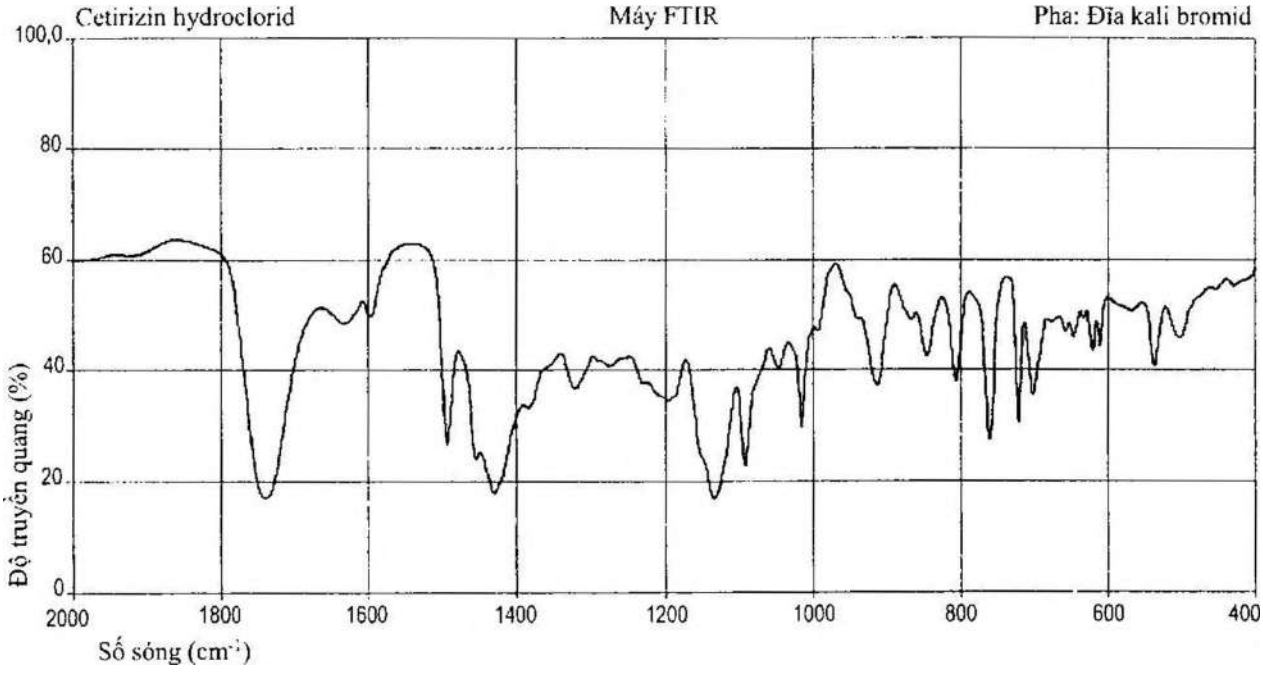
Cefuroxim natri



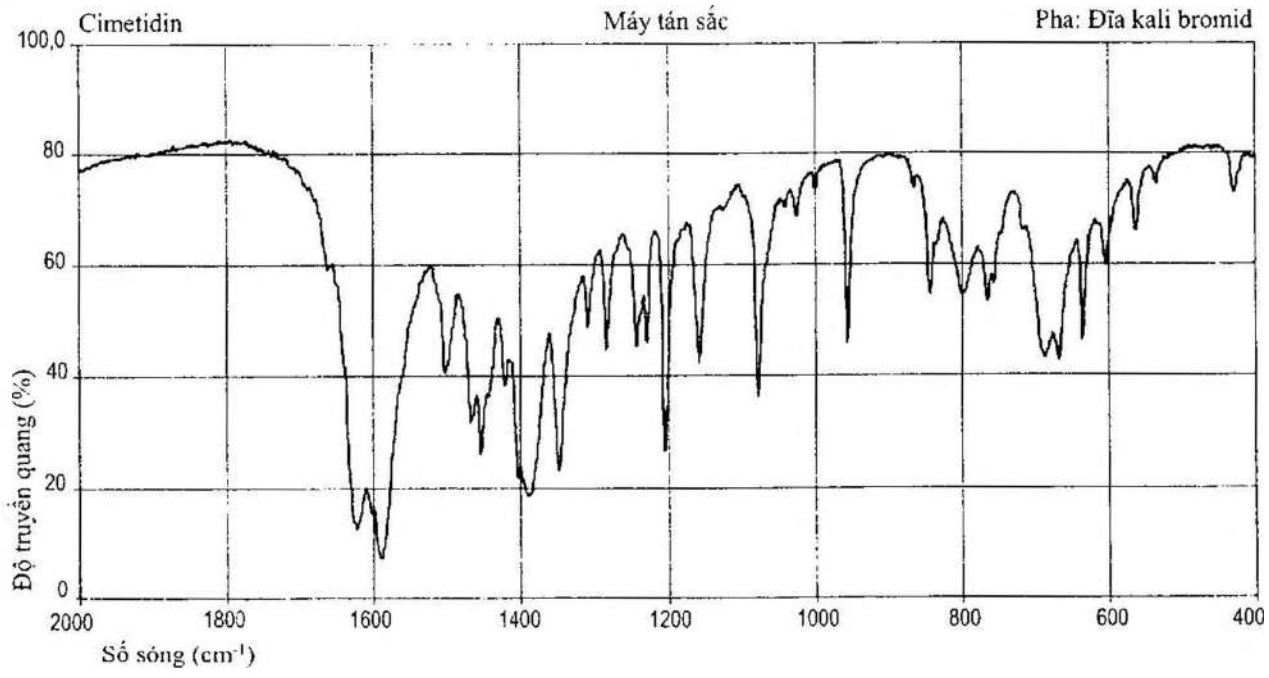
Cephalexin



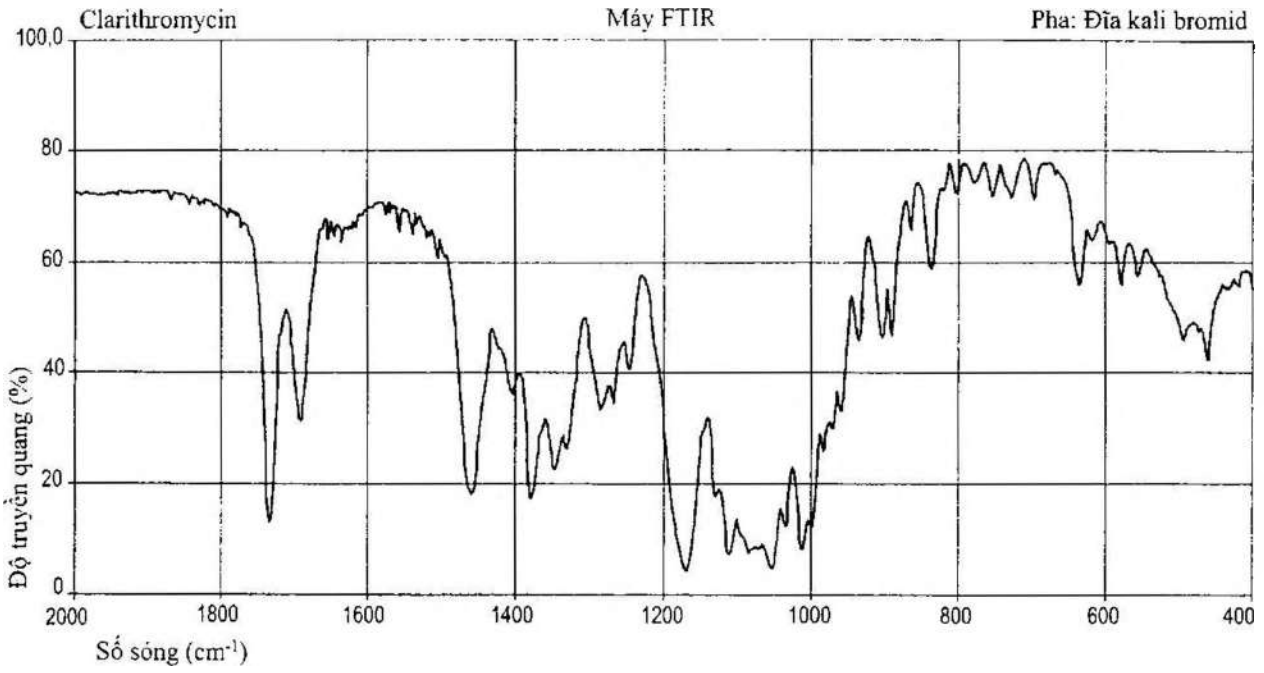
Cetirizin hydroclorid



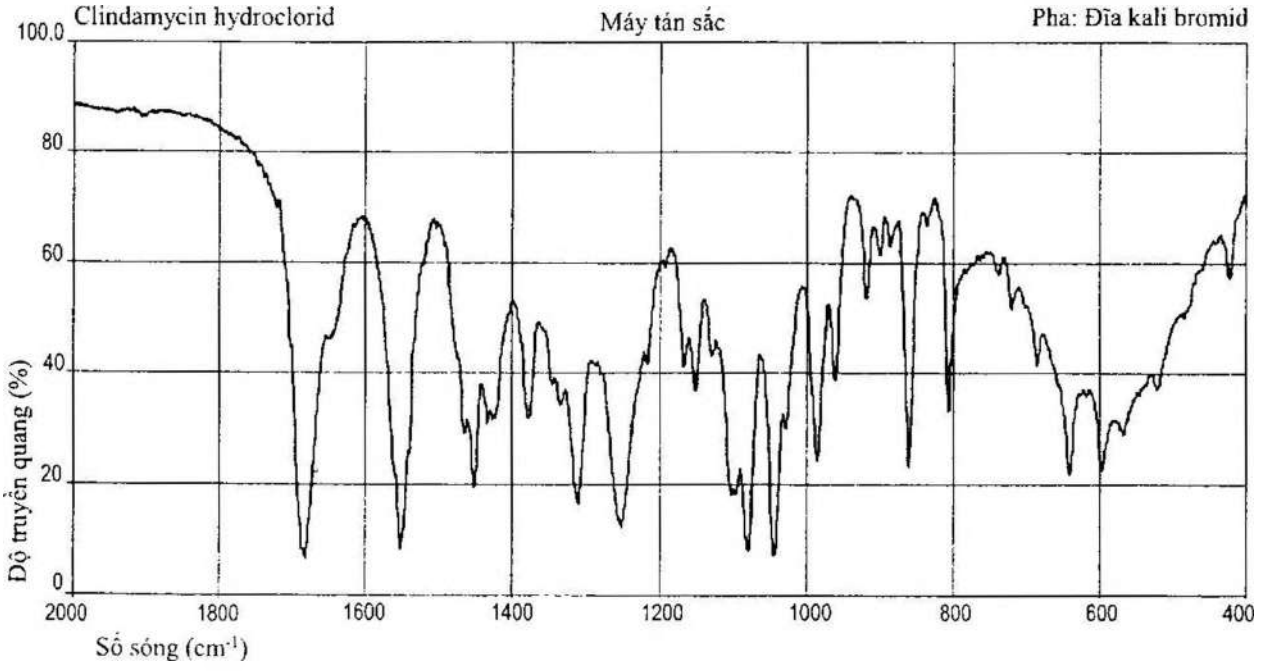
Cimetidin



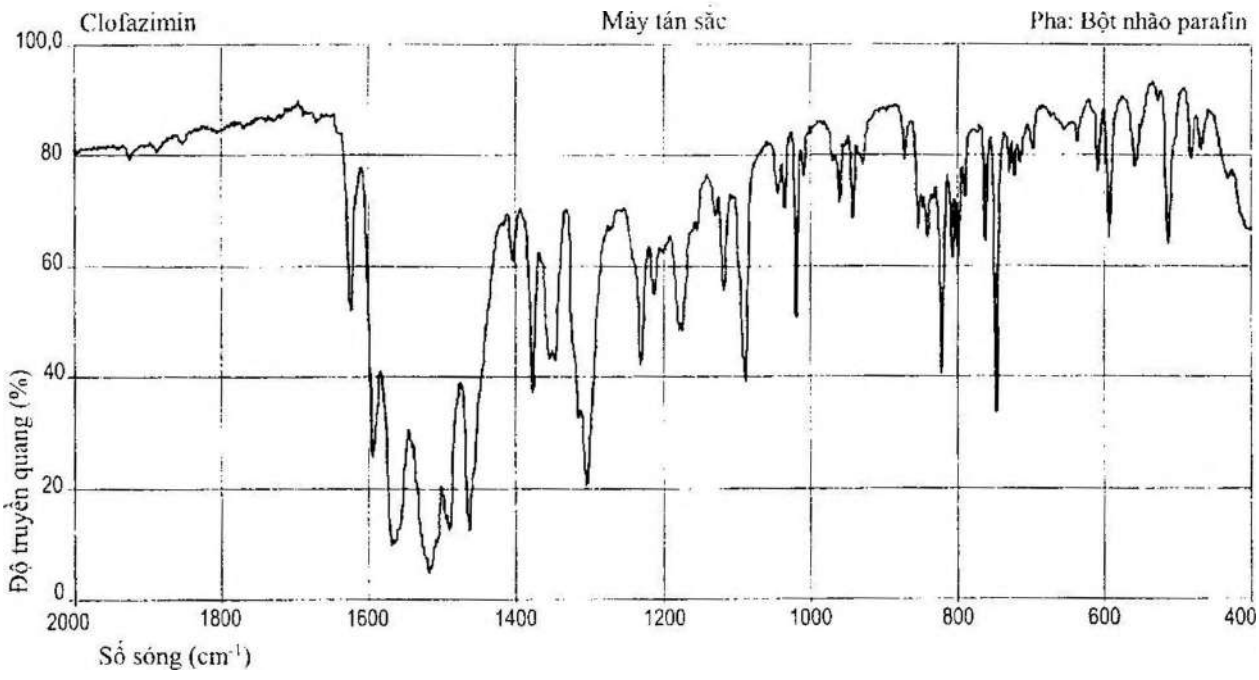
Clarithromycin



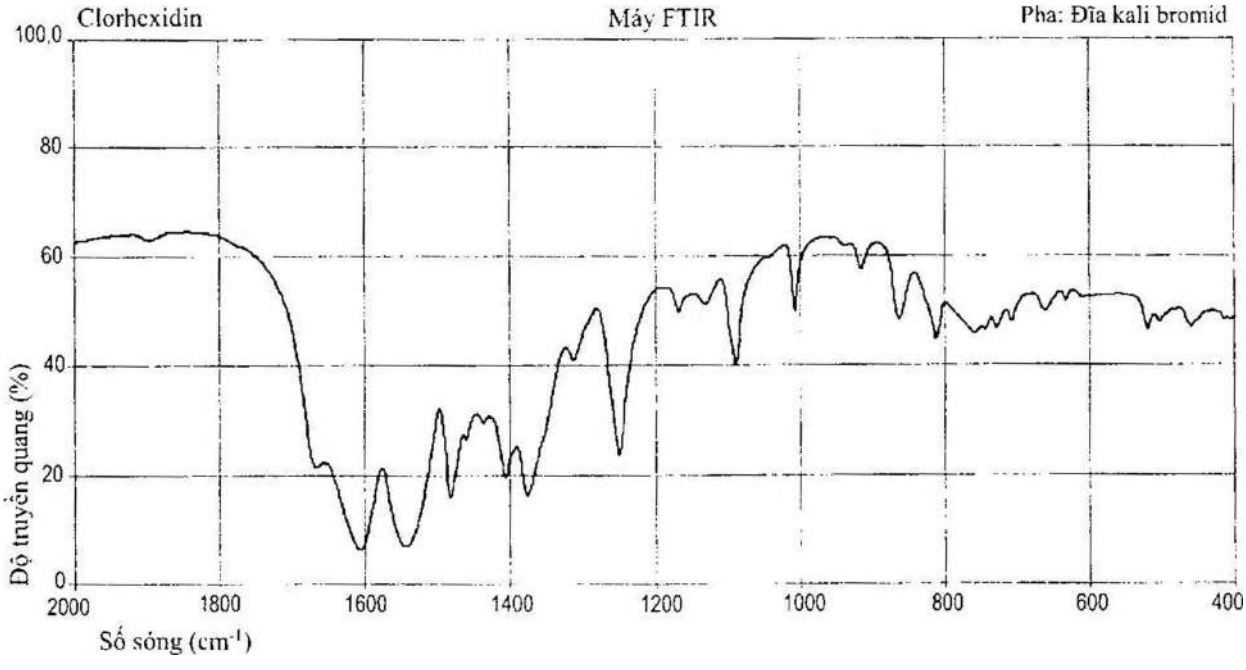
Clindamycin hydroclorid



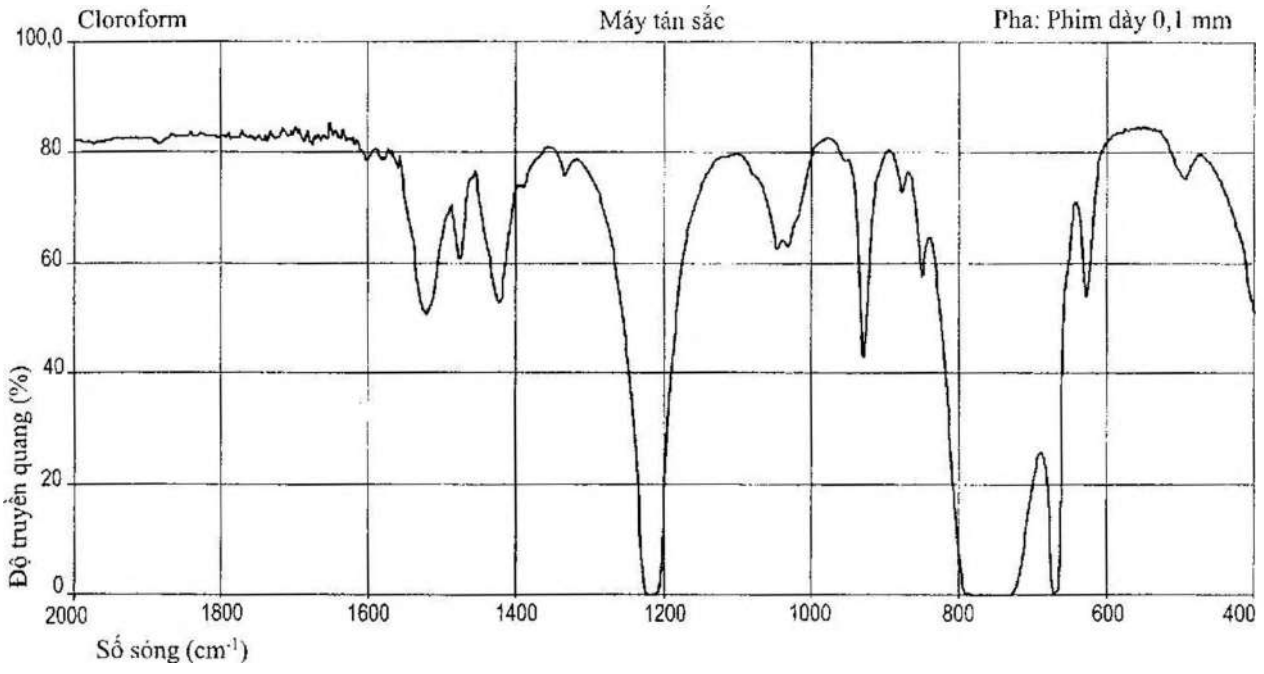
Clofazimin



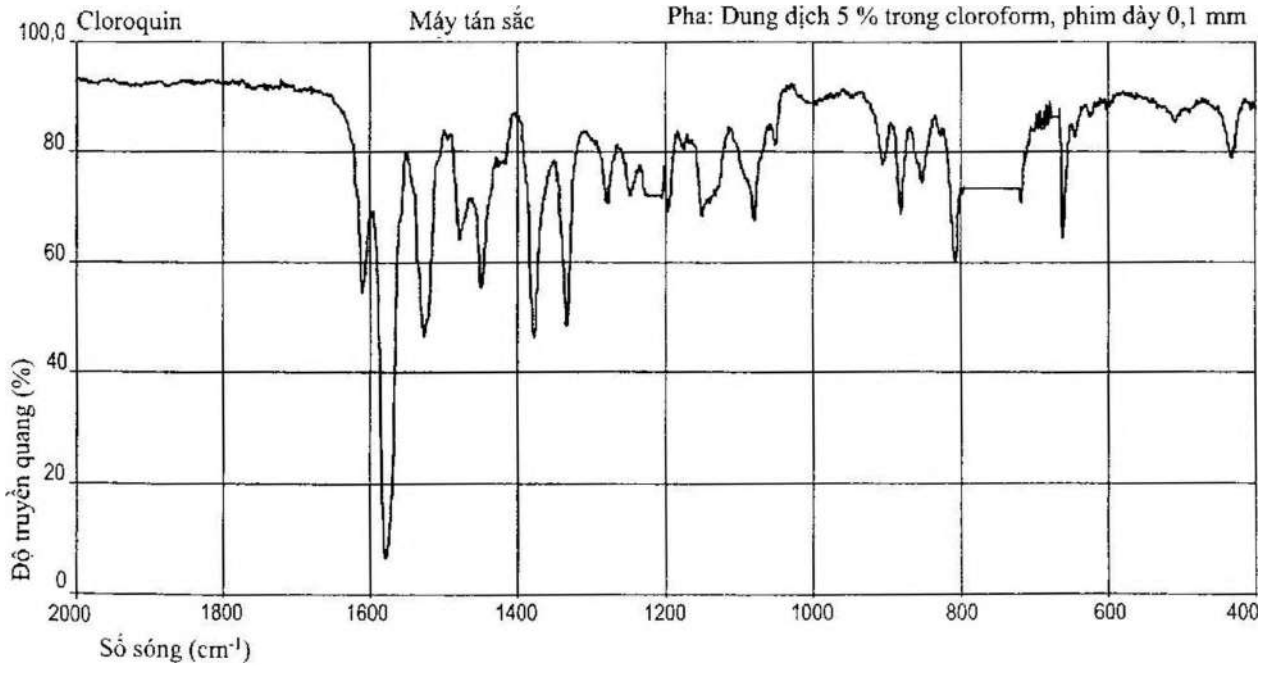
Clorhexidin



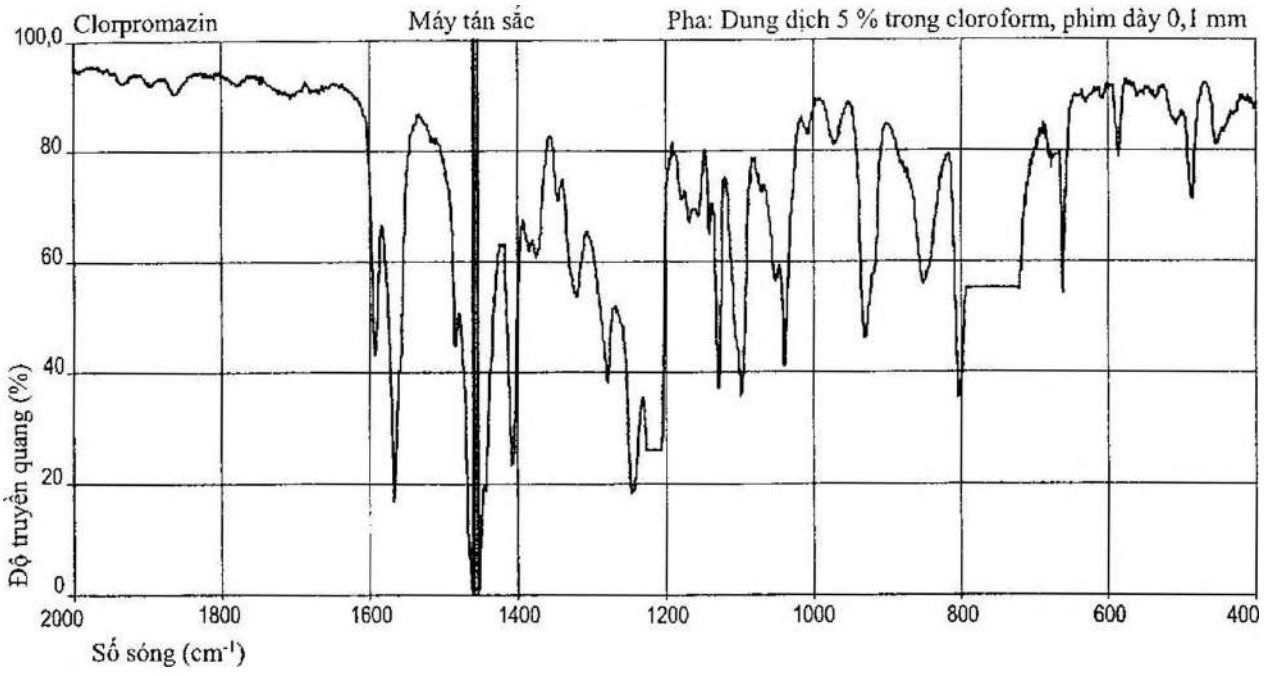
Cloroform



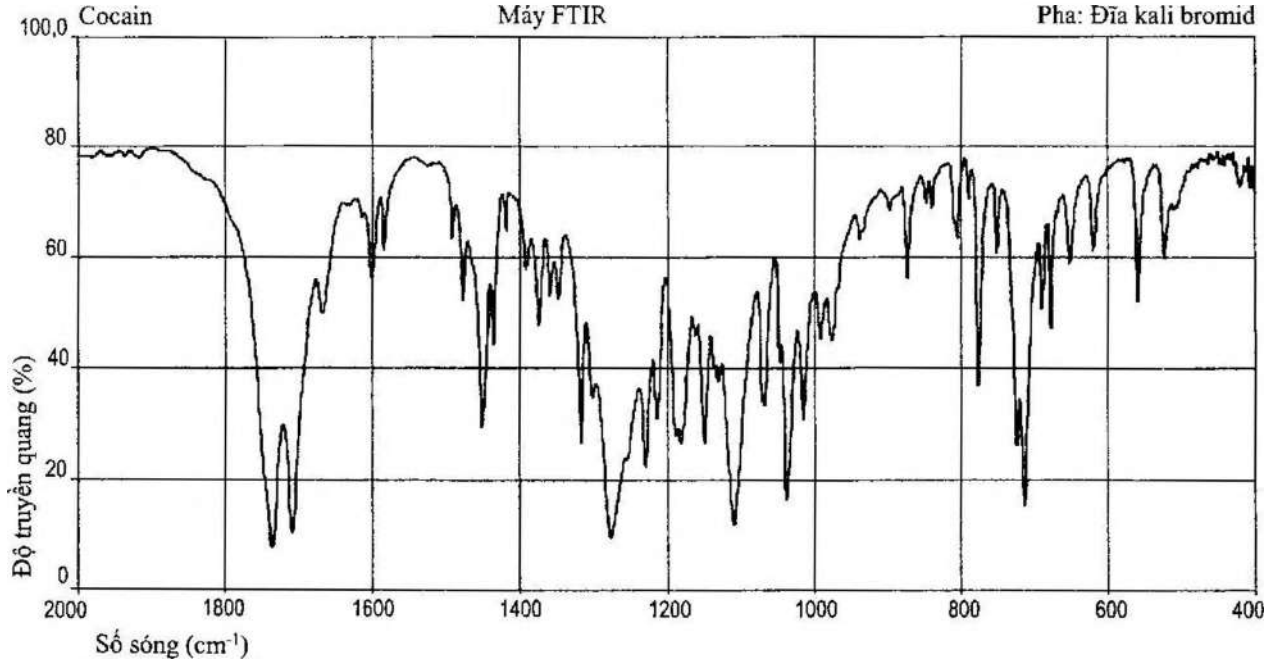
Cloroquin



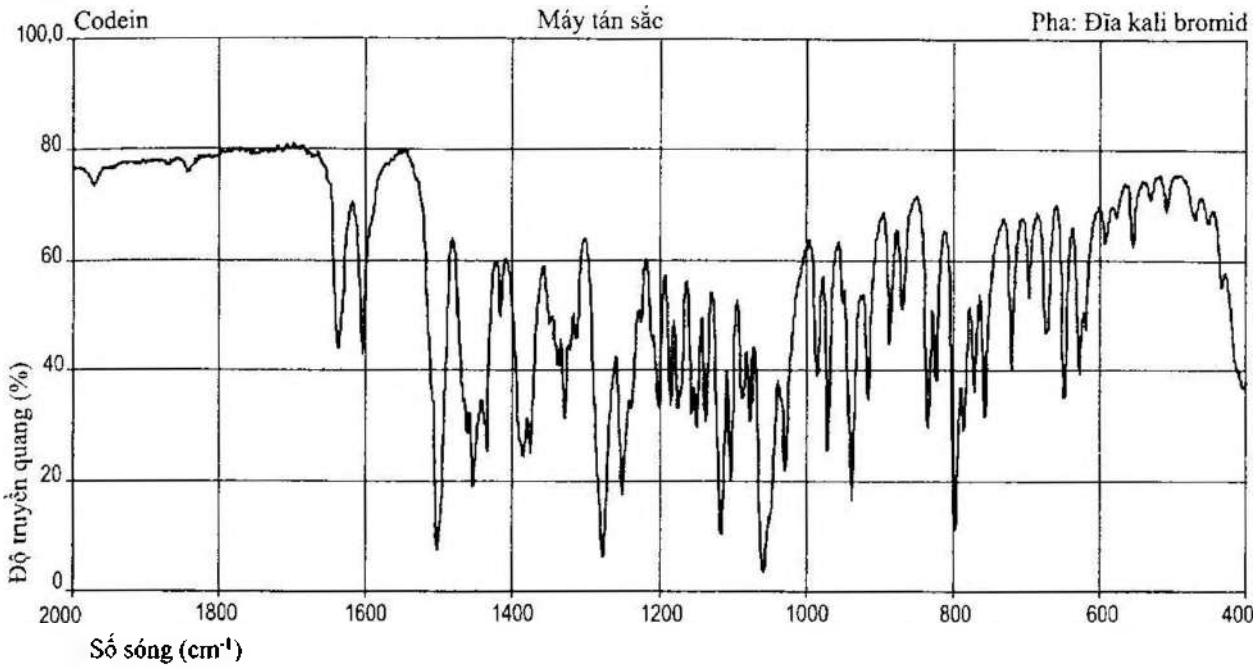
Clorpromazin



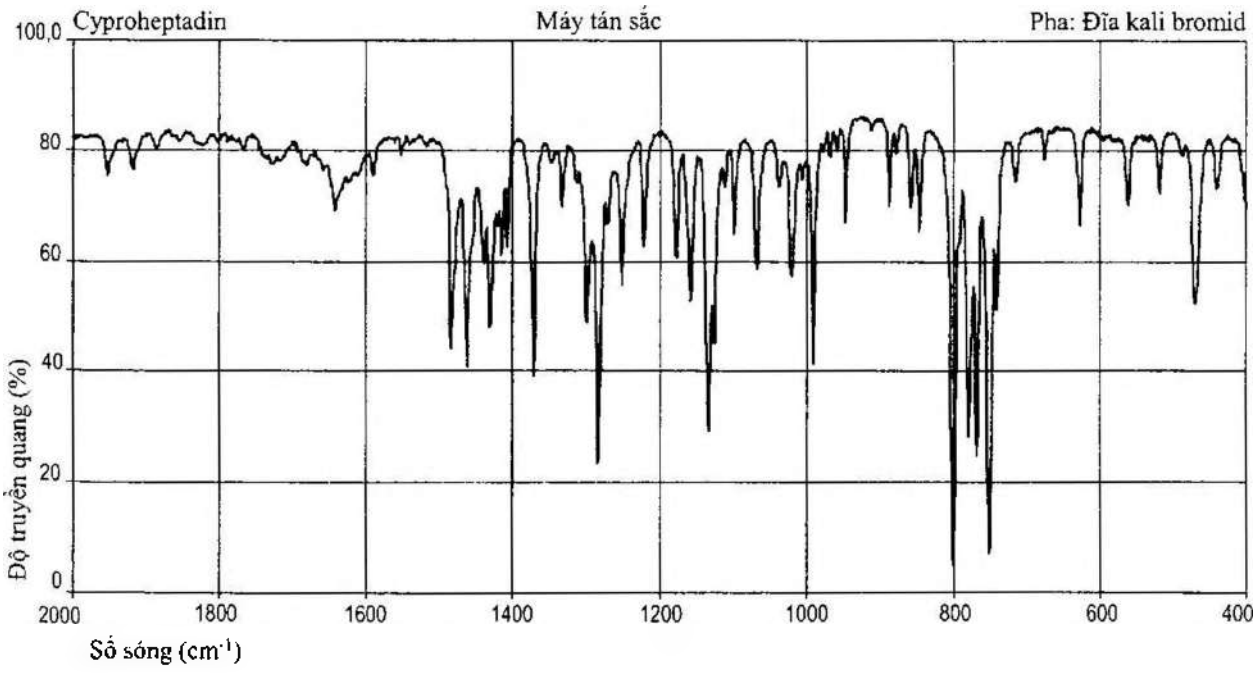
Cocain



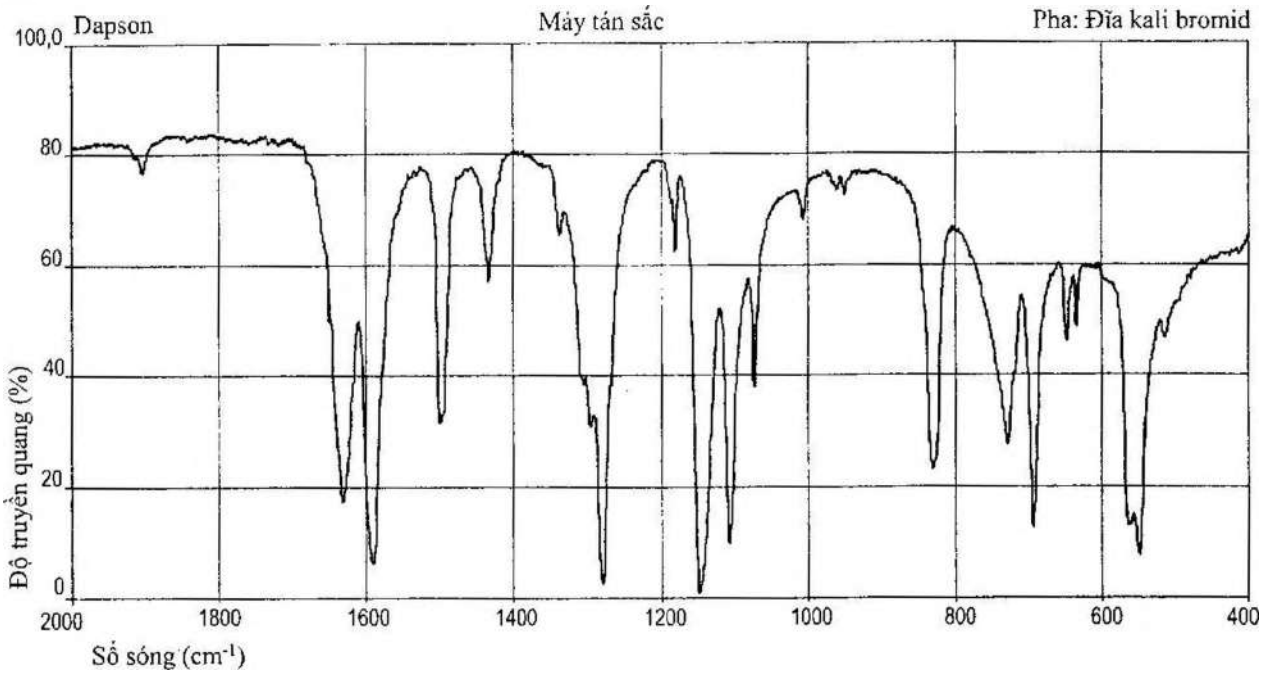
Codein



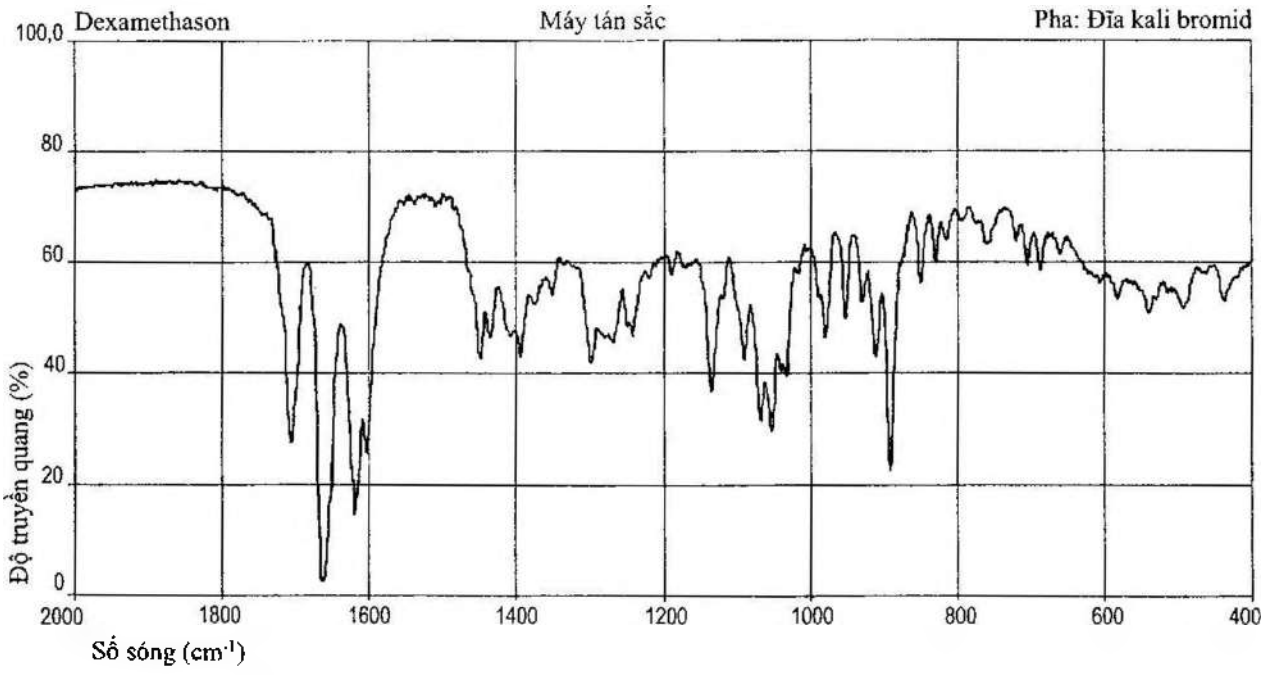
Cyproheptadin



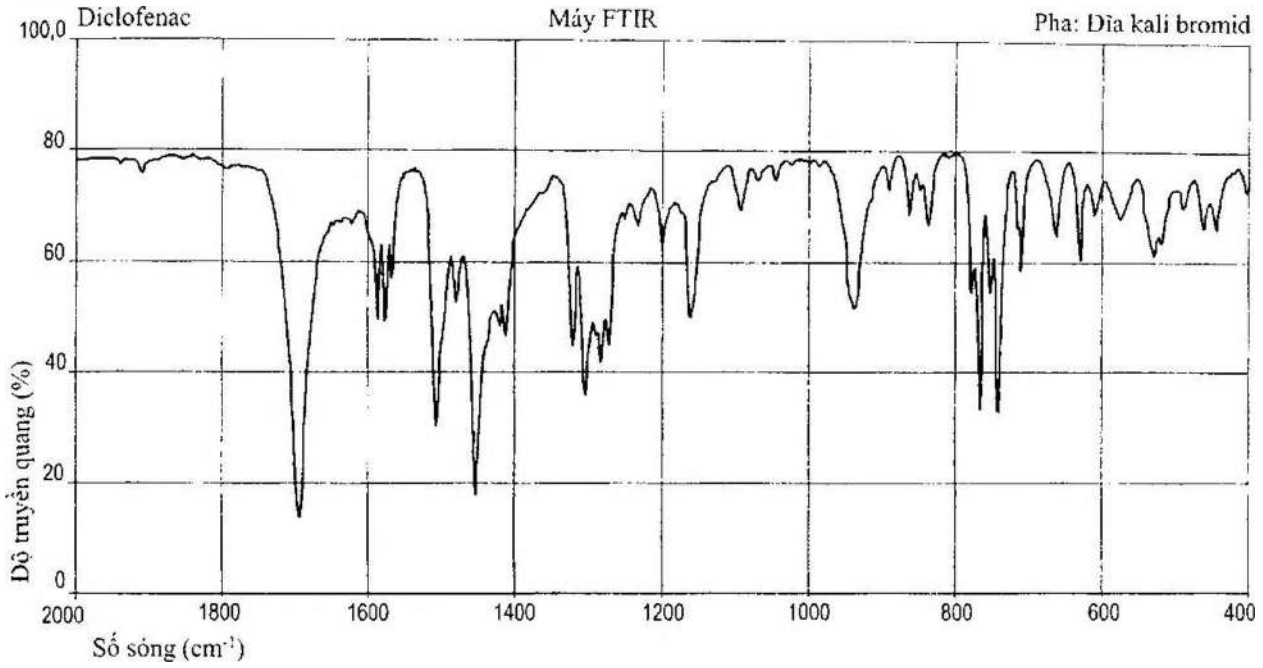
Dapson



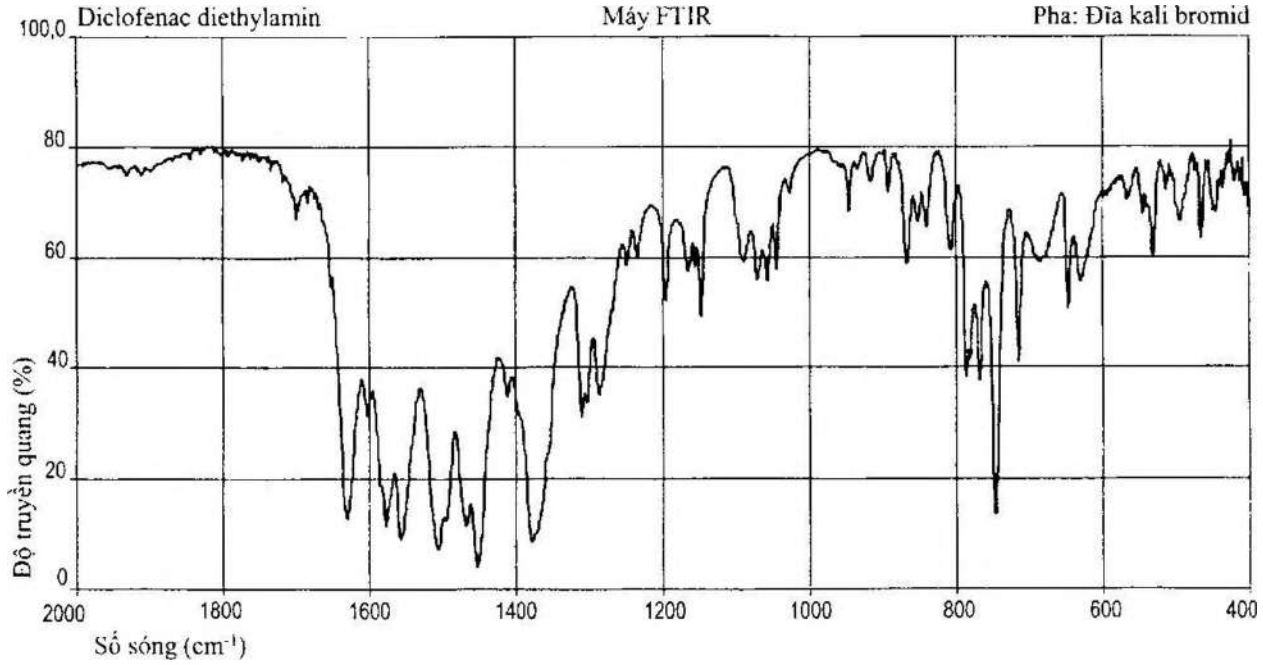
Dexamethason



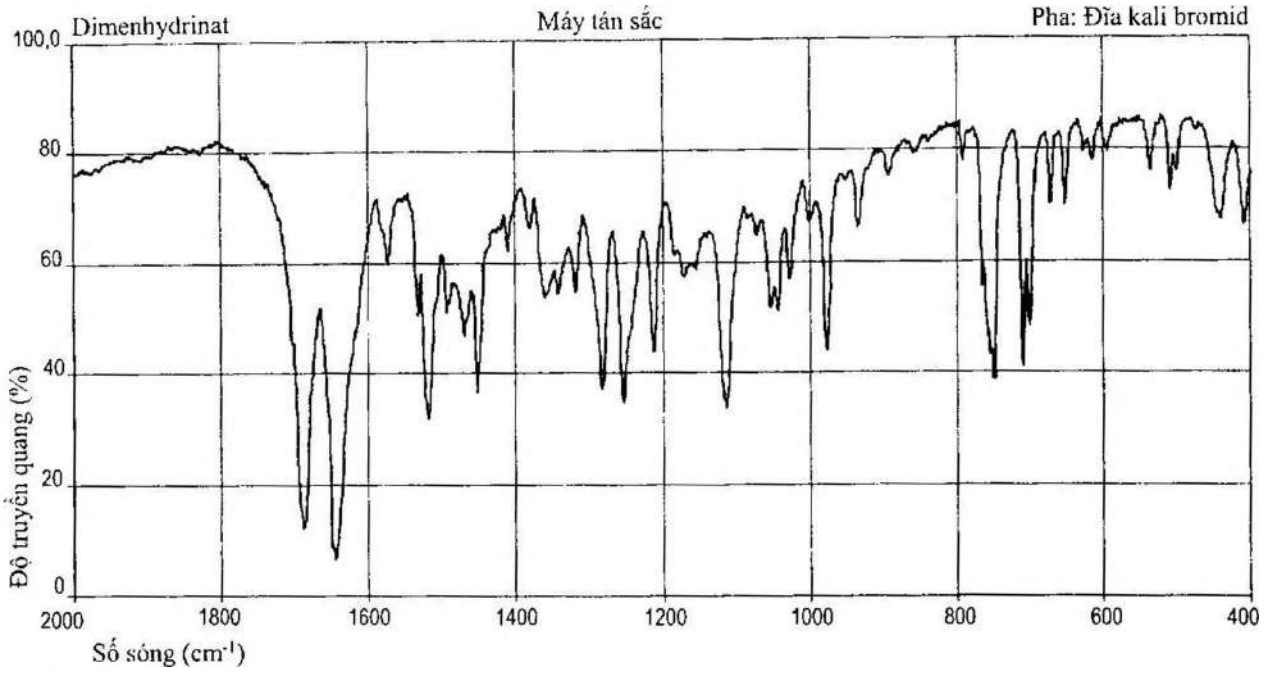
Diclofenac



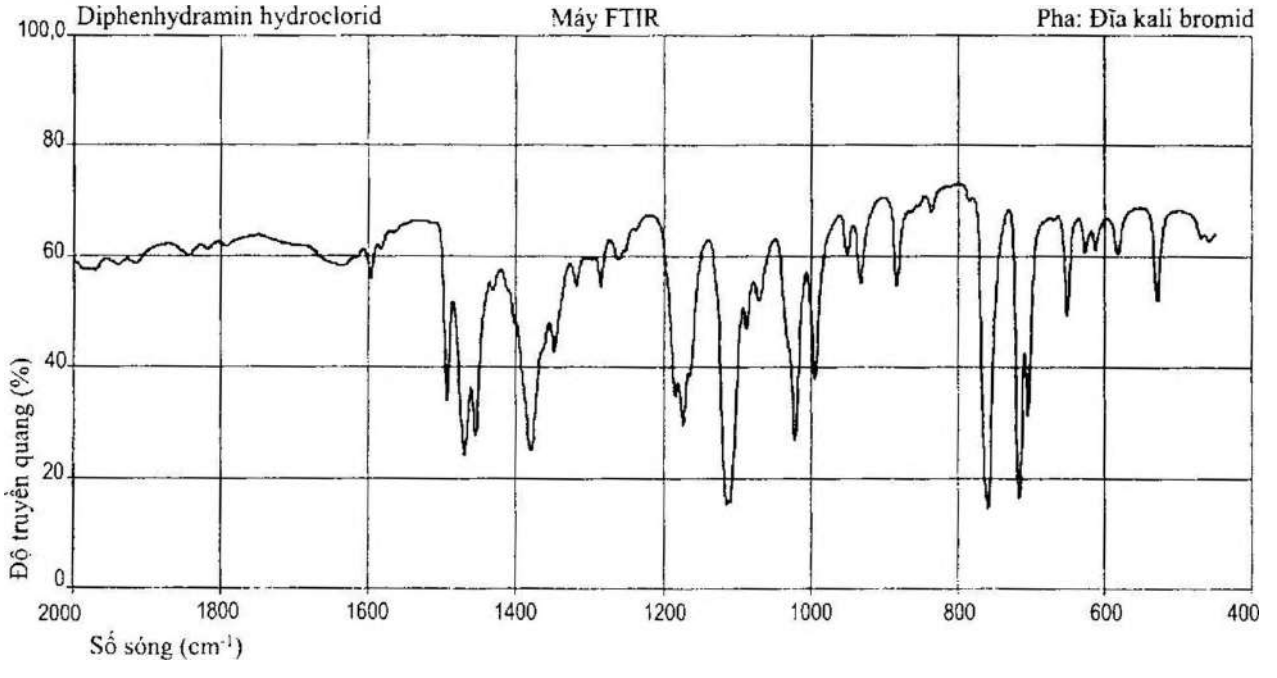
Diclofenac diethylamin



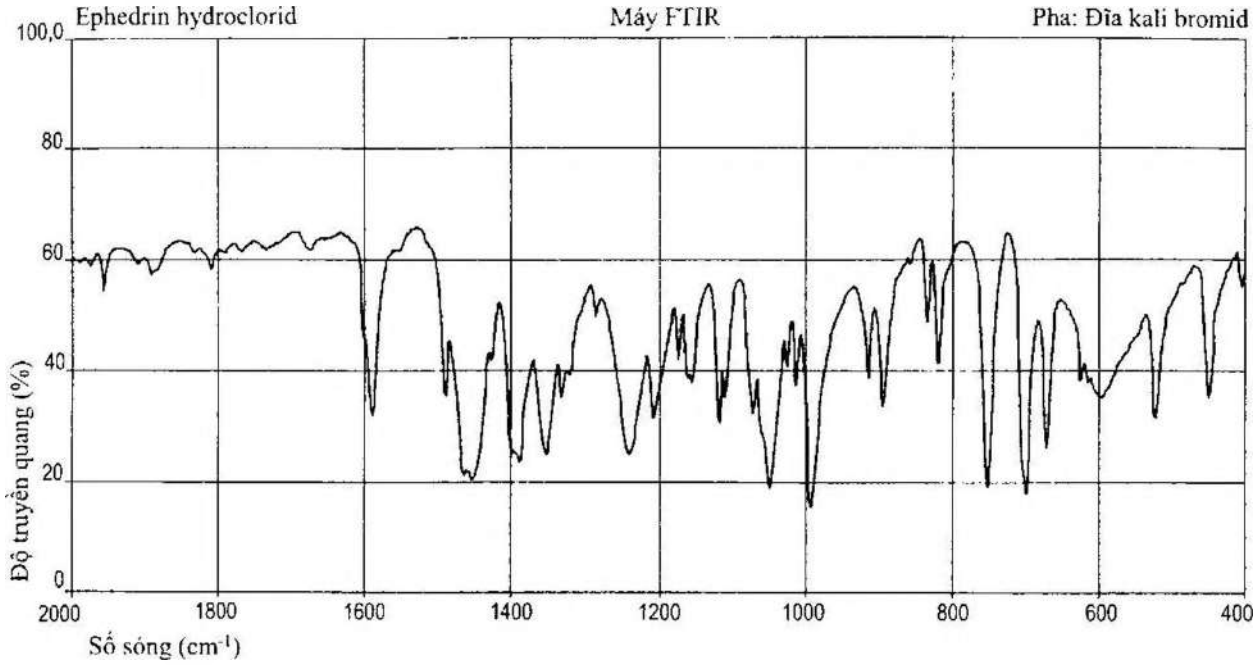
Dimenhydrinat



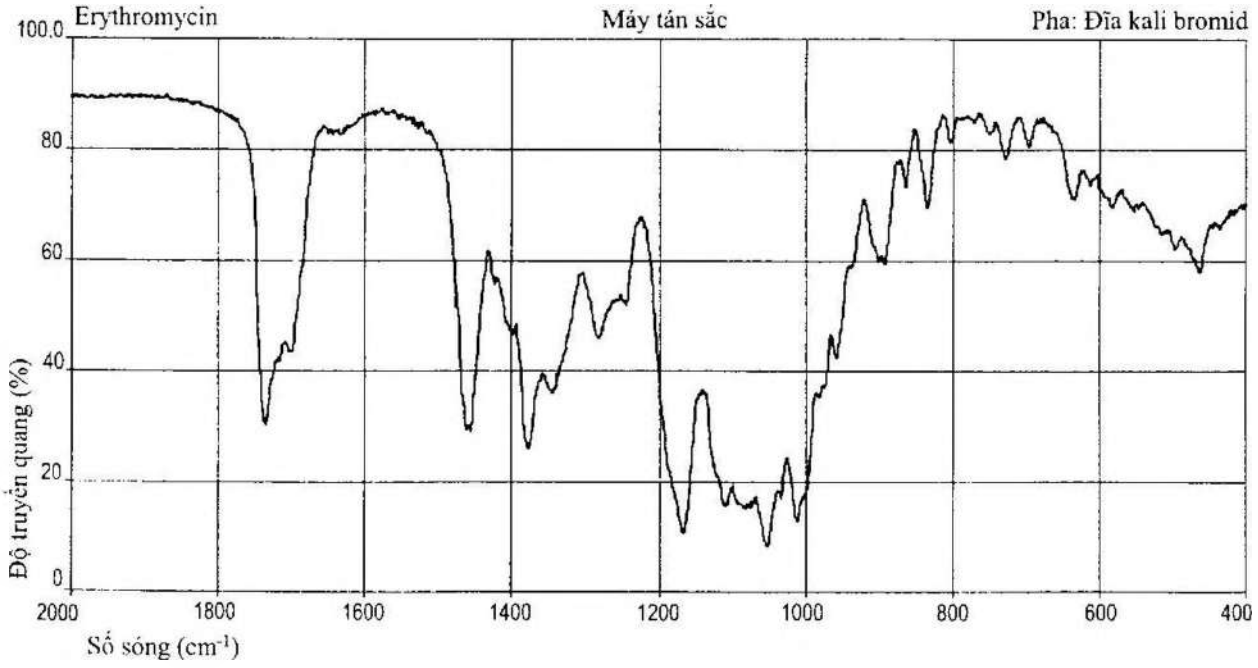
Diphenhydramin hydroclorid



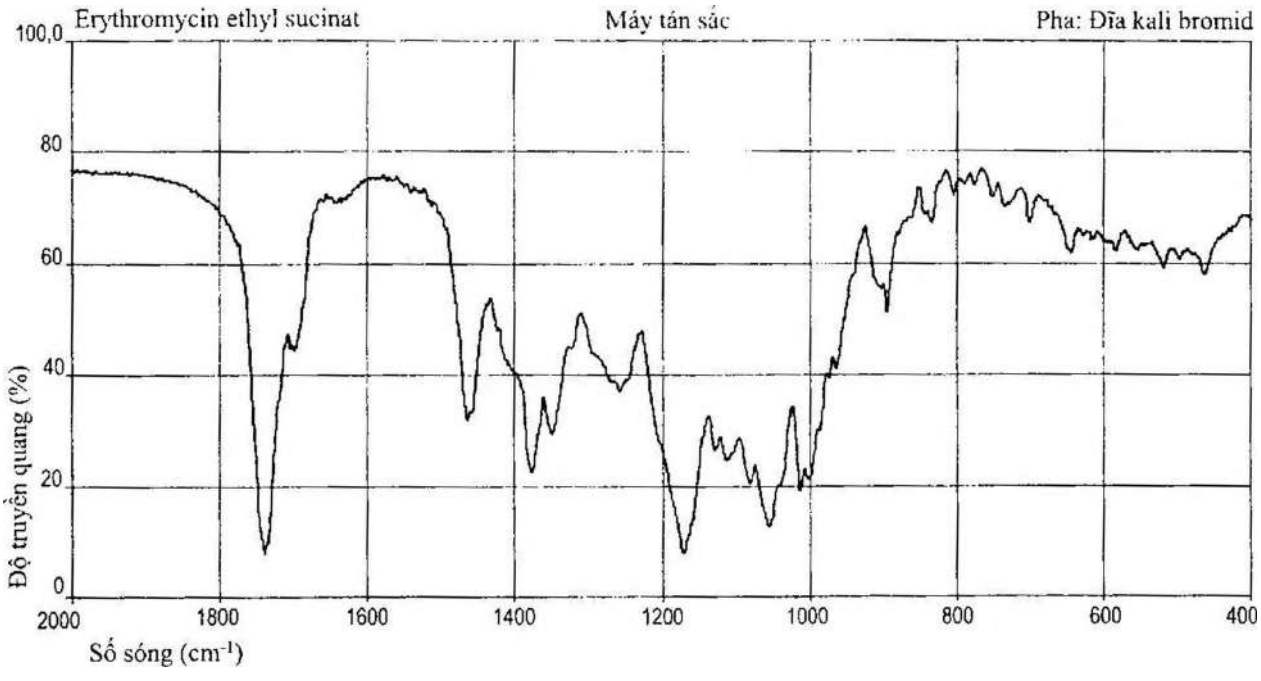
Ephedrin hydroclorid



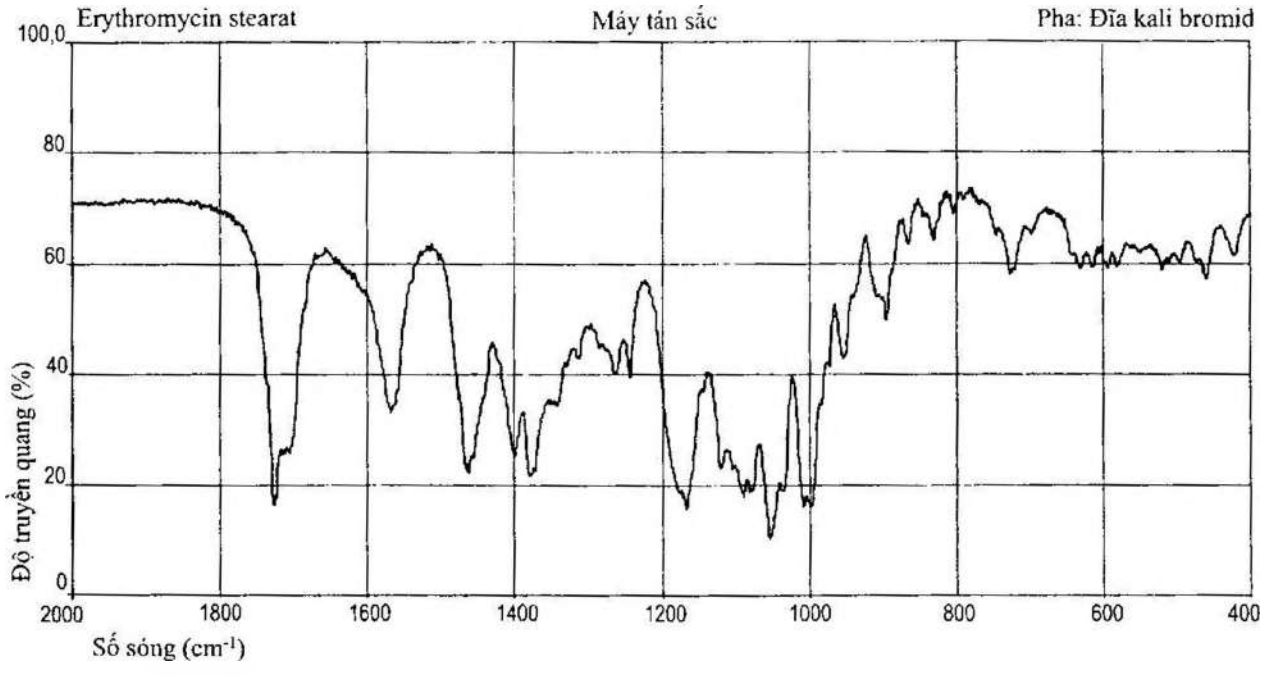
Erythromycin



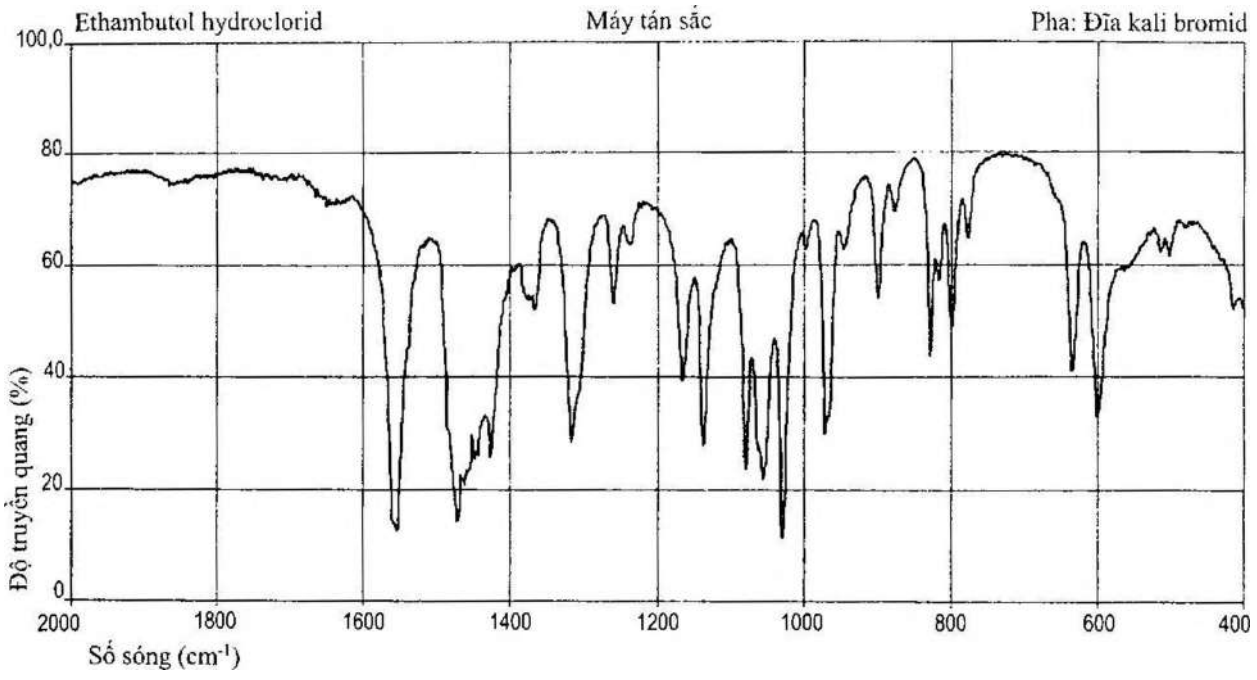
Erythromycin ethyl sucinat



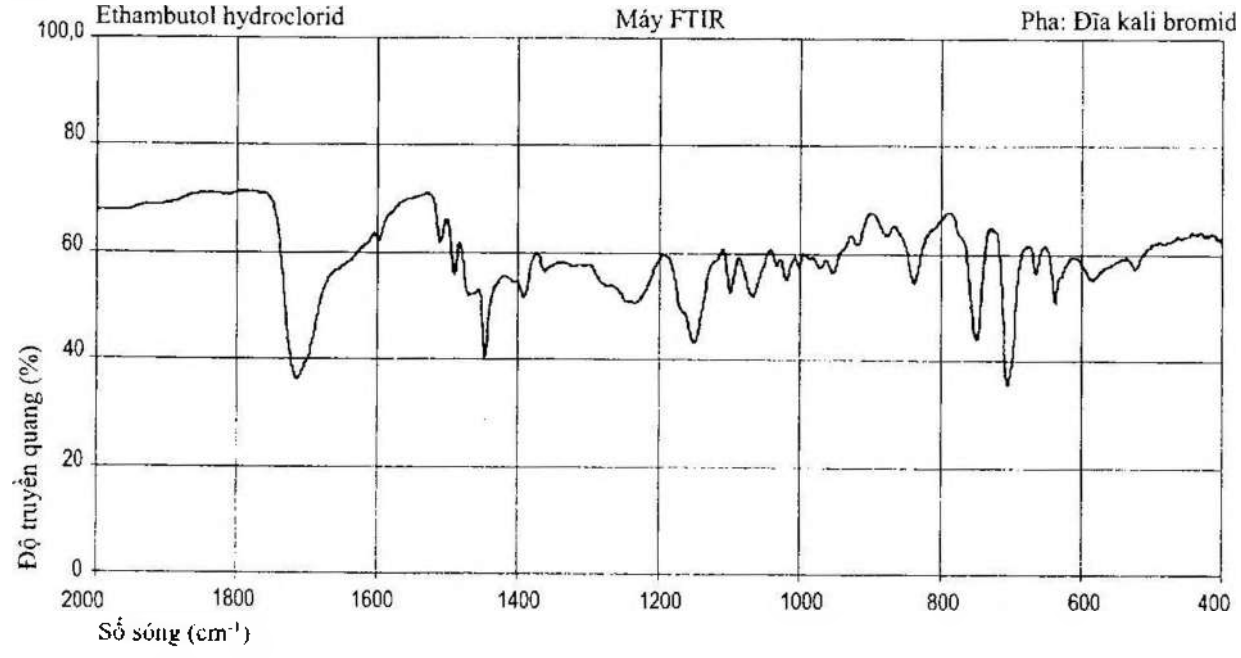
Erythromycin stearat



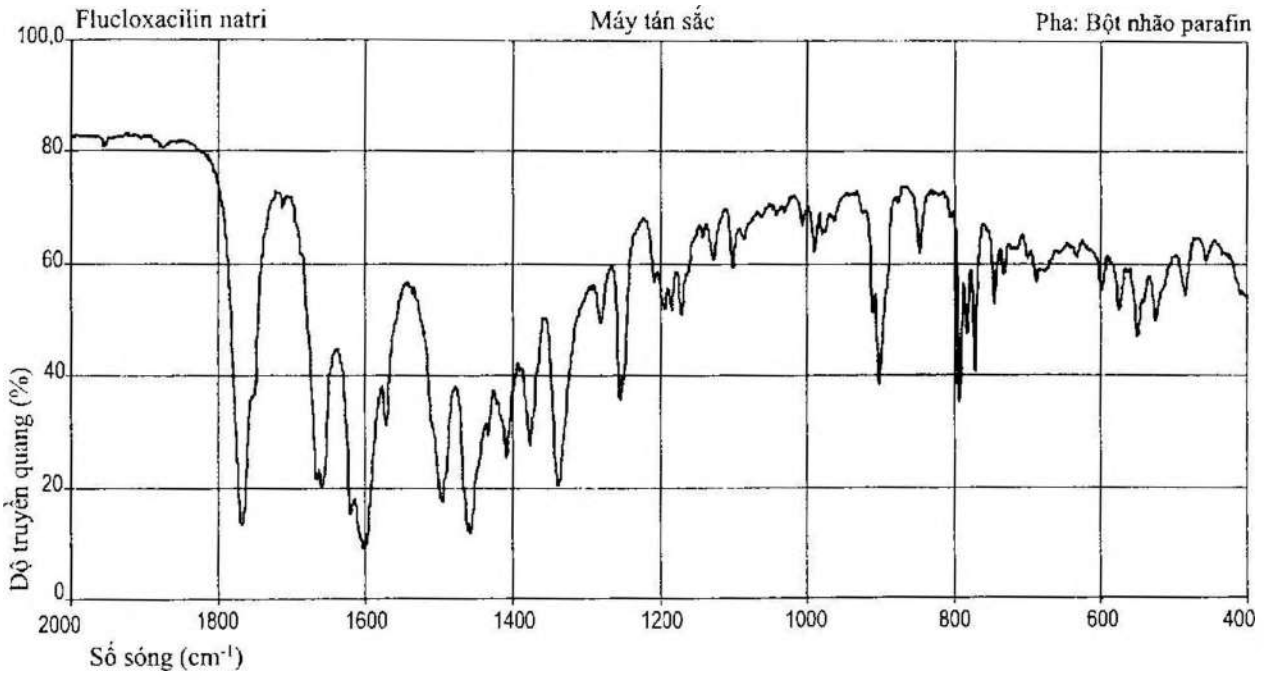
Ethambutol hydroclorid



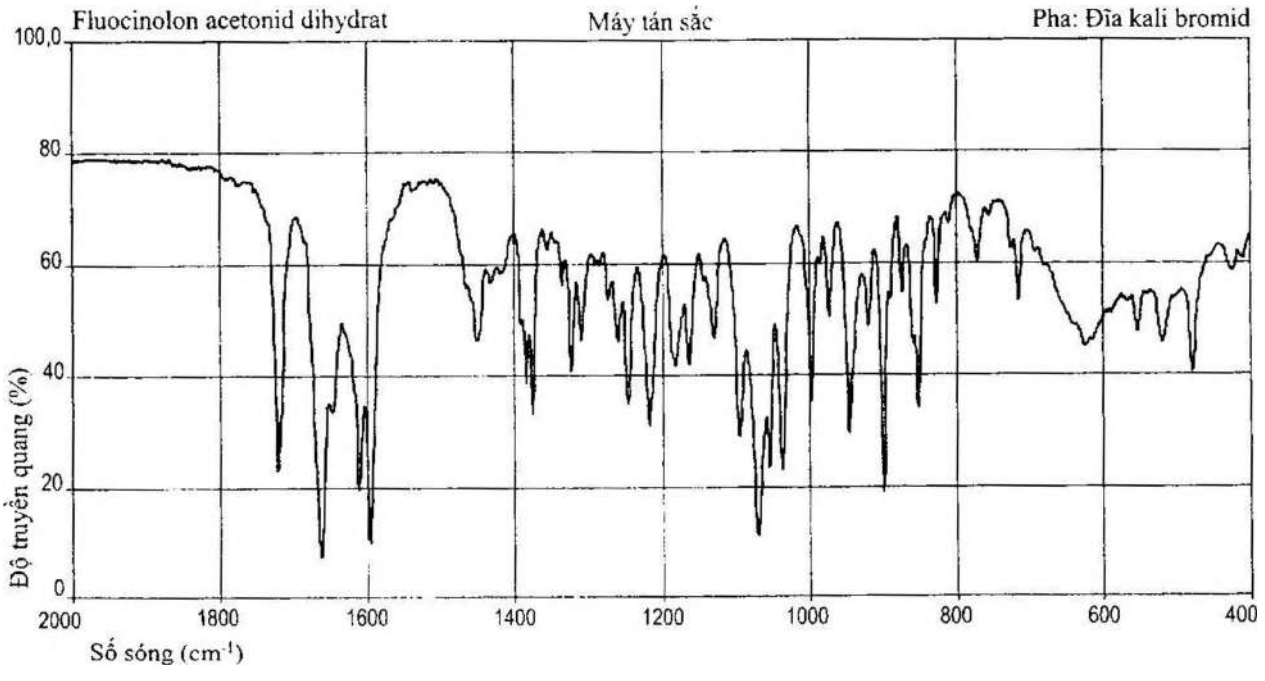
Fexofenadin hydroclorid



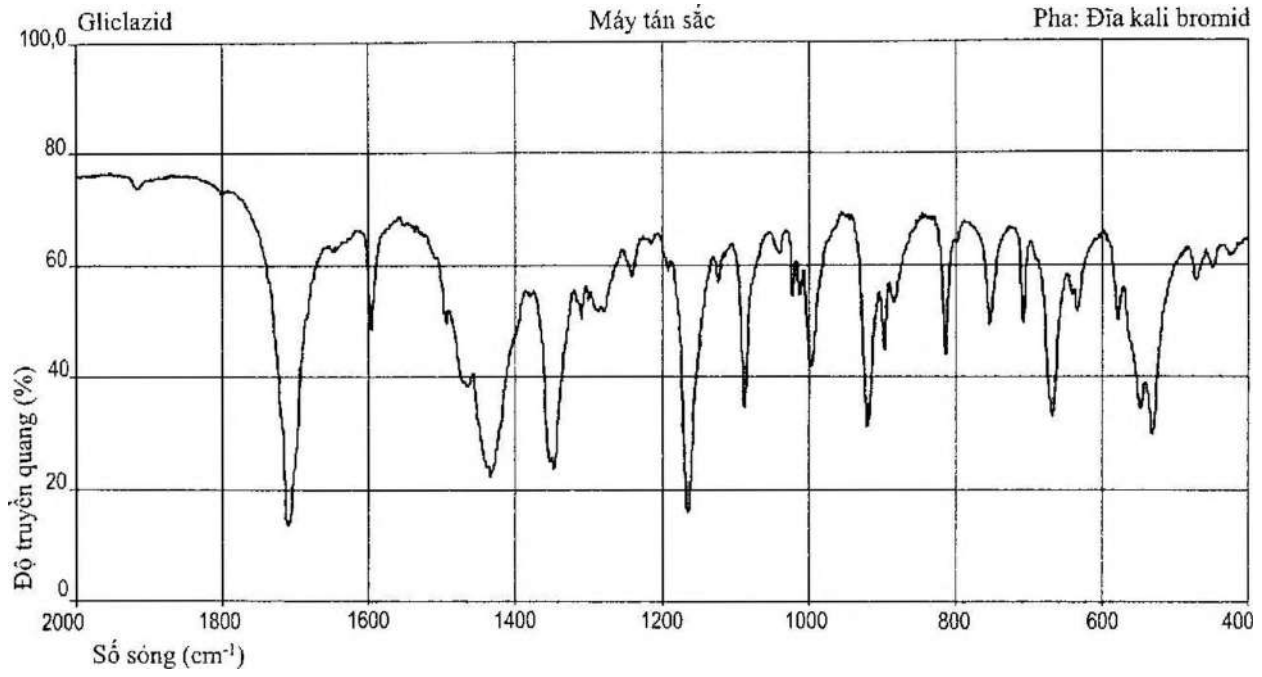
Flucloxacilin natri



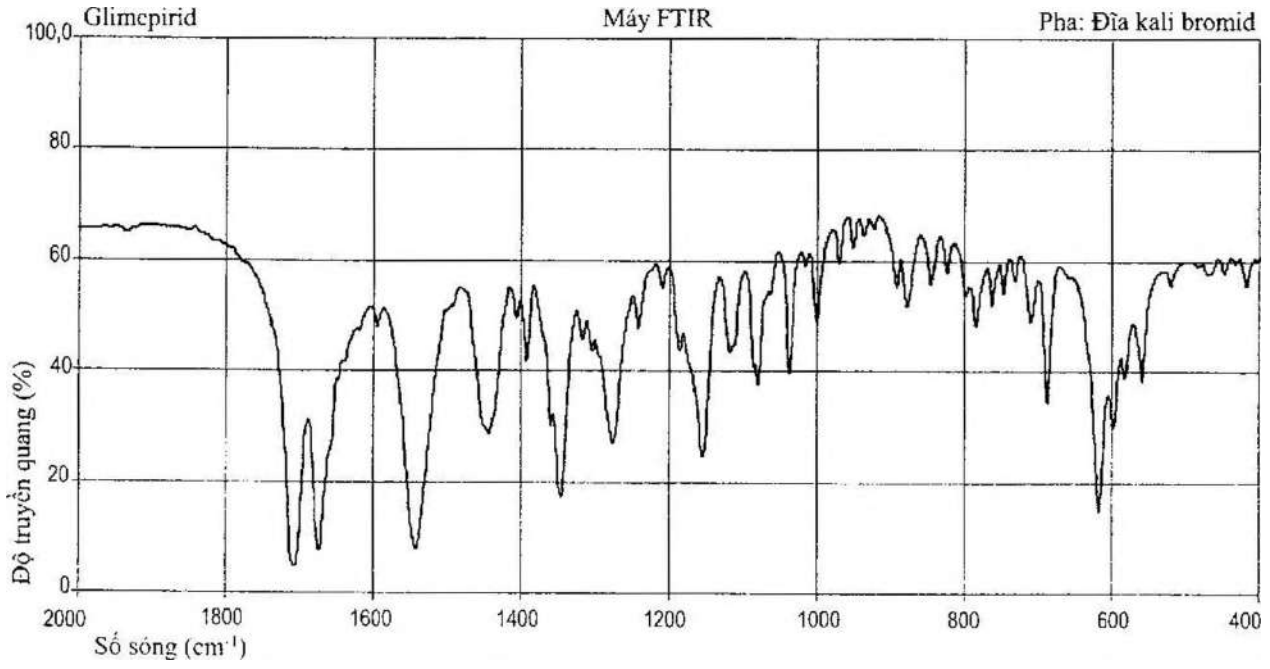
Fluocinolon acetonid dihydrat



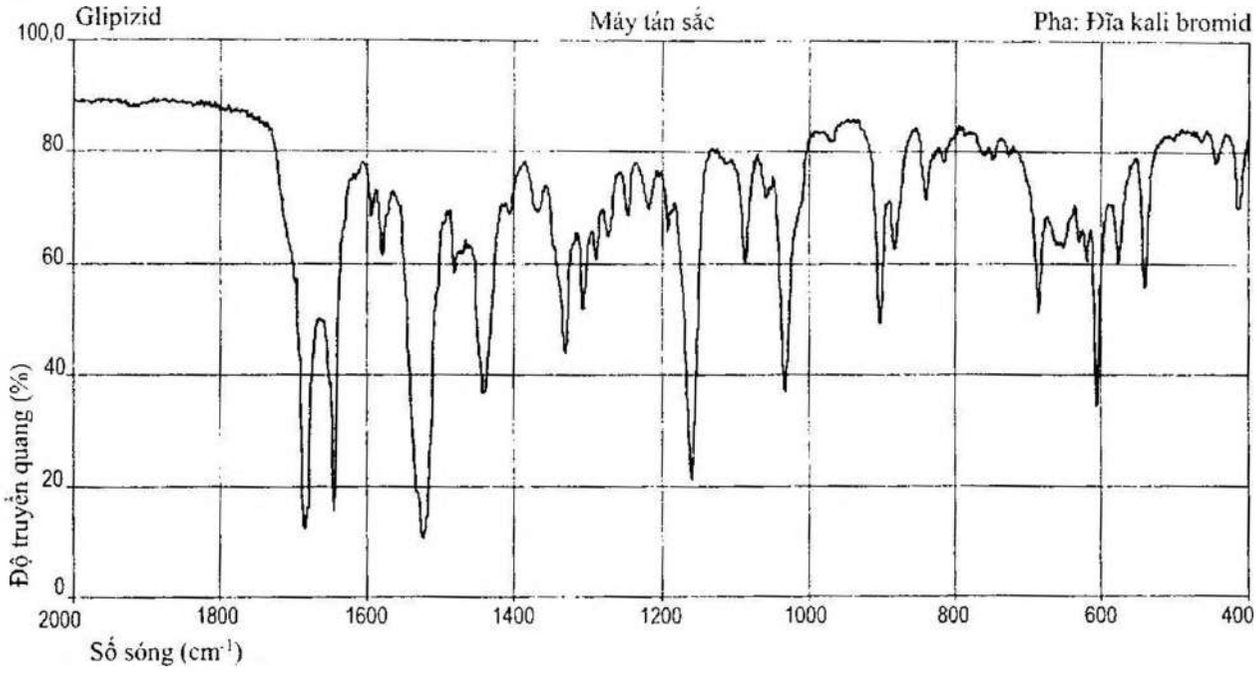
Gliclazid



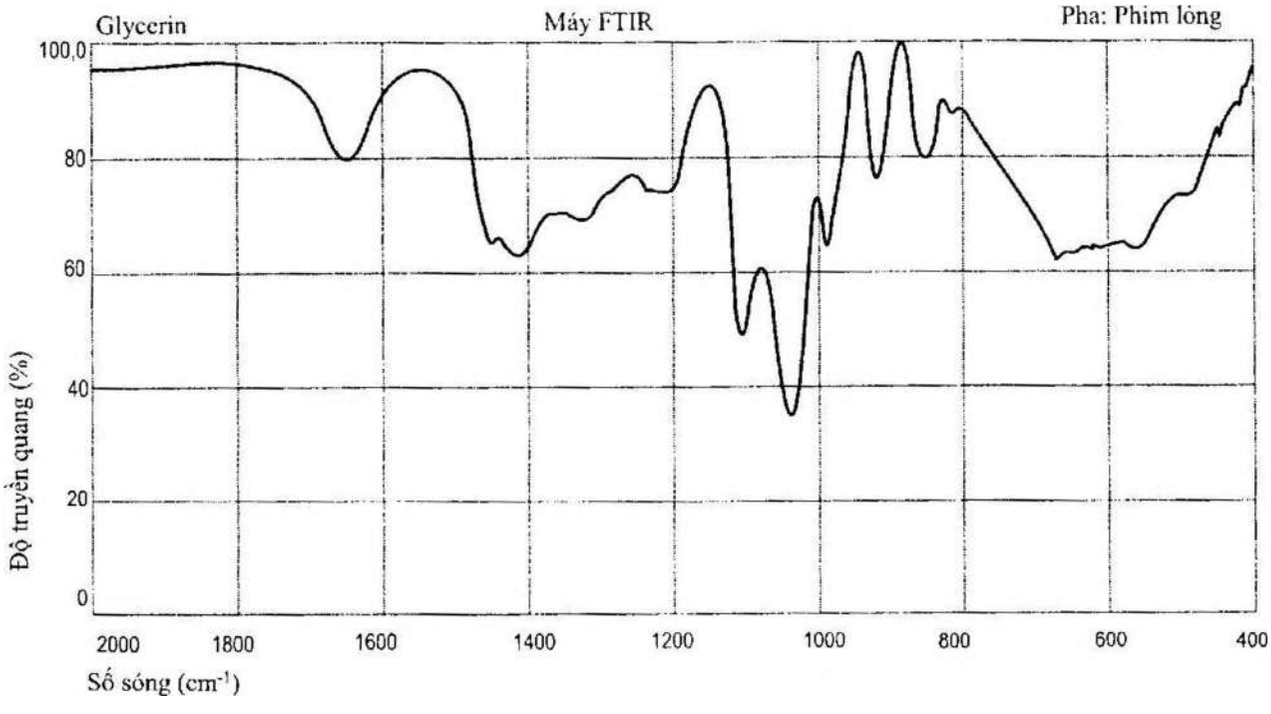
Glimepirid



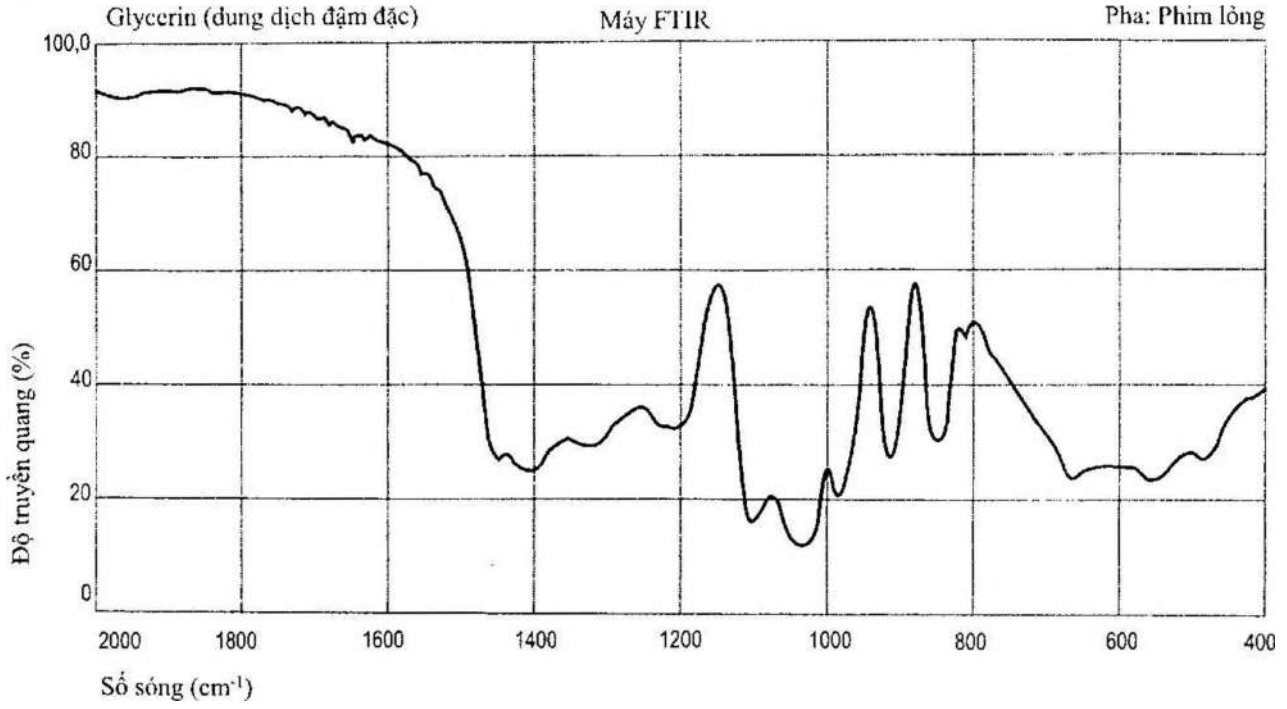
Glipizid



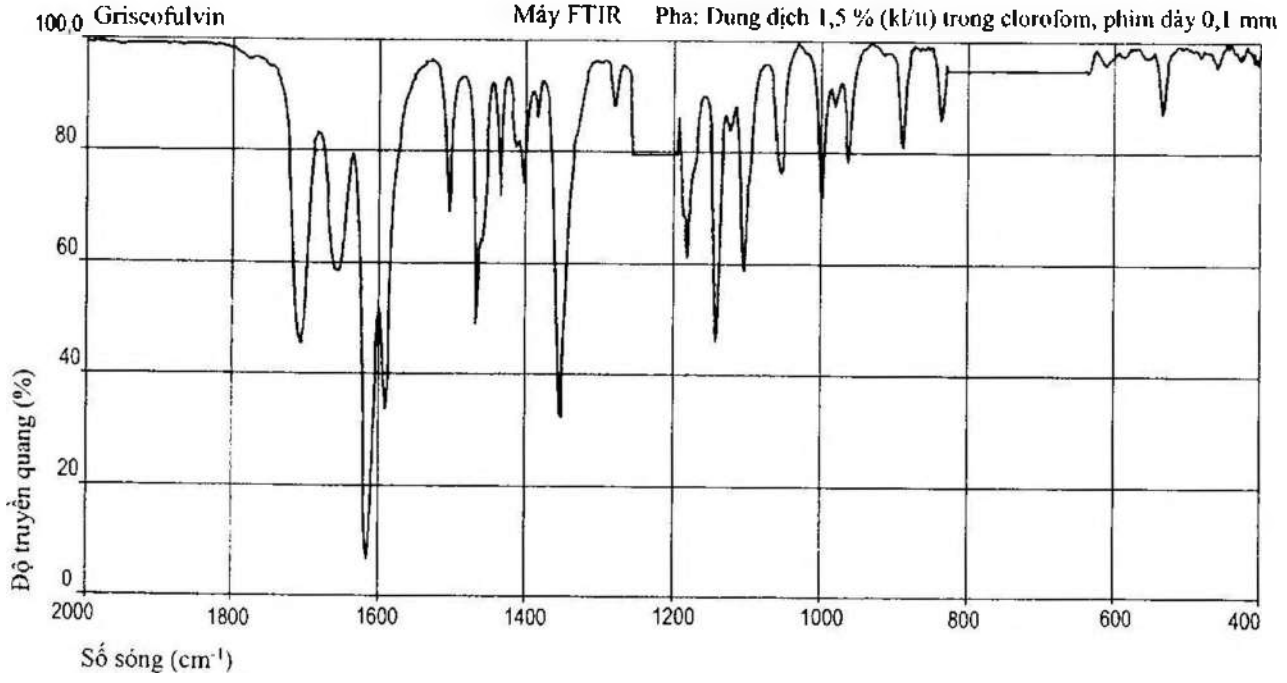
Glycerin



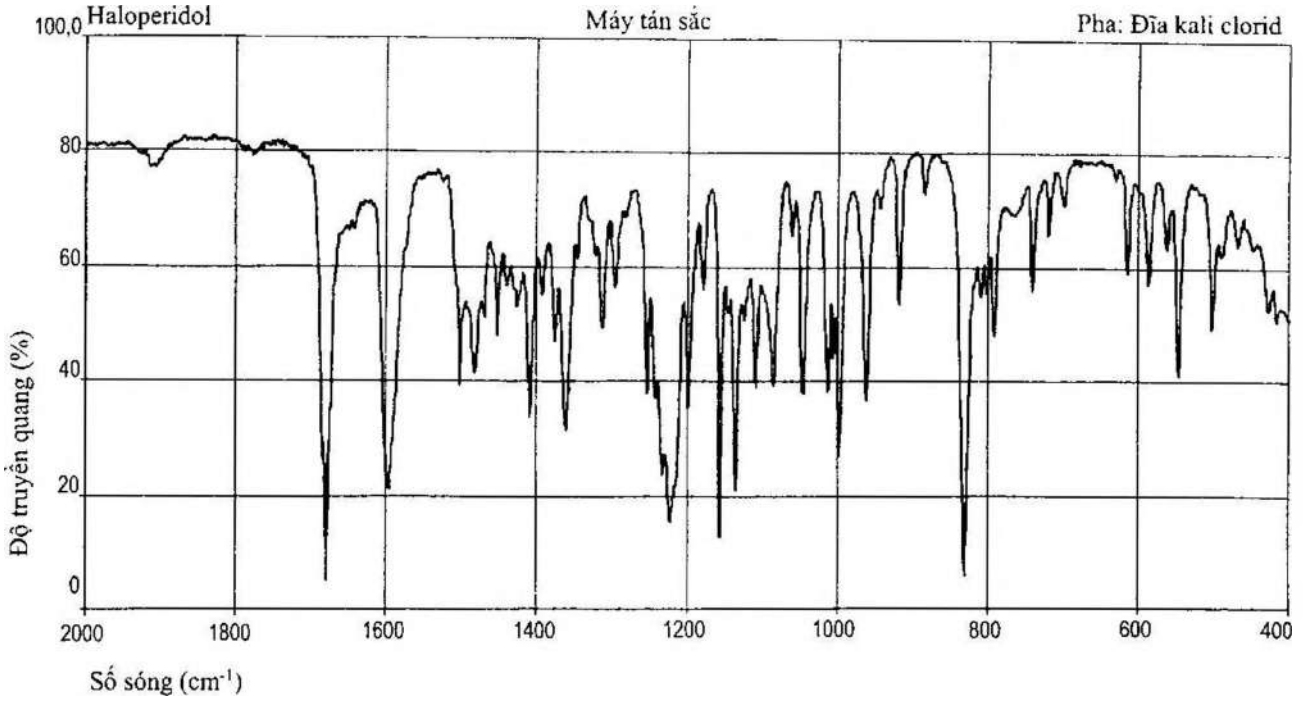
Glycerin (dung dịch đậm đặc)



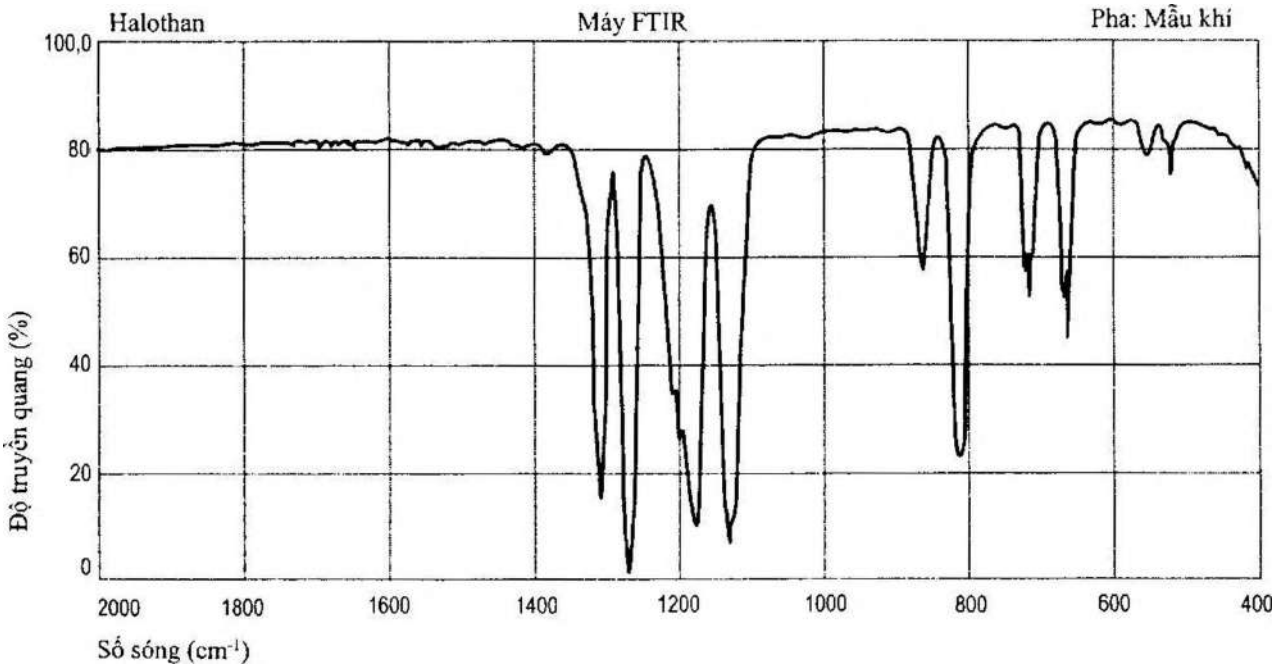
Griseofulvin



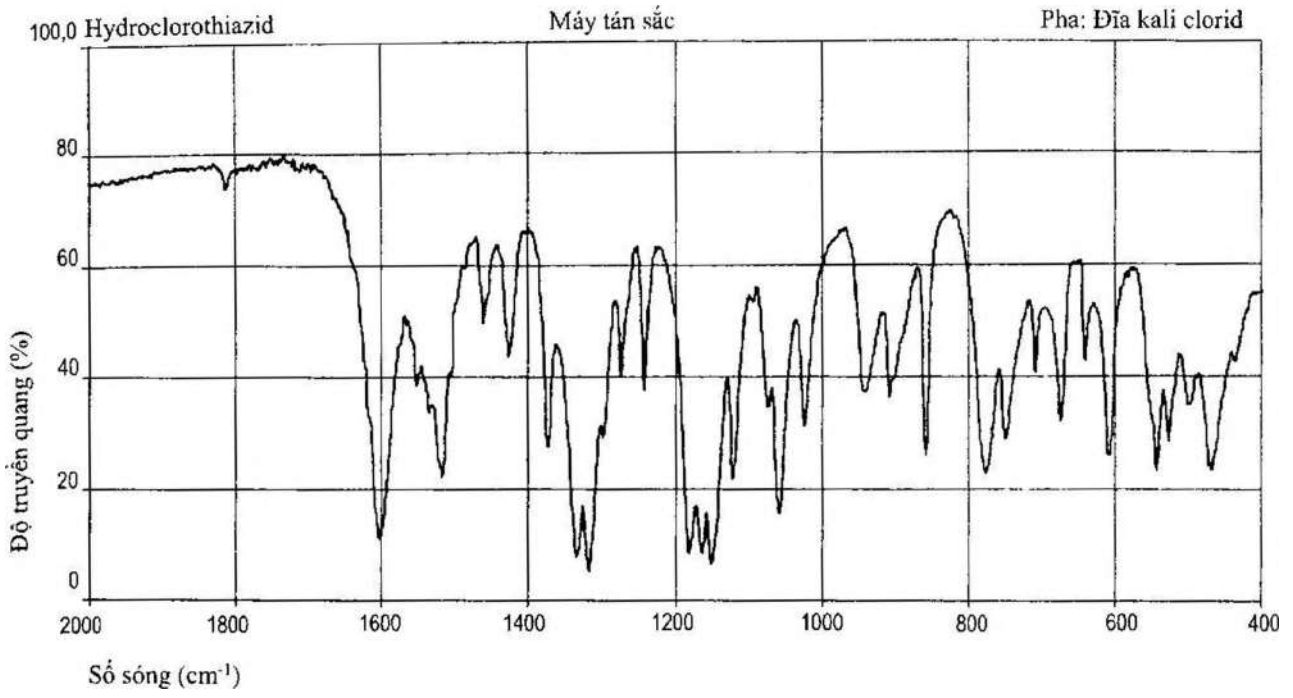
Haloperidol



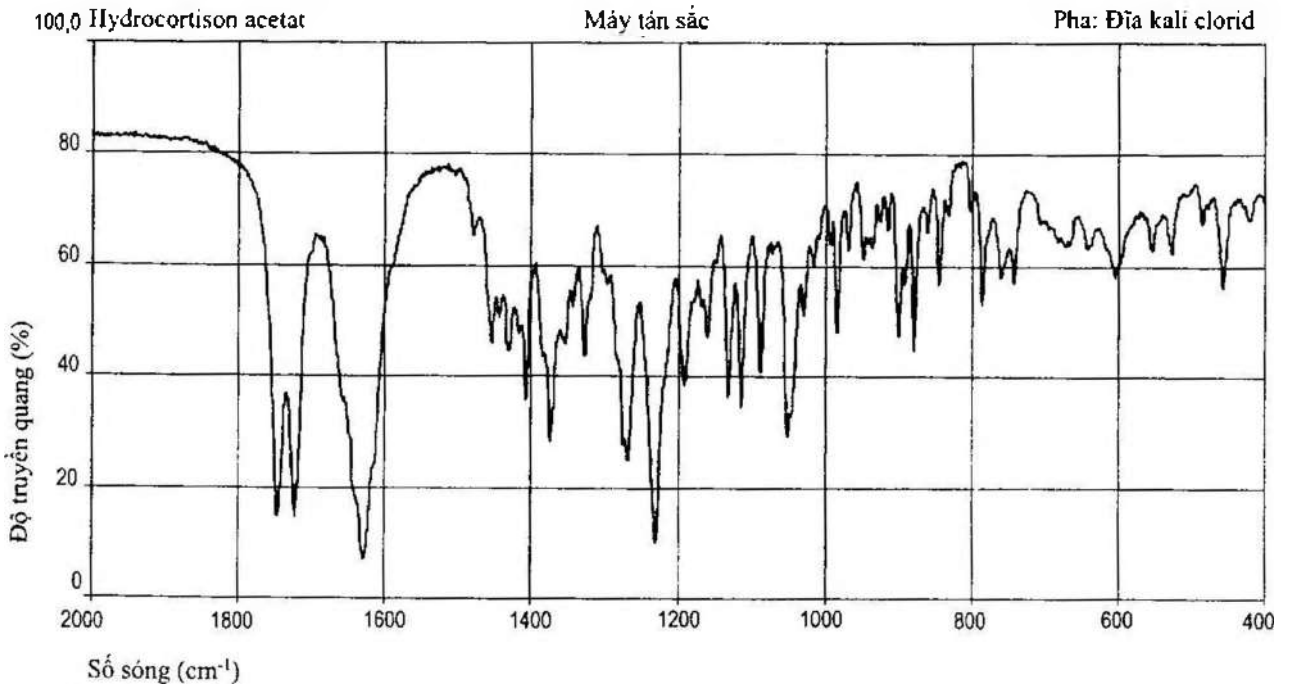
Halothan



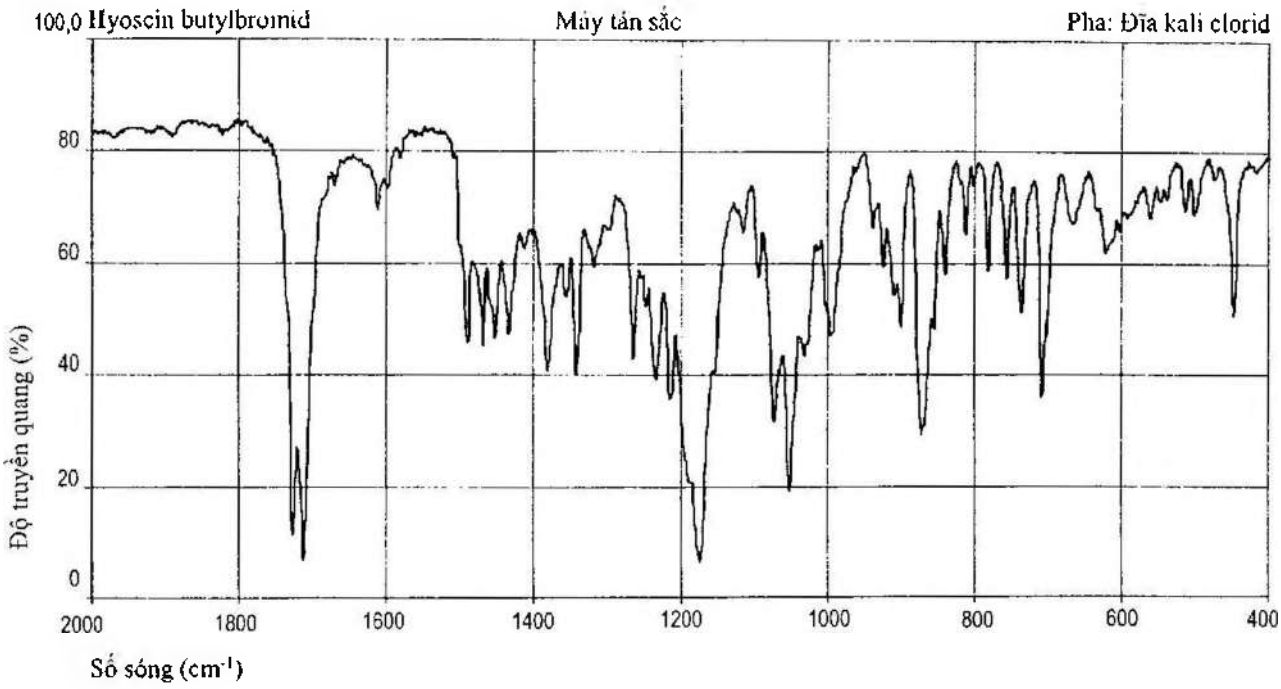
Hydroclorothiazid



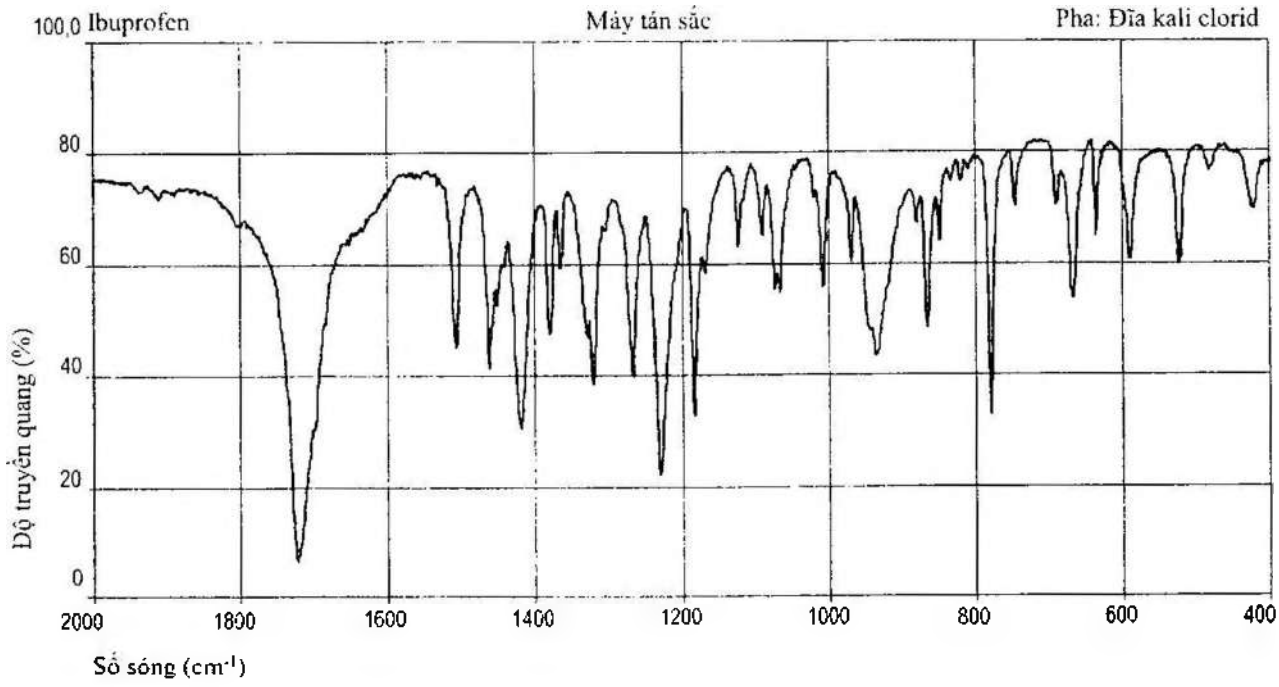
Hydrocortison acetat



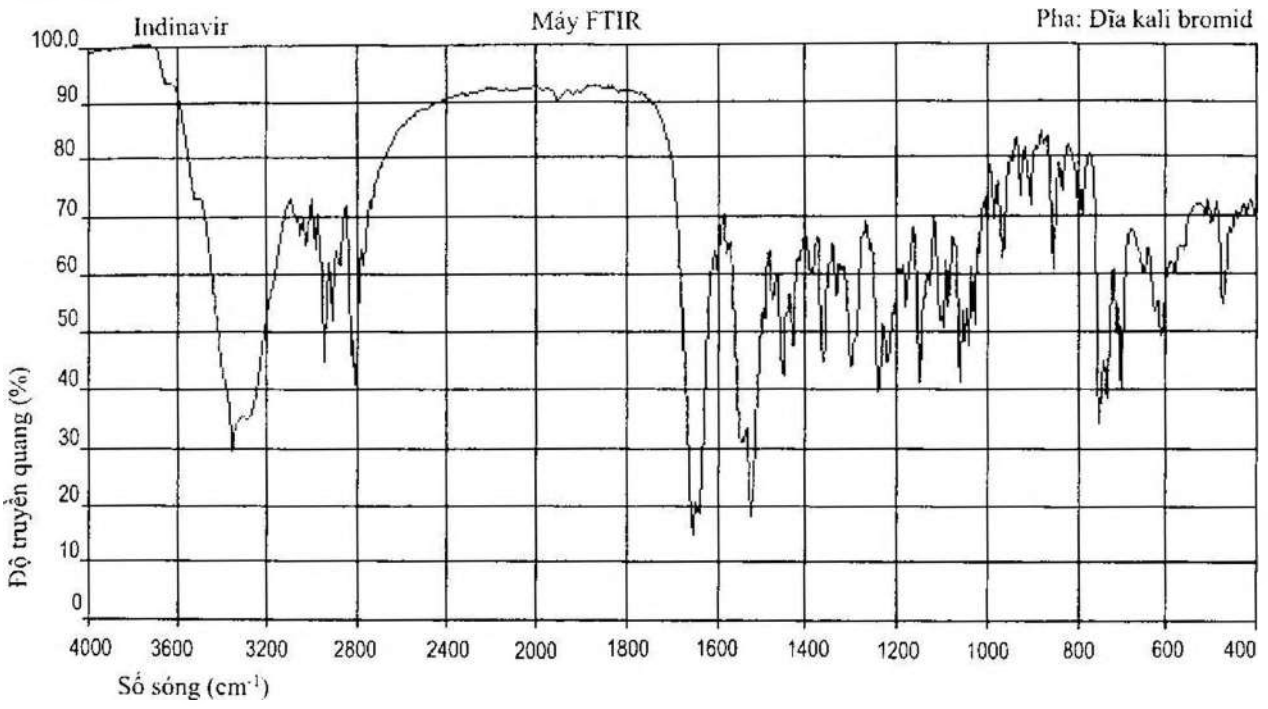
Hyoscin butylbromid



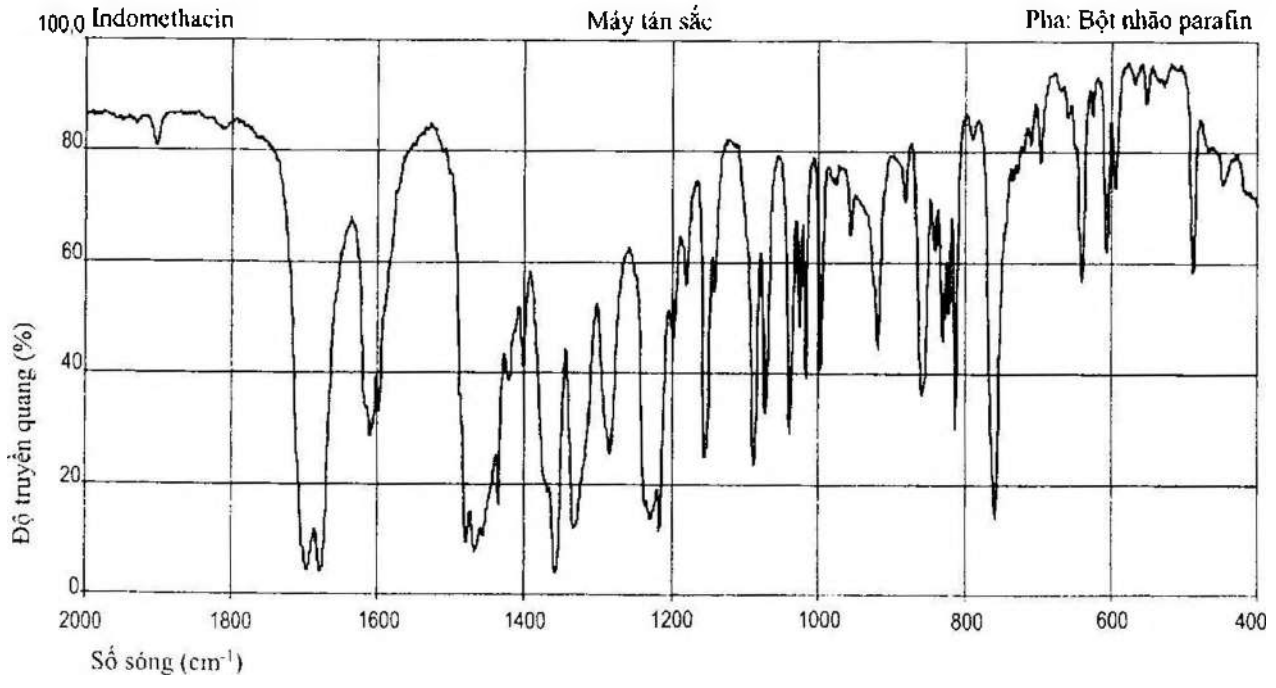
Ibuprofen



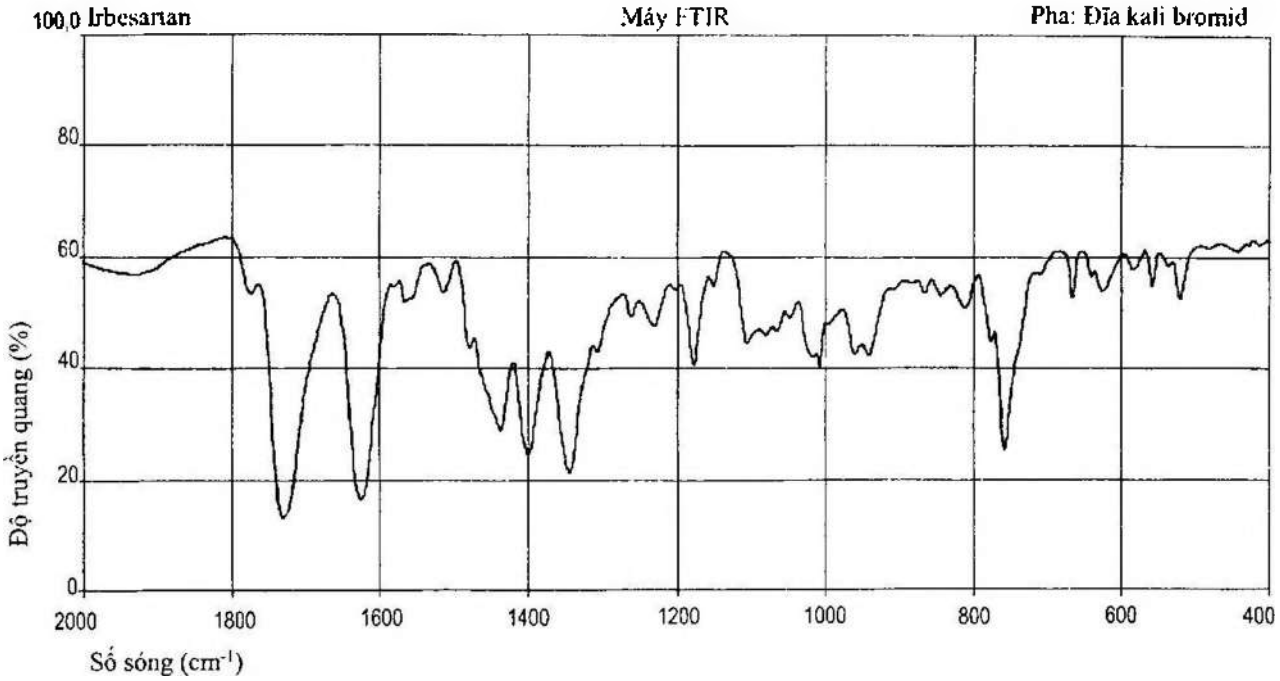
Indinavir



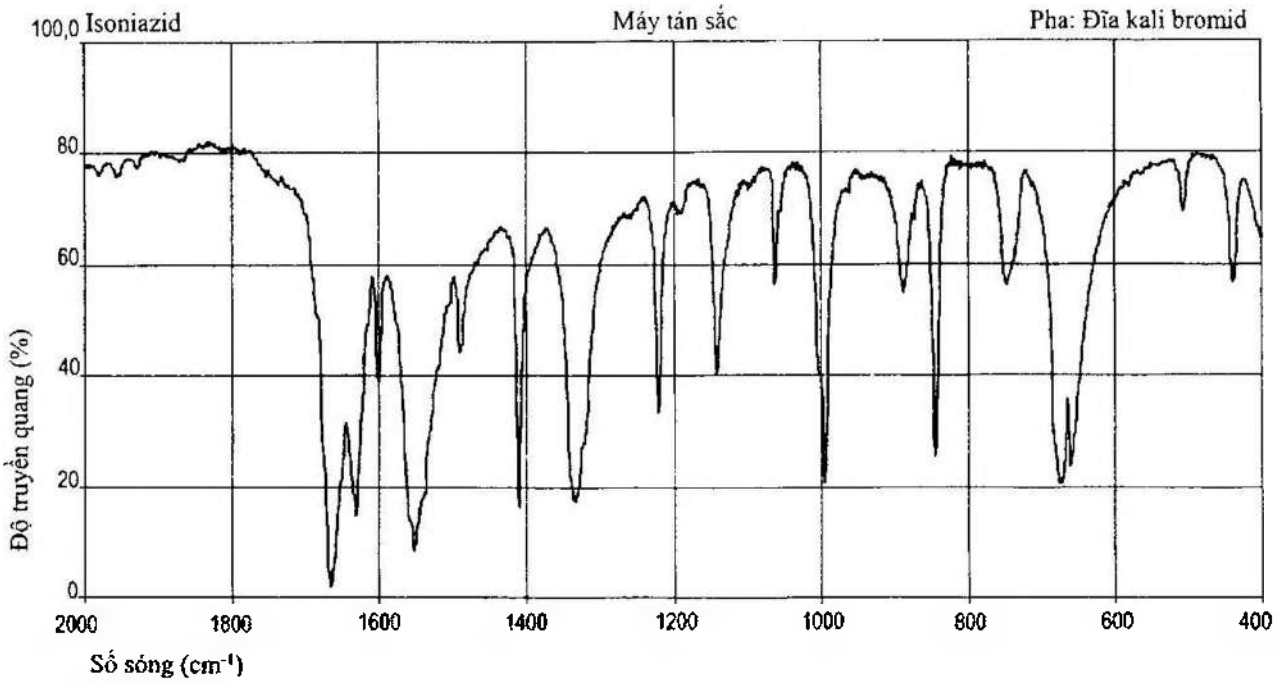
Indomethacin



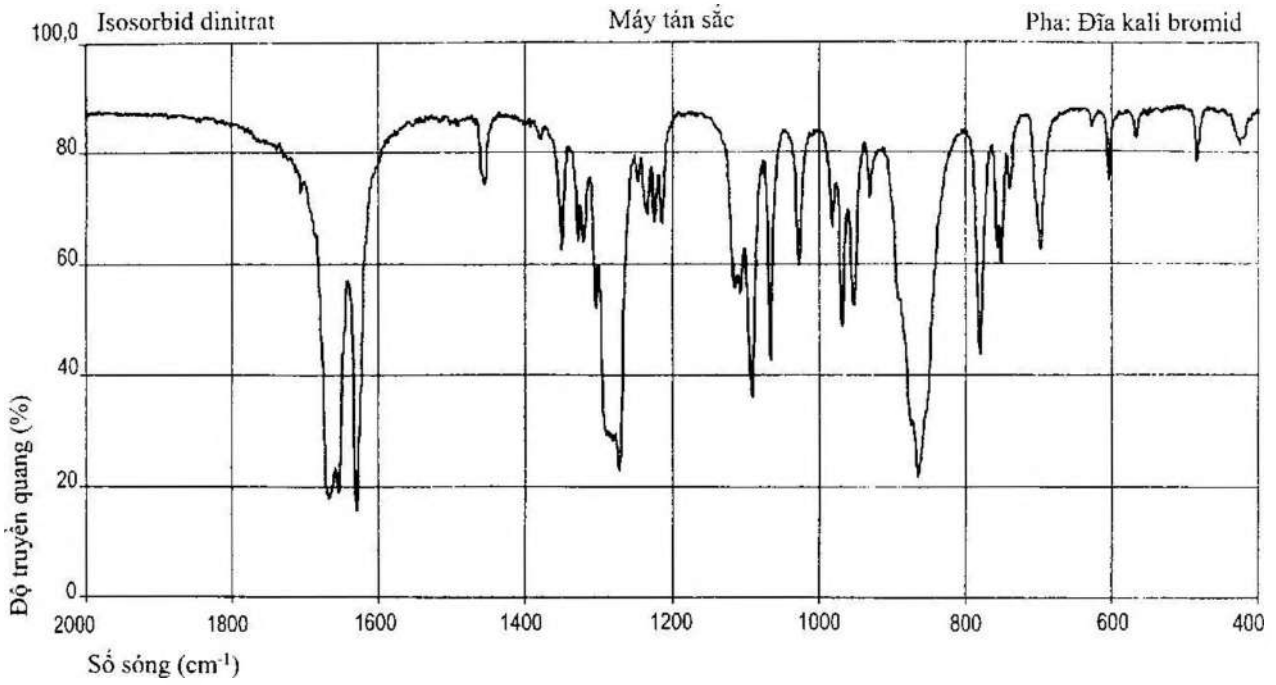
Irbesartan



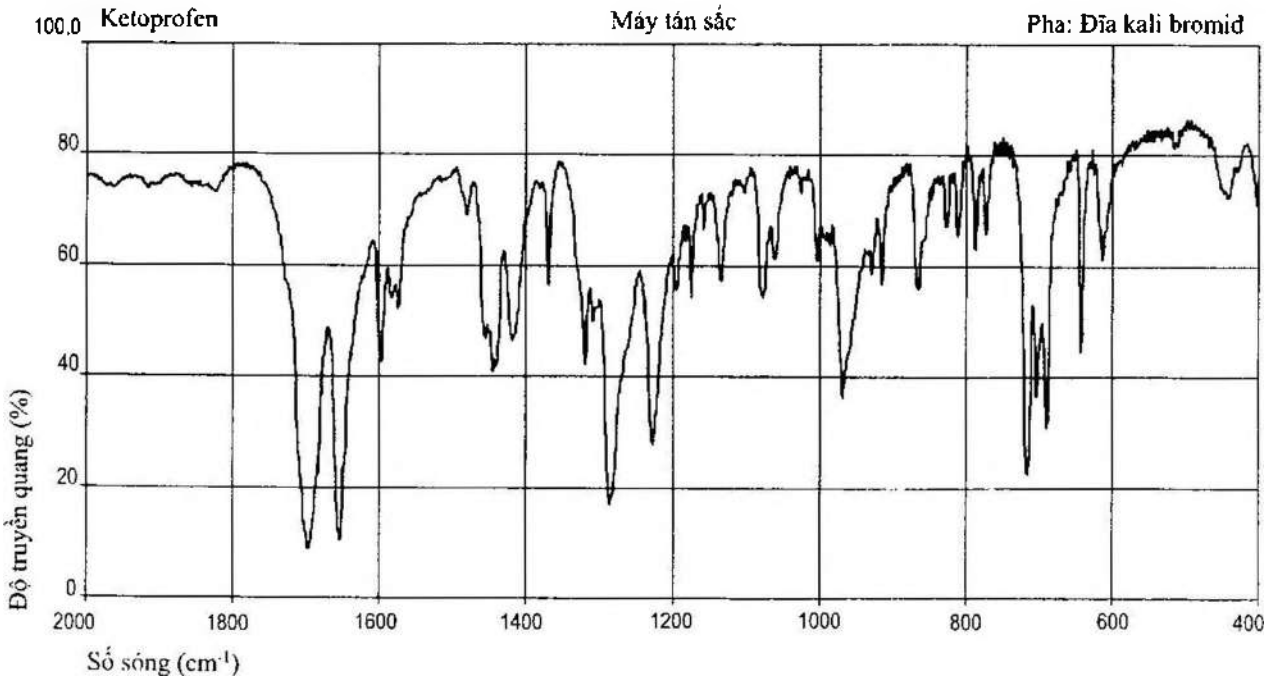
Isoniazid



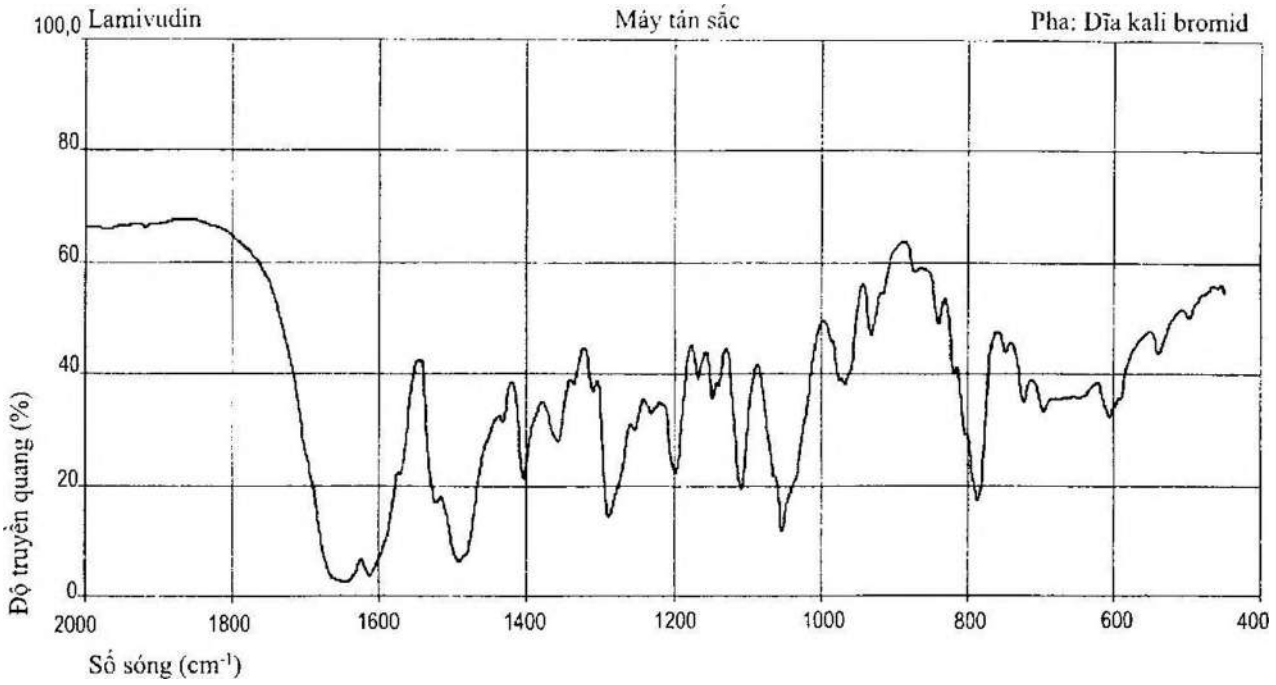
Isosorbid dinitrat



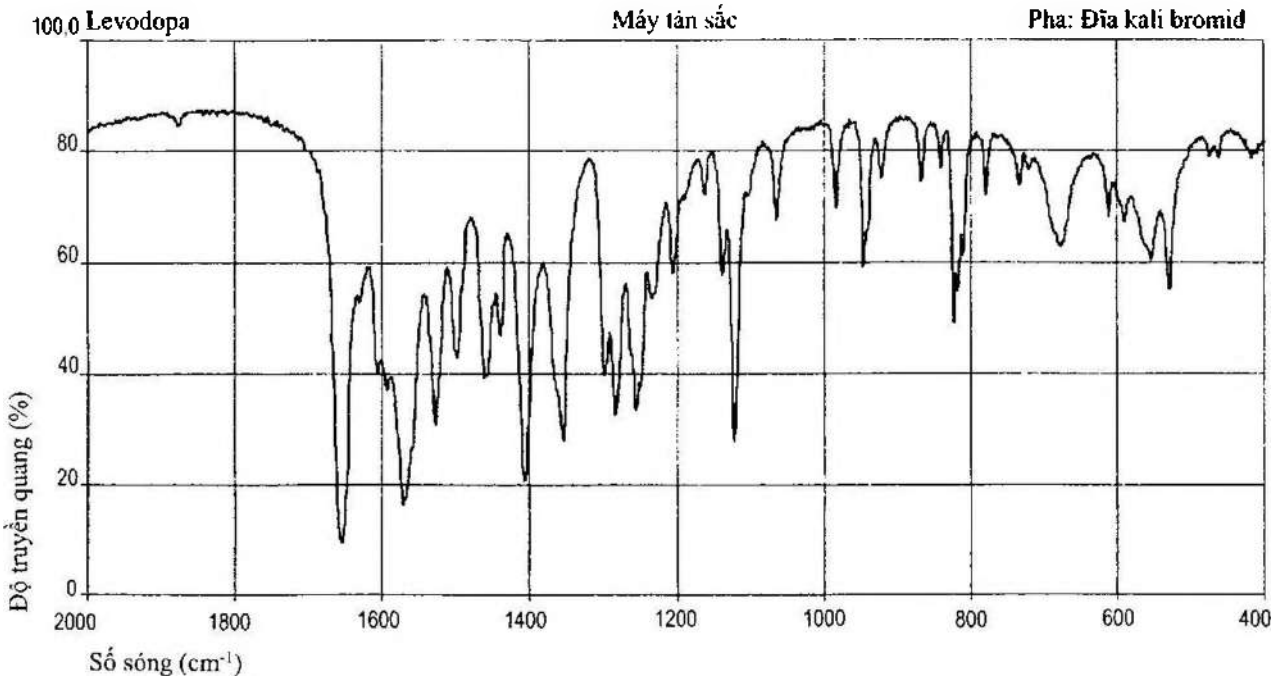
Ketoprofen



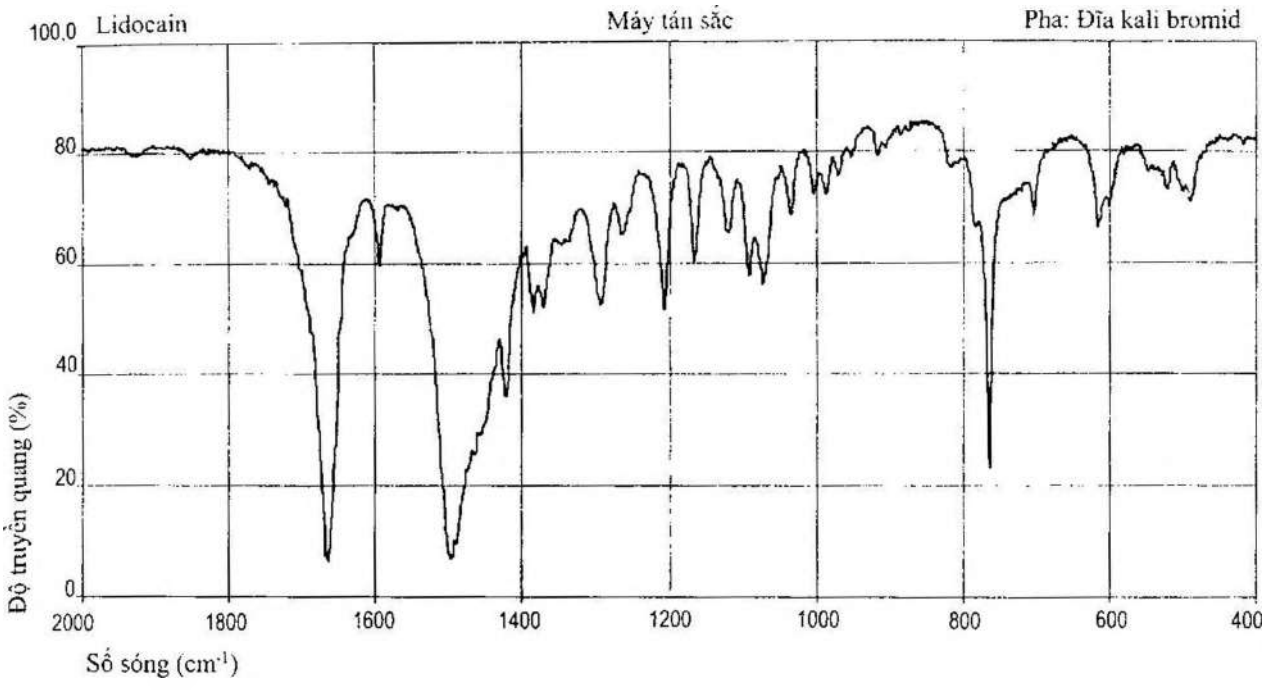
Lamivudin



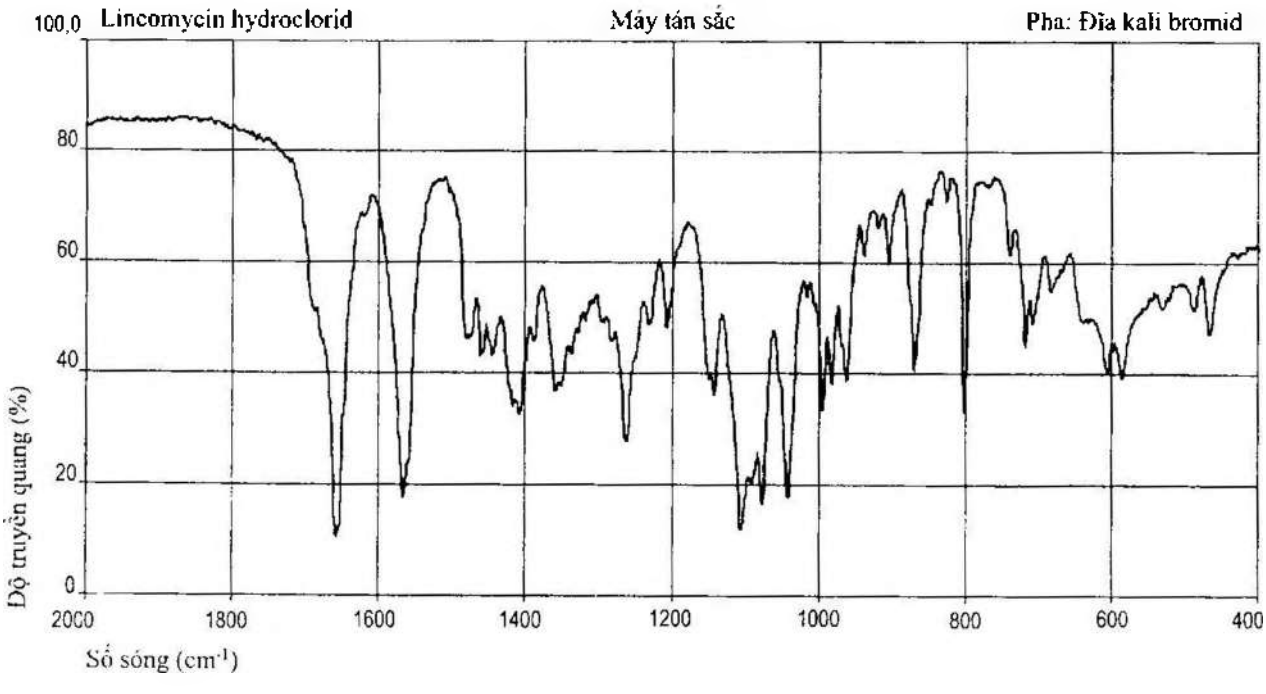
Levodopa



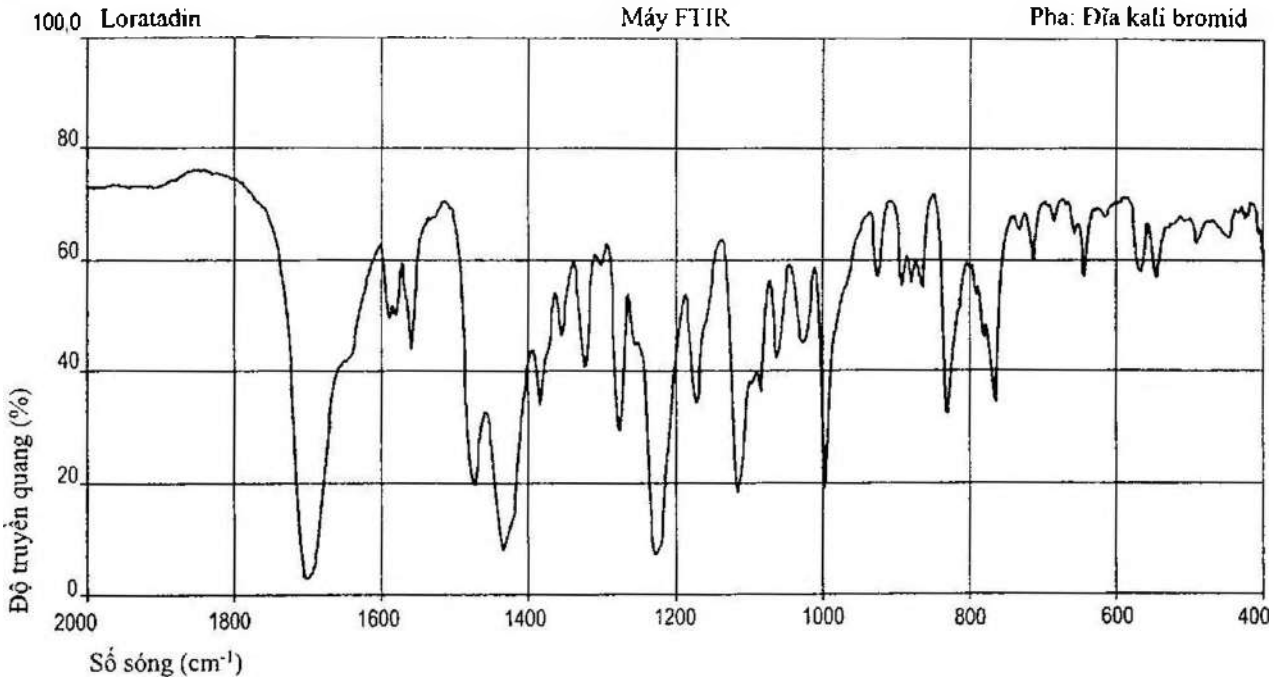
Lidocain



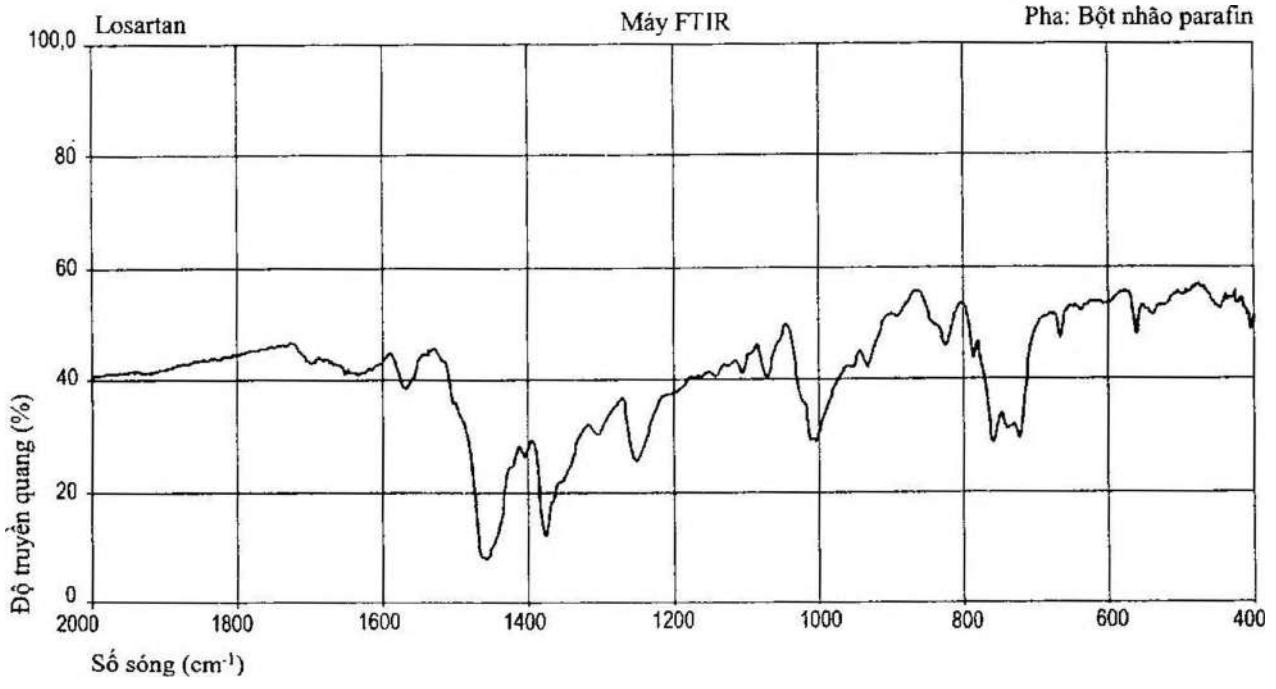
Lincomycin hydroclorid



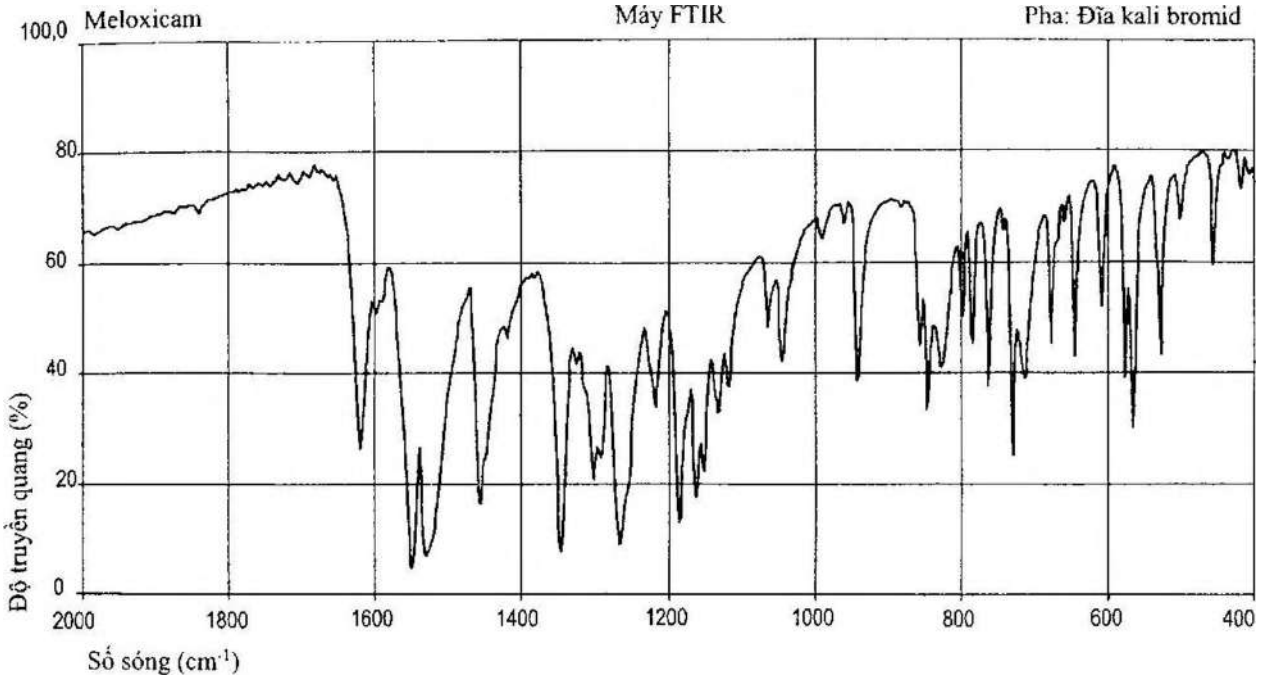
Loratadin



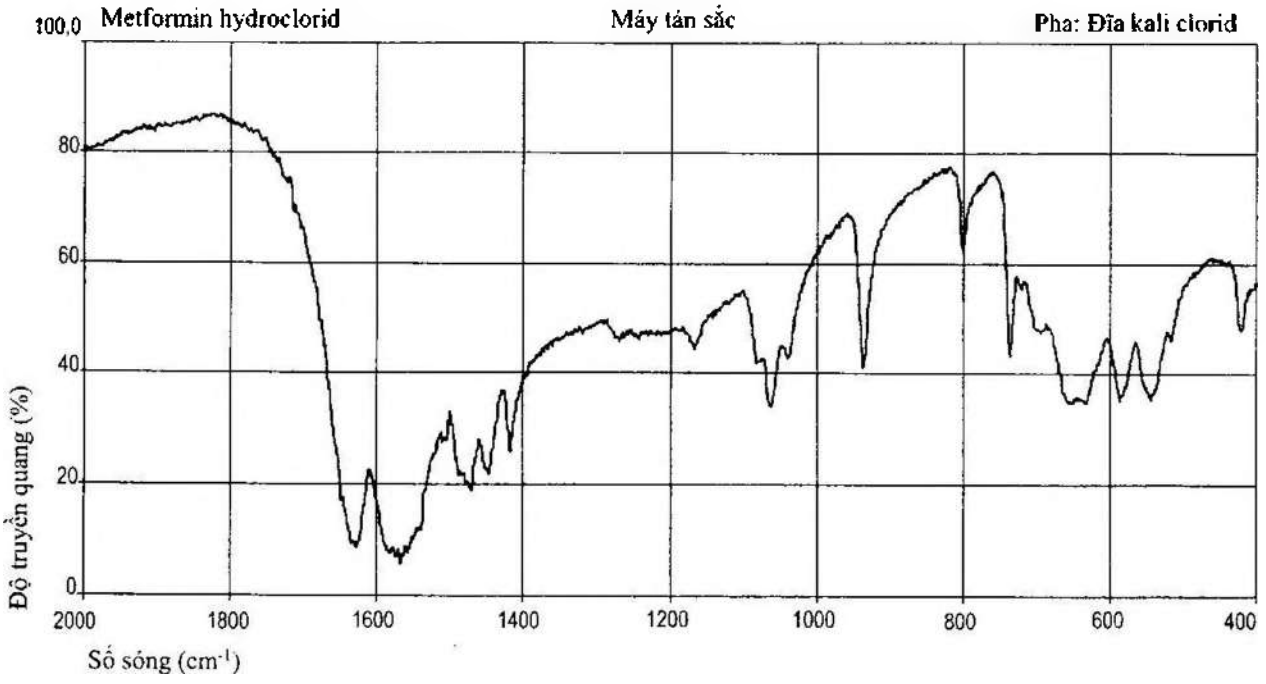
Losartan



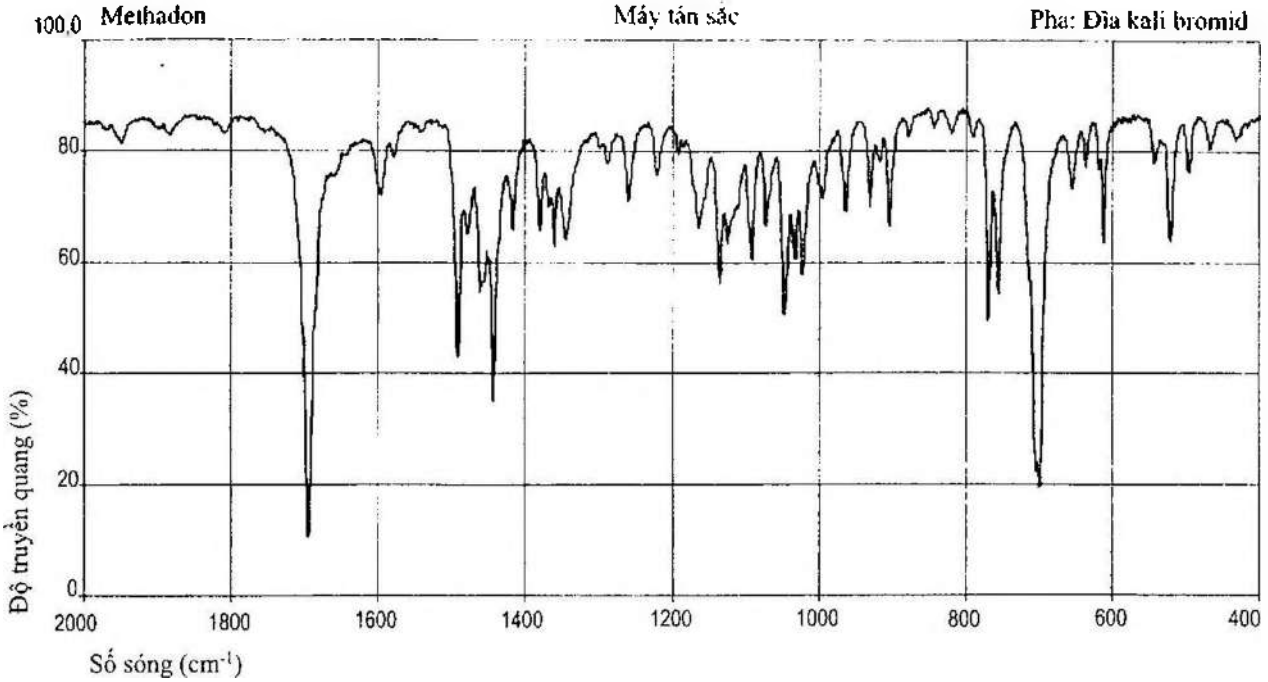
Meloxicam



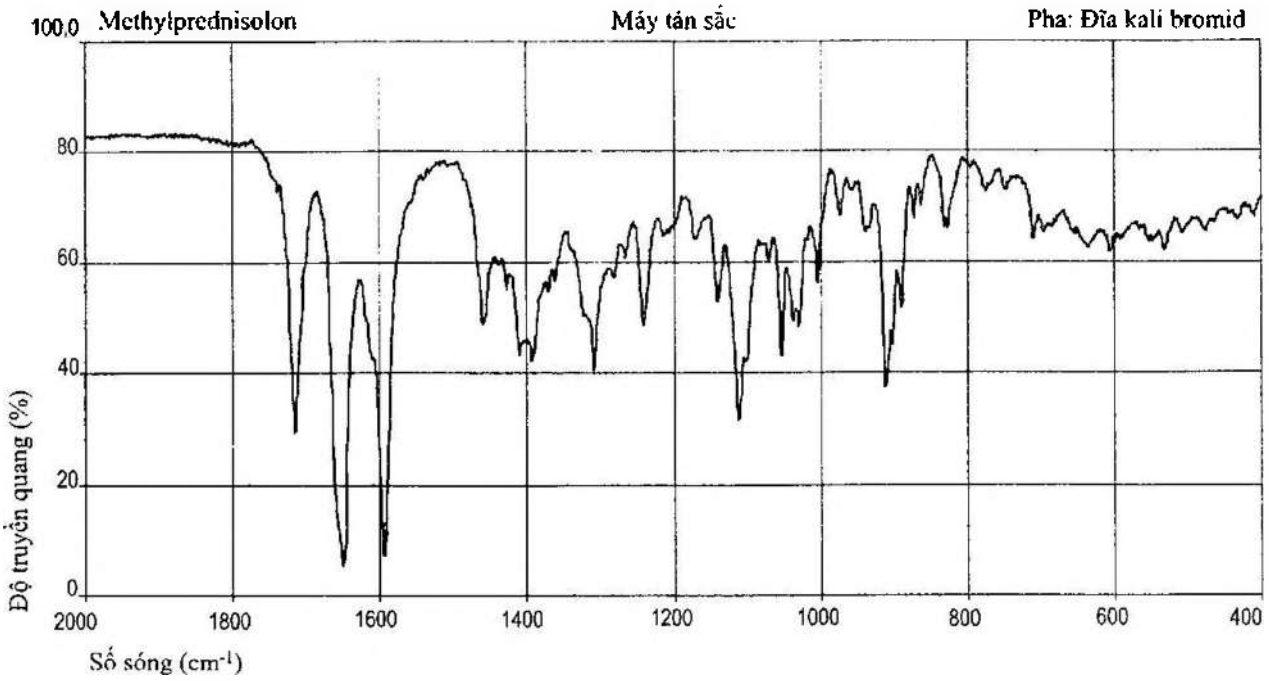
Metformin hydroclorid



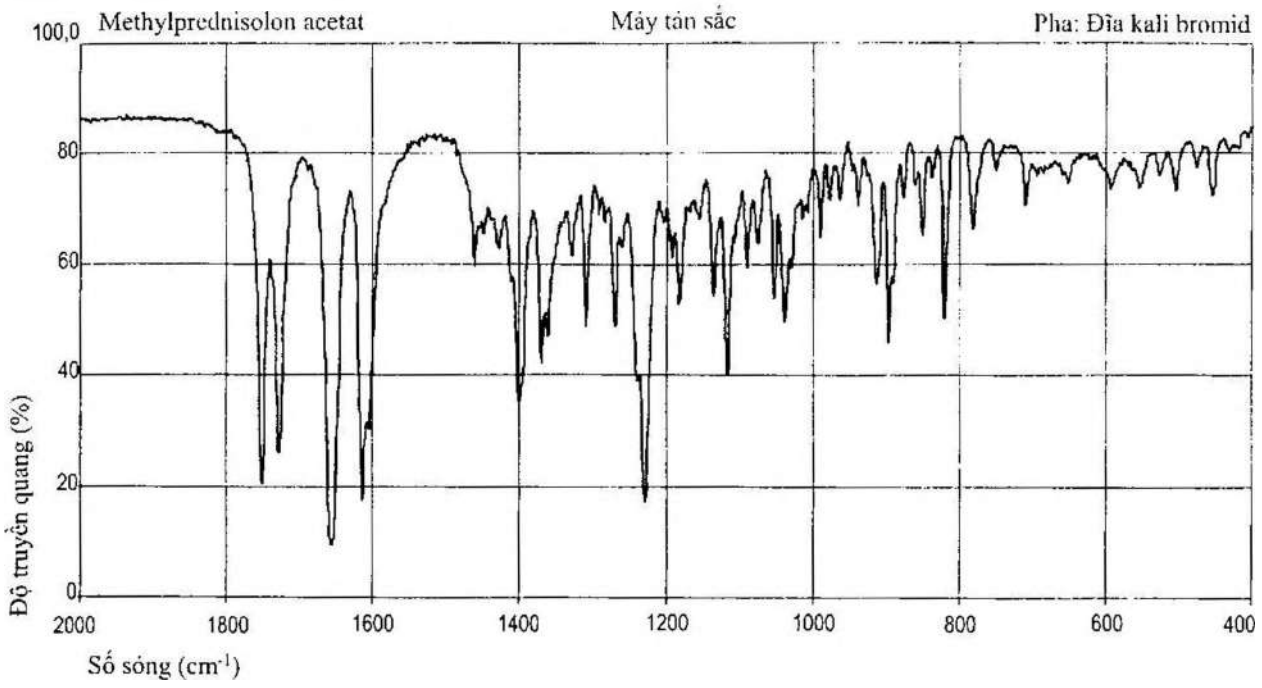
Methadon



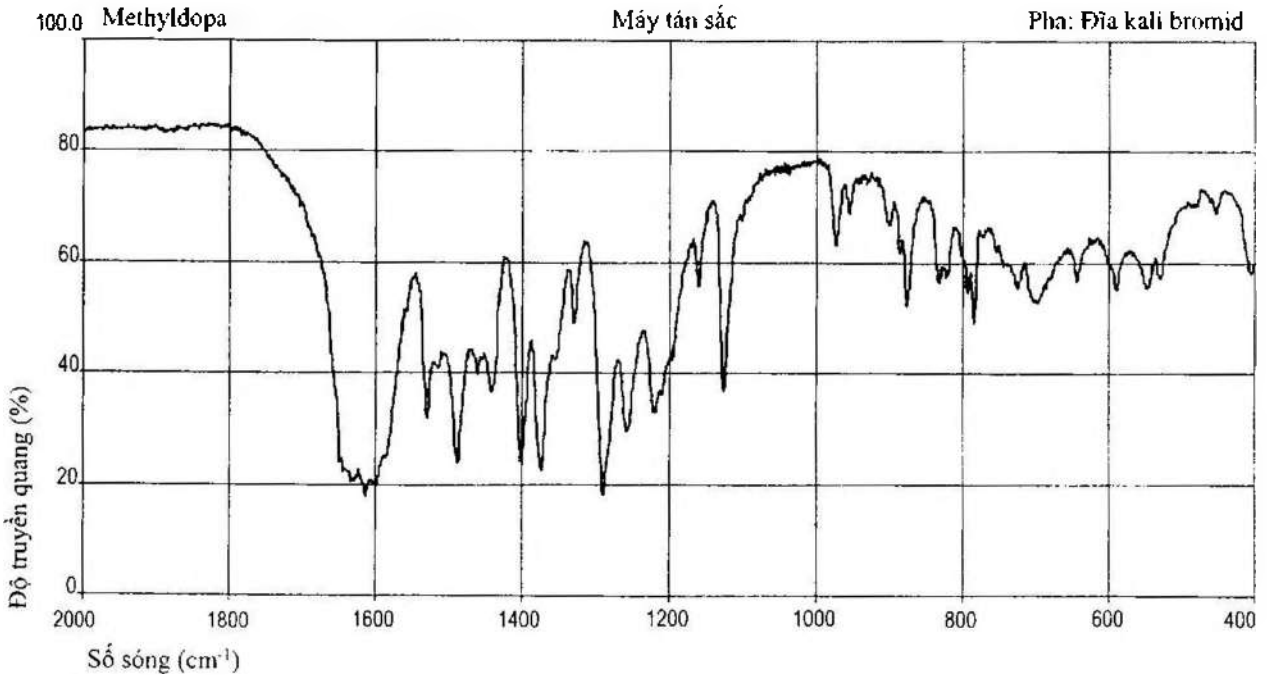
Methylprednisolon



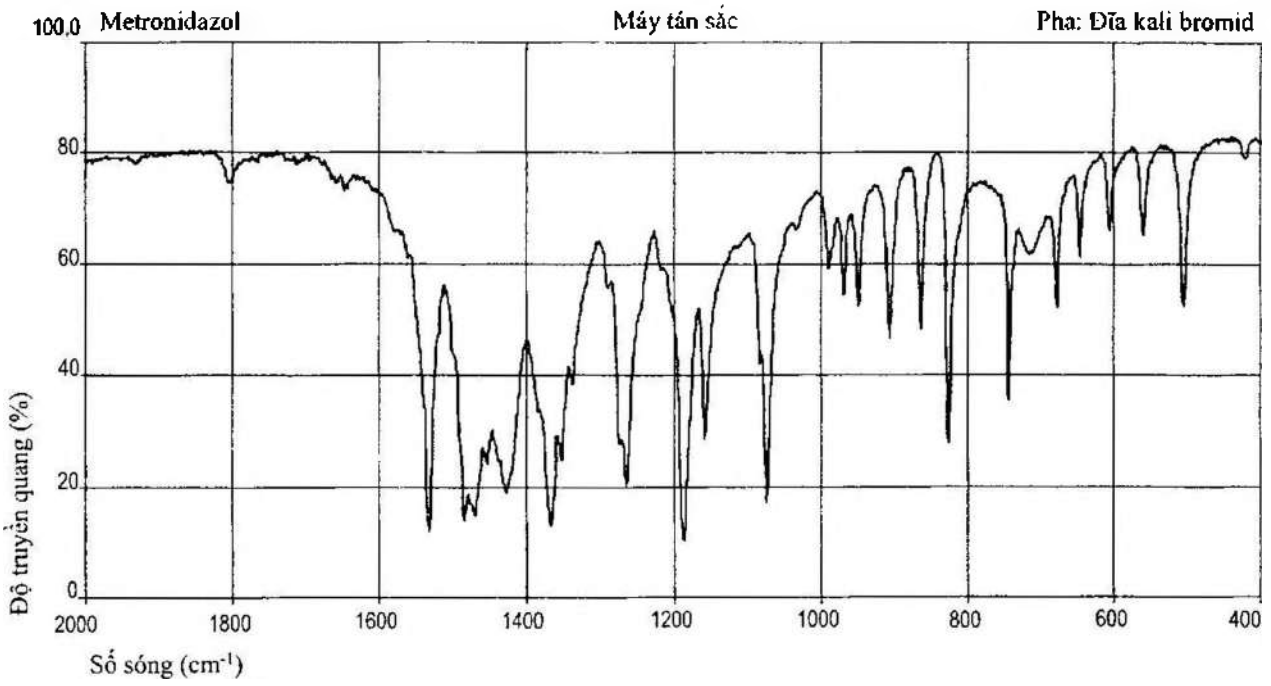
Methylprednisolon acetat



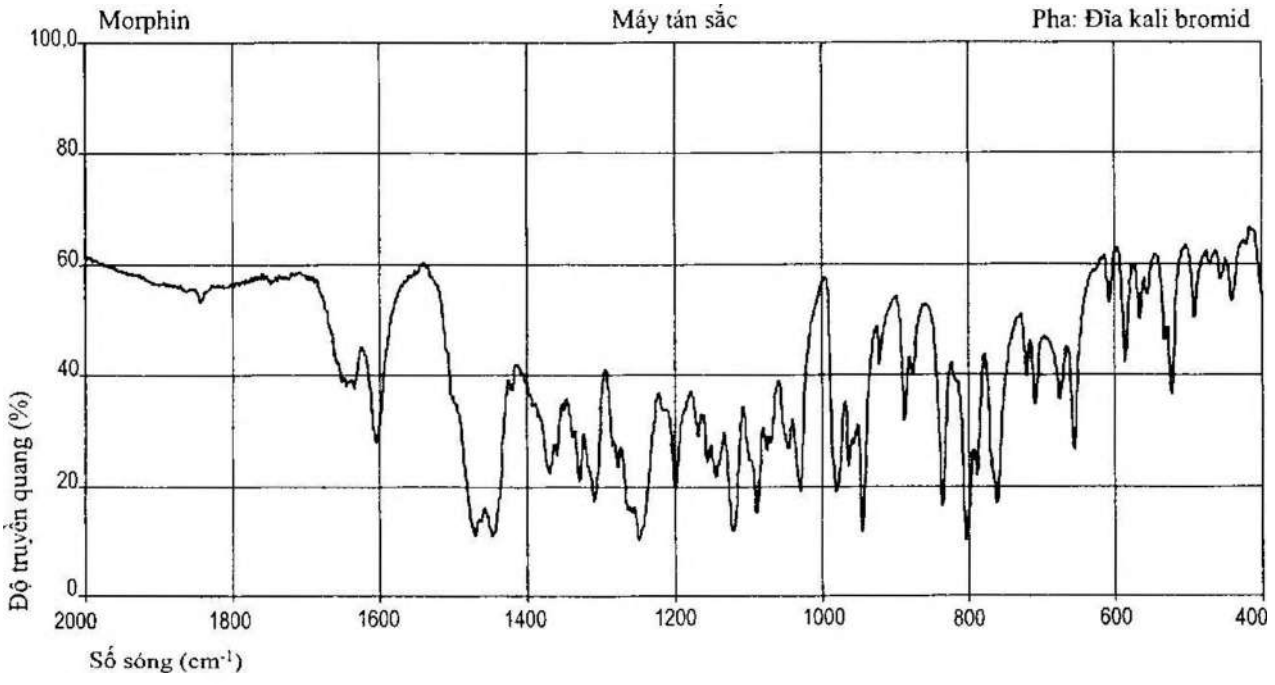
Methyldopa



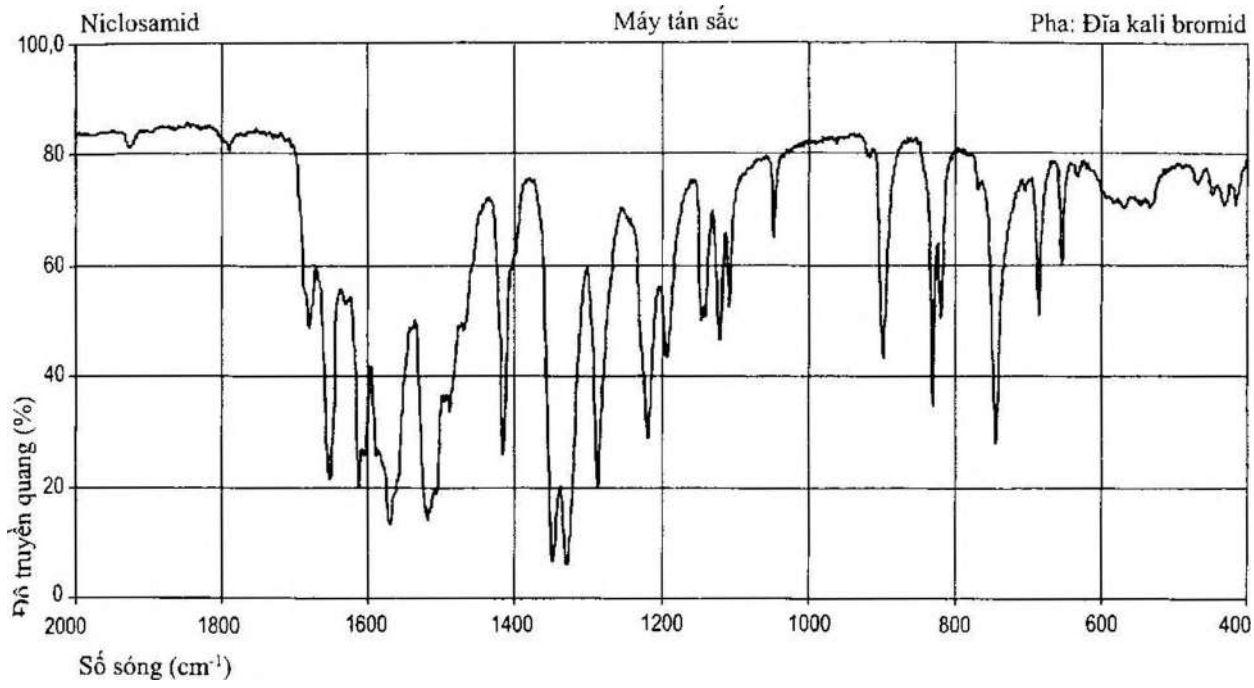
Metronidazol



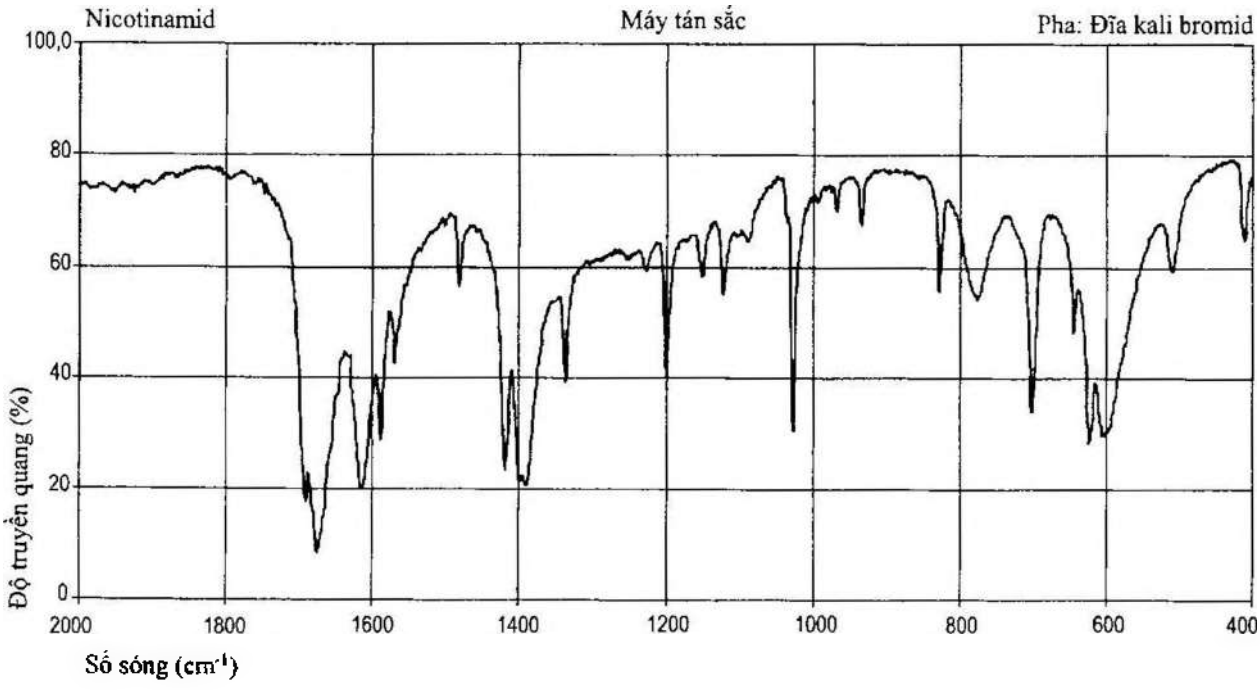
Morphin



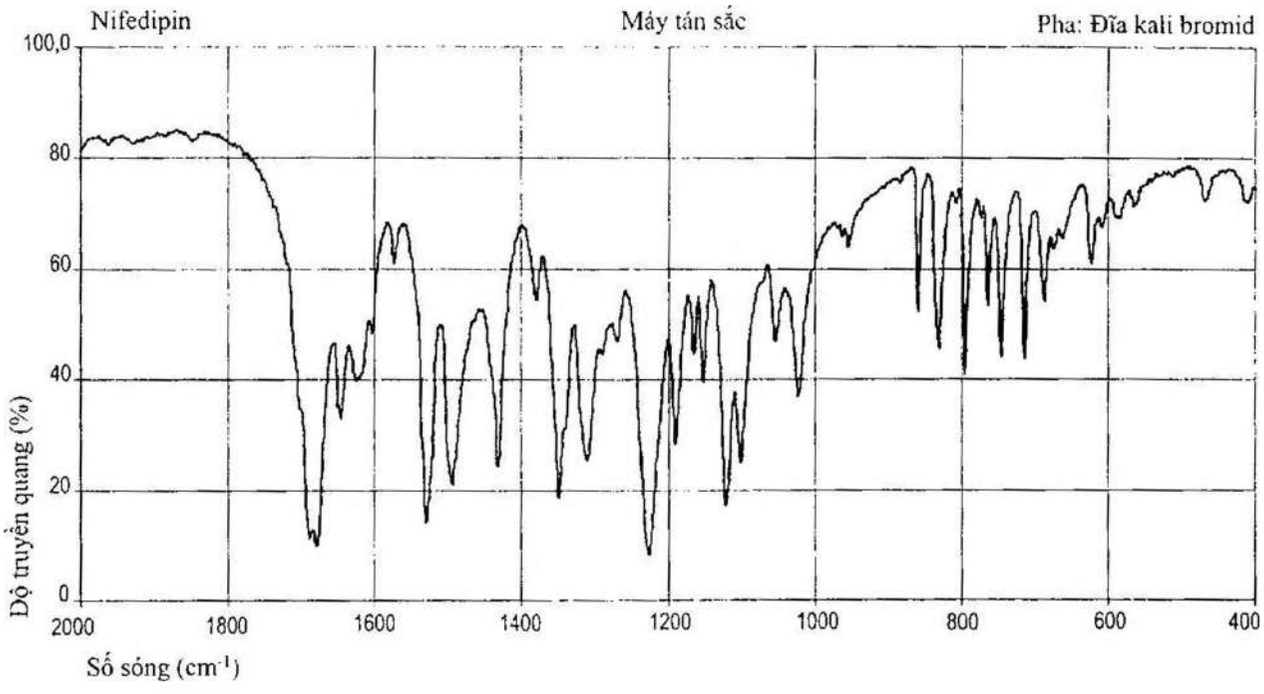
Niclosamid



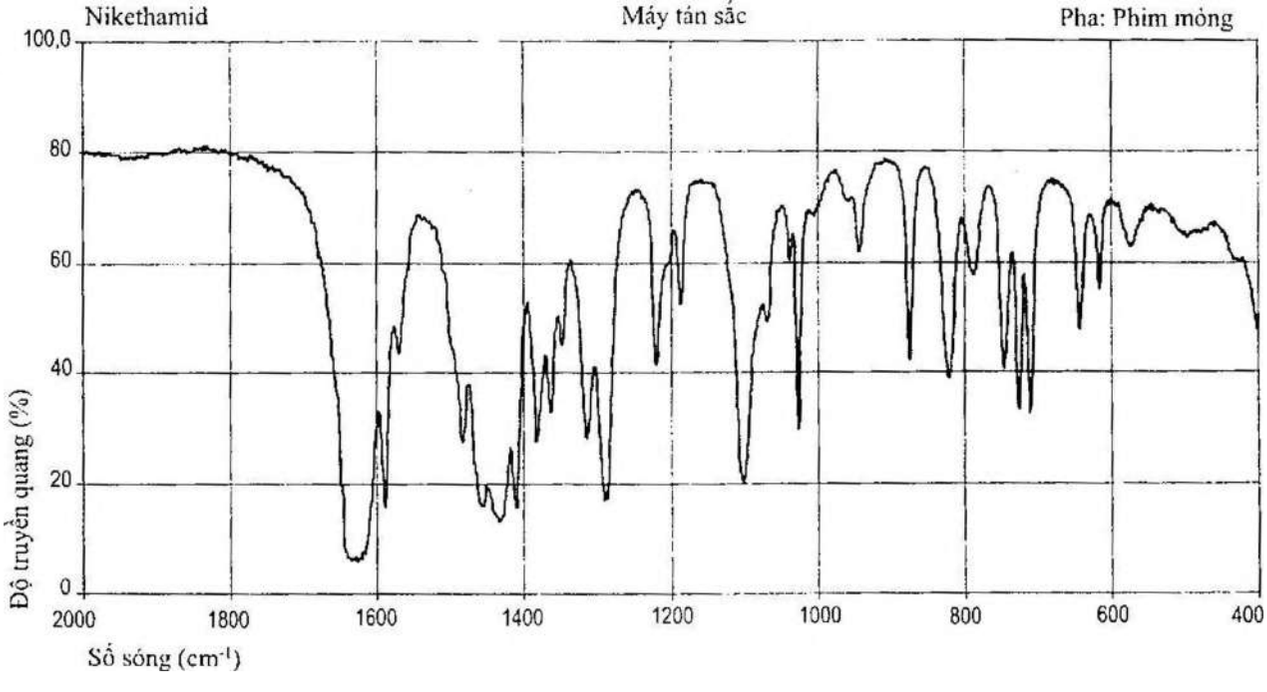
Nicotinamid



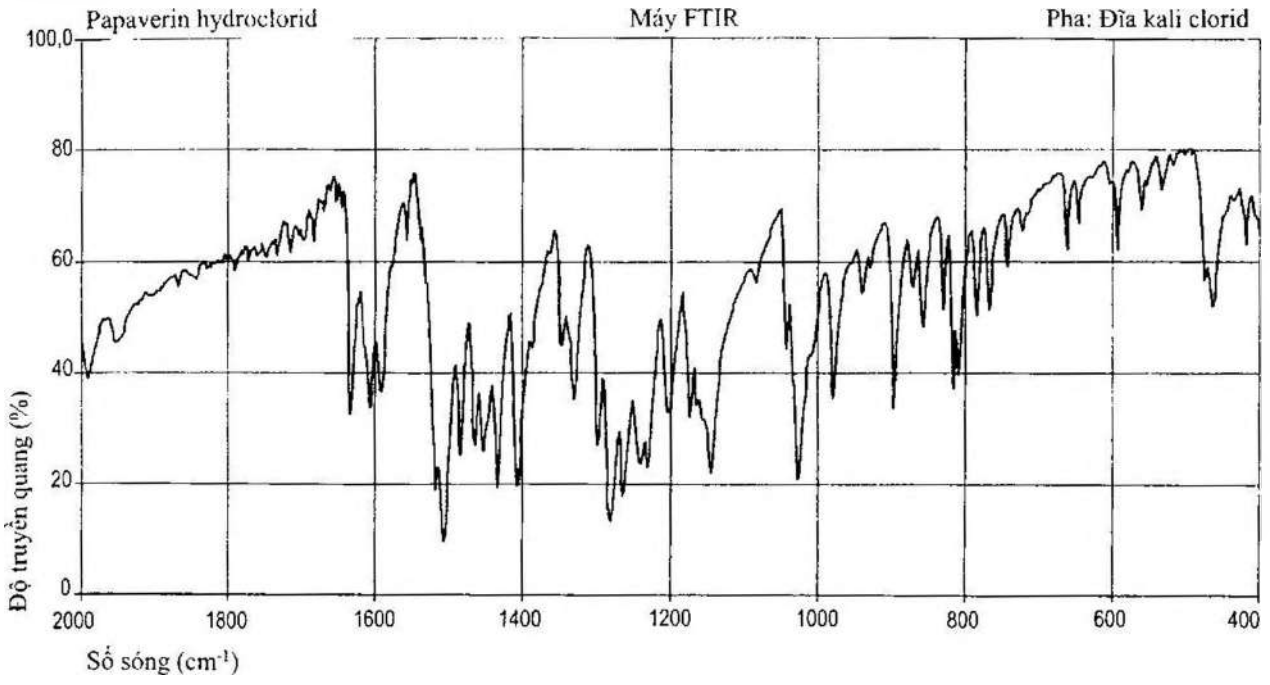
Nifedipin



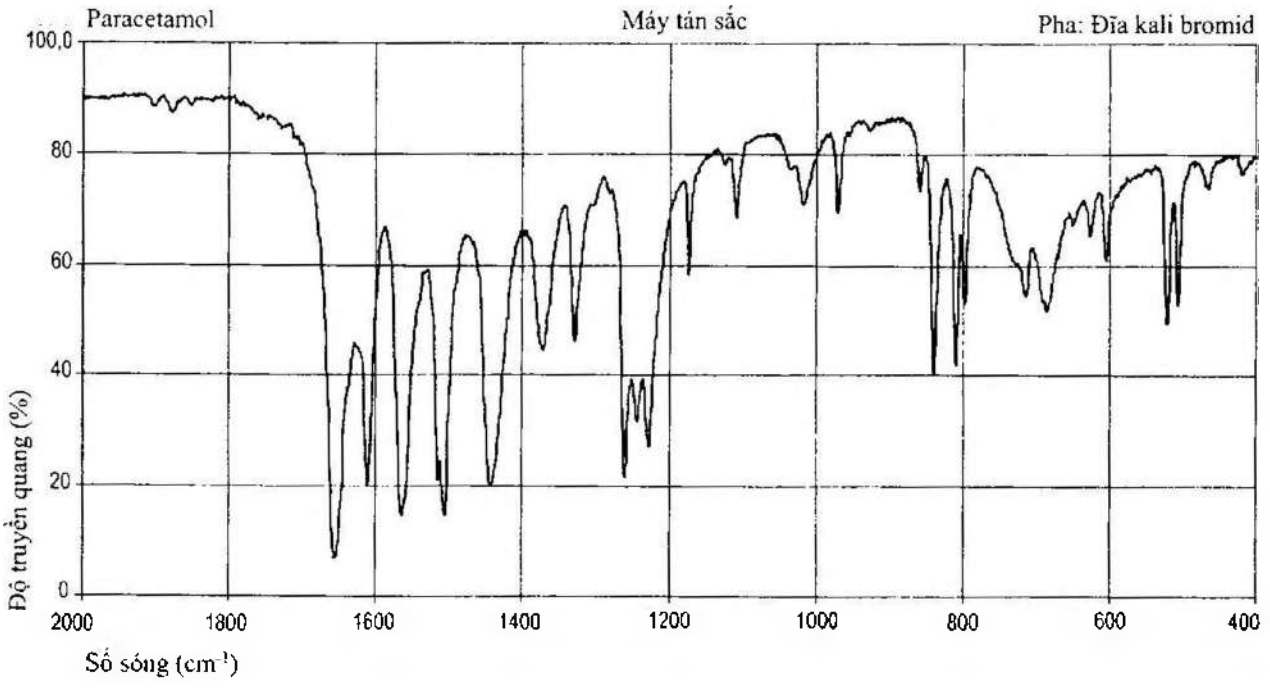
Nikethamid



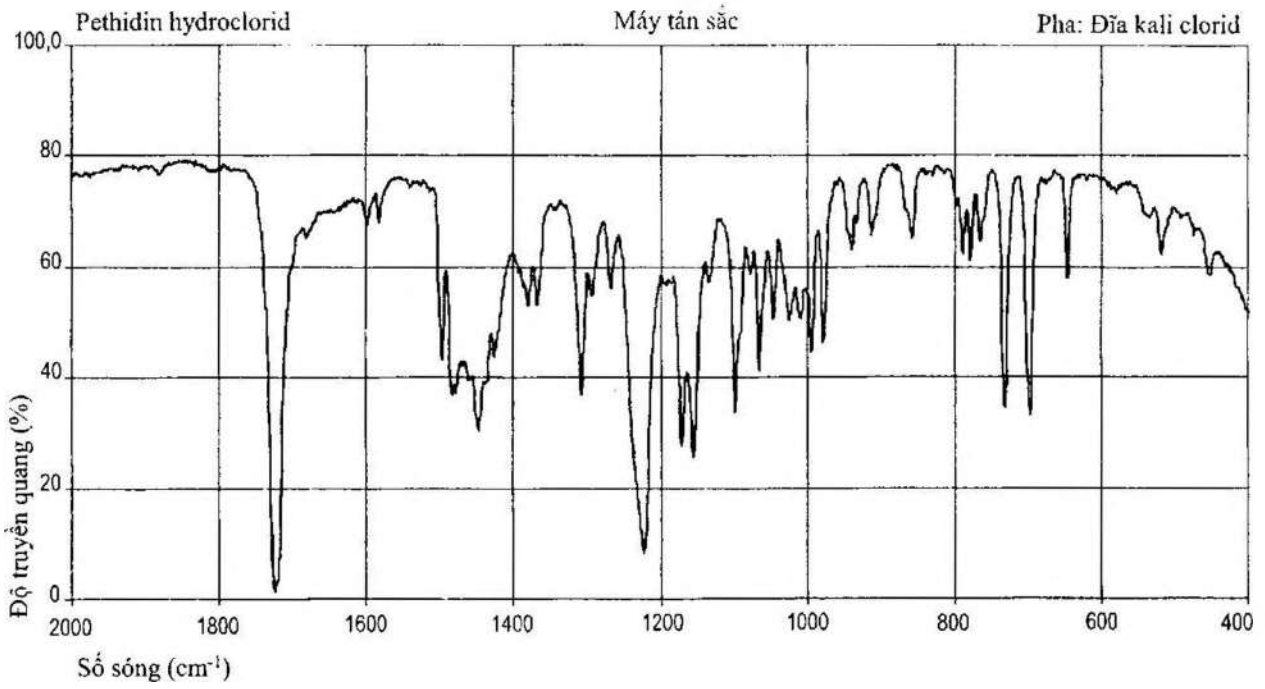
Papaverin hydroclorid



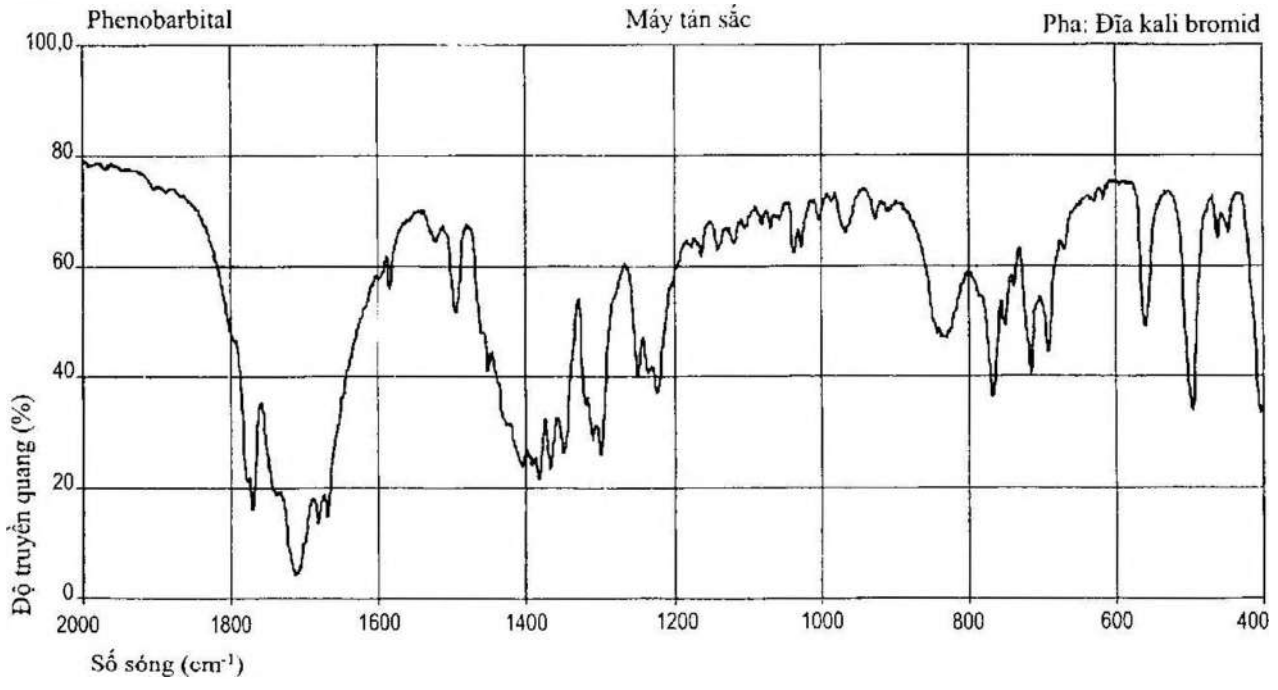
Paracetamol



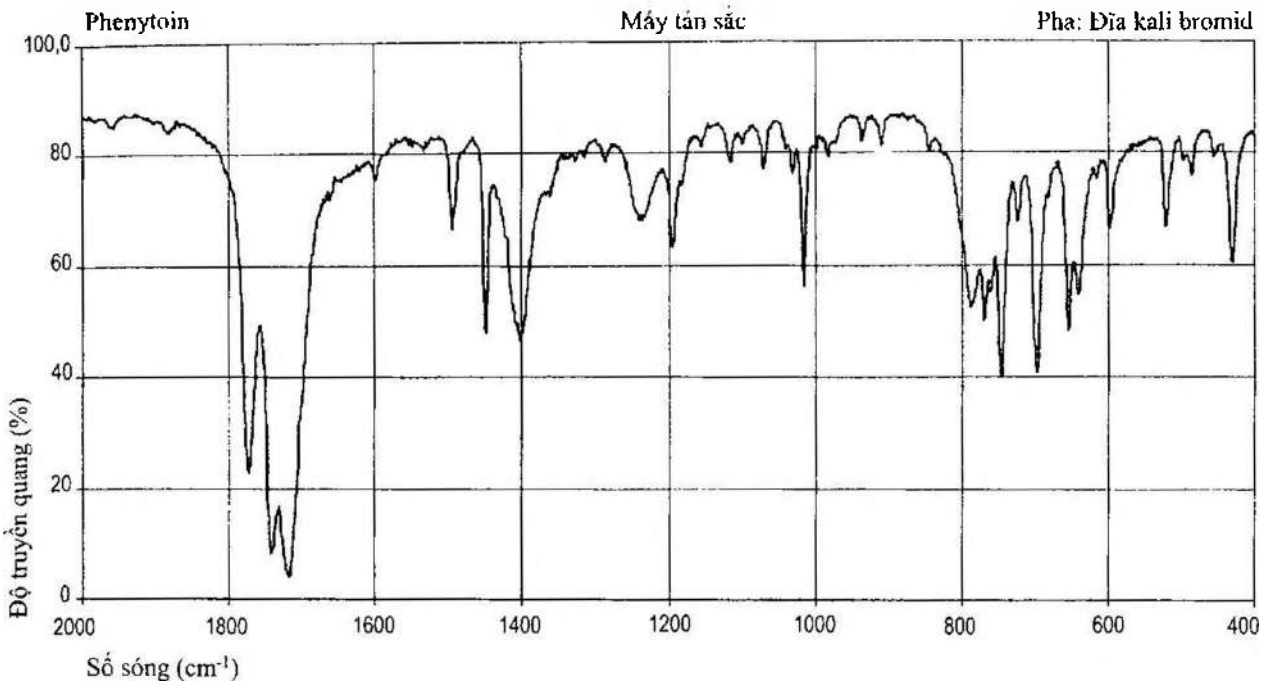
Pethidin hydroclorid



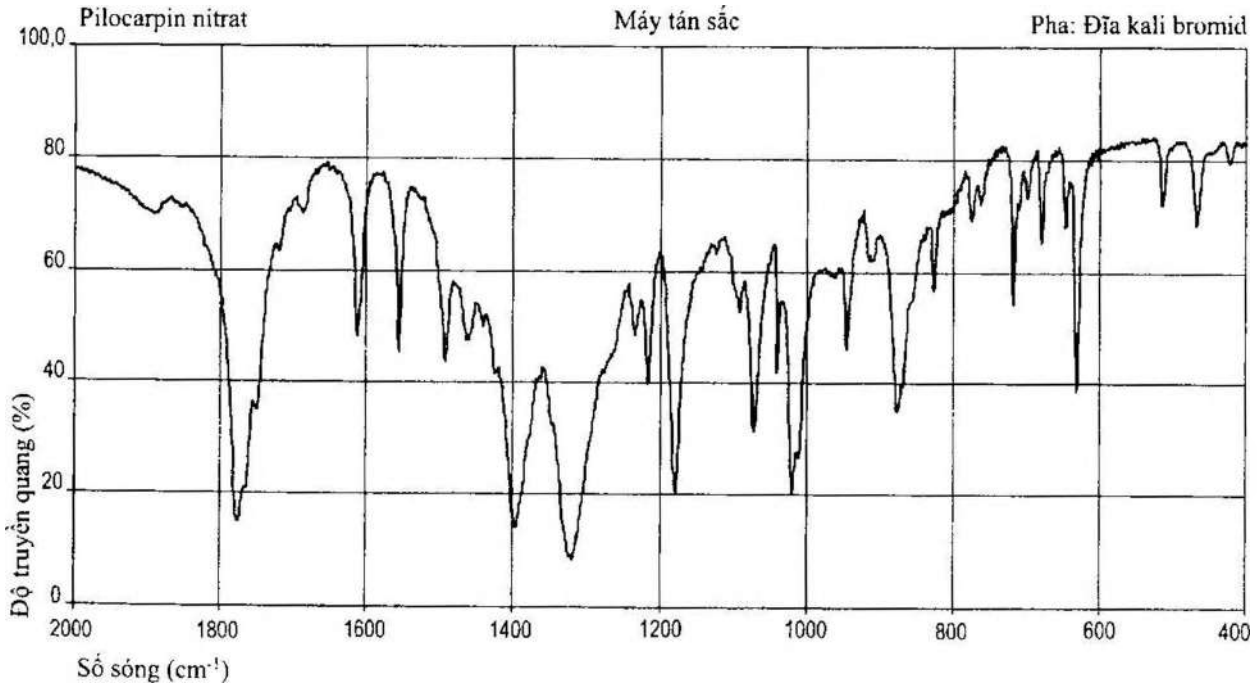
Phenobarbital



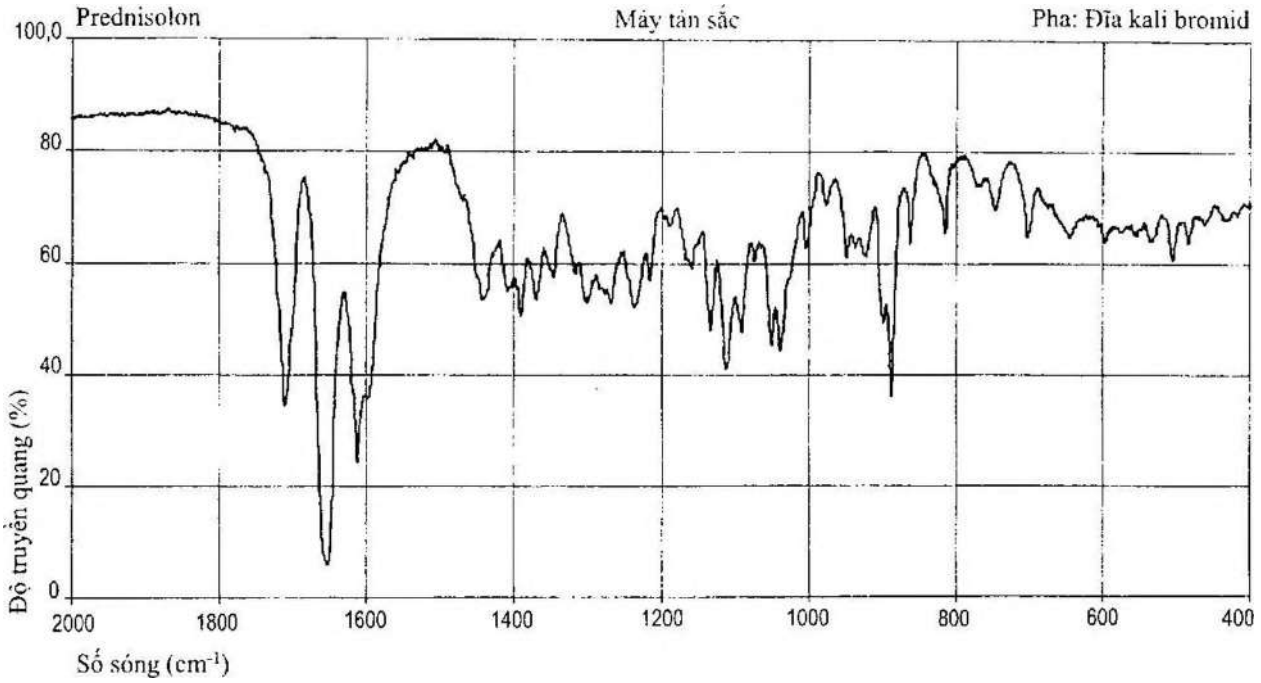
Phenytoin



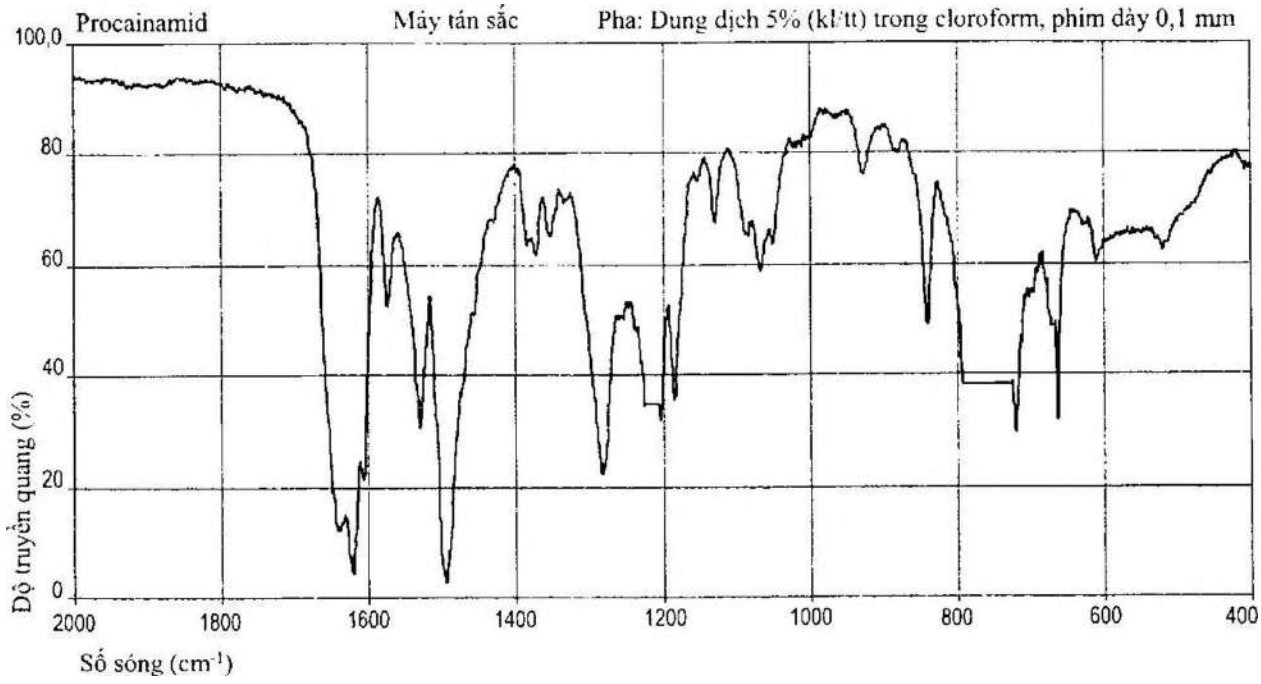
Pilocarpin nitrat



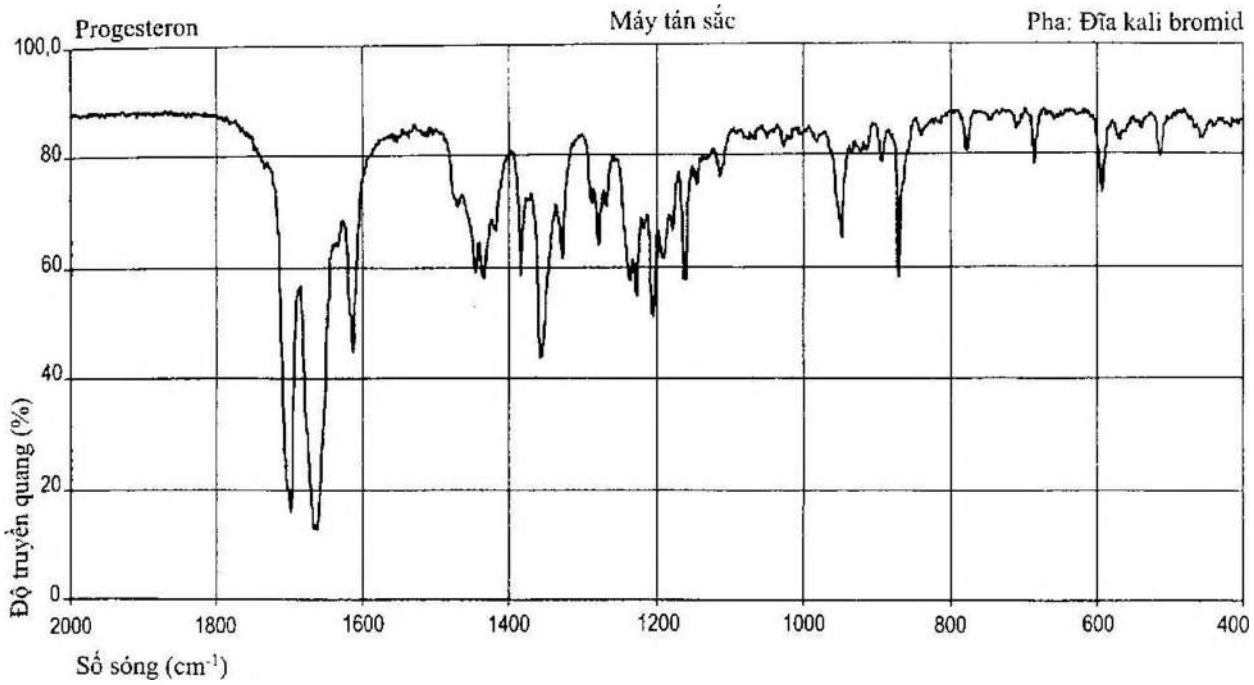
Prednisolon



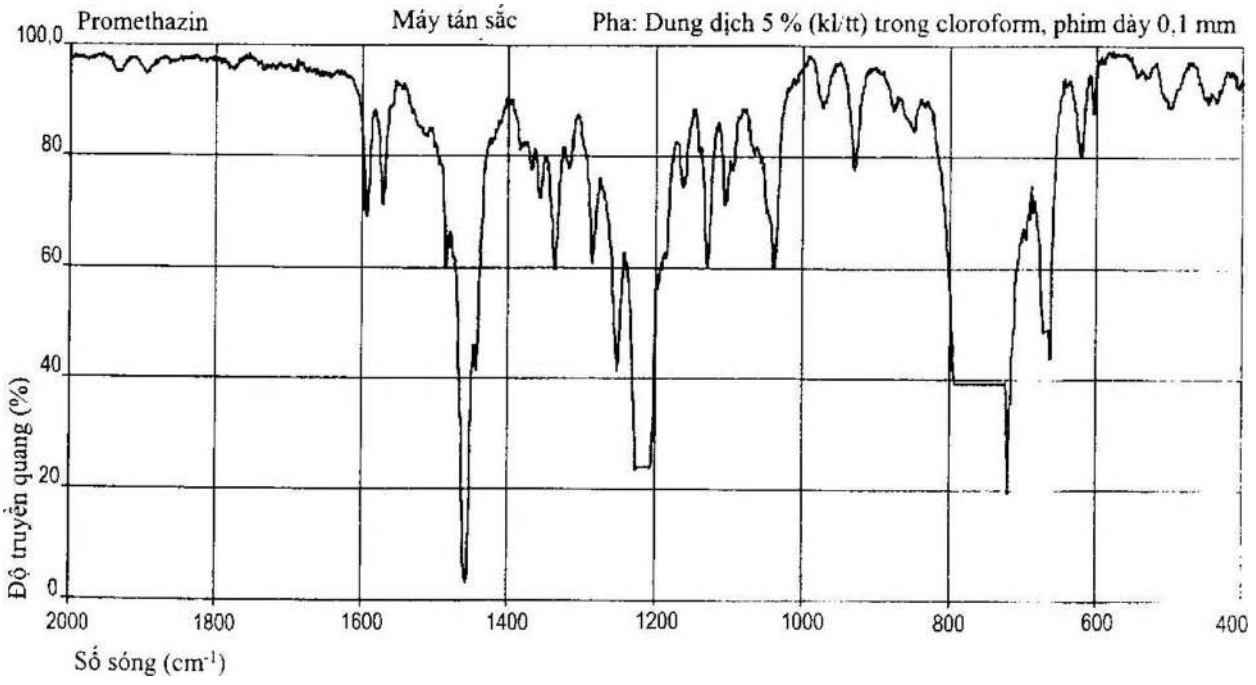
Procainamid



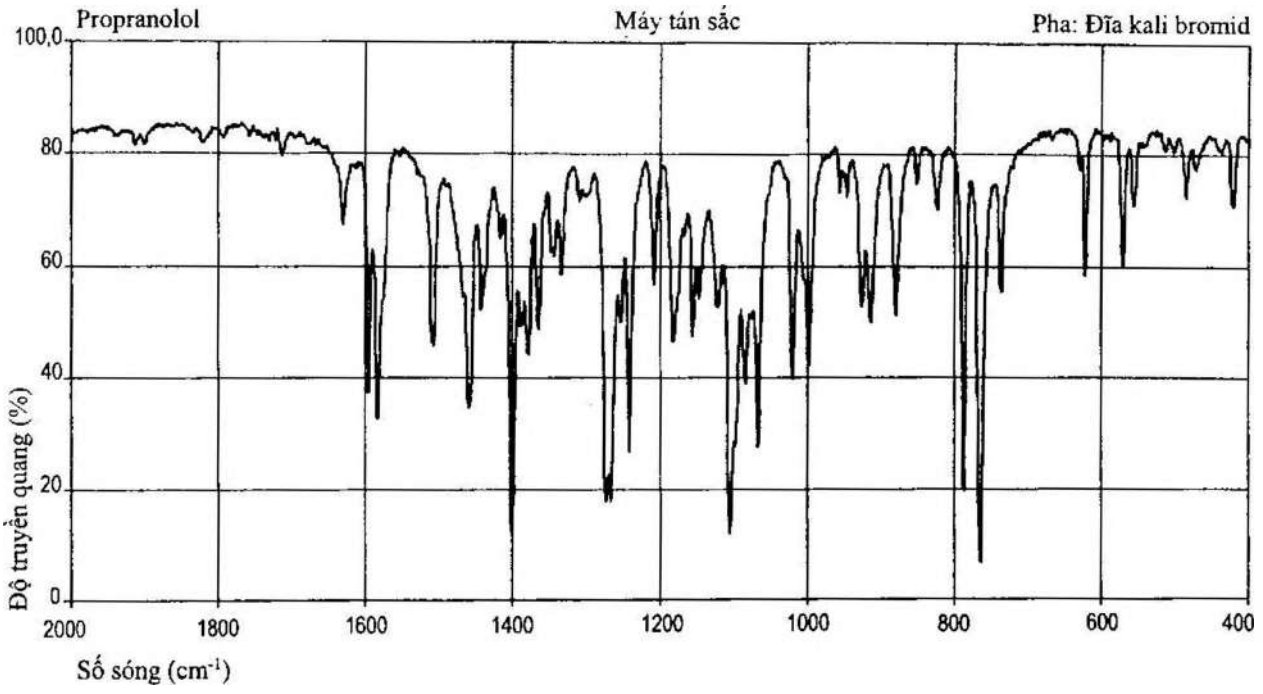
Progesteron



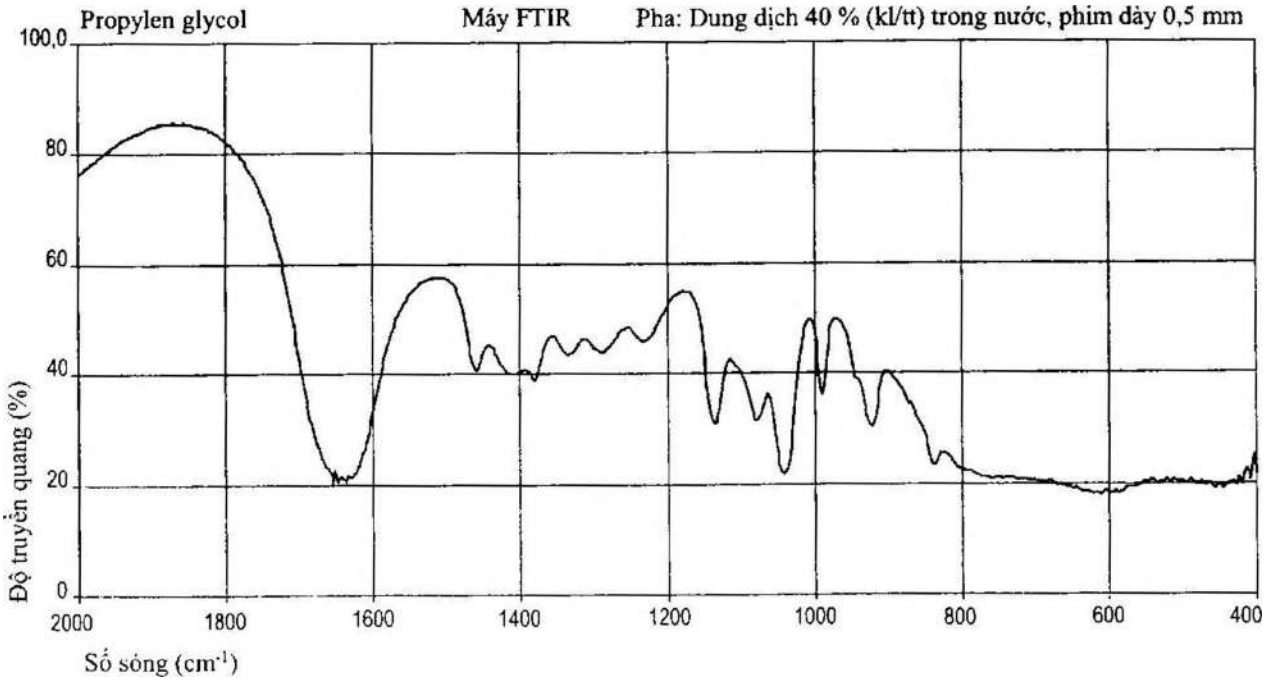
Promethazin



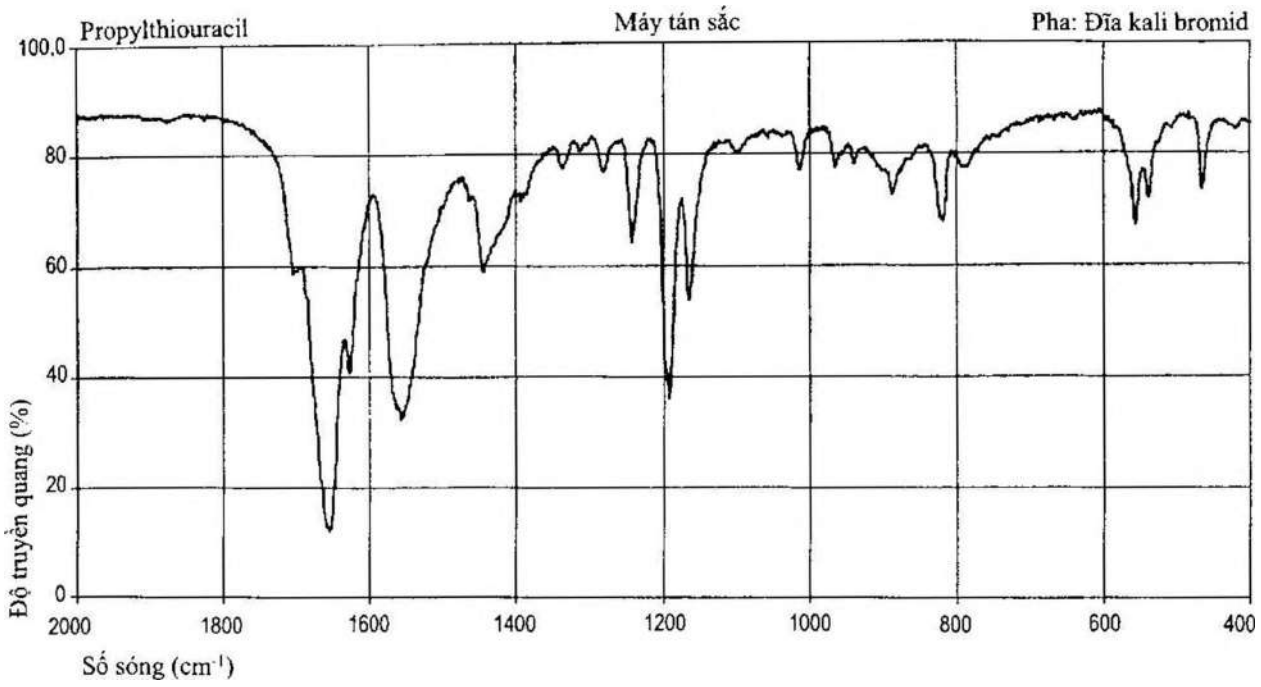
Propranolol



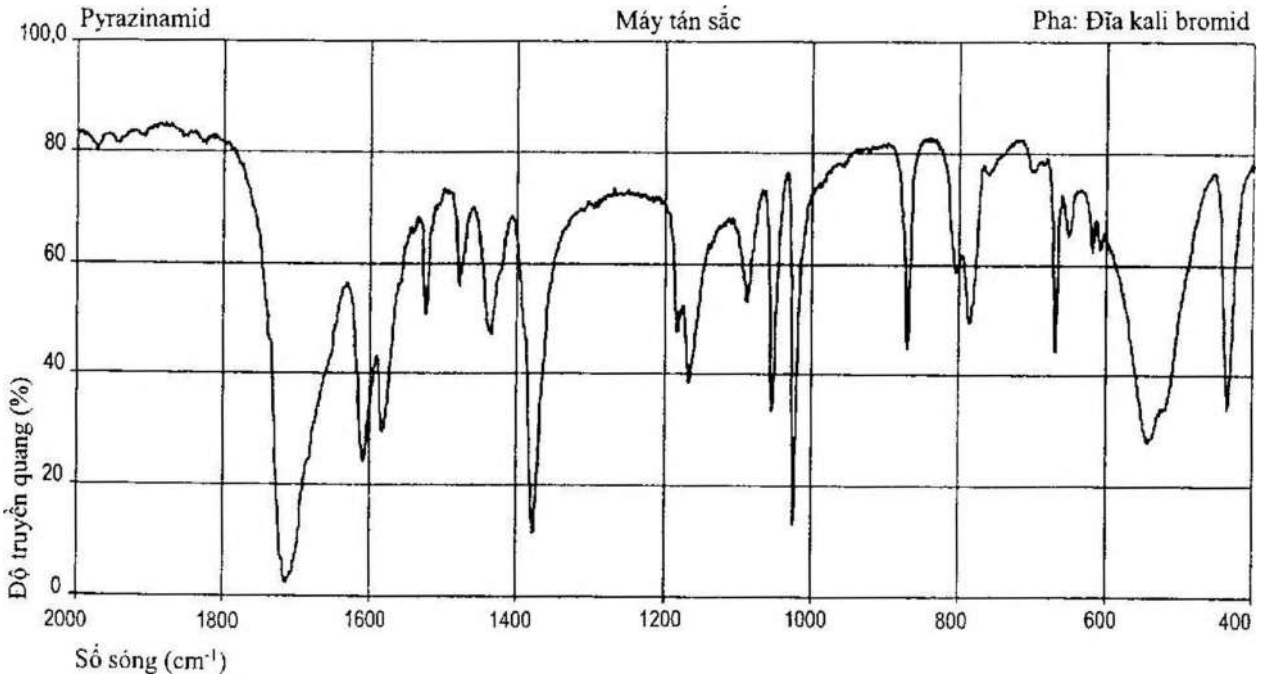
Propylen glycol



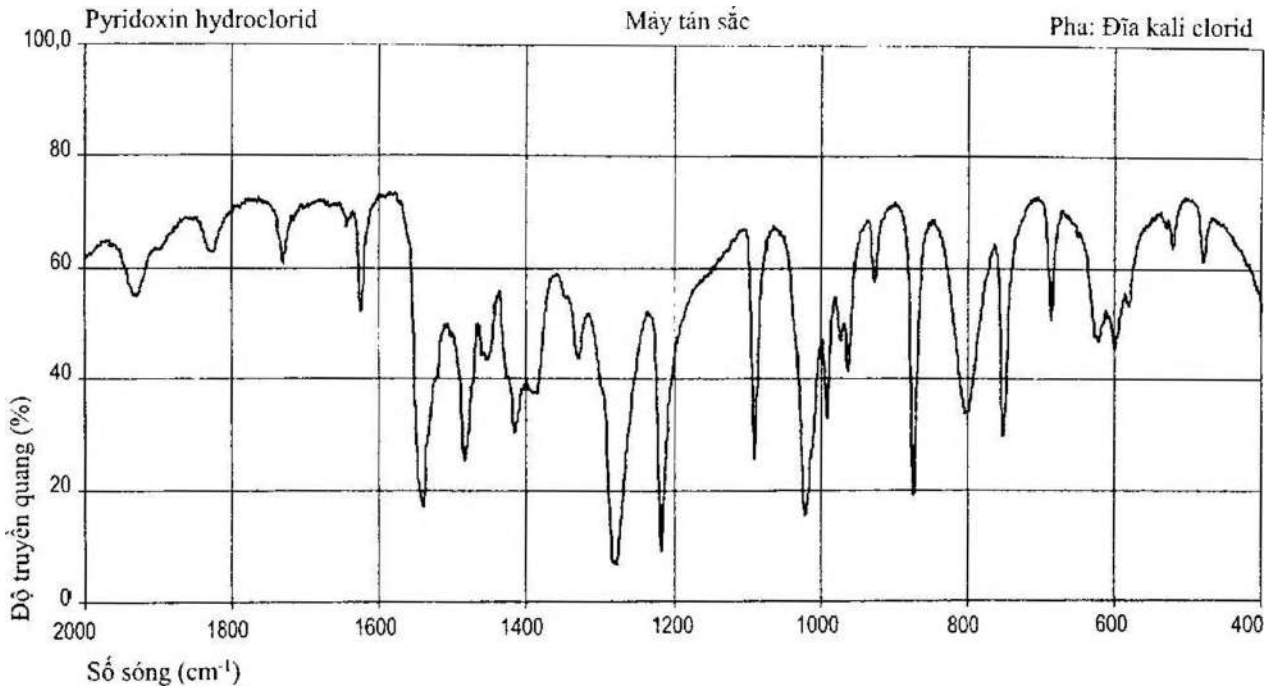
Propylthiouracil



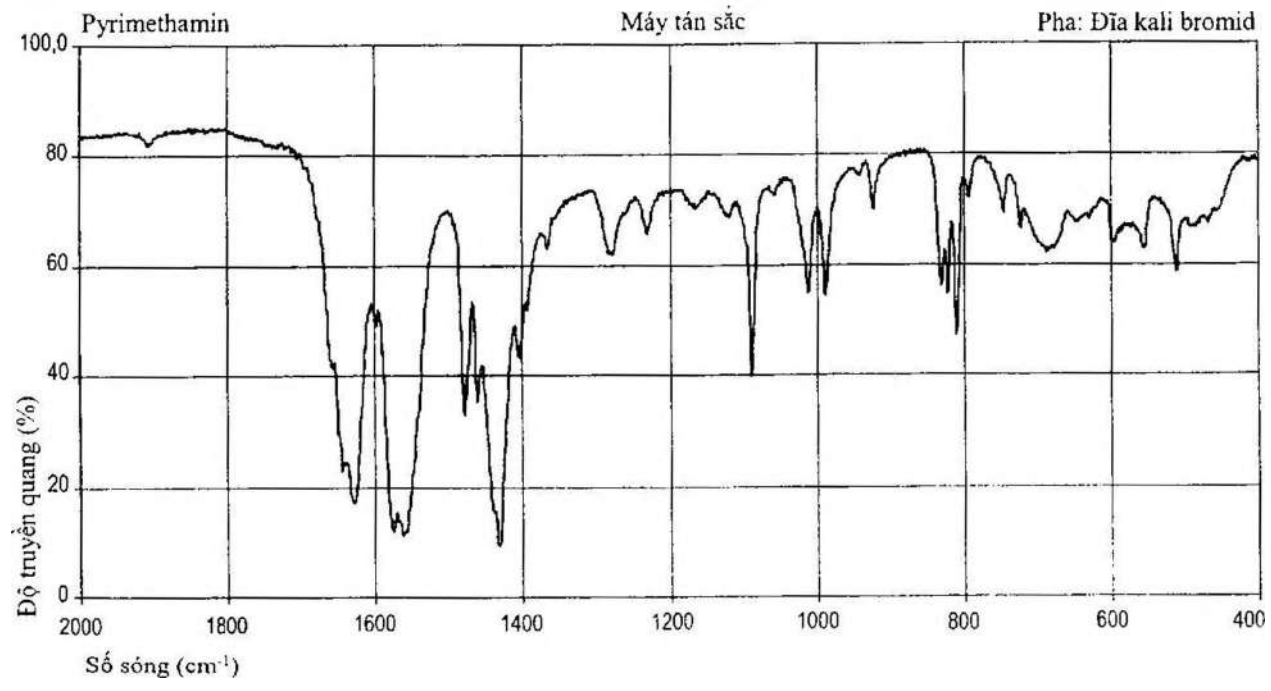
Pyrazinamid



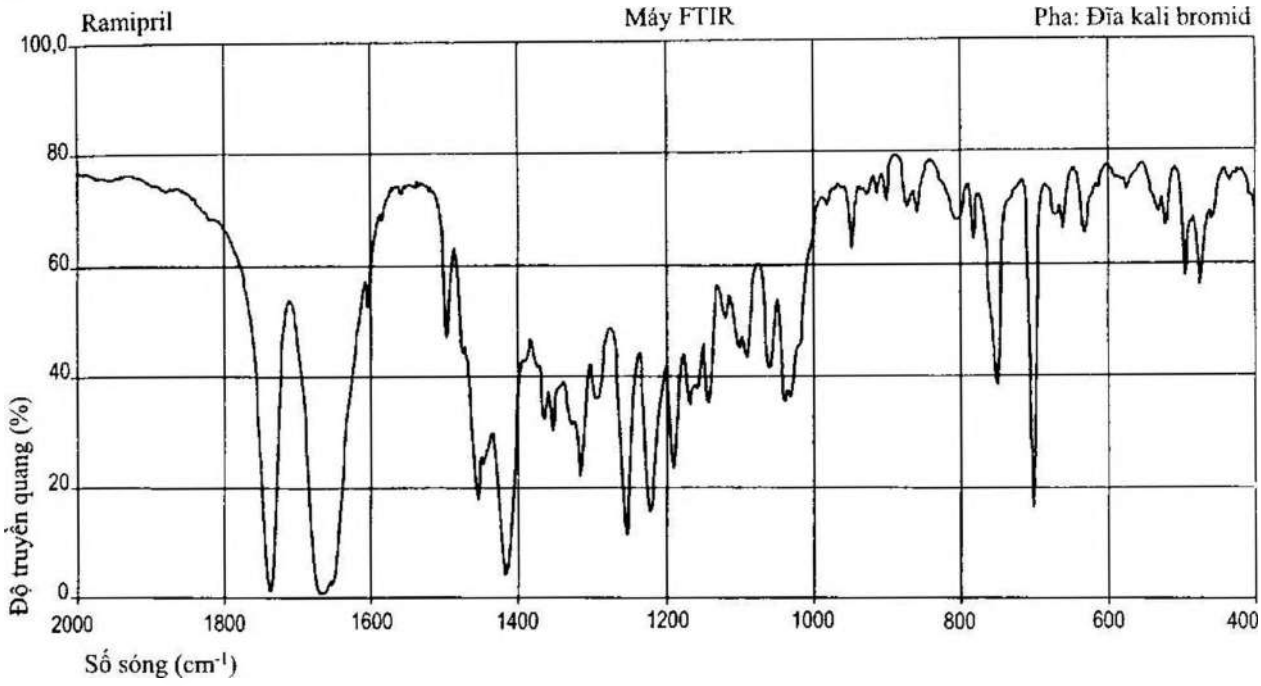
Pyridoxin hydroclorid



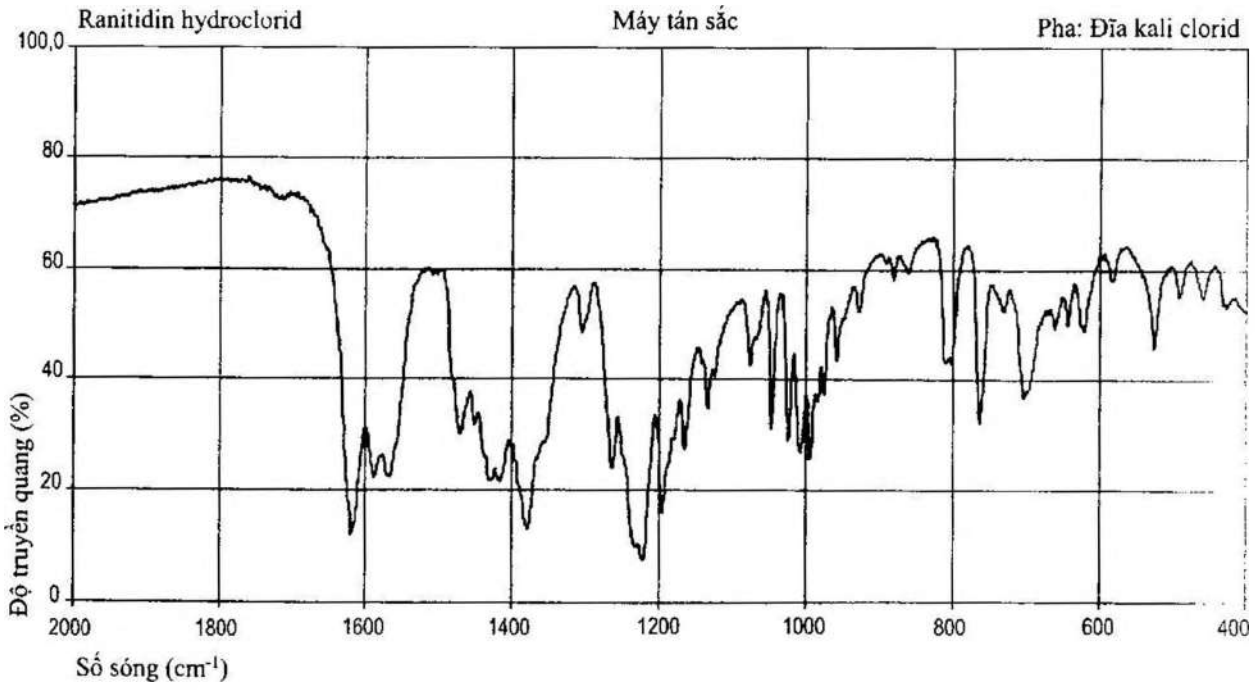
Pyrimethamin



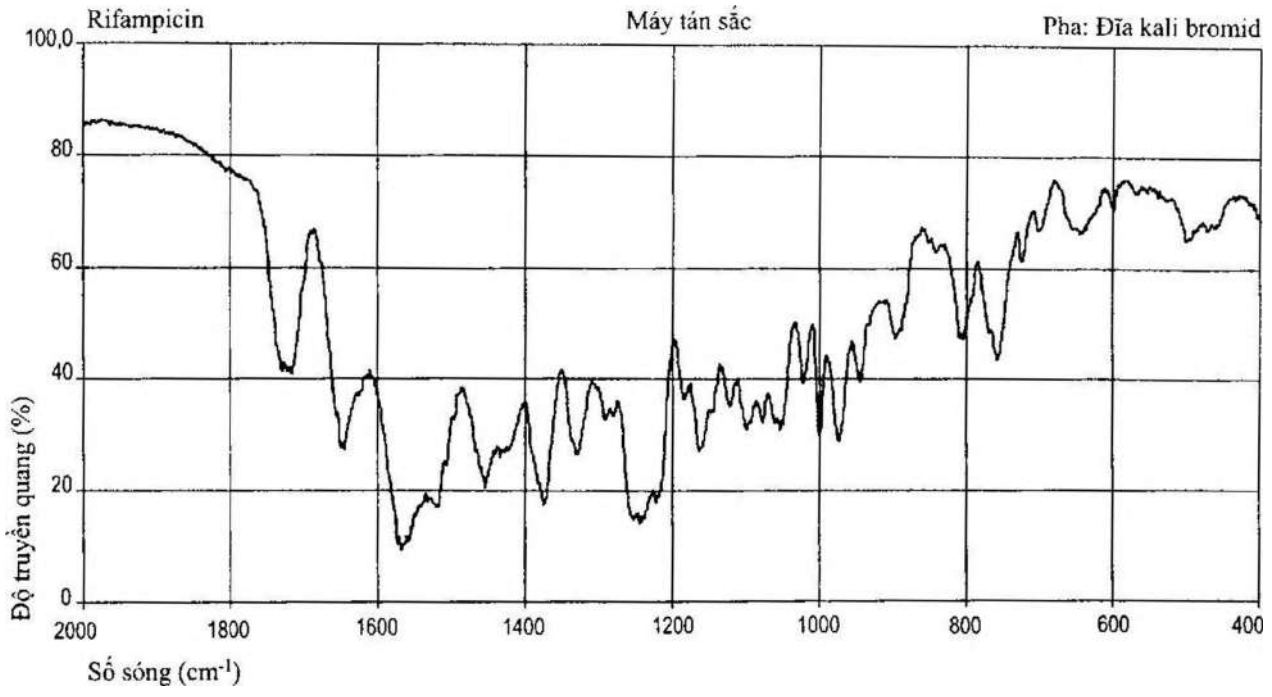
Ramipril



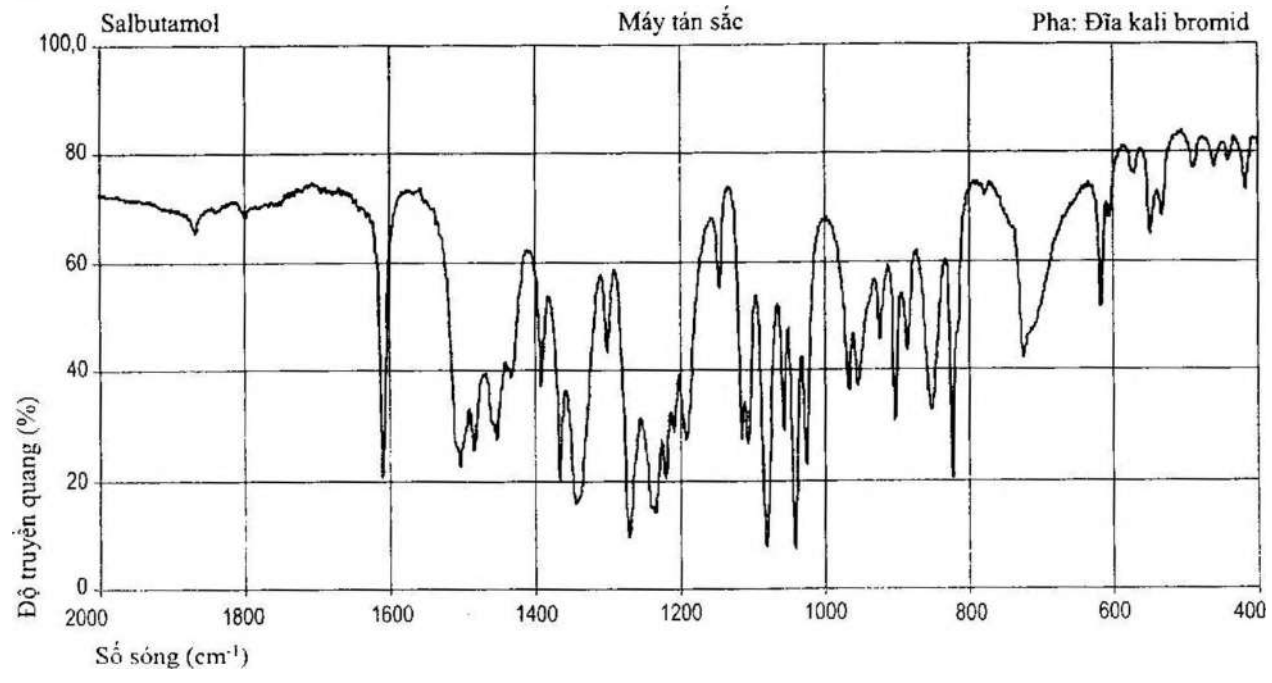
Ranitidin hydroclorid



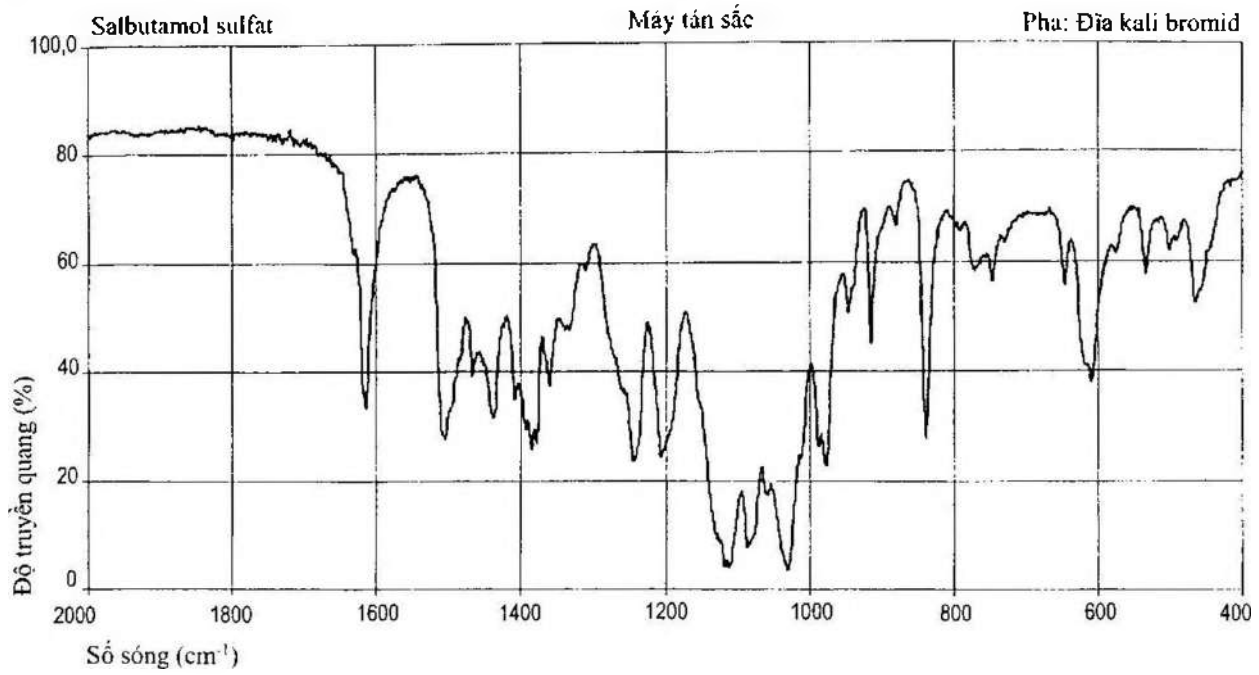
Rifampicin



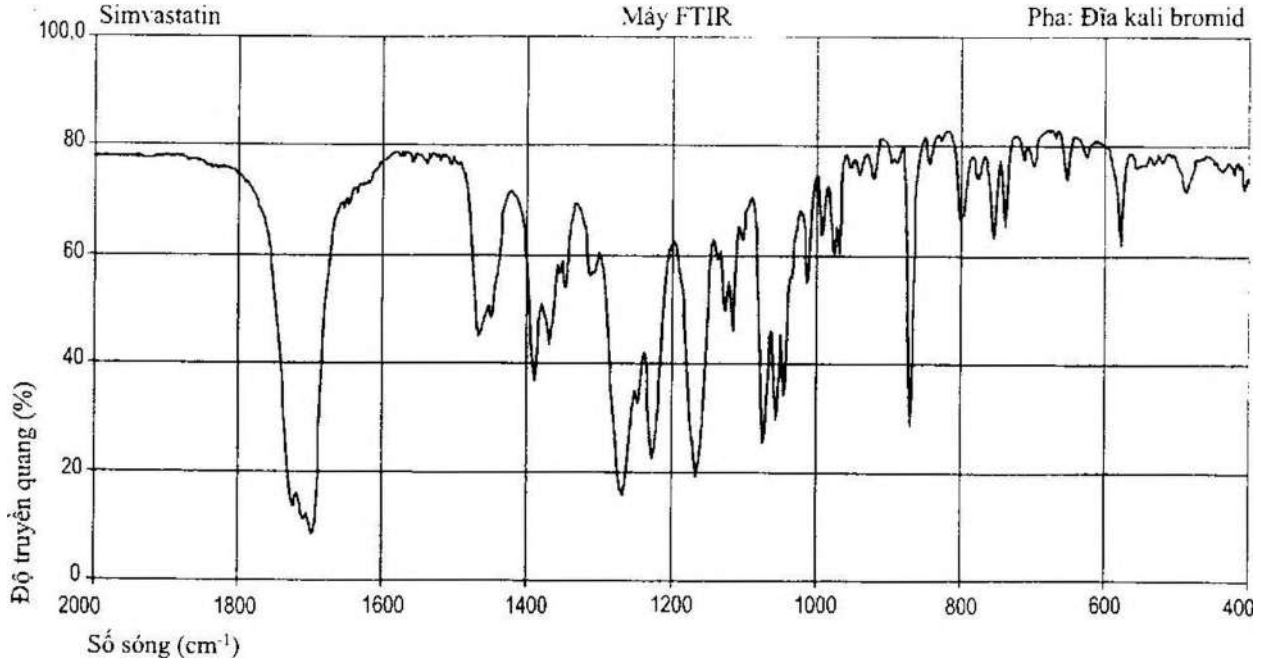
Salbutamol



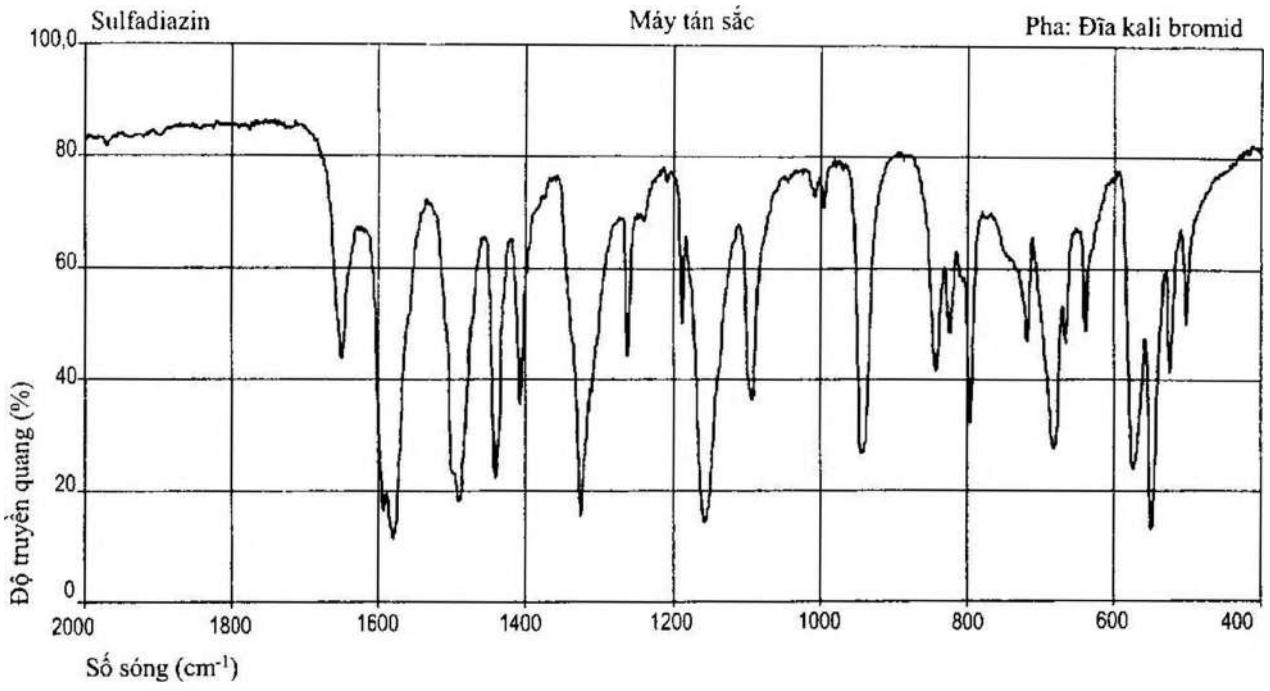
Salbutamol sulfat



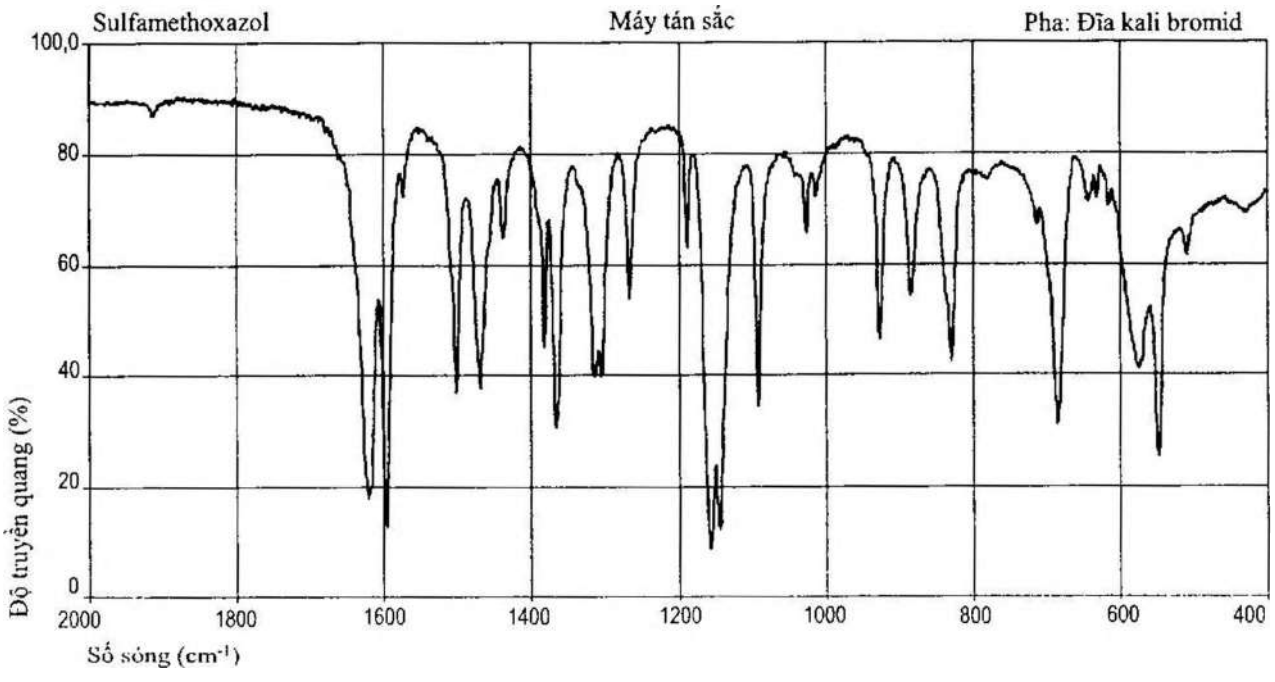
Simvastatin



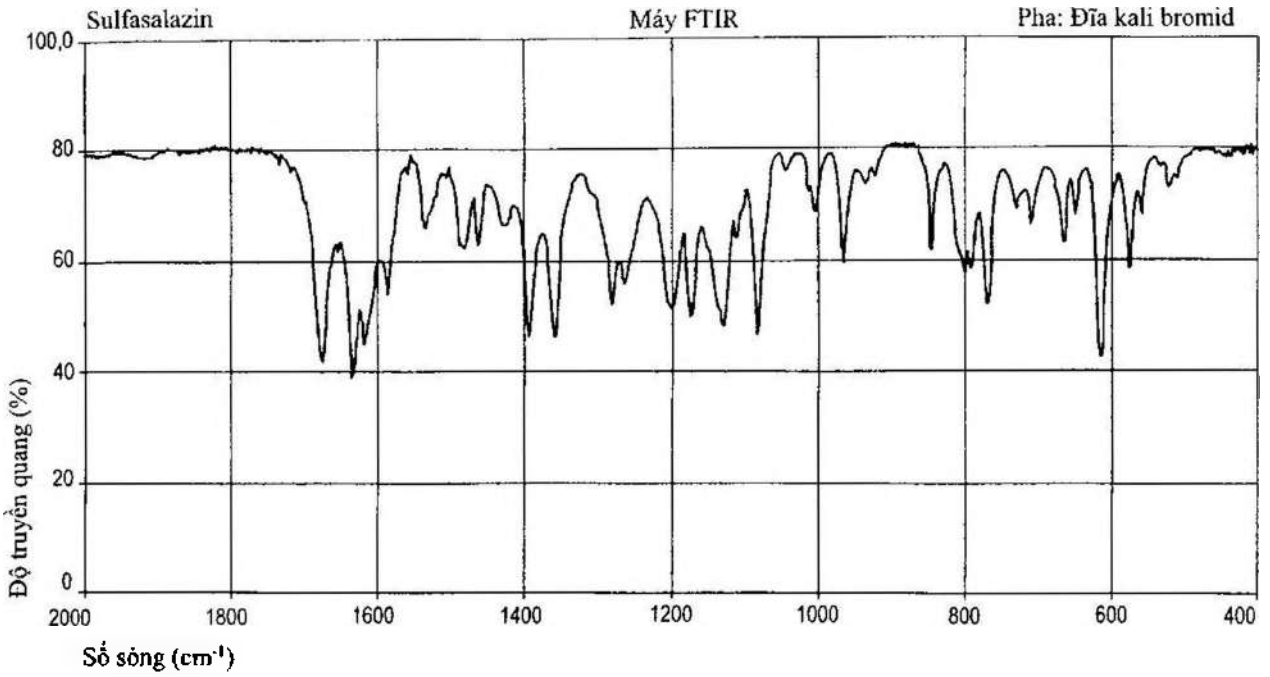
Sulfadiazin



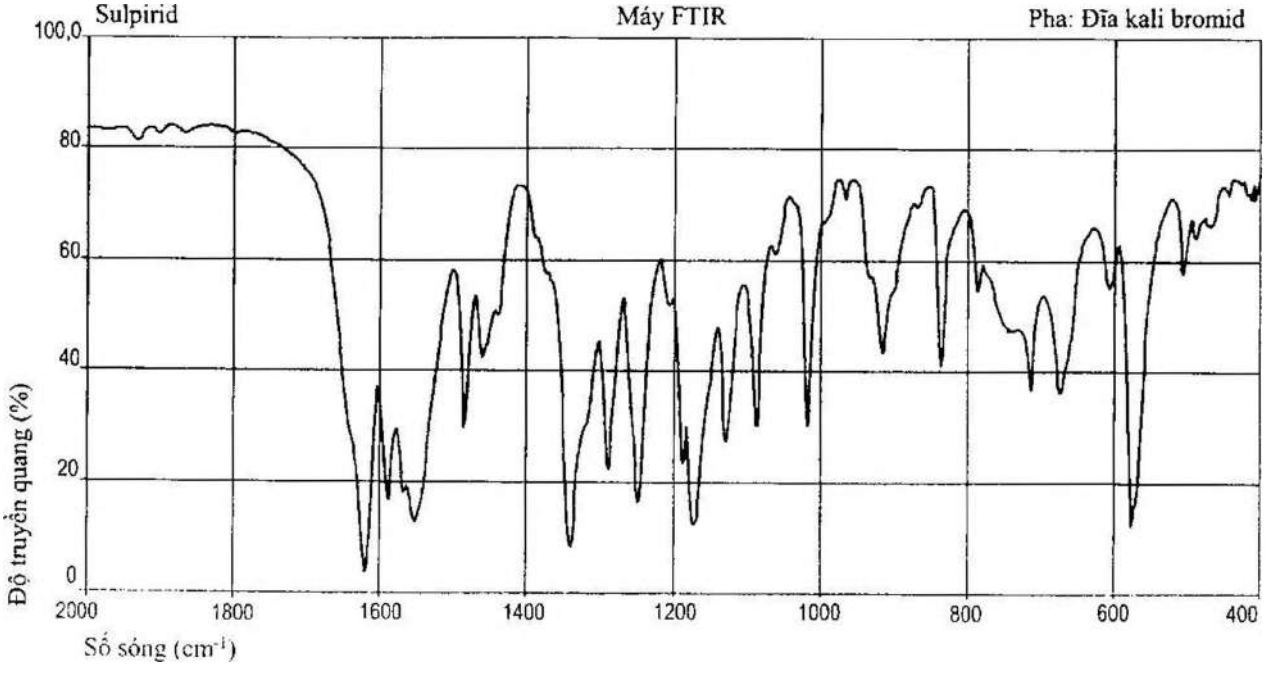
Sulfamethoxazol



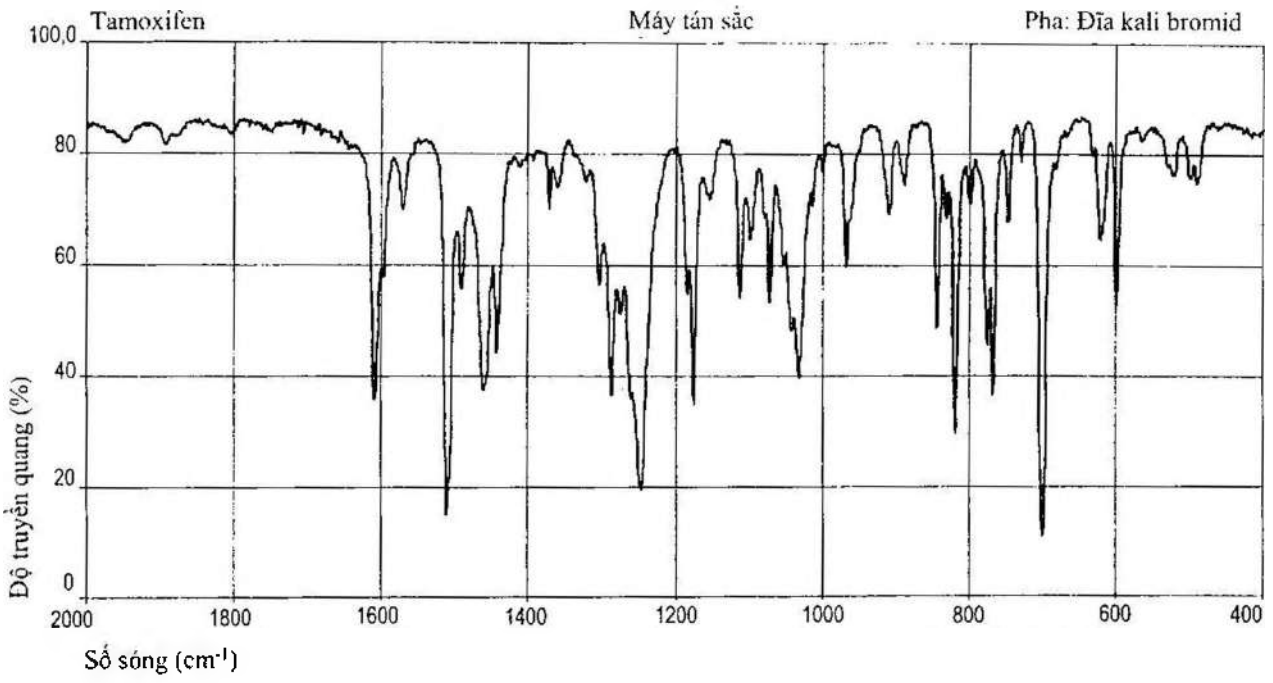
Sulfasalazin



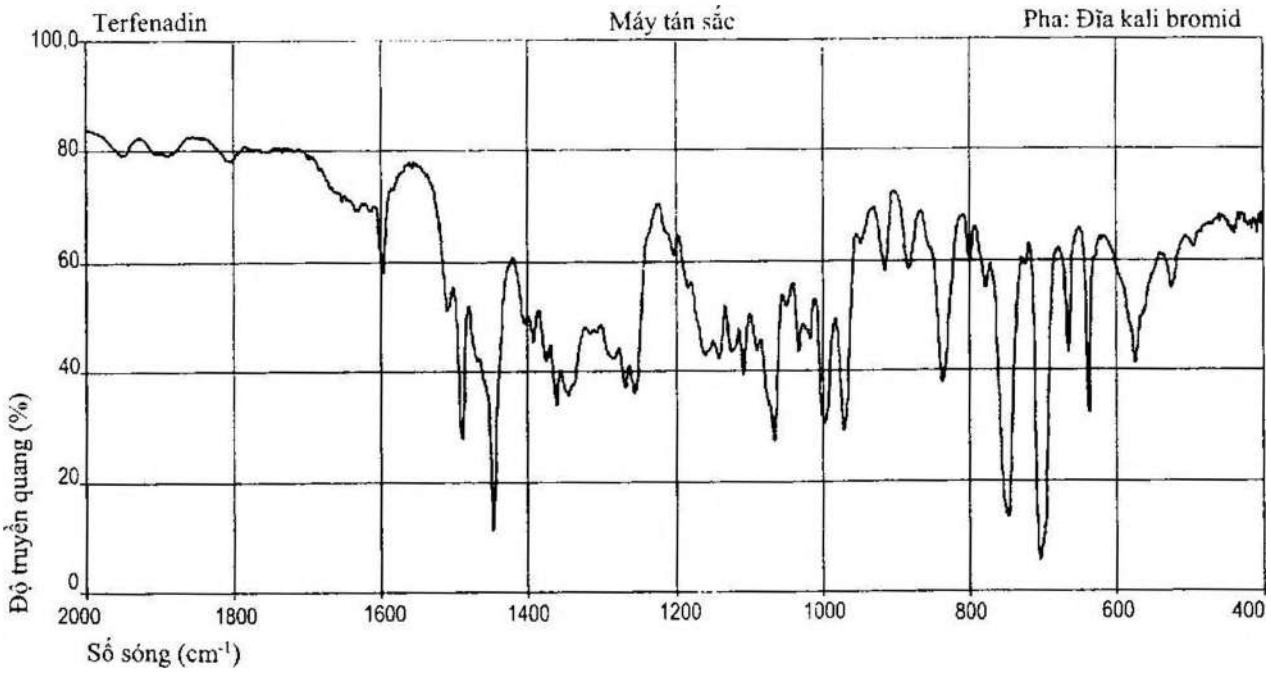
Sulpirid



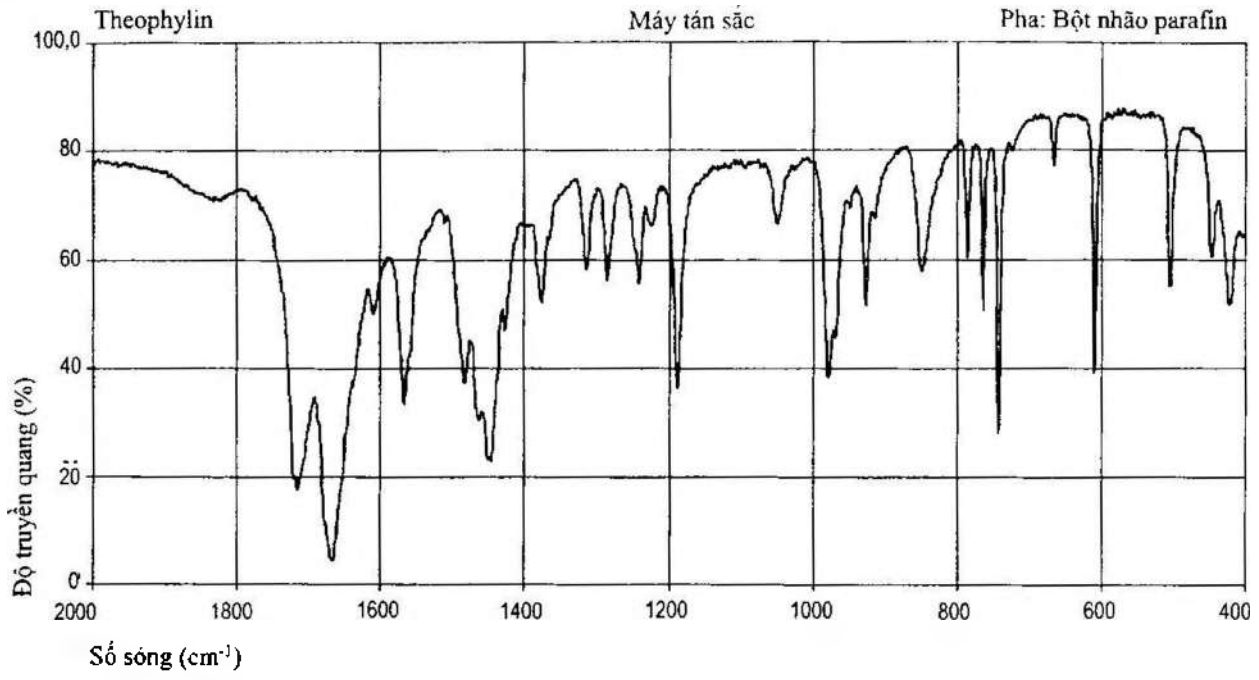
Tamoxifen



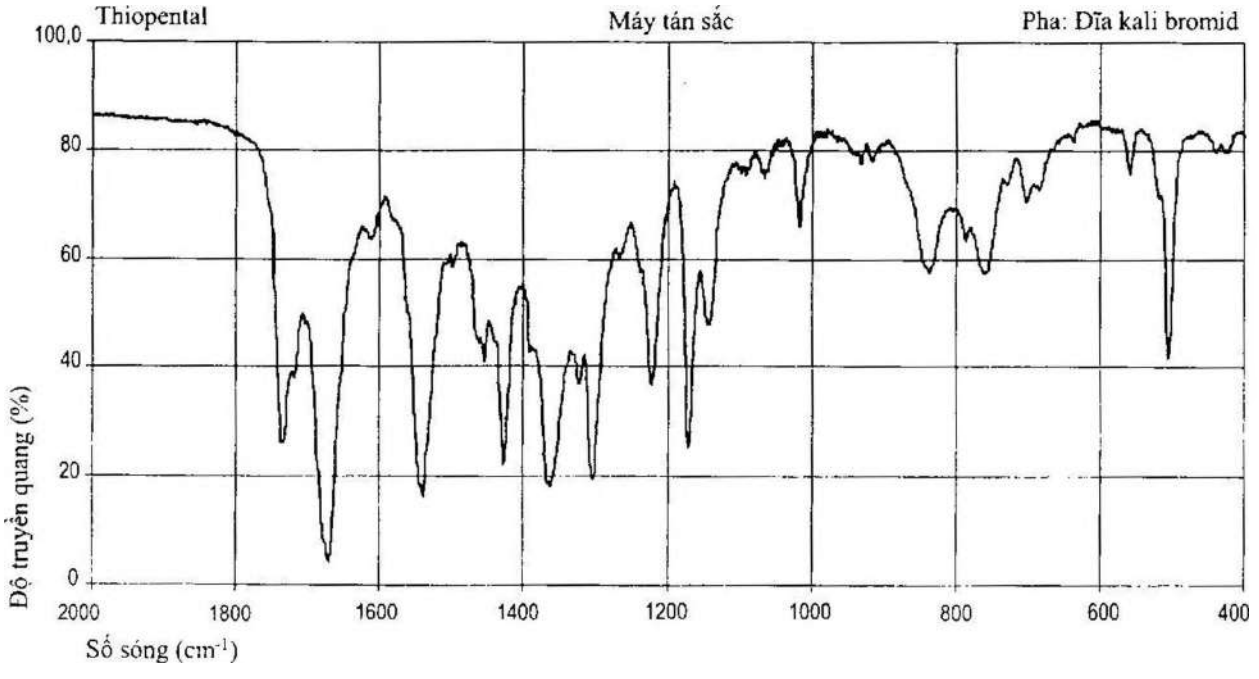
Terfenadin



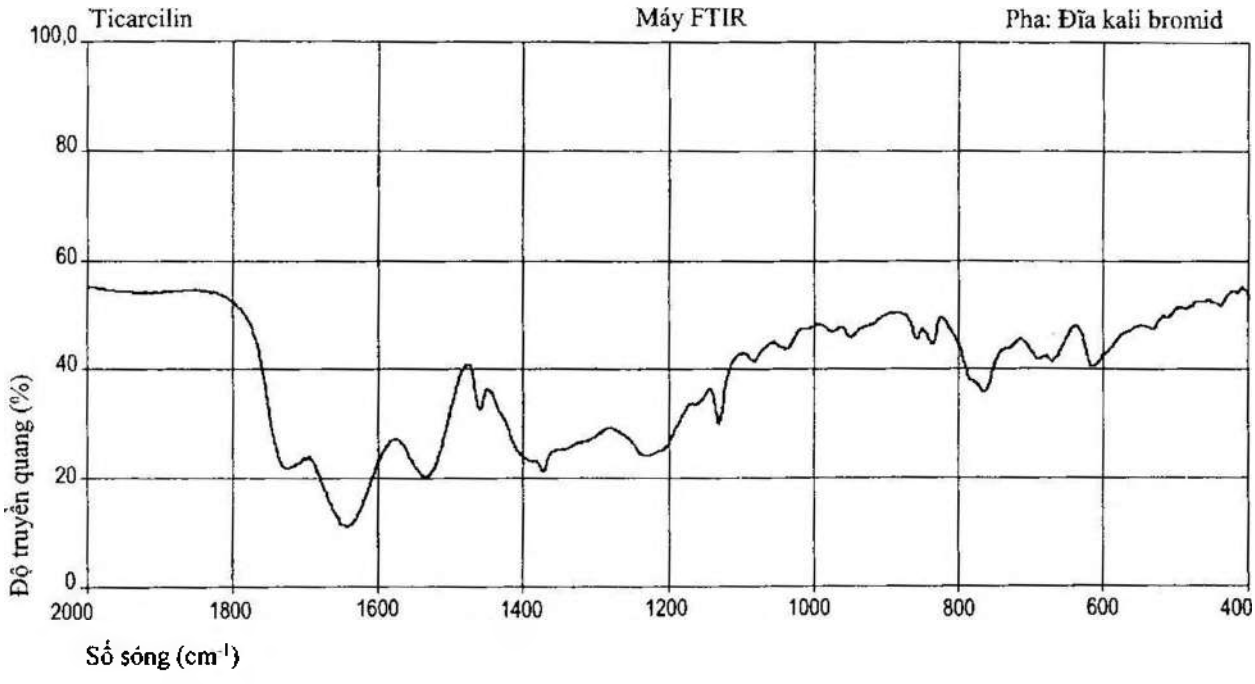
Theophylin



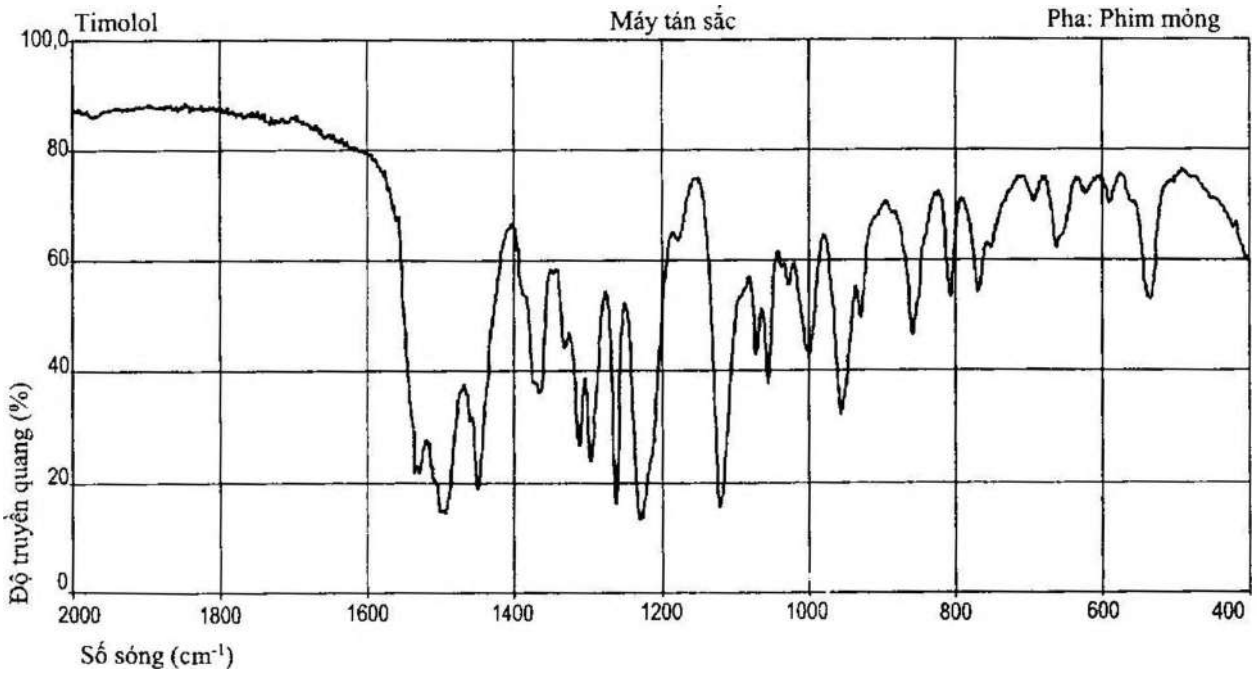
Thiopental



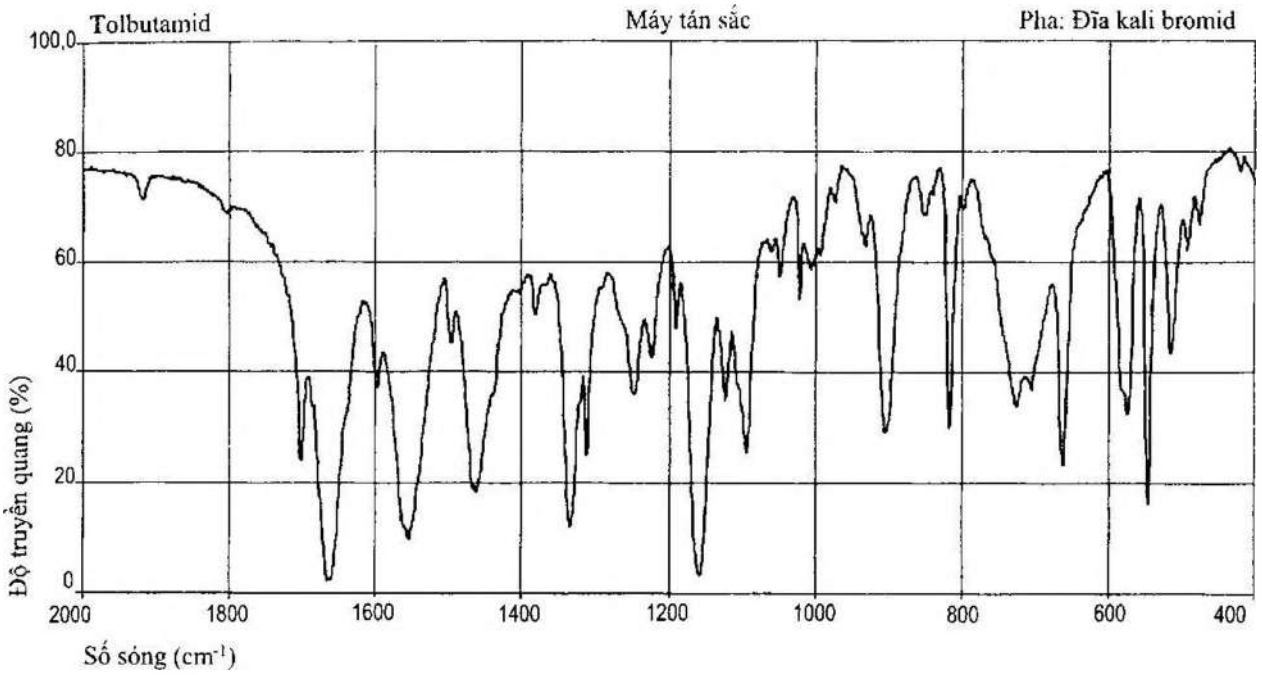
Ticarcilin



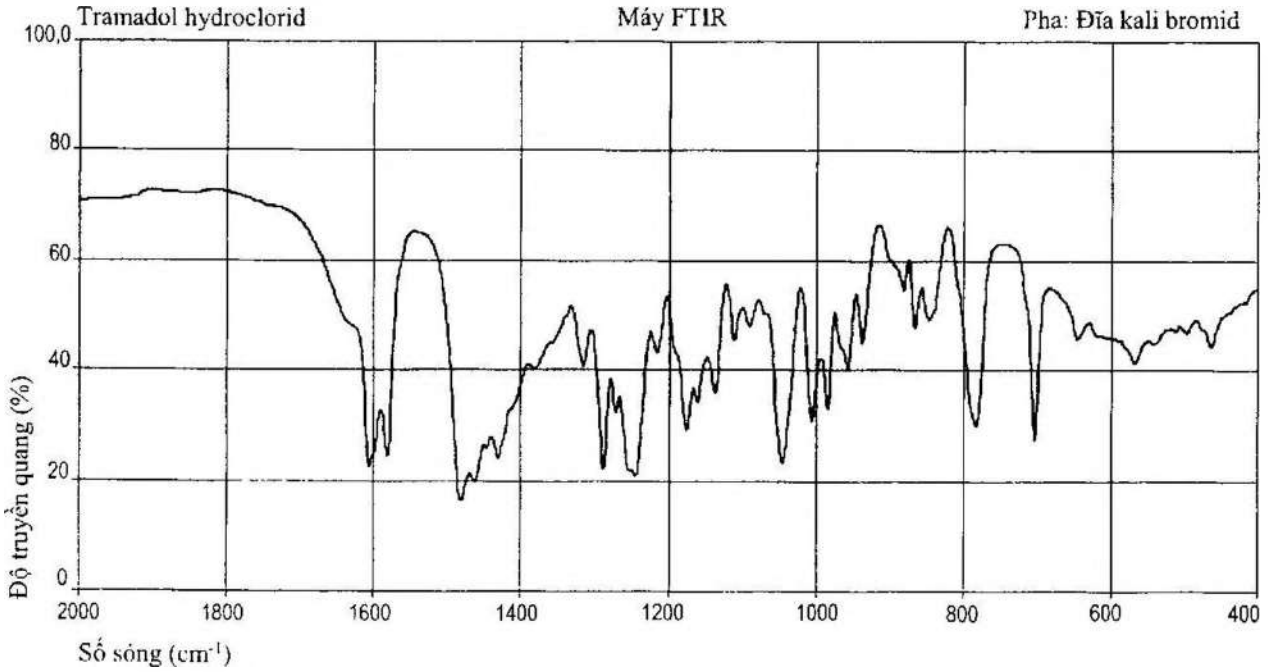
Timolol



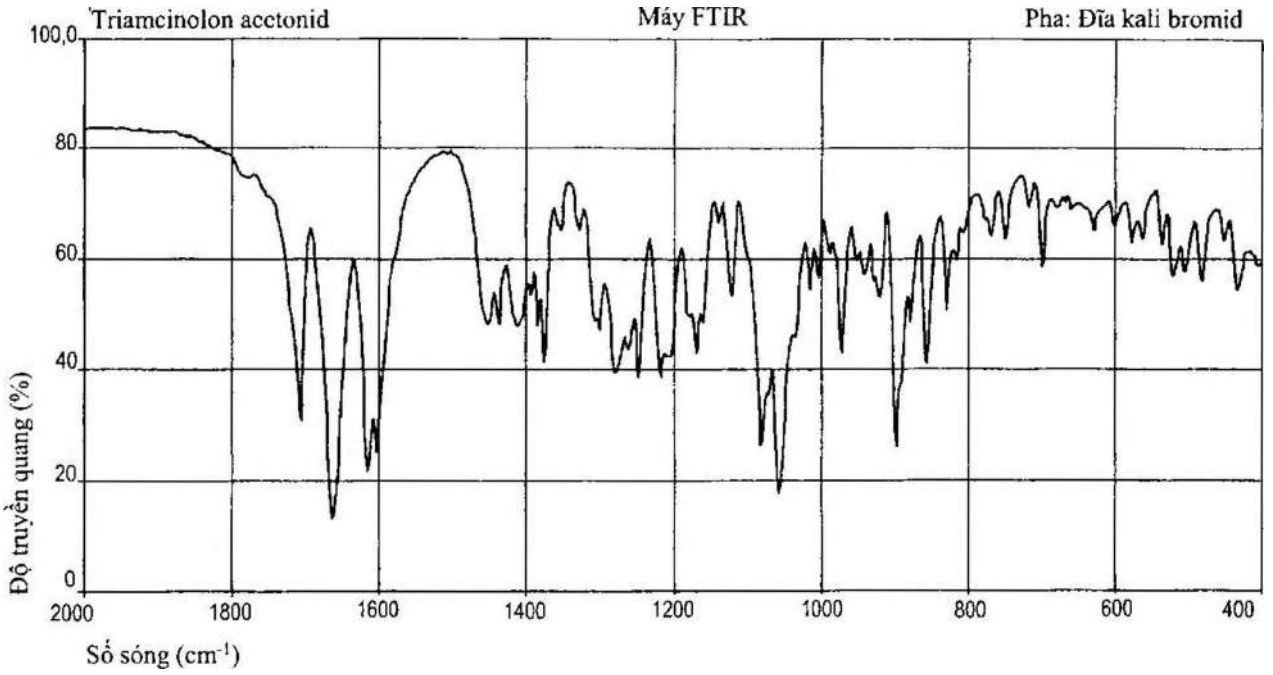
Tolbutamid



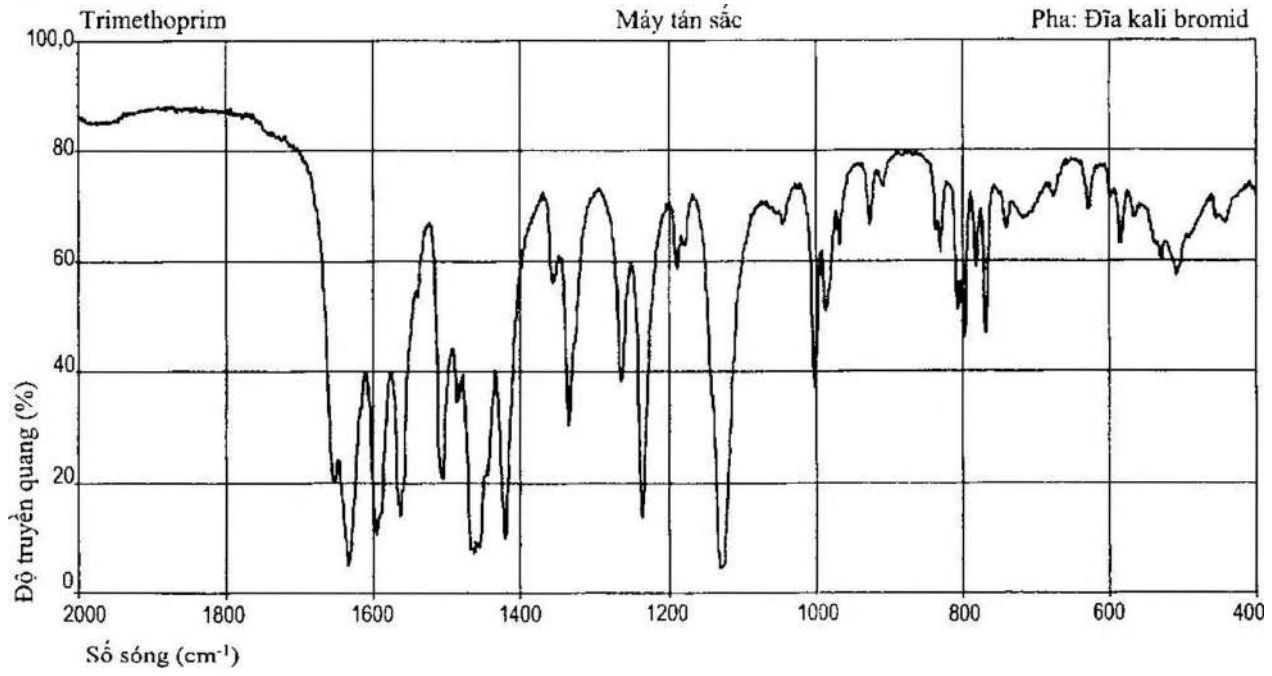
Tramadol hydroclorid



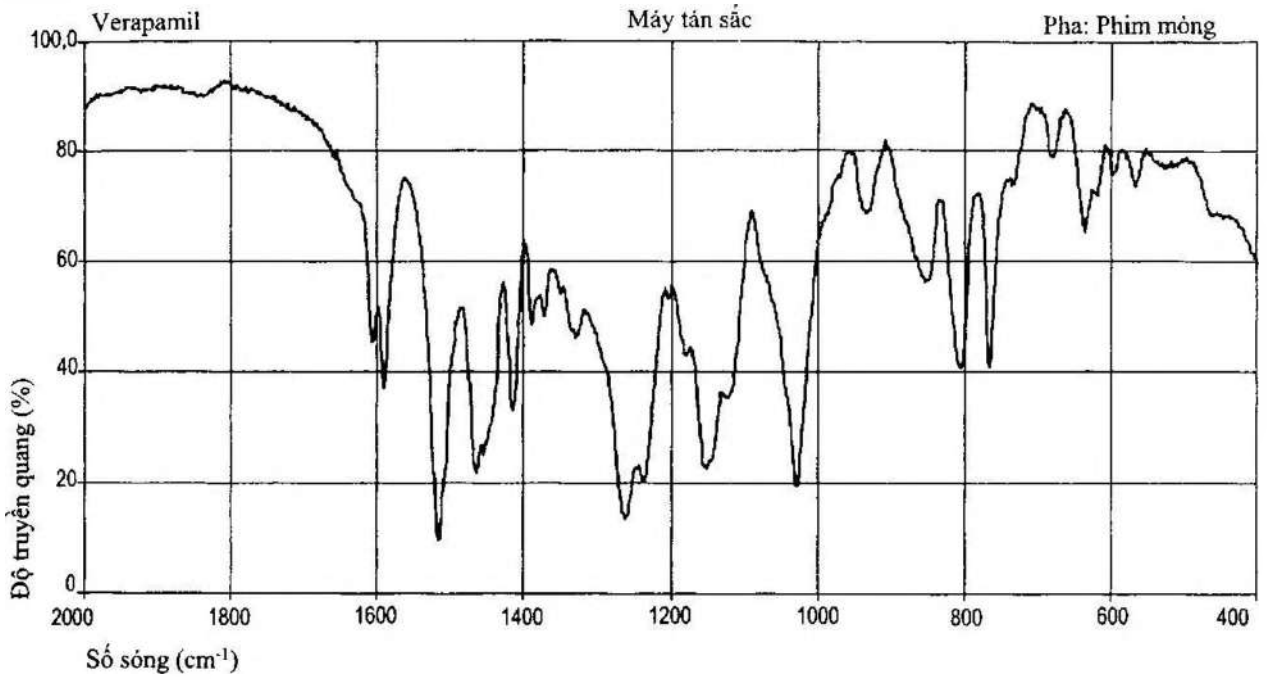
Triamcinolon acetonid



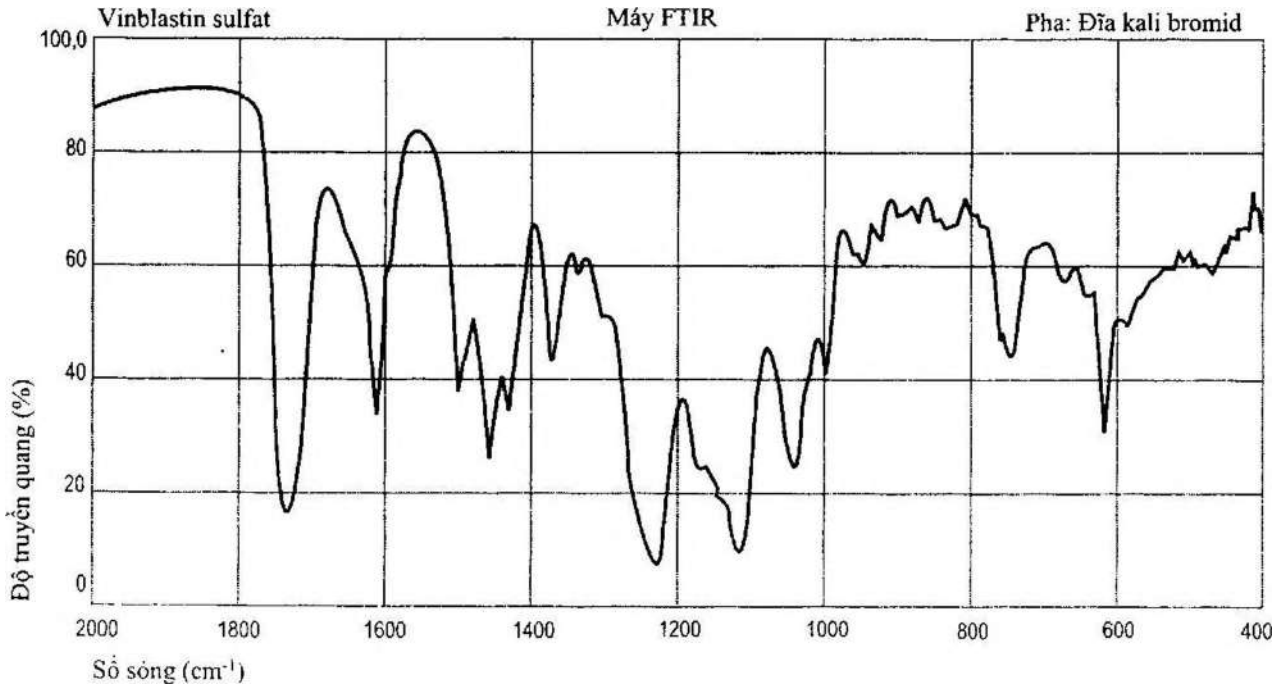
Trimethoprim



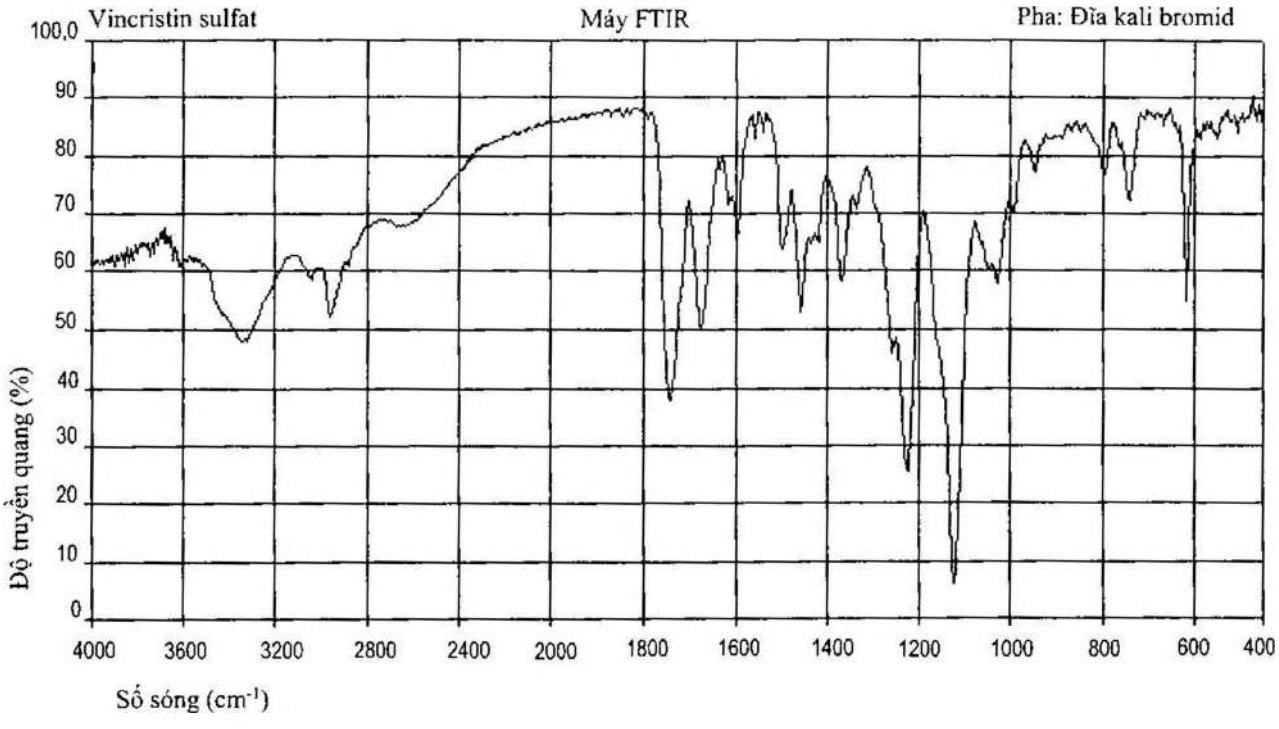
Verapamil



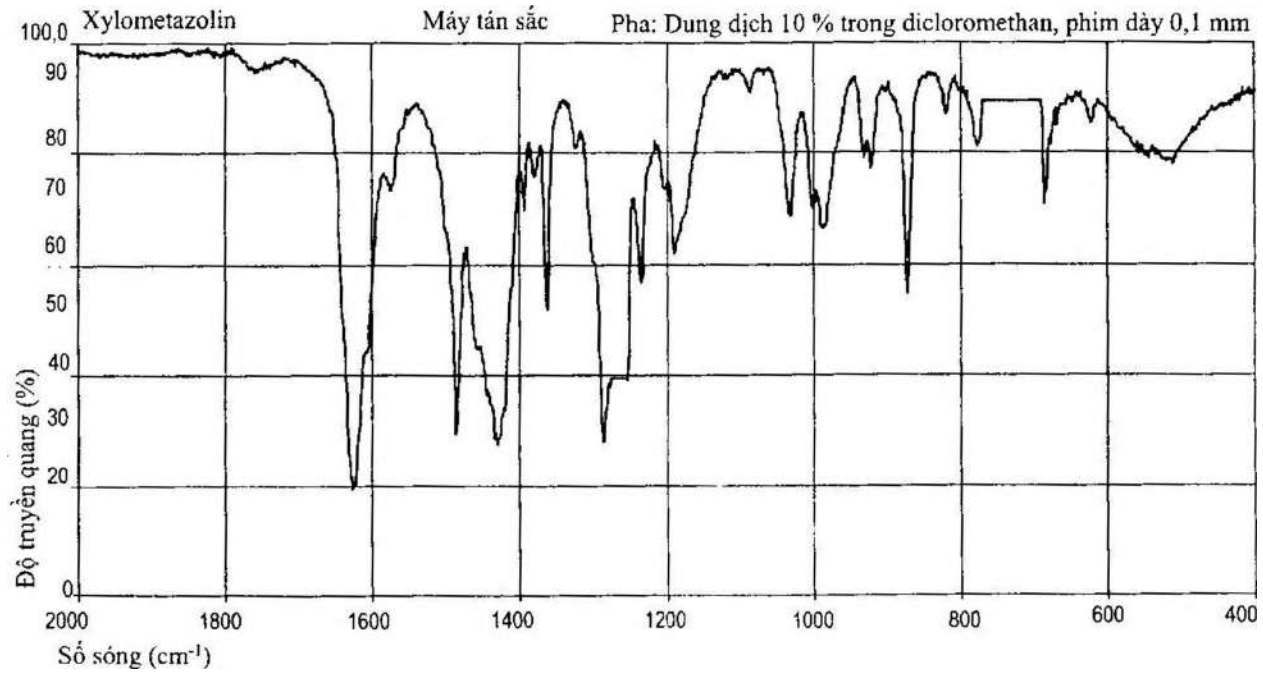
Vinblastin sulfat



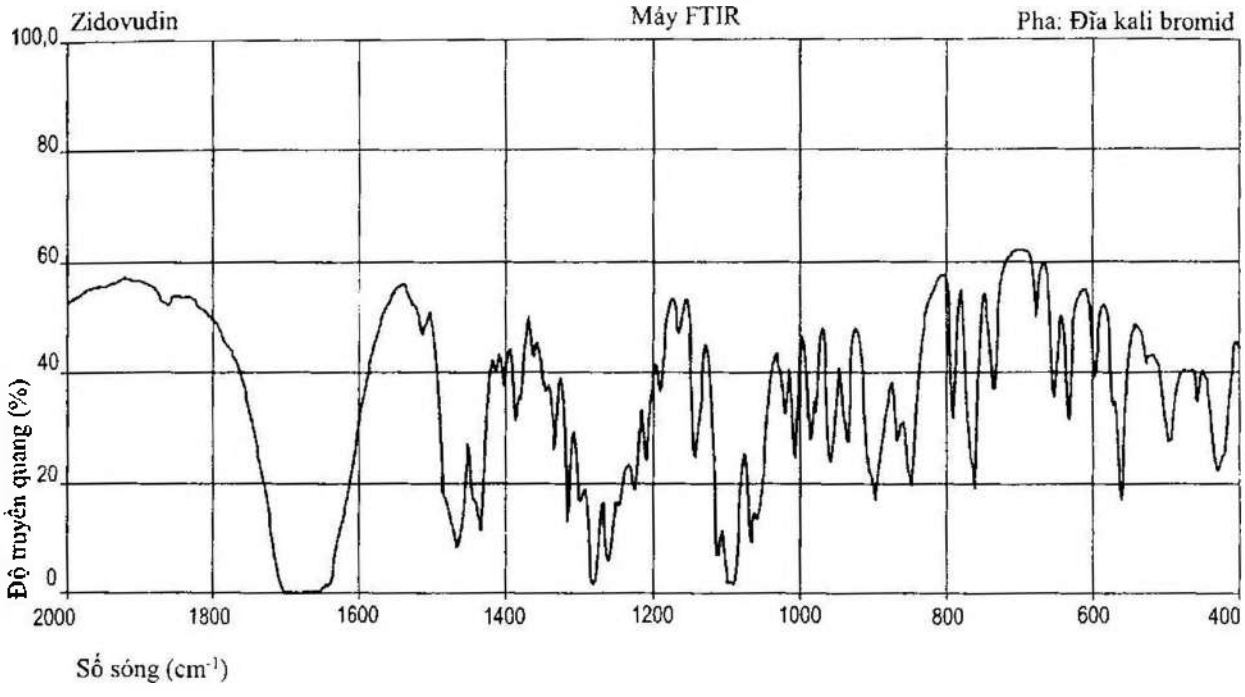
Vincristin sulfat



Xylometazolin



Zidovudin


Zidovudin
Máy FTIR
Pha: Đĩa kali bromid
100,0
80
60
40
20
0
Độ truyền quang (%)
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
Số sóng (cm-1)

CÁC PHỤ LỤC

MỤC LỤC
(Các phụ lục)

PHỤ LỤC 1 **Trang**

1.1 Cao thuốc PL-9
1.2 Cồn thuốc PL-10
1.3 Dung dịch thuốc PL-11
1.4 Siro thuốc PL-11
1.5 Hỗn dịch thuốc PL-12
1.6 Nhũ tương thuốc PL-12
1.7 Thuốc bột PL-13
1.8 Thuốc cốm PL-14
1.9 Thuốc dán thấm qua da và cao dán PL-15
1.10 Thuốc đặt PL-16
1.11 Thuốc hoàn PL-17
1.12 Thuốc mềm dùng trên da và niêm mạc PL-18
1.13 Thuốc nang PL-19
1.14 Thuốc nhỏ mắt PL-20
1.15 Thuốc nhỏ mũi và thuốc xịt mũi dạng lỏng PL-21
1.16 Thuốc nhỏ tai và thuốc xịt vào tai PL-22
1.17 Thuốc hít PL-23
1.18 Thuốc khí dung PL-23
1.19 Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền PL-26
1.20 Thuốc viên nén PL-28
1.21 Thuốc bọt y tế PL-30
1.22 Rượu thuốc PL-31
1.23 Thuốc thang PL-32
1.24 Chè thuốc PL-33
1.25 Dung dịch rửa vết thương PL-33
1.26 Yêu cầu chung đối với các chế phẩm probiotic PL-34
1.27 Thuật ngữ dạng thuốc theo mô hình giải phóng (phóng thích) dược chất PL-37

PHỤ LỤC 2

2.1 Các thuốc thử chung PL-38
2.1.1 Hóa chất và thuốc thử PL-38
2.1.2 Các chất chỉ thị PL-89
2.2 Các dung dịch chuẩn độ PL-95
2.3 Các dung dịch đệm PL-101
2.4 Các dung dịch mẫu PL-109
2.5 Các chất đối chiếu PL-113

PHỤ LỤC 3

3.1 Cân và xác định khối lượng PL-115
3.2 Nhiệt kế PL-117
3.3 Dụng cụ đo thể tích PL-117

3.4 Phễu lọc thủy tinh xốp PL-118
3.5 Cỡ bột và rây PL-119
3.6 Rửa dụng cụ thủy tinh PL-119

PHỤ LỤC 4

4.1 Phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến PL-120
4.2 Phương pháp quang phổ hồng ngoại PL-122
4.3 Phương pháp quang phổ huỳnh quang PL-123
4.4 Phương pháp quang phổ nguyên tử phát xạ và hấp thụ PL-124
4.5 Phổ khối PL-125
4.6 Phổ khối - plasma cảm ứng (ICP- MS) PL-128
4.7 Phổ huỳnh quang tia X PL-130
4.8 Phổ Raman PL-131

PHỤ LỤC 5

Các kỹ thuật tách sắc ký PL-138
5.1 Phương pháp sắc ký giấy PL-144
5.2 Phương pháp sắc ký khí PL-145
5.3 Phương pháp sắc ký lỏng PL-147
5.4 Phương pháp sắc ký lớp mỏng PL-149
5.5 Phương pháp sắc ký rây phân tử PL-151
5.6 Phương pháp điện di PL-154
5.7 Phương pháp điện di mao quản PL-157

PHỤ LỤC 6

6.1 Xác định chỉ số khúc xạ PL-163
6.2 Xác định chỉ số pH PL-163
6.3 Xác định độ nhớt của chất lỏng PL-164
6.4 Xác định góc quay cực và góc quay cực riêng PL-166
6.5 Xác định khối lượng riêng và tỷ trọng PL-166
6.6 Xác định nhiệt độ đông đặc PL-167
6.7 Xác định nhiệt độ nóng chảy, khoảng nóng chảy và điểm nhỏ giọt PL-168
6.8 Xác định nhiệt độ sôi và khoảng chưng cất PL-170
6.9 Xác định độ thấm thấu PL-171
6.10 Xác định điện dẫn suất PL-172
6.11 Xác định khối lượng riêng của chất rắn PL-173
6.12 Phân tích nhiệt PL-174
6.13 Xác định khối lượng riêng thô và khối lượng riêng gõ của bột PL-177

PHỤ LỤC 7

7.1 Xác định chỉ số acetyl PL-180
7.2 Xác định chỉ số acid PL-180
7.3 Xác định chỉ số ester PL-180
7.4 Xác định chỉ số hydroxyl PL-180
7.5 Xác định chỉ số iod PL-181
7.6 Xác định chỉ số peroxyd PL-182

7.7 Xác định chỉ số xà phòng hóa PL-182
7.8 Xác định chất không bị xà phòng hóa PL-183
7.9 Xác định lưu huỳnh dioxyd PL-183
7.10 Xác định các chất oxy hóa PL-184
7.11 Xác định carbon hữu cơ toàn phần trong nước dùng cho ngành dược PL-184

PHỤ LỤC 8

8.1 Các phản ứng định tính PL-186
8.2 Định tính các penicilin PL-190
8.3 Phản ứng màu của các penicilin và cephalosporin PL-192

PHỤ LỤC 9

9.1 Ống nghiệm dùng trong các phép thử so sánh PL-193
9.2 Xác định độ trong của dung dịch PL-193
9.3 Xác định màu sắc của dung dịch PL-193
9.4 Xác định giới hạn các tạp chất PL-195
9.4.1 Amoni PL-195
9.4.2 Arsen PL-195
9.4.3 Calci PL-196
9.4.4 Chì trong đường PL-196
9.4.5 Clorid PL-196
9.4.6 Fluorid PL-196
9.4.7 Kali PL-197
9.4.8 Kim loại nặng PL-197
9.4.9 Nhôm PL-200
9.4.10 Nickel trong polyol PL-200
9.4.11 Kim loại nặng trong dược liệu và trong dầu béo PL-200
9.4.12 Phosphat PL-201
9.4.13 Sắt PL-202
9.4.14 Sulfat PL-202
9.4.15 Magnesi PL-202
9.4.16 Magnesi và kim loại kiềm thổ PL-202
9.5 Xác định giới hạn carbon monoxyd trong khí y tế PL-202
9.6 Xác định mất khối lượng do làm khô PL-203
9.7 Xác định tro không tan trong acid PL-203
9.8 Xác định tro toàn phần PL-204
9.9 Xác định tro sulfat PL-204
9.10 Xác định tro tan trong nước PL-204

PHỤ LỤC 10

10.1 Phương pháp chuẩn độ đo ampe PL-205
10.2 Phương pháp chuẩn độ đo điện thế PL-205
10.3 Định lượng nước PL-205
10.4 Phương pháp chuẩn độ bằng nitrit PL-208
10.5 Phương pháp chuẩn độ complexon PL-208

10.6 Phương pháp chuẩn độ trong môi trường khan PL-209
10.7 Định lượng các kháng sinh họ penicilin bằng phương pháp đo iod PL-209
10.8 Định lượng các steroid bằng tetrazolium PL-210
10.9 Định lượng nitrogen trong hợp chất hữu cơ PL-210
10.10 Định lượng vitamin A PL-211
10.11 Phương pháp phân tích acid amin PL-214
10.12 Xác định hàm lượng ethanol PL-222
10.13 Xác định hàm lượng methanol và propan-2-ol PL-225
10.14 Xác định dung môi tồn dư PL-225
10.14.1 Quy định đối với tạp chất là dung môi tồn dư PL-230
10.15 Xác định ethylen oxyd và dioxan tồn dư PL-235
10.16 Định lượng *N,N*-dimethylanilin PL-236
10.17 Định lượng acid 2-ethylhexanoic PL-237
10.18 Xác định acid acetic trong peptid tổng hợp PL-237
10.19 Đốt trong oxygen PL-238
10.20 Xác định các chất bảo quản kháng khuẩn PL-238
10.21 Định lượng acid omega-3 trong dầu cá PL-241
10.22 Định lượng vitamin D PL-244

PHỤ LỤC 11

11.1 Giới hạn cho phép về thể tích của các thuốc dạng lỏng PL-248
11.2 Phép thử độ đồng đều hàm lượng PL-249
11.3 Phép thử độ đồng đều khối lượng PL-249
11.4 Phép thử độ hòa tan của dạng thuốc rắn phân liều PL-250
11.5 Phép thử độ rã của thuốc đạn và thuốc trứng PL-259
11.6 Phép thử độ rã của viên nén và nang PL-260
11.7 Phép thử độ rã của viên bao tan trong ruột PL-263
11.8 Xác định giới hạn tiểu phân PL-263
11.9 Phép thử độ đồng đều đơn vị liều PL-265
11.10 Phép thử độ giải phóng dược chất của thuốc dán thấm qua da PL-268

PHỤ LỤC 12

12.1 Lấy mẫu dược liệu PL-271
12.2 Những qui định chung về kiểm tra chất lượng dược liệu PL-271
12.3 Phép thử xác định chiết kiệt alcaloid PL-272
12.4 Định lượng aldehyd trong tinh dầu PL-272
12.5 Định lượng cineol trong tinh dầu PL-273
12.6 Định lượng taninoid trong dược liệu PL-273
12.7 Định lượng tinh dầu trong dược liệu PL-274
12.8 Các phép thử của tinh dầu PL-275
12.9 Dầu béo PL-275
12.10 Xác định các chất chiết được trong dược liệu PL-278
12.11 Xác định tạp chất lẫn trong dược liệu PL-279
12.12 Xác định tỷ lệ vụn nát của dược liệu PL-279
12.13 Xác định hàm lượng nước bằng phương pháp cất với dung môi PL-279

12.15 Cắn khô của các chất chiết được trong dược liệu PL-280
12.16 Mất khối lượng do làm khô của các chất chiết được trong dược liệu PL-280
12.17 Dư lượng hóa chất bảo vệ thực vật PL-280
12.18 Định tính dược liệu và các chế phẩm bằng kính hiển vi PL-283
12.19 Xác định chỉ số trương nở PL-285
12.20 Phương pháp chế biến đông dược PL-285
12.21 Xác định hàm lượng aflatoxin B_1 trong dược liệu PL-288
12.22 Xác định acid aristolochic I trong dược liệu PL-290
12.23 Hướng dẫn thiết lập dấu vân tay hóa học của dược liệu bằng phương pháp sắc ký lỏng hoặc sắc ký khí PL-290
12.24 Lỗ khí và chỉ số lỗ khí PL-291

PHỤ LỤC 13

13.1 Phép thử histamin PL-293
13.2 Phép thử nội độc tố vi khuẩn PL-293
13.3 Phép thử các chất hạ áp PL-298
13.4 Phép thử chất gây sốt PL-298
13.5 Thử độc tính bất thường PL-299
13.6 Thử giới hạn nhiễm khuẩn PL-300
13.7 Thử vô khuẩn PL-311
13.8 Xác định hiệu quả kháng khuẩn của chất bảo quản PL-316
13.9 Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật PL-318
13.10 Phân tích thống kê kết quả định lượng sinh học PL-328
13.11 Định lượng hoạt tính vitamin B_{12} bằng phương pháp vi sinh vật PL-355

PHỤ LỤC 14

Hướng dẫn đánh giá sinh khả dụng và tương đương sinh học *in vivo* thuốc generic PL-358

PHỤ LỤC 15

15.1 Xác định độ sống của vắc xin BCG PL-364
15.2 Xác định độ chân không của vắc xin BCG PL-365
15.3 Xác định độ phân tán của vắc xin BCG PL-366
15.4 Xác định tính an toàn của vắc xin DTwP hấp phụ PL-366
15.5 Xác định đậm độ vi khuẩn ho gà PL-367
15.6 Xác định hàm lượng Tween 20 trong vắc xin và sinh phẩm PL-367
15.7 Kiểm tra vô trùng vắc xin/sinh phẩm PL-368
15.8 Môi trường dùng để phát hiện vi khuẩn hiếu khí, kỵ khí và nấm PL-370
15.9 Kiểm tra độc tính đặc hiệu (an toàn đặc hiệu) trong vắc xin BCG đông khô PL-371
15.10 Thử nghiệm nhận dạng huyết thanh miễn dịch PL-371
15.11 Xác định an toàn chung của vắc xin và sinh phẩm PL-372
15.12 Xác định chất gây sốt trong vắc xin và sinh phẩm PL-372
15.14 Phương pháp lấy mẫu và lưu mẫu PL-373
15.15 Xác định hiệu giá huyết thanh kháng độc tố bạch hầu PL-375
15.16 Xác định hiệu giá huyết thanh kháng độc tố uốn ván PL-376
15.17 Xác định hiệu giá huyết thanh kháng dại PL-377
15.18 Xác định hàm lượng nitơ toàn phần của vắc xin và sinh phẩm bằng thuốc thử Nessler PL-377

15.19 Thử nghiệm nhận dạng thành phần Bạch hầu-uốn ván-ho gà trong vắc xin DTwP hấp phụ PL-378
15.20 Xác định độc tố thần kinh tồn dư trong vắc xin bại liệt uống PL-380
15.21 Xác định công hiệu của vắc xin bại liệt uống PL-381
15.22 Xác định công hiệu thành phần uốn ván trong vắc xin hấp phụ chứa giải độc tố uốn ván PL-382
15.23 Xác định công hiệu thành phần bạch hầu trong vắc xin hấp phụ chứa giải độc tố bạch hầu PL-383
12.24 Xác định công hiệu thành phần ho gà toàn tế bào trong vắc xin phối hợp, hấp phụ PL-385
15.25 Xác định hàm lượng formaldehyd tồn dư trong vắc xin và sinh phẩm PL-387
15.26 Xác định hàm lượng natri clorid với sự có mặt của protein bằng phương pháp định lượng gián tiếp (phương pháp Charpentier Volhard) PL-388
15.27 Xác định hàm lượng nhôm (Al^{+++}) trong vắc xin và sinh phẩm PL-388
15.28 Xác định hàm lượng phenol trong vắc xin và sinh phẩm PL-389
15.29 Xác định hàm lượng thimerosal trong vắc xin và sinh phẩm PL-389
15.31 Xác định hiệu lực vắc xin dại theo phương pháp NIH PL-390
15.32 Xác định hàm lượng nitơ protein của vắc xin và sinh phẩm bằng thuốc thử Nessler PL-391
15.33 Xác định pH của vắc xin và sinh phẩm PL-392
15.34 Xác định hàm lượng protein toàn phần trong vắc xin và sinh phẩm PL-392
15.35 Xác định độ ẩm tồn dư trong vắc xin, sinh phẩm đông khô PL-394
15.36 Phát hiện mycoplasma bằng phương pháp nuôi cấy PL-394
15.37 Xác định hàm lượng Vi polysaccharid của vắc xin thương hàn Vi polysaccharid PL-395
15.38 Xác định hàm lượng polysaccharid trong vắc xin và sinh phẩm PL-396
15.39 Xác định độ tinh khiết kháng nguyên HBsAg PL-396
15.40 Xác định hàm lượng lipid trong vắc xin và sinh phẩm PL-396
15.41 Xác định hàm lượng cesi trong vắc xin và sinh phẩm PL-397
15.42 Xác định hàm lượng saccharid tổng số bằng phương pháp orcinol PL-397
15.43 Quy trình thử nghiệm công hiệu (*in vivo*) của vắc xin viêm gan B tái tổ hợp PL-398
15.44 Một số phương pháp miễn dịch sử dụng trong kiểm định vắc xin PL-399
15.45 Xác định BSA tồn dư trong vắc xin PL-400
15.46 Các kỹ thuật ELISA (Phương pháp miễn dịch gắn men, phương pháp ELISA). PL-401
Hướng dẫn xử trí các vấn đề thường gặp trong thử nghiệm ELISA PL-406
15.47 Kiểm tra *mycoplasma* trong vắc xin/sinh phẩm (phương pháp nuôi cấy hoặc dùng chỉ thị tế bào) PL-411

PHỤ LỤC 16

16.1 Các phương pháp tiệt khuẩn PL-414
16.2 Chỉ thị sinh học dùng cho tiệt khuẩn PL-416

PHỤ LỤC 17

Đồ đựng cấp 1 dùng cho các chế phẩm dược PL-418
17.1 Đồ đựng bằng thủy tinh dùng cho chế phẩm dược PL-418
17.2 Đồ đựng bằng kim loại cho thuốc mỡ tra mắt PL-420
17.3 Đồ đựng và nút bằng chất dẻo PL-421
17.3.1 Đồ đựng bằng chất dẻo dùng cho những chế phẩm không phải thuốc tiêm PL-421
17.3.2 Đồ đựng bằng chất dẻo dùng cho chế phẩm thuốc tiêm PL-422

17.3.3 Đồ đựng bằng chất dẻo dùng cho chế phẩm nhỏ mắt PL-426
17.4 Dụng cụ tiêm truyền đã tiệt khuẩn (Bộ dây truyền dịch) PL-427
17.5 Nút cao su dùng cho chai đựng thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền PL-429
17.6 Bơm tiêm vô khuẩn bằng chất dẻo sử dụng một lần PL-430
17.7 Silicon PL-432
17.8 Đồ đựng máu và các chế phẩm máu PL-434
17.9 Nguyên liệu làm đồ đựng PL-438
17.9.1 Các phụ gia cho chất dẻo PL-438
17.9.2 Nguyên liệu để sản xuất đồ đựng máu và chế phẩm máu PL-441
17.9.3 Polyethylen PL-446
17.9.4 Polyethylen terephthalat để sản xuất đồ đựng chế phẩm không phải là thuốc tiêm PL-451
17.9.5 Poly(ethylen-vinyl acetat) dùng sản xuất đồ đựng và dây truyền dịch dinh dưỡng PL-453
17.9.6 Polyolefin PL-456
17.9.7 Polypropylen dùng làm đồ đựng và nút cho thuốc tiêm truyền và thuốc nhỏ mắt PL-460

PHỤ LỤC 18

Bảng nguyên tử lượng các nguyên tố PL-465

PHỤ LỤC 19

Bảng liên hệ giữa phần trăm ethanol theo thể tích, phần trăm ethanol theo khối lượng, khối lượng riêng của hỗn hợp ethanol và nước PL-467

PHỤ LỤC 1

1.1 CAO THUỐC

Extracta

Định nghĩa

Cao thuốc là chế phẩm được chế bằng cách cô hoặc sấy đến thể chất quy định các dịch chiết thu được từ dược liệu thực vật hay động vật với các dung môi thích hợp.

Các dược liệu trước khi chiết xuất được xử lý sơ bộ (rửa sạch, phơi khô hoặc sấy khô và chia nhỏ đến kích thước thích hợp). Đối với một số dược liệu đặc biệt có chứa men làm phân hủy hoạt chất, cần phải diệt men trước khi đưa vào sử dụng bằng cách dùng hơi cồn sôi, hơi nước sôi hoặc bằng phương pháp thích hợp khác.

Cao thuốc được chia làm 3 loại:

Cao lỏng: Là chất lỏng hơi sánh, có mùi vị đặc trưng của dược liệu sử dụng, trong đó cồn và nước đóng vai trò dung môi chính (hay chất bảo quản hay cả hai). Nếu không có chỉ dẫn khác, quy ước 1 ml cao lỏng tương ứng với 1 g dược liệu dùng để điều chế cao thuốc.

Cao đặc: Là khối đặc quánh. Hàm lượng dung môi sử dụng còn lại trong cao không quá 20 %.

Cao khô: Là khối hoặc bột khô, đồng nhất nhưng rất dễ hút ẩm. Cao khô không được có độ ẩm lớn hơn 5 %.

Phương pháp điều chế

Quá trình điều chế cao thuốc thường có 2 giai đoạn:

Giai đoạn I

Chiết xuất dược liệu bằng các dung môi thích hợp. Tùy theo bản chất của dược liệu, dung môi, tiêu chuẩn chất lượng của thành phẩm cũng như điều kiện, quy mô sản xuất và trang thiết bị, có thể sử dụng các phương pháp chiết xuất: Ngâm, hầm, hãm, sắc, ngâm nhỏ giọt, chiết xuất ngược dòng, chiết xuất bằng thiết bị siêu âm, chiết xuất bằng phương pháp sử dụng điện trường và các phương pháp khác. Phương pháp ngâm nhỏ giọt thường được sử dụng. Khi đó, dược liệu thô đã được chia nhỏ đến kích thước phù hợp, được làm ẩm với một lượng dung môi vừa đủ rồi đậy kín để yên trong khoảng 2 h đến 4 h. Sau đó, chuyển khối dược liệu vào bình ngấm kiệt, thêm lượng dung môi vừa đủ đến khi ngập hoàn toàn khối dược liệu. Thời gian ngâm lạnh và tốc độ chảy trong quá trình chiết có thể thay đổi theo khối lượng và bản chất của dược liệu thô đem chiết.

Giai đoạn II

Cao lỏng: Sau khi thu được dịch chiết, tiến hành lọc và cô dịch chiết bằng các phương pháp khác nhau để thu được cao lỏng có tỷ lệ theo như quy ước (1 ml cao lỏng tương ứng với 1 g dược liệu). Trong trường hợp điều chế cao lỏng bằng phương pháp ngâm nhỏ giọt, tốc độ chảy của dịch chiết có thể chậm, vừa hay nhanh. Nếu chiết xuất 1000 g dược liệu thì:

Ở tốc độ chậm: Không quá 1 ml dịch chiết trong 1 min.

Ở tốc độ vừa: 1 ml đến 3 ml dịch chiết trong 1 min.

Ở tốc độ nhanh: 3 ml đến 5 ml dịch chiết trong 1 min.

Để riêng phần dịch chiết đầu đậm đặc bằng 4/5 lượng dược liệu đem chiết. Sau đó cô các phần dịch chiết tiếp theo trên cách thủy hoặc cô dưới áp suất giảm ở nhiệt độ không quá 60 °C cho đến khi loại hết dung môi. Hòa tan cắn thu được vào trong dịch chiết đầu đậm đặc và nếu cần, thêm dung môi vào để thu được cao lỏng đạt tỷ lệ quy định. Cao lỏng có khuynh hướng bị lắng cặn vì vậy để cao lỏng ở chỗ mát trong thời gian ít nhất 3 ngày, rồi lọc.

Cao đặc và cao khô: Dịch chiết được cô đặc đến khi dung môi dùng để chiết xuất còn lại không quá 20 % dược cao đặc. Trong trường hợp điều chế cao khô, tiếp tục sấy khô để độ ẩm còn lại không quá 5 %. Để đạt đến thể chất quy định, quá trình cô đặc và sấy khô dịch chiết thường được tiến hành trong các thiết bị cô dưới áp suất giảm ở nhiệt độ không quá 60 °C. Nếu không có các thiết bị cô đặc và sấy dưới áp suất giảm thì được phép cô cách thủy (không được cô trực tiếp trên lửa) và sấy ở nhiệt độ không quá 80 °C.

Trường hợp muốn thu được cao thuốc có tỷ lệ tạp chất thấp, phải tiến hành loại tạp chất bằng các phương pháp thích hợp tùy thuộc vào bản chất của dược liệu, dung môi và phương pháp chiết xuất.

Có thể cho thêm chất bảo quản hoặc các chất trơ để làm chất mang hay để cải thiện các tính chất vật lý. Đối với cao khô có thể sử dụng các bột trơ thích hợp để điều chỉnh nồng độ hoạt chất đến tỷ lệ quy định.

Yêu cầu chất lượng

Đạt các yêu cầu theo quy định trong chuyên luận riêng và các yêu cầu chung sau đây:

Độ tan: Cao lỏng phải tan hoàn toàn trong dung môi đã sử dụng để điều chế cao.

Độ trong, mùi vị, độ đồng nhất và màu sắc: Cao thuốc phải đúng màu sắc đã mô tả trong chuyên luận riêng, có mùi và vị đặc trưng của dược liệu sử dụng. Ngoài ra, cao lỏng còn phải đồng nhất, không có váng mốc, không có cặn bã dược liệu và vật lạ.

Cách tiến hành: Lấy riêng phần phía trên của chai thuốc chỉ để lại khoảng 10 ml đến 15 ml. Chuyển phần còn lại trong chai vào một bát sứ men trắng, nghiêng bát cho chúng chảy trên thành bát tạo thành một lớp dễ quan sát. Quan sát dưới ánh sáng tự nhiên, thuốc phải đạt các yêu cầu quy định. Nếu không đạt, phải thử lại lần hai với chai thuốc khác, nếu không đạt, coi như lô thuốc không đạt chỉ tiêu này.

Mất khối lượng do làm khô (nếu không có chỉ dẫn khác):

Cao đặc không quá 20 %.

Cao khô không quá 5 %.

Hàm lượng cồn: Đạt từ 90 % đến 110 % lượng ethanol ghi trên nhãn (áp dụng cho cao lỏng và cao đặc).

Kim loại nặng: Không được quá 20 phần triệu nếu không có chỉ dẫn khác.

Cách tiến hành: Lấy 1,0 g chế phẩm tiến hành thử theo phương pháp 3, Phụ lục 9.4.8. Dùng 2 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Dung môi tồn dư: Nếu điều chế với dung môi không phải là cồn, nước hay hỗn hợp cồn - nước, dư lượng dung môi sử dụng phải đáp ứng yêu cầu qui định trong Phụ lục 10.14 Xác định dung môi tồn dư.
Dư lượng hóa chất bảo vệ thực vật: Đáp ứng yêu cầu quy định trong Phụ lục 12.17 Dư lượng hóa chất bảo vệ thực vật.
Giới hạn nhiễm khuẩn: Đáp ứng yêu cầu qui định trong Phụ lục 13.6 Thử giới hạn nhiễm khuẩn.

Bảo quản
Cao thuốc được đựng trong bao bì kín, để nơi khô, mát, tránh ánh sáng, nhiệt độ ít thay đổi.
Nhãn: Theo qui định hiện hành và có ghi tên bộ phận dùng của cây thuốc, tên dung môi, hàm lượng (%) của hoạt chất hoặc của hợp chất nhận dạng được quy định theo từng chuyên luận riêng, tên và nồng độ của chất bảo quản thêm vào. Khi hoạt chất chưa biết, tỷ lệ giữa dược liệu và sản phẩm cuối cùng phải được nêu rõ. Đối với cao đặc và cao khô, loại và số lượng tá dược thêm vào cũng được nêu ra và tỷ lệ phần trăm của cao tự nhiên cũng phải được ghi rõ.

1.2 CỒN THUỐC
Tincturae

Định nghĩa
Cồn thuốc là những chế phẩm lỏng, được điều chế bằng cách chiết dược liệu thực vật, động vật hoặc hòa tan cao thuốc, dược chất theo tỷ lệ quy định với ethanol ở các nồng độ khác nhau.
Cồn thuốc được điều chế từ một nguyên liệu gọi là cồn thuốc đơn.
Cồn thuốc được điều chế từ nhiều nguyên liệu khác nhau gọi là cồn thuốc kép.
Cách biểu thị hoạt tính:
Các cồn thuốc có nguồn gốc từ thực vật có chứa các thành phần có hoạt tính mạnh, biểu thị hoạt tính theo 10 g dược liệu trong mỗi 100 ml cồn thuốc.
Phần lớn những cồn thuốc từ dược liệu khác biểu thị theo 20 g dược liệu trong mỗi 100 ml cồn thuốc.
Các cồn thuốc khác nhau không nhất thiết phải pha loãng để đạt cùng một tỷ lệ giữa dược liệu ban đầu và cồn thuốc. Tỷ lệ này sẽ tùy thuộc vào các yêu cầu được mô tả trong các thử nghiệm xác định hàm lượng của hoạt chất hay của nhóm hoạt chất trong các chuyên luận riêng. Trong khi điều chế, cồn thuốc được định lượng theo những thử nghiệm xác định hàm lượng này. Sử dụng các giá trị thu được từ kết quả định lượng, điều chỉnh nồng độ cuối cùng của cồn thuốc bằng cách cho thêm dung môi hoặc làm bay hơi một phần dung môi.

Phương pháp điều chế
Cồn thuốc có thể được điều chế theo ba phương pháp: Ngâm, ngâm nhỏ giọt và hòa tan.

Phương pháp ngâm
Cho dược liệu đã chia nhỏ vào một dụng cụ thích hợp và thêm khoảng 3/4 lượng ethanol sử dụng. Đậy kín, để ở nhiệt độ thường, ngâm từ 3 ngày đến 10 ngày, thỉnh thoảng khuấy trộn. Sau đó gạn lọc thu dịch chiết. Rửa bã và ép bã bằng lượng ethanol còn lại. Gộp dịch chiết, dịch ép và bổ sung ethanol để thu được lượng dịch chiết quy định, để yên từ 1 ngày đến 3 ngày, gạn lọc lấy dịch trong.

Phương pháp ngâm nhỏ giọt
Dùng bình ngâm nhỏ giọt có thể tích phù hợp với khối lượng dược liệu đem chiết. Cho dược liệu đã chia nhỏ vào một dụng cụ thích hợp, trộn với ethanol vừa đủ ẩm. Đậy nắp kín, để yên 2 h đến 4 h ở nhiệt độ phòng. Cho dược liệu đã làm ẩm vào bình ngâm nhỏ giọt đến khoảng 3/4 thể tích của bình, đặt trên mặt dược liệu những vật liệu thích hợp để tránh xáo trộn khi đổ dung môi vào. Mở khóa bình, đổ từ từ ethanol lên khối dược liệu cho đến khi có vài giọt dịch chiết chảy ra, đóng khóa bình lại và tiếp tục thêm ethanol cho đến khi ngập hoàn toàn khối dược liệu. Để ngâm trong khoảng 24 h hoặc tùy theo mỗi chuyên luận, sau đó rút dịch chiết.
Nếu trong chuyên luận không yêu cầu phải định lượng hoạt chất hoặc nhóm hoạt chất, tiến hành rút dịch chiết với tốc độ nhỏ giọt phù hợp (xem tốc độ nhỏ giọt ở mục Cao lỏng, chuyên luận Cao thuốc - Phụ lục 1.1). Thêm ethanol vào và tiếp tục rút dịch chiết đến khi thu được lượng dịch chiết quy định. Trộn đều và để yên trong 2 ngày đến 3 ngày, gạn lọc lấy dịch trong.
Nếu có yêu cầu phải định lượng hoạt chất hoặc nhóm hoạt chất, gộp các dịch chiết lại, trộn, rồi định lượng theo hướng dẫn trong chuyên luận. Pha loãng phần dịch chiết còn lại với một lượng dung môi theo tính toán từ thử nghiệm xác định hàm lượng để thu được cồn thuốc theo yêu cầu.

Phương pháp hòa tan
Hòa tan cao thuốc, dược chất hoặc tinh dầu vào ethanol có nồng độ qui định. Để lắng sau đó lọc để loại tủa.

Yêu cầu chất lượng
Trừ các yêu cầu qui định trong chuyên luận riêng, các yêu cầu chung đối với cồn thuốc như sau:
Tỷ trọng, tạp chất, định tính, hàm lượng hoạt chất, hàm lượng ethanol: Đáp ứng yêu cầu quy định trong chuyên luận riêng.
Giới hạn methanol:
Không quá 0,05 % (tt/tt) nếu không có chỉ dẫn khác (Phụ lục 10.13).
Cặn sau khi bay hơi: Giới hạn quy định theo chuyên luận riêng.
Cách tiến hành: Lấy chính xác 5,0 ml hoặc 5,000 g cồn thuốc cho vào một cốc có đường kính 5 cm đến 7 cm và cao 2 cm đến 3 cm đã cân bì trước, làm bay hơi đến khô trên cách thủy và sấy khô ở 100 °C đến 105 °C trong 3 h, để nguội trong bình hút ẩm có chứa diphosphor pentoxyd và cân. Tính % khối lượng hay số g cặn trong 1 L chế phẩm.

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi thoáng mát và tránh ánh sáng.
Nhãn phải theo qui định hiện hành và có ghi tên của bộ phận dùng của cây, tên dung môi hoặc hỗn hợp dung môi được sử dụng, nồng độ các thành phần quan trọng và tỷ lệ giữa dược liệu thô ban đầu so với cồn thuốc.

1.3 DUNG DỊCH THUỐC
Solutiones

Định nghĩa
Dung dịch thuốc là những chế phẩm lỏng trong suốt chứa một hoặc nhiều dược chất hòa tan trong một dung môi hay hỗn hợp dung môi thích hợp.
Tính chất: Do các phân tử trong dung dịch phân tán đồng nhất, nên các dung dịch thuốc đảm bảo sự phân liều đồng nhất khi sử dụng và độ chính xác cao khi pha loãng hoặc khi trộn các dung dịch với nhau.
Các dược chất trong dung dịch thường ít ổn định về mặt hóa học so với dạng rắn.
Các dung dịch thuốc thường cần bao bì lớn và có dung tích lớn hơn so với dạng thuốc rắn.
Phân loại: Có thể phân loại dung dịch thuốc theo hai cách sau đây.
Phân loại theo đường sử dụng như:
Dung dịch thuốc uống: Các dạng thuốc dùng được uống, bao gồm cả sirô thuốc (qui định tại Phụ lục 1.4).
Dung dịch thuốc dùng tại chỗ: Thuốc dùng ngoài da, thuốc nhỏ mắt (qui định tại Phụ lục 1.14), thuốc nhỏ mũi (qui định tại Phụ lục 1.15), thuốc nhỏ tai (qui định tại Phụ lục 1.16).
Dung dịch thuốc tiêm được qui định riêng trong chuyên luận Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền (Phụ lục 1.19).
Dung dịch thuốc khí dung qui định tại Phụ lục 1.18; dung dịch thuốc hít qui định tại Phụ lục 1.17.
Phân loại theo hệ dung môi và chất tan, ví dụ: Rượu thuốc (qui định tại Phụ lục 1.22), cồn thuốc (qui định tại Phụ lục 1.2), cồn ngọt, nước thơm.

Phương pháp điều chế
Dung dịch thuốc thường được điều chế bằng cách hòa tan dược chất vào trong dung môi.
Với một số dung dịch thuốc uống có thể điều chế bằng cách pha loãng dung dịch đậm đặc hoặc hòa tan bột hoặc cốm thuốc, thuốc viên vào dung môi thích hợp.
Dung môi dùng để pha chế dung dịch thuốc được lựa chọn dựa trên tính chất của dược chất và đường dùng đồng thời phải mang lại tính chất cảm quan phù hợp với yêu cầu của chế phẩm.
Có thể cho thêm các chất bảo quản kháng vi khuẩn, nấm mốc, chất chống oxy hóa và các tá dược khác như chất làm tăng độ tan, chất làm ngọt hay tạo mùi vị, tạo màu...

Yêu cầu chất lượng
Tính chất: Khi quan sát bằng mắt thường, dung dịch phải trong, có thể có màu hoặc không màu.
Yêu cầu về pH, định tính, định lượng, sai số thể tích và các yêu cầu kỹ thuật khác: Phải đạt yêu cầu kỹ thuật chung của từng loại thuốc và theo chuyên luận riêng.

Bảo quản
Các dung dịch, đặc biệt là các dung dịch chứa dung môi dễ bay hơi, phải bảo quản trong bao bì kín, để nơi mát. Cần xem xét để sử dụng các bao bì tránh ánh sáng khi sự biến đổi hóa học do ánh sáng có thể ảnh hưởng đến độ ổn định của thuốc.

1.4 SIRÔ THUỐC
Sirupi

Định nghĩa
Sirô thuốc là chế phẩm thuốc lỏng hay hỗn dịch dùng đường uống, có vị ngọt, chứa nồng độ cao đường trắng (sucrose) hay chất tạo ngọt khác và dược chất hoặc các dịch chiết từ dược liệu.
Sirô đơn là dung dịch đường trắng gần bão hòa trong nước tinh khiết.
Sirô cũng bao gồm những chế phẩm được hòa tan hay tạo thành hỗn dịch bằng nước ngay trước khi sử dụng tùy theo tính chất của dược chất (sirô khô).

Phương pháp điều chế
Chuẩn bị:
Dung dịch thuốc: Dược chất được hòa tan trong dung môi thích hợp.
Dịch chiết dược liệu: Các dược liệu được chiết xuất, lọc, làm đậm đặc theo những phương pháp thích hợp.
Sirô đơn: Hòa tan đường trắng vào nước tinh khiết bằng phương pháp hòa tan nóng hay hòa tan nguội. Lọc. Nồng độ đường trắng là 64 % (khối lượng/khối lượng).
Điều chế sirô thuốc:
Tùy theo tính chất của dược chất, sirô được điều chế bằng cách hòa tan, nhũ hóa hay trộn đều dược chất hay dung dịch thuốc, dịch chiết dược liệu vào trong dung dịch của đường trắng hay của các chất tạo ngọt khác, hoặc trong sirô đơn. Ngoài ra có thể điều chế siro bằng cách hòa tan đường vào dung dịch dược chất. Lọc đối với sirô dạng dung dịch nếu cần thiết.
Sirô có thể được điều chế từ dạng bột hay cốm khô được hòa tan hay tạo thành hỗn dịch bằng nước ngay trước khi sử dụng tùy theo tính chất của dược chất.
Có thể cho thêm chất phụ gia như: Chất bảo quản, chất làm thơm, chất ổn định ... với nồng độ thích hợp (ví dụ: ethanol, glycerin, poly-alcohol). Số lượng và chủng loại các chất phụ gia phải đáp ứng các yêu cầu của cơ quan quản lý, các chất này không được làm ảnh hưởng đến độ ổn định và việc kiểm tra chất lượng đối với chế phẩm.
Điều chế sirô trong môi trường sản xuất có cấp độ sạch theo quy định.

Yêu cầu chất lượng
Tính chất: Trừ các qui định khác, sirô phải trong (nếu là dạng dung dịch), không được lẫn tạp chất, không có mùi lạ, bọt khí hoặc có sự biến chất khác trong quá trình bảo quản.
Nồng độ đường: Không được ít hơn 45 % nếu dùng đường trắng làm chất tạo ngọt.
Thể tích: Đáp ứng yêu cầu của Phụ lục 11.1.
Giới hạn nhiễm khuẩn: Đáp ứng yêu cầu của Phụ lục 13.6.
Yêu cầu về pH, tỷ trọng, định tính, định lượng và các yêu cầu kỹ thuật khác được quy định trong chuyên luận riêng.
Bột hoặc cốm để pha sirô phải đáp ứng yêu cầu chung của dạng Thuốc bột (Phụ lục 1.7) hoặc Thuốc cốm (Phụ lục 1.8). Sau khi hoà tan hay tạo thành hỗn dịch, chế phẩm thu được phải đáp ứng các yêu cầu đối với sirô.
Sirô là hỗn dịch phải đáp ứng yêu cầu chung của Hỗn dịch thuốc (Phụ lục 1.5).

Bảo quản
Trong bao bì kín, để nơi mát.

1.5 HỖN DỊCH THUỐC
Suspensiones

Định nghĩa
Hỗn dịch là dạng thuốc lỏng để uống, tiêm hoặc dùng ngoài, chứa ít nhất một dược chất rắn không hòa tan được phân tán đều dưới dạng tiểu phân mịn hoặc cực mịn trong chất dẫn là nước hoặc dầu. Hỗn dịch có thể lắng xuống đáy và khi lắc phải phân tán đều thành dạng huyền phù ổn định trong một khoảng thời gian đủ để lấy ra liều đúng theo quy định.
Hỗn dịch có thể chứa chất hoạt động bề mặt, chất tăng độ nhớt nhằm duy trì trạng thái phân tán đều và ngăn cản hiện tượng các chất lắng xuống bị đóng bánh và trở lên rắn chắc. Hỗn dịch uống có thể chứa chất bảo quản kháng khuẩn, chất chống oxy hóa và các tá dược thích hợp khác như chất phân tán, chất tạo hương, chất tạo màu, chất làm ngọt, chất ổn định. Các chất trong thành phần bào chế của hỗn dịch phải đạt tiêu chuẩn Dược điển hoặc tuân thủ các quy định hiện hành của cơ quan có thẩm quyền.
Tùy theo hình thức cảm quan, hỗn dịch được chia làm hai loại:
Dạng hỗn dịch có thể sử dụng ngay: Là chất lỏng đục hay thể lỏng có một lớp cặn ở đáy chai, khi lắc nhẹ cặn này phải phân tán đều trở lại trong chất dẫn.
Dạng bột hoặc cốm để pha hỗn dịch: Trước khi sử dụng, chuyển thành hỗn dịch bằng cách lắc với một lượng chất dẫn thích hợp.
Thuốc tiêm hỗn dịch không được tiêm tĩnh mạch và không được tiêm ống sống.

Phương pháp điều chế
Có hai phương pháp điều chế hỗn dịch:
Phương pháp phân tán: Hỗn dịch được điều chế bằng cách thêm các chất tạo hỗn dịch, các tá dược thích hợp khác và nước hoặc dầu vào dược chất rắn đã được nghiền mịn và làm thành hỗn dịch đồng nhất bằng phương pháp thích hợp.
Phương pháp ngưng kết: Tạo ra dược chất rắn kết tủa trong chất dẫn ngay khi pha chế bằng cách làm thay đổi dung môi hay bằng phản ứng trao đổi ion.
Hỗn dịch dùng để tiêm hoặc nhỏ mắt phải pha chế trong điều kiện vô khuẩn và được thêm chất sát khuẩn thích hợp sau khi pha chế.
Hỗn dịch uống có thể chứa trong đồ đựng đơn liều hoặc đa liều. Đối với hỗn dịch đựng trong đồ đựng đơn liều, phải chứng tỏ có thể lấy ra lượng thuốc theo quy định từ đồ đựng. Đối với hỗn dịch chứa trong đồ đựng đa liều, phải có dụng cụ phù hợp để lấy ra thể tích đúng theo liều như đã quy định. Dụng cụ đo thể tích có thể là thìa, cốc đong 5 ml hoặc hơn có chia vạch hoặc bơm tiêm với thể tích khác nhau.

Yêu cầu chất lượng
Yêu cầu chung: Hỗn dịch khi để yên thì dược chất rắn phân tán có thể tách riêng nhưng phải trở lại trạng thái phân tán đồng nhất trong chất dẫn khi lắc nhẹ trong 1 min đến 2 min và giữ nguyên trạng thái đó trong vài phút.
Yêu cầu về cảm quan, pH, định tính, định lượng, sai số thể tích và các yêu cầu kỹ thuật khác: Phải đạt yêu cầu kỹ thuật chung của từng loại thuốc và theo qui định trong chuyên luận riêng.
Hỗn dịch dùng tiêm hoặc nhỏ mắt: Phải đáp ứng yêu cầu về Thử vô khuẩn (Phụ lục 13.7) và yêu cầu về kích thước tiểu phân cũng như các qui định theo chuyên luận chung. Hỗn dịch nhỏ mắt không được phân phối và sử dụng nếu có dấu hiệu đóng bánh hoặc kết khối.
Bột hoặc cốm để pha hỗn dịch: Phải đáp ứng yêu cầu chung của Thuốc bột (Phụ lục 1.7) hoặc Thuốc cốm (Phụ lục 1.8).
Độ hòa tan: Yêu cầu được chỉ ra trong chuyên luận riêng. Phương pháp thử được ghi trong chuyên luận Phép thử độ hòa tan (Phụ lục 11.4).

Bảo quản và nhãn
Đóng hỗn dịch vào chai, lọ hoặc đồ đựng kín có dung tích lớn hơn thể tích thuốc.
Nhãn có ghi *"Lắc trước khi dùng"*.
Bảo quản ở nơi khô, mát.

1.6 NHŨ TƯƠNG THUỐC
Emulsiones

Định nghĩa
Nhũ tương thuốc là dạng thuốc lỏng hoặc mềm để uống, tiêm hoặc dùng ngoài, được điều chế bằng cách sử dụng các chất nhũ hóa để trộn đều hai chất lỏng không đồng tan được gọi theo quy ước là:
Dầu (bao gồm các dầu, mỡ, sáp, tinh dầu, chất nhựa và những dược chất không tan trong nước) và Nước (bao gồm nước cất, nước thơm, nước sắc, nước hãm hoặc các dung dịch nước của các dược chất, v.v...).
Trong nhũ tương thuốc, một trong hai chất lỏng là pha phân tán hoặc pha nội, ở dạng tiểu phân có đường kính từ

0,1 μm trở lên, phân tán đều trong chất lỏng kia gọi là môi trường phân tán hoặc pha ngoại.
Khi dầu là pha phân tán và nước là môi trường phân tán thì nhũ tương là kiểu dầu trong nước, có ký hiệu là D/N;
Khi nước là pha phân tán và dầu là môi trường phân tán thì nhũ tương là kiểu nước trong dầu có ký hiệu là N/D.
Chất nhũ hóa quyết định kiểu nhũ tương và giúp ổn định chúng do ngăn cản sự kết tụ các giọt nhỏ thành giọt lớn, dẫn đến sự tách lớp. Chất nhũ hóa hòa tan trong nước sẽ tạo ra kiểu nhũ tương D/N; chất nhũ hóa hòa tan trong dầu, mỡ, sáp sẽ tạo ra kiểu nhũ tương N/D. Các chất nhũ hóa là chất hoạt động bề mặt, khi có lực phân tán, sẽ tập trung lên bề mặt tiếp xúc giữa hai pha tạo ra hàng rào ngăn cản không cho các giọt kết tụ lại, mặt khác làm giảm sức căng liên bề mặt giữa hai pha, nhờ vậy giúp sự nhũ hóa được dễ dàng. Các chất cao phân tử thân nước thiên nhiên, bán tổng hợp hay tổng hợp có thể được sử dụng phối hợp với chất nhũ hóa hoạt động bề mặt trong các nhũ tương kiểu D/N do chúng tích tụ lên bề mặt tiếp xúc và cũng làm tăng độ nhớt của pha nước, như vậy làm giảm sự kết hợp của các giọt. Sự kết hợp này thường sẽ dẫn đến hiện tượng: Sự nổi kem do các giọt dầu lớn nổi lên (trong nhũ tương D/N) hoặc sự lắng xuống đáy của các giọt nước lớn (trong nhũ tương N/D).

Phương pháp điều chế
Tùy theo điều kiện trang thiết bị, nhũ tương có thể được điều chế bằng cách:
Điều chế nhũ tương đậm đặc với chất nhũ hóa, dược chất lỏng và lượng vừa đủ pha ngoại, sau đó pha loãng nhũ tương đậm đặc với pha ngoại.
Hòa tan chất nhũ hóa vào pha ngoại, sau đó cho dược chất lỏng vào từ từ vừa dùng lực gây phân tán mạnh để nhũ hóa.
Cần cho thêm các chất bảo quản thích hợp vào nhũ tương do pha nước là môi trường thuận lợi cho sự phát triển của vi khuẩn và nấm mốc. Hiệu lực của các chất bảo quản trong thành phẩm phải được kiểm tra.

Yêu cầu chất lượng
Tính chất: Khi quan sát bằng mắt thường, nhũ tương đặc phải mịn và đồng nhất giống như kem; còn nhũ tương lỏng phải đục trắng và đồng nhất giống như sữa.
Nhũ tương được coi như đã bị hỏng khi hai pha lỏng đã tách riêng nhau và bằng cách khuấy lắc cũng không thể khôi phục lại trạng thái phân tán đồng nhất nữa.
Yêu cầu về pH, định tính, định lượng, sai số thể tích và các yêu cầu kỹ thuật khác: Phải đạt qui định theo chuyên luận riêng.
Nhũ tương dùng để tiêm hoặc nhỏ mắt: Phải đáp ứng yêu cầu về Thử vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

Bảo quản
Ở nơi mát, nhiệt độ ít thay đổi.
Đóng nhũ tương thuốc vào chai lọ có dung tích hơi lớn hơn thể tích thuốc một chút và trên nhãn có ghi dòng chữ: *Lắc trước khi dùng.*

1.7 THUỐC BỘT
Pulveres

Định nghĩa
Thuốc bột là dạng thuốc rắn, gồm các hạt nhỏ, khô tơi, có độ mịn xác định, có chứa một hay nhiều loại dược chất. Ngoài dược chất, thuốc bột còn có thể thêm các tá dược như tá dược độn, tá dược hút, tá dược màu, tá dược điều hương, vị ...
Thuốc bột có thể dùng để uống, để pha tiêm hay để dùng ngoài.

Các yêu cầu chất lượng chung

Tính chất
Quan sát màu sắc bằng mắt thường, dưới ánh sáng tự nhiên, với một lượng bột vừa đủ, được phân tán đều trên một tờ giấy trắng mịn. Bột phải khô tơi, không bị ẩm, vón, màu sắc đồng nhất.

Độ ẩm
Xác định độ ẩm thuốc bột theo phương pháp Xác định mất khối lượng do làm khô (Phụ lục 9.6), hoặc Định lượng nước bằng thuốc thử Karl Fischer (Phụ lục 10.3), tùy theo chỉ dẫn trong chuyên luận riêng.
Thuốc bột không được chứa hàm lượng nước quá 9,0 %, trừ các chỉ dẫn khác.

Độ mịn
Nếu không có chỉ dẫn khác, độ mịn của thuốc bột được xác định qua phép thử Cỡ bột và rây (Phụ lục 3.5).
Thuốc bột phải đạt độ mịn quy định trong chuyên luận.

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)
Trừ khi có chỉ dẫn khác, phép thử này áp dụng cho thuốc bột để uống, để tiêm, được trình bày trong các đơn vị đóng gói 1 liều, trong đó có các dược chất có hàm lượng dưới 2 mg hoặc dưới 2 % (kl/kl) so với khối lượng bột đóng gói trong 1 liều.
Phép thử đồng đều hàm lượng được tiến hành sau phép thử định lượng và hàm lượng dược chất đã đạt trong giới hạn qui định.

Độ đồng đều khối lượng (Phụ lục 11.3)
Những thuốc bột không qui định thử độ đồng đều hàm lượng thì phải thử độ đồng đều khối lượng.
Nếu thuốc bột chứa nhiều hoạt chất, thì chỉ khi tất cả các dược chất đã được thử độ đồng đều hàm lượng mới không thử độ đồng đều khối lượng.

Định tính
Theo chuyên luận riêng.

Định lượng
Theo chuyên luận riêng.

Giới hạn nhiễm khuẩn
Đáp ứng yêu cầu Thử giới hạn nhiễm khuẩn (Phụ lục 13.6).

Ghi nhãn
Theo qui định hiện hành.
Đối với thuốc bột trong một đơn vị đóng gói 1 liều phải ghi tên và hàm lượng dược chất.
Thuốc bột đóng gói nhiều liều phải ghi tên, lượng dược chất trên tổng khối lượng.
Trên nhãn phải ghi tên và lượng chất bảo quản kháng vi khuẩn, hạn dùng, điều kiện bảo quản.

Bảo quản
Thuốc bột phải được bảo quản trong đồ đựng kín. Để nơi khô mát.

Thuốc bột để uống

Thuốc bột để uống có thể dùng nuốt trực tiếp hoặc được sử dụng sau khi đã hòa tan hay phân tán trong nước hoặc chất lỏng thích hợp. Thuốc bột để uống phải đáp ứng các yêu cầu chất lượng chung của thuốc bột.

Thuốc bột sủi bọt để uống thường chứa tá dược sủi bọt, gồm các acid hữu cơ và muối carbonat hoặc hydrocarbonat, phản ứng khi có nước để giải phóng khí carbon dioxyd. Thuốc bột sủi bọt để uống phải đáp ứng các yêu cầu chung của thuốc bột. Ngoài ra thuốc bột sủi bọt để uống phải đạt yêu cầu về Độ tan như sau:

Độ tan: Cho một lượng bột tương ứng với một liều vào một cốc thủy tinh chứa 200 ml nước ở 15 °C đến 25 °C, xuất hiện nhiều bọt khí bay ra. Khi hết bọt khí, thuốc phải tan hoàn toàn. Thử như vậy với 6 liều đơn. Mẫu thử đạt yêu cầu nếu mỗi liều thử đều tan trong vòng 5 min, trừ khi có chỉ dẫn riêng.

Thuốc bột dùng ngoài
Thuốc bột dùng ngoài thường đóng gói nhiều liều, có thể dùng để đắp, rắc trực tiếp lên da, vết thương hoặc được hòa tan, phân tán trong dung môi thích hợp để nhỏ mắt, rửa hoặc thụt.
Thuốc bột dùng ngoài phải đáp ứng các yêu cầu chung của thuốc bột, ngoài ra phải đạt các chỉ tiêu riêng sau:

Thử vô khuẩn (Phụ lục 13.7)
Thuốc bột để đắp, dùng cho vết thương rộng hoặc trên da bị tổn thương nặng, thuốc bột dùng cho mắt phải vô khuẩn.

Độ mịn
Thuốc bột dùng để đắp hoặc rắc phải là bột mịn hoặc rất mịn (Phụ lục 3.5).

Thuốc bột để pha tiêm
Thuốc bột pha tiêm phải đáp ứng các yêu cầu chung của thuốc bột và yêu cầu chất lượng đối với thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền dạng bột (Phụ lục 1.19).

1.8 THUỐC CỐM
Granulae

Định nghĩa
Thuốc cốm hay thuốc hạt là dạng thuốc rắn có dạng hạt nhỏ xốp hay sợi ngắn xốp, thường dùng để uống với một ít nước hay một chất lỏng thích hợp, hoặc pha thành dung dịch, hỗn dịch hay siro. Thuốc cốm chứa một hoặc nhiều dược chất, ngoài ra có thêm các tá dược như tá dược độn, tá dược dính, tá dược điều hương vị, tá dược màu...

Các yêu cầu chất lượng chung

Tính chất
Thuốc cốm phải khô, đồng đều về kích thước hạt, không có hiện tượng hút ẩm, không bị mềm và biến màu.

Độ ẩm
Xác định nước trong các thuốc cốm nói chung theo phương pháp Xác định mất khối lượng do làm khô (Phụ lục 9.6), trong các thuốc cốm chứa tinh dầu theo phương pháp cất với dung môi (Phụ lục 12.13). Các thuốc cốm có độ ẩm không quá 5,0 %, trừ các chỉ dẫn khác.

Độ đồng đều khối lượng (Phụ lục 11.3)
Thuốc cốm không quy định thử độ đồng đều về hàm lượng thì phải thử độ đồng đều khối lượng.

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)
Trừ khi có chỉ dẫn khác, phép thử này áp dụng cho các thuốc cốm đóng gói một liều, có chứa một hoặc nhiều dược chất, phải thử đồng đều hàm lượng với các dược chất có hàm lượng dưới 2 mg hoặc dưới 2 % (kl/kl) so với khối lượng cốm trong 1 liều.

Định tính, định lượng và các yêu cầu kỹ thuật khác
Theo chuyên luận riêng.

Bảo quản
Thuốc cốm phải được bảo quản trong các đồ đựng kín, đóng từng liều hoặc nhiều liều, có nhãn đúng qui định. Để nơi khô mát.

Cốm sủi bọt
Cốm sủi bọt thường chứa tá dược sủi bọt gồm các acid hữu cơ và muối carbonat hoặc hydrocarbonat, phản ứng khi có nước để giải phóng khí carbon dioxyd. Cốm được hòa tan hoặc phân tán trong nước trước khi dùng.
Cốm sủi bọt phải đáp ứng các yêu cầu chất lượng chung của thuốc cốm, ngoài ra phải đạt yêu cầu về độ rã như sau:

Độ rã
Cho một lượng cốm đóng gói trong một đơn vị phân liều vào cốc chứa 200 ml nước ở 15 °C đến 25 °C, phải có nhiều bọt khí bay ra. Cốm được coi là rã hết nếu hòa tan hoặc phân tán hết trong nước. Thử với 6 liều, chế phẩm đạt yêu cầu phép thử nếu mỗi liều rã trong vòng 5 min, trừ khi có các chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng.

1.9 THUỐC DÁN THẤM QUA DA VÀ CAO DÁN

I. THUỐC DÁN THẤM QUA DA

Định nghĩa

Thuốc dán thấm qua da (transdermal system, transdermal patch) là những chế phẩm bán rắn, giải phóng dược chất có kiểm soát, được dán trên vùng da nguyên vẹn nhằm đưa dược chất thấm qua da vào hệ tuần hoàn để gây tác dụng tại chỗ hoặc toàn thân. Trong đó, hệ trị liệu qua da (transdermal therapeutic system) thường được thiết kế để giải phóng dược chất ở tốc độ hằng định nhằm đạt được nồng độ trong máu ở trạng thái cân bằng và duy trì cho đến lúc bóc khỏi da.

Cấu tạo chung

Thuốc dán thấm qua da thường có 4 lớp: Lớp nền, lớp chứa dược chất, lớp nền dính và màng bảo vệ.

Lớp nền là tấm mỏng dùng để trải lớp chứa thuốc, cấu tạo từ các vật liệu không thấm như màng polymer hoặc lá kim loại. Lớp này không tương kị với lớp chứa dược chất, ngoài vai trò mang thuốc, còn có tác dụng bảo vệ dược chất tránh tác động của ngoại môi.

Lớp chứa dược chất: Có cấu tạo dưới dạng hệ cốt (matrix) hoặc bình chứa (recevoir). Ở hệ cốt, dược chất được hòa tan hoặc phân tán đồng nhất dưới dạng tiểu phân trong cốt polymer (như Eudragit, polyvinyl alcohol, polyvinyl pyrolidon, chitosan, HPMC,...); khi dùng, dược chất được giải phóng bằng cách khuếch tán qua cốt polymer và qua nền dính. Với hệ bình chứa, dược chất được hòa tan hoặc phân tán trong chất lỏng có độ nhớt cao (silicon, PEG lỏng,...) hoặc trong môi trường bột nhão, gel,...Khi dùng, dược chất được khuếch tán qua một màng kiểm soát giải phóng gắn với lớp chứa dược chất và khuếch tán tiếp qua nền dính.

Lớp nền dính: Có tác dụng làm cho hệ bắt dính da, giữ thuốc tại nơi dùng, gồm những polymer nhạy cảm với áp suất (polyacrylat, polyisobutilen, polysiloxan,...), có khả năng bắt dính da, không độc và không gây kích ứng hay dị ứng với da. Trong một số thuốc dán thấm qua da, lớp chứa dược chất có thể đồng thời đóng vai trò là lớp nền dính.

Màng bảo vệ: Thường là màng mỏng polyethylen phủ lên mặt ngoài của lớp nền dính để bảo vệ thuốc dán trong quá trình bảo quản và được bóc bỏ trước khi dán. Khi bóc bỏ, màng không được làm hỏng cấu trúc của lớp nền dính.

Ngoài dược chất, hệ trị liệu qua da còn chứa các chất phụ như chất hóa dẻo, chất ổn định, chất tăng độ tan, chất tăng thấm, chất bảo quản....

Kỹ thuật bào chế

Chủ yếu sử dụng phương pháp tráng phim và đổ khuôn với các bước cơ bản như sau:

– Chế tạo lớp chứa dược chất bằng cách đun chảy polymer tạo cốt hoặc hòa tan polymer trong dung môi hữu cơ. Thêm dược chất và các thành phần khác, khuấy trộn đồng nhất, kiểm nghiệm bán thành phẩm.

– Trải hỗn hợp cốt lên lớp nền trong máy trải hoặc đổ dung dịch thuốc vào khuôn rồi bốc hơi dung môi, kiểm soát bề dày lớp chứa dược chất.

Sấy lớp chứa dược chất hoặc làm khô ở nhiệt độ phòng.

– Gắn màng kiểm soát (nếu có).

– Tráng tiếp lớp nền dính lên lớp chứa dược chất (nếu có).

– Phủ màng bảo vệ lên nền dính.

– Đóng gói sản phẩm.

Yêu cầu chất lượng

Thuốc thấm qua da phải đạt các yêu cầu qui định trong chuyên luận riêng và các yêu cầu sau đây:

Tính chất

Chế phẩm phải đồng nhất, có độ bắt dính thích hợp (dễ dính và dễ bóc), không gây kích ứng trên da.

Độ đồng đều hàm lượng

Nếu như không có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, tiến hành trên 10 đơn vị riêng rẽ được lấy bất kỳ, kết quả được đánh giá như sau:

Chế phẩm đem kiểm tra đạt yêu cầu phép thử nếu hàm lượng trung bình của 10 đơn vị không nằm ngoài giới hạn từ 90 % đến 110 % so với hàm lượng ghi trên nhãn và không có đơn vị nào có hàm lượng nằm ngoài giới hạn từ 75 % đến 125 % so với hàm lượng trung bình.

Độ đồng đều khối lượng lớp chứa dược chất

Nếu phép thử độ đồng đều hàm lượng đã được tiến hành với tất cả các dược chất có trong thuốc dán qua da thì không cần phải thử độ đồng đều khối lượng.

Tiến hành trên 20 đơn vị bất kỳ, xác định khối lượng lớp chứa dược chất của từng đơn vị và tính khối lượng trung bình của lớp chứa dược chất. Cho phép không quá 2 đơn vị có khối lượng lệch ra ngoài 5 % so với khối lượng trung bình và không có đơn vị nào có khối lượng lệch ra ngoài 10 % so với khối lượng trung bình.

Tiến hành: Cân từng đơn vị đã được loại bỏ lớp bảo vệ, ta được khối lượng m_1, dùng hỗn hợp dung môi hữu cơ phù hợp để rửa hết lớp polymer chứa dược chất, làm khô, rồi cân lại khối lượng của lớp, ta được khối lượng m_2. Khối lượng lớp chứa dược chất là hiệu số của m_1 và m_2.

Độ đồng đều diện tích

Tiến hành trên 20 đơn vị bất kỳ. Đo diện tích của từng đơn vị (tùy hình dạng của thuốc dán là hình tròn hay hình vuông mà có phương pháp đo và tính toán phù hợp), tính diện tích trung bình. Cho phép không quá 2 đơn vị có diện tích lệch ra ngoài 5 % so với diện tích trung bình và không có đơn vị nào có diện tích lệch ra ngoài 10 % so với diện tích trung bình.

Tiến hành: Bóc lớp màng bảo vệ của từng đơn vị, đo và tính diện tích của lớp chứa dược chất.

Định tính, định lượng

Theo qui định trong chuyên luận riêng.

Giải phóng dược chất
Phương pháp thử nghiệm thích hợp được yêu cầu theo từng chuyên luận riêng để chứng minh sự giải phóng của dược chất là phù hợp. Thiết bị kiểu giỏ quay, kiểu cánh khuấy hoặc kiểu dòng chảy có thể được sử dụng tùy theo thành phần, kích thước và hình dạng của mẫu thử.
Sự giải phóng dược chất qua màng cũng được sử dụng. Màng có thể là màng celulose hoặc màng silicon và phải không ảnh hưởng đến động học của giải phóng dược chất từ miếng thuốc dán. Màng có thể được xử lý một cách phù hợp trước khi thử nghiệm, được lưu giữ trong môi trường thích hợp để sử dụng cho thử nghiệm trong 24 h. Đặt bề mặt giải phóng dược chất của miếng thuốc dán lên màng, tránh sự hình thành bọt khí.
Điều kiện thử nghiệm và các yêu cầu tiến hành theo chuyên luận riêng.

Thử tính kích ứng
Tiến hành theo quy định hiện hành về thử tính kích ứng trên da áp dụng cho các sản phẩm dùng trong y tế và mỹ phẩm.

Bảo quản
Nếu không có qui định khác, chế phẩm được đựng trong bao bì kín, bảo quản nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng.

Nhãn
Nhãn ghi rõ nơi dán thuốc, tổng hàm lượng hoạt chất có trong một đơn vị, liều giải phóng cho mỗi đơn vị thời gian và diện tích bề mặt phóng thích và theo đúng qui định hiện hành.

II. CAO DÁN

Định nghĩa
Cao dán (medicated plasters) là dạng thuốc quy ước có thể chất mềm dẻo, có khả năng bắt dính da, chứa một hoặc nhiều dược chất hòa tan hay phân tán trong nền dính được trải đều thành lớp mỏng trên một lớp vải hoặc vật liệu thích hợp. Cao dán thường được dán trên vùng da lành hoặc da tổn thương (viêm, sưng,...) để gây tác dụng tại chỗ.

Cấu tạo chung
Cấu tạo tương tự cấu tạo chung của thuốc dán thấm qua da.

Kỹ thuật bào chế
Ngoại trừ các trường hợp đặc biệt, cao dán thường được điều chế bởi phương pháp trộn đều hợp chất cao phân tử trong tự nhiên hoặc tổng hợp có thể tan hoặc không tan trong nước với các dược chất, rồi trải đều trên một miếng vải hoặc phim với một hình dạng thích hợp.
Các chất cao phân tử thường gặp: Chất béo, dầu béo, muối của acid béo, sáp, nhựa, chất dẻo, lanolin tinh chế, cao su hoặc một hỗn hợp đồng nhất của các chất trên.

Yêu cầu chất lượng
Cao dán phải đạt các yêu cầu qui định trong chuyên luận riêng và các yêu cầu chung sau đây:

Tính chất
Phải đồng nhất, có độ bắt dính thích hợp (dễ dính và dễ bóc), không gây kích ứng trên da.

Định tính, định lượng
Theo qui định trong chuyên luận riêng.

Giải phóng dược chất
Phương pháp thử nghiệm thích hợp được yêu cầu theo từng chuyên luận riêng để chứng minh sự giải phóng của hoạt chất là phù hợp. Thiết bị kiểu giỏ quay, kiểu cánh khuấy hoặc kiểu dòng chảy có thể được sử dụng tùy theo thành phần, kích thước và hình dạng của miếng thuốc dán.
Sự giải phóng dược chất qua màng cũng được sử dụng. Màng có thể là màng celulose hoặc màng silicon và phải không ảnh hưởng đến động học của giải phóng hoạt chất từ miếng thuốc dán. Màng có thể được xử lý một cách phù hợp trước khi thử nghiệm, được lưu giữ trong môi trường thích hợp để sử dụng cho thử nghiệm trong 24 h. Đặt bề mặt giải phóng dược chất của miếng thuốc dán lên màng, tránh sự hình thành bọt khí.
Điều kiện thử nghiệm và các yêu cầu tiến hành theo chuyên luận riêng.

Thử tính kích ứng
Tiến hành theo quy định hiện hành về thử tính kích ứng trên da áp dụng cho các sản phẩm dùng trong y tế và mỹ phẩm.

Bảo quản
Nếu không có qui định khác, chế phẩm được đựng trong bao bì kín, bảo quản nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng.

Nhãn
Theo qui định hiện hành.

1.10 THUỐC ĐẶT
Suppositoria

Định nghĩa
Thuốc đặt là dạng thuốc rắn, chứa một hoặc nhiều dược chất, dùng để đặt vào các hốc tự nhiên của cơ thể. Thuốc có thể có tác dụng tại chỗ hoặc toàn thân.
Khi đặt vào vị trí trên cơ thể, thuốc đặt thường chảy ra, mềm ở thân nhiệt hoặc hòa tan dần trong niêm dịch để giải phóng dược chất.
Tá dược dùng cho thuốc đặt bao gồm: Bơ cacao và chế phẩm của bơ cacao, hỗn hợp gelatin - glycerin - nước, dầu thực vật hydrogen hóa, glycerid bán tổng hợp, hỗn hợp polyethylen glycol khối lượng phân tử khác nhau (PEG 400, PEG 1500, PEG 1540, PEG 3000, PEG 4000), este của acid béo với PEG.

Phân loại
Thuốc đặt trực tràng: Thường có hình dạng giống như đầu viên đạn (hình nón cụt) hoặc hình thủy lôi, khối lượng khoảng 1 g đến 3 g.

Thuốc đặt âm đạo: Thường có hình trái xoan, khối lượng khoảng 3 g đến 10 g.
Thuốc đặt niệu đạo: Đường kính 1 mm đến 4 mm, chiều dài 6 cm đến 20 cm, khối lượng khoảng 0,5 g đến 4,0 g.

Yêu cầu chất lượng

Độ rã
Đạt yêu cầu Phép thử độ rã của thuốc đạn và thuốc trứng (Phụ lục 11.5).

Độ đồng đều khối lượng
Đạt yêu cầu Phép thử độ đồng đều khối lượng (Phụ lục 11.3).

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)
Nếu không có chỉ dẫn khác, thuốc đặt đơn liều có hàm lượng hoạt chất dưới 2 mg hoặc dưới 2 % (kl/kl) phải thử độ đồng đều hàm lượng. Đối với chế phẩm có từ 2 dược chất trở lên, chỉ áp dụng yêu cầu này với thành phần có hàm lượng nhỏ như qui định ở trên. Thuốc đặt đã thử độ đồng đều về hàm lượng với tất cả các dược chất có trong thành phần thì không phải thử độ đồng đều khối lượng.

Các yêu cầu kỹ thuật khác
Thử theo qui định trong chuyên luận riêng.

Bảo quản
Trong bao bì kín, thích hợp (hộp, màng nhôm, polymer), để nơi mát (nhiệt độ dưới 30 °C).

1.11 THUỐC HOÀN
Pilula

Định nghĩa
Thuốc hoàn là dạng thuốc rắn, hình cầu, được bào chế từ bột hoặc cao dược liệu với các loại tá dược thích hợp, thường dùng để uống.

Phân loại
Trong Y học cổ truyền, tùy theo tá dược dính sử dụng mà người ta chia ra các loại hoàn như sau:
Thủy hoàn: Là hoàn được điều chế với tá dược dính là nước, rượu, dấm, dịch chiết dược liệu bằng phương pháp bồi viên và thường là hoàn nhỏ (khối lượng viên dưới 0,5 g).
Hồ hoàn: Là hoàn dùng hồ tinh bột làm tá dược dính, điều chế bằng phương pháp chia viên hay bồi viên, thường là hoàn nhỏ.
Mật hoàn: Là hoàn bào chế với tá dược dính là mật ong. Mật được luyện thành châu, trộn với bột thuốc khi còn nóng và bào chế hoàn bằng phương pháp chia viên. Hoàn mật thường gọi là "tễ", khối lượng có thể đến 12 g, có thể chất nhuận dẻo.
Lạp hoàn: Lạp hoàn được điều chế với sáp ong bằng cách đun chảy và vê viên ở nhiệt độ gần nhiệt độ đông rắn của sáp, thường có khối lượng từ 0,3 g đến 0,5 g.

Phương pháp điều chế
Thuốc hoàn được điều chế bằng 2 phương pháp: Chia viên và bồi viên.
Phương pháp chia viên: Áp dụng khi dùng các tá dược dính có độ nhớt cao như mật, hồ, sáp. Bột thuốc được trộn với tá dược dính ở nhiệt độ thích hợp thành khối bánh viên đồng nhất rồi chia viên bằng bàn hay máy chia viên.
Phương pháp bồi viên: Áp dụng cho các tá dược có độ dính thấp như nước, dịch chiết dược liệu, hồ loãng, sirô hay mật ong pha loãng. Tá dược dính lỏng và bột thuốc được bồi dần từng lớp lên nhân đã gây sẵn kết hợp với sấy cho đến khi viên đạt kích thước yêu cầu.
Thuốc hoàn có thể được bao bằng các lớp áo khác nhau để bảo quản hay tăng giá trị thẩm mỹ, viên hoàn mềm thường được đóng trong vỏ sáp.

Yêu cầu chất lượng
Nếu không có quy định riêng trong chuyên luận, bột thuốc dùng bào chế thuốc hoàn phải là bột mịn hay rất mịn.
Mật ong dùng trong viên hoàn thường là loại mật luyện: Thêm khoảng 20 % nước vào mật, đun sôi vớt bỏ bọt rồi lọc qua gạc và cô nhỏ lửa cho đến khi giọt mật thành "châu" (không tan trong nước lạnh).

Tính chất
Hoàn phải tròn, đều, đồng nhất về hình dạng, màu sắc khi bảo quản, có mùi đặc trưng của dược liệu. Hoàn mềm phải nhuận, dẻo.

Hàm ẩm
Hoàn mật ong, hoàn chứa cao đặc: Không quá 15 %. Hoàn nước có kết hợp sirô, mật ong: Không quá 12 %. Hoàn nước và hoàn hồ: Không quá 9 % (hoàn sáp không xác định hàm ẩm).
Tiến hành theo phương pháp Xác định mất khối lượng do làm khô (Phụ lục 9.6) hoặc Xác định hàm lượng nước bằng phương pháp cất với dung môi (Phụ lục 12.13).

Độ rã
Chỉ áp dụng cho hoàn cứng: Viên rã trong vòng 1 h (riêng hoàn hồ trong vòng 2 h, hoàn sáp thử theo viên bao tan trong ruột).
Tiến hành theo Phép thử độ rã của viên nén và viên nang (Phụ lục 11.6).

Độ đồng đều khối lượng
Đối với hoàn uống theo số viên:
Cân 10 viên, xác định khối lượng từng viên. Sự chênh lệch khối lượng của từng viên so với khối lượng trung bình phải nằm trong giới hạn ở Bảng 1.11.1, trong đó, không được có quá 2 viên vượt giới hạn cho phép và không được có viên nào gấp đôi giới hạn cho phép.

Bảng 1.11.1

Khối lượng trung bình 1 viên	Giới hạn cho phép
Từ 0,05 g đến 1,5 g	± 12 %
Trên 1,5 g đến 5 g	± 10 %
Trên 5,0 g đến 9,0 g	± 7 %
Trên 9,0 g	± 5 %

Đối với hoàn uống theo gam:
Cân 10 phần, mỗi phần 10 viên, xác định khối lượng trung bình chung. Sự chênh lệch khối lượng của từng phần so với khối lượng trung bình phải nằm trong giới hạn ở Bảng 1.11.2, trong đó, không được có quá 2 phần vượt giới hạn cho phép và không được có phần nào gấp đôi giới hạn cho phép.

Bảng 1.11.2

Khối lượng trung bình mỗi phần	Giới hạn cho phép
Từ 0,05 g đến 0,1 g	± 12 %
Trên 0,1 g đến 1,0 g	± 10 %
Trên 1,0 g	± 7 %

Đối với đơn vị đóng gói đã chia liều:
Lấy 10 gói, cân từng gói. Sự chênh lệch khối lượng của từng gói so với khối lượng trên nhãn phải nằm trong giới hạn ở Bảng 1.11.3, trong đó, không được có quá 2 gói vượt giới hạn cho phép và không được có gói nào gấp đôi giới hạn đó.

Bảng 1.11.3

Khối lượng trên nhãn	Giới hạn cho phép
Từ 0,5 g trở xuống	± 12 %
Trên 0,5 g đến 1,0 g	± 11 %
Trên 1,0 g đến 2,0 g	± 10 %
Trên 2,0 g đến 3,0 g	± 8 %
Trên 3,0 g đến 6,0 g	± 6 %
Trên 6,0 g đến 9,0 g	± 5 %
Trên 9,0 g	± 4 %

Định tính, định lượng
Đáp ứng theo quy định trong chuyên luận riêng.

Giới hạn nhiễm khuẩn
Thuốc hoàn phải đạt yêu cầu về giới hạn nhiễm khuẩn (Phụ lục 13.6).

1.12 THUỐC MỀM DÙNG TRÊN DA VÀ NIÊM MẠC
Praeparationes molles ad usum dermicum

Định nghĩa
Dạng thuốc có thể chất mềm, đồng nhất dùng để bôi lên da và niêm mạc nhằm gây tác dụng tại chỗ hoặc đưa dược chất thấm qua da và niêm mạc, làm trơn hoặc bảo vệ.
Thành phần của thuốc gồm một hay nhiều dược chất, được hòa tan hay phân tán đồng đều trong một hoặc hỗn hợp tá dược, thuộc hệ phân tán một pha hoặc nhiều pha.
Tá dược sử dụng có nguồn gốc thiên nhiên hoặc tổng hợp, thân dầu hay thân nước. Ngoài ra, trong thành phần tá dược còn có thêm chất bảo quản, chất chống oxy hóa, chất ổn định, chất nhũ hóa, chất làm thơm và các chất làm tăng tính thấm của dược chất.

Phân loại:
Thuốc mỡ (ointments)
Bột nhão (pastes)
Kem (creams)
Gel (gels)

Yêu cầu chất lượng chung

Độ đồng nhất
Cách thử: Lấy 4 đơn vị đóng gói, mỗi đơn vị khoảng 0,02 g đến 0,03 g, trải đều chế phẩm trên 4 phiến kính. Đậy mỗi phiến kính bằng một phiến kính thứ 2 và ép mạnh cho tới khi tạo thành một vết có đường kính khoảng 2 cm. Quan sát vết thu được bằng mắt thường (cách mắt khoảng 30 cm), ở 3 trong 4 tiêu bản không được nhận thấy các tiểu phân. Nếu có các tiểu phân nhìn thấy ở trong phần lớn số các vết thì phải làm lại với 8 đơn vị đóng gói. Trong số các tiêu bản này, các tiểu phân cho phép nhận thấy không được vượt quá 2 tiêu bản.

Độ đồng đều khối lượng
Đạt yêu cầu Phép thử độ đồng đều khối lượng (Phụ lục 11.3).

Độ nhiễm khuẩn
Đạt yêu cầu Phép thử giới hạn nhiễm khuẩn (Phụ lục 13.6).

Các yêu cầu kỹ thuật khác
Thử theo quy định trong chuyên luận riêng.

Bảo quản
Trong chai, lọ, tuýp kín chế tạo bằng vật liệu phù hợp (kim loại, polymer). Nếu chế phẩm vô khuẩn, cần bảo quản kín, vô khuẩn.

Thuốc mỡ

Định nghĩa
Tùy theo cách phối hợp và sử dụng tá dược, thuốc mỡ được chia ra 3 loại:
Thuốc mỡ thân dầu
Thuốc mỡ thân dầu có thể hút (hấp phụ) một lượng nhỏ nước hoặc dung môi phân cực. Tá dược điển hình gồm: Nhóm hydrocarbon no (vaselin, dầu parafin, parafin rắn), dầu, mỡ có nguồn gốc động vật, thực vật, glycerid bán tổng hợp, sáp và polyalkylsiloxan lỏng.
Thuốc mỡ thân nước
Thuốc mỡ thân nước có thể trộn lẫn với nước. Tá dược thường dùng là polyethylen glycol (macrogol, carbowax).
Thuốc mỡ nhũ hóa thân nước
Thuốc mỡ nhũ hóa thân nước có thể hút được một lượng lớn nước và chất lỏng phân cực để tạo thành nhũ tương nước-dầu (N/D) hoặc dầu-nước (D/N), tùy thuộc vào bản chất chất nhũ hóa có trong thành phần tá dược. Chất nhũ hóa cho nhũ tương N/D gồm: lanolin, este sorbitan (Span), monoglycerid và alcol béo. Chất nhũ hóa cho nhũ tương D/N gồm: Alcol béo sulfat, polysorbat (Tween), ether hoặc este của acid béo với polyethylen glycol.

Thuốc mỡ tra mắt

Thuốc mỡ tra mắt là những chế phẩm thuốc mỡ dùng cho mắt, chứa một hoặc nhiều dược chất hòa tan hoặc phân tán trong tá dược, được xếp vào nhóm các chế phẩm vô khuẩn. Tá dược và dược chất dùng cho thuốc mỡ tra mắt phải không bị phân hủy khi tiệt khuẩn bằng nhiệt.

Ngoài các yêu cầu của thuốc mỡ nói chung, thuốc mỡ tra mắt phải đạt các yêu cầu sau:

Thử vô khuẩn

Đạt yêu cầu Thử vô khuẩn (Phụ lục 13.7)

Các phần tử kim loại

Cách thử: Trừ trường hợp có chỉ dẫn riêng, lấy 10 tuýp thuốc, bóp hết thuốc chứa bên trong vào từng đĩa Petri riêng có đường kính 6 cm, đáy bằng, không có các vết xước và các phần tử lạ nhìn thấy được. Đậy các đĩa, đun nóng từ 80 °C đến 85 °C trong 2 h và để cho thuốc mỡ phân tán đồng đều. Làm nguội cho thuốc mỡ đông lại, lật ngược mỗi đĩa, đặt lên bàn soi của kính hiển vi thích hợp. Chiếu sáng từ trên xuống bằng một đèn chiếu đặt ở góc 45° so với mặt phẳng của bàn soi. Quan sát và đếm các phần tử kim loại sáng bóng, lớn hơn 50 µm ở bất kỳ kích thước nào. Không được có quá một tuýp trong 10 tuýp thuốc đem thử chứa nhiều hơn 8 phần tử và không được quá 50 phần tử tìm thấy trong 10 tuýp. Nếu chế phẩm không đạt ở lần thử thứ nhất, làm lại lần thử thứ hai với 20 tuýp thuốc khác. Mẫu thử được coi là đạt yêu cầu nếu không có quá 3 tuýp chứa quá 8 phần tử trong mỗi tuýp và tổng số không quá 150 phần tử trong 30 tuýp thử.

Giới hạn kích thước các phần tử

Trải một lượng nhỏ chế phẩm thành một lớp mỏng trên bàn soi của kính hiển vi, phủ phiến kính lên trên và soi. Không được có phần tử nào của thuốc có kích thước lớn hơn 75 µm.

Bảo quản

Trong lọ, tuýp có nắp hoặc nút kín. Để nơi khô mát, tránh ánh sáng.

Bao bì đựng thuốc mỡ tra mắt phải bền ở nhiệt độ tiệt khuẩn và không ảnh hưởng tới chất lượng của thuốc.

Bột nhão

Bột nhão bôi da là các chế phẩm nửa rắn, chứa một tỷ lệ lớn dược chất rắn phân tán trong tá dược.

Kem

Kem bôi da là những chế phẩm thuộc hệ phân tán nhiều pha, bao gồm: Pha dầu, pha nước và chất nhũ hóa.

Kem N/D: Pha nội thân nước, pha ngoại (pha liên tục) thân dầu. Trong thành phần có các chất nhũ hóa tạo nhũ tương N/D như: Lanolin, este sorbitan (Span), monoglycerid và alcol béo.

Kem D/N: Pha nội thân dầu, pha ngoại (pha liên tục) thân nước. Trong thành phần có các chất nhũ hóa tạo nhũ tương D/N như: Xà phòng kiềm hóa trị một (natri, kali), xà phòng amin (mono, di và triethanolamin), alcol béo sulfat, polysorbat (Tween), ether hoặc este của acid béo với polyethylen glycol.

Gel

Gel bôi da và niêm mạc là những chế phẩm thể chất mềm, sử dụng tá dược tạo gel thích hợp.

Gel thân dầu (oleogels): Trong thành phần sử dụng tá dược tạo gel, bao gồm dầu parafin phối hợp với tá dược thân dầu khác, có thêm keo silic, xà phòng nhôm hoặc xà phòng kẽm.

Gel thân nước (hydrogels): Thành phần bao gồm nước, glycerin, propylen glycol, có thêm các tá dược tạo gel như polysacarid (tinh bột, tinh bột biến tính, acid alginic và natri alginat), dẫn chất cellulose, polymer của acid acrylic (carbomer, carbomer copolymer, carbomer interpolymer, methyl acrylat) và các chất vô cơ (magnesi - nhôm silicat).

1.13 THUỐC NANG

Capsulae

Định nghĩa

Thuốc nang là dạng thuốc uống chứa một hay nhiều dược chất trong vỏ nang với nhiều hình dạng và kích thước khác nhau. Vỏ nang được làm chủ yếu từ gelatin hoặc polyme như HPMC... Ngoài ra trong vỏ nang còn chứa các tá dược khác như chất hóa dẻo, chất màu, chất bảo quản...

Thuốc chứa trong nang có thể là dạng rắn (bột, cốm, pellet...) hay lỏng, nửa rắn (hỗn dịch, nhũ tương, bột nhão...).

Yêu cầu chất lượng chung

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)

Nếu không có các chỉ dẫn khác, yêu cầu này áp dụng cho các thuốc nang có chứa một hoặc nhiều dược chất, trong đó có các dược chất có hàm lượng dưới 2 mg hoặc dưới 2 % (kl/kl) so với khối lượng thuốc trong 1 nang. Đối với nang có từ 2 dược chất trở lên, chỉ thử độ đồng đều hàm lượng với thành phần nào có hàm lượng nhỏ như qui định ở trên.

Độ đồng đều khối lượng (Phụ lục 11.3)

Nếu phép thử độ đồng đều hàm lượng đã được tiến hành với tất cả các dược chất có trong nang thì không phải thử độ đồng đều khối lượng.

Định tính, định lượng và các yêu cầu kỹ thuật khác

Theo qui định trong chuyên luận riêng.

Độ hòa tan (Phụ lục 11.4)

Các thuốc nang có yêu cầu thử độ hòa tan sẽ có qui định cụ thể trong chuyên luận riêng. Không yêu cầu thử độ rã đối với thuốc nang đã thử độ hòa tan.

Bảo quản

Trong bao bì kín, nhiệt độ không quá 30 °C.

Thuốc nang cứng

Vỏ nang cứng gồm nắp nang và thân nang hình trụ lồng khít vào nhau bằng khớp trên vỏ nang hoặc được hàn kín sau khi đóng thuốc. Thuốc đóng trong nang thường ở dạng rắn (bột, hạt...). Quá trình chế tạo vỏ và đóng thuốc được thực hiện riêng.

Ngoài các yêu cầu chung của thuốc nang, thuốc nang cứng phải đạt các yêu cầu sau:

Độ rã (Phụ lục 11.6)

Nếu không có chỉ dẫn gì khác, dùng nước làm môi trường thử, thời gian rã phải trong vòng 30 min. Nếu thử trong môi trường nước không đạt, thay nước bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* hoặc *dịch dạ dày giả (TT)*. Nếu nang nổi trên mặt nước, có thể dùng đĩa khi thử.

Thuốc nang mềm

Thuốc nang mềm là một khối mềm chứa dược chất và tá dược đóng trong vỏ kín với nhiều hình dạng và kích cỡ khác nhau. Vỏ nang mềm làm bằng hỗn hợp gelatin, chất hóa dẻo, chất màu, chất bảo quản...

Thuốc đóng trong nang mềm thường ở dạng lỏng, dung dịch, hỗn dịch hay nhũ tương. Quá trình chế tạo vỏ và đóng thuốc được thực hiện đồng thời.

Thuốc nang mềm dùng để uống hoặc để đặt.

Ngoài các yêu cầu chung của thuốc nang, thuốc nang mềm phải đạt các yêu cầu sau:

Độ rã (Phụ lục 11.6)

Nếu không có chỉ dẫn gì khác, dùng nước làm môi trường thử, cho đĩa vào mỗi ống thử, thời gian rã phải trong vòng 30 min. Nếu thử trong môi trường nước không đạt, thay nước bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* hoặc *dịch dạ dày giả (TT)*.

Nếu dược chất có tương tác với đĩa, có thể thử không dùng đĩa.

Nếu nang không rã do dính vào đĩa, thử lại với 6 viên khác không dùng đĩa. Mẫu thử đạt yêu cầu nếu cả 6 viên đều rã.

Thuốc nang tan trong ruột

Thuốc nang tan trong ruột là các nang cứng hay nang mềm có vỏ nang hoặc hạt đóng nang rã trong dịch ruột. Đối với các thuốc nang đóng hạt được bao tan ở ruột phải tiến hành thử độ hòa tan để kiểm tra sự giải phóng dược chất theo Phụ lục 11.4 và theo chuyên luận riêng.

Ngoài các yêu cầu chung của thuốc nang, thuốc nang tan trong ruột phải đáp ứng được các yêu cầu:

Độ rã

Đối với thuốc nang có vỏ nang bền với dịch dạ dày phải thử độ rã (Phụ lục 11.6). Dùng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* làm môi trường thử. Không dùng đĩa, nếu không có chỉ dẫn gì khác, vận hành thiết bị thử trong 2 h. Không có nang nào được rã hoặc nứt vỡ làm thuốc trong nang lọt ra ngoài.

Thay dung dịch acid bằng *dung dịch đệm phosphat pH 6,8 (TT)*. Cho đĩa vào mỗi ống thử, vận hành thiết bị thử trong 60 min. Kiểm tra từng nang, cả 6 nang phải rã hết. Nếu nang không rã do dính vào đĩa, thử lại với 6 viên khác không dùng đĩa. Mẫu thử đạt yêu cầu nếu cả 6 viên đều rã.

Thuốc nang tác dụng kéo dài

Thuốc nang tác dụng kéo dài là thuốc nang cứng hay nang mềm, trong đó vỏ nang hay thuốc trong nang (hoặc cả 2) được bào chế để dược chất giải phóng kéo dài. Ngoài các yêu cầu chung của thuốc nang, thuốc nang tác dụng kéo dài phải thử độ hòa tan theo yêu cầu qui định trong chuyên luận riêng.

1.14 THUỐC NHỎ MẮT

Collyria

Định nghĩa

Thuốc nhỏ mắt là dung dịch nước, dung dịch dầu hoặc hỗn dịch vô khuẩn của một hay nhiều hoạt chất, dùng để nhỏ vào mắt. Chế phẩm cũng có thể được bào chế dưới dạng khô (bột, bột đông khô, viên nén) vô khuẩn, được hòa tan hoặc phân tán vào một chất lỏng vô khuẩn thích hợp khi dùng.

Yêu cầu chung

Thuốc nhỏ mắt phải được pha chế - sản xuất trong điều kiện vô khuẩn. Các dụng cụ, thiết bị và đồ đựng dùng trong pha chế - sản xuất phải sạch và vô khuẩn.

Dung môi để pha chế thuốc nhỏ mắt thường là nước tinh khiết hoặc các dung dịch nước thích hợp hoặc là dầu thực vật trung tính đạt tiêu chuẩn để pha thuốc tiêm.

Trong thành phần của thuốc nhỏ mắt có thể có thêm các tá dược, để điều chỉnh độ đẳng trương, độ nhớt, điều chỉnh hay ổn định pH của chế phẩm, tăng độ tan và độ ổn định của hoạt chất, nhưng không được ảnh hưởng xấu đến tác dụng của thuốc và không gây kích ứng đối với mắt ở nồng độ sử dụng trong chế phẩm.

Những chế phẩm thuốc nhỏ mắt nước đóng nhiều liều trong một đơn vị đóng gói phải cho thêm chất sát khuẩn với nồng độ thích hợp, trừ khi tự chế phẩm có đủ tính chất sát khuẩn. Chất sát khuẩn phải không tương kỵ với các thành phần khác có trong chế phẩm và phải duy trì được hiệu quả sát khuẩn trong thời gian sử dụng chế phẩm kể từ lần mở nắp đầu tiên.

Không được thêm chất sát khuẩn hoặc chất chống oxy hóa vào các thuốc nhỏ mắt dùng cho phẫu thuật ở mắt. Các thuốc nhỏ mắt này phải pha chế - sản xuất trong điều kiện vô khuẩn và đóng gói một liều.

Không được cho thêm chất màu vào thuốc nhỏ mắt chỉ với mục đích nhuộm màu chế phẩm.

Đồ đựng thuốc nhỏ mắt nên có đủ độ trong cần thiết để kiểm tra được bằng mắt độ trong của dung dịch hay độ đồng nhất của hỗn dịch nhỏ mắt chứa trong đó. Đồ đựng thuốc nhỏ mắt phải vô khuẩn và không có tương tác về mặt vật lý hay hóa học với thuốc. Đồ đựng thuốc nhỏ mắt phải đáp ứng các yêu cầu nêu trong Phụ lục 17.3.3. Đồ đựng thuốc nhỏ mắt chứa nhiều liều phải có bộ phận nhỏ giọt

thích hợp, thể tích mỗi đơn vị đóng gói không nên vượt quá 10 ml.
Ghi nhãn: Nhãn thuốc nhỏ mắt phải ghi theo quy chế. Nhãn phải ghi tên chất sát khuẩn có trong chế phẩm. Đối với đơn vị đóng gói nhiều liều, trên nhãn phải ghi rõ thời hạn sử dụng tính từ khi thuốc được sử dụng lần đầu, sau thời gian đó thuốc còn lại phải bỏ đi, thường không quá 4 tuần, trừ khi có chỉ dẫn khác.

Yêu cầu chất lượng

Độ trong (Thử theo Phụ lục 11.8. Phần B)
Dung dịch thuốc nhỏ mắt phải trong suốt, không có các tiểu phân quan sát được bằng mắt thường
Hỗn dịch nhỏ mắt có thể lắng đọng khi để yên nhưng phải dễ dàng phân tán đồng nhất khi lắc và phải duy trì được sự phân tán đồng nhất đó trong khi nhỏ thuốc để sử dụng đúng liều.

Kích thước tiểu phân (Thử theo Phụ lục 11.8. Phần A)
Nếu không có chỉ dẫn khác, thuốc nhỏ mắt dạng hỗn dịch phải đạt yêu cầu của phép thử sau: Lắc mạnh và chuyển một lượng chế phẩm tương đương với khoảng 10 µg pha rắn vào buồng đếm hoặc lên một phiến kính thích hợp và quan sát dưới kính hiển vi có độ phóng đại thích hợp. Không được có quá 20 tiểu phân có kích thước lớn hơn 25 µm và không có quá 2 tiểu phân có kích thước lớn hơn 50 µm, không có tiểu phân nào có kích thước lớn hơn 90 µm.

Thử vô khuẩn
Đạt yêu cầu Thử vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

Giới hạn cho phép về thể tích
+ 10 % thể tích ghi trên nhãn (Phụ lục 11.1).

Các yêu cầu kỹ thuật khác
Thử theo quy định trong chuyên luận riêng.
Đối với dạng chế phẩm khô, dùng để pha thuốc nhỏ mắt trước khi dùng, sau khi pha phải đáp ứng các yêu cầu chất lượng của thuốc nhỏ mắt. Đối với chế phẩm đóng liều đơn phải đáp ứng các yêu cầu về phép thử độ đồng đều hàm lượng hoặc độ đồng đều khối lượng (Phụ lục 11.2 hoặc 11.3), trừ khi có chỉ dẫn khác.
Đối với các dung dịch dùng để rửa mắt, ngâm mắt hoặc để thấm vào băng mắt, nhất thiết phải là các dung dịch đẳng trương với dịch nước mắt và phải đáp ứng các yêu cầu chất lượng của thuốc nhỏ mắt. Thuốc rửa mắt dùng trong phẫu thuật hoặc trong điều trị sơ cứu về mắt, không được chứa chất sát khuẩn, phải pha chế vô khuẩn và đóng gói một liều. Thuốc rửa mắt đóng nhiều liều phải có chất sát khuẩn ở nồng độ thích hợp và không đóng gói quá thể tích 200 ml cho một đơn vị đóng gói nhỏ nhất.
Nhãn thuốc theo quy định hiện hành và có ghi thời hạn sử dụng sau khi mở nắp.

1.15 THUỐC NHỎ MŨI VÀ THUỐC XỊT MŨI DẠNG LỎNG

Định nghĩa
Thuốc nhỏ mũi và thuốc xịt mũi dạng lỏng là các dung dịch, nhũ tương hay hỗn dịch dùng để nhỏ hoặc bơm xịt vào trong hốc mũi để gây tác dụng tại chỗ hay toàn thân.
Thuốc nhỏ mũi thường được đóng vào lọ chứa đa liều có gắn bộ phận nhỏ giọt thích hợp. Thuốc xịt mũi dạng lỏng được đóng vào trong lọ chứa có gắn bộ phận phun hoặc đóng vào lọ dưới áp suất cao có hoặc không có van phân liều. Kích thước của các giọt thuốc khi phun ra phải cho phép thuốc bám được vào trong hốc mũi.

Phương pháp điều chế
Điều chế theo phương pháp thích hợp tùy theo thuốc là dung dịch, hỗn dịch hay nhũ tương.
Các chế phẩm có chất dẫn là nước thường phải đẳng trương và có thể cho thêm tá dược để điều chỉnh độ nhớt, điều chỉnh hay ổn định pH, để tăng tính tan của hoạt chất hay để ổn định chế phẩm.
Trong sản xuất, đóng gói, tồn trữ và phân phối, phải có những biện pháp thích hợp để đảm bảo yêu cầu về giới hạn vi sinh vật. Đối với các chế phẩm vô khuẩn, phải điều chế với các nguyên liệu và phương pháp thích hợp để đảm bảo tính vô khuẩn, tránh ô nhiễm và ngăn cản sự phát triển của các vi sinh vật.
Thuốc nhỏ mũi đóng trong lọ chứa đa liều và thuốc xịt mũi có sử dụng chất dẫn là nước, phải cho thêm chất bảo quản ở nồng độ thích hợp trừ trường hợp bản thân chế phẩm có tính sát khuẩn.

Yêu cầu chất lượng
Đạt yêu cầu chất lượng theo các chuyên luận riêng.
Chế phẩm không được gây kích ứng và gây ảnh hưởng đến chức năng của màng nhày và hệ lông trong mũi.
Khi bảo quản, các chế phẩm dạng nhũ tương có thể có hiện tượng tách pha; dạng hỗn dịch có thể có hiện tượng lắng cặn xuống đáy lọ nhưng phải dễ dàng phân tán đều trở lại khi lắc để phân chia liều được chính xác.
Chế phẩm dạng hỗn dịch phải kiểm soát kích thước thích hợp của các tiểu phân tùy theo mục đích sử dụng.
Đồ đựng thuốc nhỏ mũi phải đáp ứng các yêu cầu nêu trong Phụ lục 17.1 hoặc 17.3.
Trừ khi có chỉ dẫn khác, thuốc nhỏ mũi được cung cấp dưới dạng đơn liều và các thuốc xịt mũi phân liều có tác động toàn thân, phải đáp ứng các yêu cầu của các thử nghiệm sau:

Độ đồng đều khối lượng
Thuốc nhỏ mũi đơn liều dạng dung dịch:
Cân riêng từng lượng thuốc được lấy cẩn thận ra từ 10 lọ và xác định khối lượng trung bình thuốc trong lọ. Không được có quá 2 đơn vị lệch hơn 10 % và không có đơn vị nào lệch hơn 20 % so với khối lượng trung bình của thuốc.
Thuốc xịt mũi phân liều dạng dung dịch:
Xịt bỏ liều đầu tiên, đợi ít nhất 5 s, xịt bỏ tiếp một lần nữa. Lặp lại quy trình này 3 lần nữa. Cân khối lượng của

lọ thuốc, xịt bỏ một liều và cân khối lượng còn lại của lọ thuốc. Tính chênh lệch giữa hai khối lượng. Lặp lại quy trình như trên với 9 lọ thuốc xịt khác. Chế phẩm đạt yêu cầu của thử nghiệm nếu không có quá 2 giá trị lệch hơn 25 % và không có giá trị nào lệch hơn 35 % so với giá trị trung bình.

Độ đồng đều hàm lượng

Thuốc nhỏ mũi đơn liều dạng hỗn dịch hoặc nhũ tương phải đáp ứng thử nghiệm sau:

Lấy hết thuốc trong mỗi lọ ra và xác định hàm lượng riêng của thuốc trong từng lọ. Chế phẩm phải đáp ứng yêu cầu của Phụ lục 11.2, phương pháp 1.

Độ đồng đều phân liều

Thuốc xịt mũi phân liều dạng hỗn dịch hay nhũ tương phải đáp ứng theo thử nghiệm sau:

Dùng một dụng cụ có khả năng giữ lại số lượng thuốc vừa phun ra khỏi bộ phận phun. Lắc lọ thuốc trong 5 s và xịt bỏ liều đầu tiên, đợi ít nhất 5 s, lắc trong 5 s và xịt bỏ tiếp một lần nữa. Lặp lại quy trình này 3 lần nữa. Sau 2 s, xịt một liều thuốc vào trong dụng cụ hứng. Rửa dụng cụ hứng nhiều lần để thu hồi lại liều thuốc. Xác định hàm lượng của hoạt chất trong nước rửa. Lặp lại quy trình như trên với 9 lọ thuốc khác. Nếu không có chỉ dẫn khác, chế phẩm đáp ứng thử nghiệm nếu không có quá một liều vượt ngoài giới hạn 75 % đến 125 % và không có giá trị nào vượt ngoài giới hạn 65 % đến 135 % so với giá trị trung bình của 10 liều (lấy từ 10 lọ). Nếu có 2 hoặc 3 giá trị vượt qua giới hạn 75 % đến 125 % nhưng vẫn nằm trong giới hạn 65 % đến 135 %, lặp lại thử nghiệm với 20 lọ thuốc nữa. Chế phẩm đáp ứng thử nghiệm nếu không có quá 3 trong số 30 lọ vượt ra ngoài giới hạn 75 % đến 125 % và không có giá trị nào vượt ngoài giới hạn 65 % đến 135 % so với giá trị trung bình của 30 lọ.

Thể tích

+ 10 % thể tích ghi trên nhãn (Phụ lục 11.1).

Giới hạn nhiễm khuẩn

Đạt yêu cầu qui định trong Phụ lục 13.6.

Bảo quản

Đối với các thuốc vô khuẩn, bảo quản thuốc trong chai lọ vô khuẩn, kín, có niêm bảo đảm.

Các thuốc xịt mũi được đóng vào các lọ dưới áp suất cao phải được để nơi mát, xa nguồn nhiệt.

Nhãn thuốc theo qui định hiện hành và có ghi tên, nồng độ (hàm lượng) của chất bảo quản và thời hạn sử dụng sau khi mở nắp.

I.16 THUỐC NHỎ TAI VÀ THUỐC XỊT VÀO TAI

Định nghĩa

Thuốc nhỏ tai và thuốc xịt vào tai là các dung dịch, hỗn dịch hay nhũ tương của một hoặc nhiều dược chất trong các chất lỏng thích hợp (như nước, các glycol hoặc dầu béo) để đưa vào trong hốc tai nhưng không được gây ra áp lực có hại lên màng nhĩ. Thuốc cũng có thể dùng bôi vào hốc tai nhờ một que bông được tẩm thuốc.

Thuốc nhỏ tai thường được đóng gói trong các lọ chứa đa liều làm bằng thủy tinh hay chất dẻo thích hợp có gắn hoặc kèm theo một bộ phận thích hợp để nhỏ giọt. Các thuốc xịt vào tai thường được đóng gói trong các lọ chứa đa liều gắn theo một bộ phận để phun thuốc. Các bộ phận này được thiết kế sao cho tránh sự gây nhiễm.

Phương pháp điều chế

Điều chế theo phương pháp thích hợp tùy theo thuốc là dung dịch, hỗn dịch hay nhũ tương.

Có thể cho thêm các tá dược để điều chỉnh độ đẳng trương, độ nhớt, điều chỉnh hay ổn định pH, tăng tính tan của dược chất hoặc ổn định chế phẩm. Các tá dược này không được làm giảm tác dụng trị liệu của thuốc hay gây độc tính hoặc gây kích ứng tại chỗ ở nồng độ sử dụng.

Trừ khi có chỉ dẫn khác, các thuốc nhỏ tai và thuốc xịt có chất dẫn là nước khi được đóng gói trong lọ chứa đa liều phải được cho thêm vào các chất bảo quản ở nồng độ thích hợp trừ khi bản thân chế phẩm có tính sát khuẩn.

Thuốc dùng để điều trị tai bị tổn thương, đặc biệt khi màng nhĩ bị thủng hay để sử dụng trước khi phẫu thuật, phải vô khuẩn, không được chứa các chất bảo quản và được cung cấp trong lọ chứa đơn liều. Khi đó thuốc được điều chế với các nguyên liệu và phương pháp thích hợp để đảm bảo tính vô khuẩn, tránh ô nhiễm và tránh sự phát triển của các vi sinh vật.

Yêu cầu chất lượng

Đạt yêu cầu chất lượng theo các chuyên luận riêng.

Khi bảo quản, chế phẩm dạng nhũ tương có thể có hiện tượng tách pha nhưng phải dễ dàng phân tán đều trở lại khi lắc.

Chế phẩm dạng hỗn dịch khi bảo quản có thể có hiện tượng lắng cặn nhưng phải dễ dàng phân tán đều trở lại khi lắc và duy trì tình trạng ổn định này đủ để cho phép phân liều chính xác. Có biện pháp kiểm soát để đảm bảo kích thước tiểu phân phù hợp tùy theo mục đích sử dụng.

Đồ đựng thuốc nhỏ tai phải đáp ứng các yêu cầu nêu trong Phụ lục 17.1 hoặc 17.3.

Độ đồng đều hàm lượng

Trừ khi có chỉ dẫn riêng, các chế phẩm đơn liều có hàm lượng dược chất dưới 2 mg hay chiếm dưới 2 % khối lượng của đơn vị phân liều và các thuốc xịt phân liều phải đáp ứng yêu cầu của Phụ lục 11.2 Phép thử độ đồng đều hàm lượng, phương pháp 1. Nếu thuốc có nhiều dược chất, yêu cầu này được áp dụng cho thành phần có các điều kiện như trên.

Độ đồng đều khối lượng

Các chế phẩm đơn liều phải đạt yêu cầu của Phụ lục 11.3 Phép thử độ đồng đều khối lượng. Nếu đã thử độ đồng đều hàm lượng của tất cả các dược chất thì không phải thử độ đồng đều khối lượng.

Giới hạn nhiễm khuẩn
Đạt yêu cầu qui định trong Phụ lục 13.6.
Nếu có yêu cầu vô khuẩn, thuốc phải đạt các yêu cầu của thử nghiệm về *Thử vô khuẩn* (Phụ lục 13.7) và tính chất này phải được ghi trên nhãn thuốc.

Thể tích
+ 10 % thể tích ghi trên nhãn (Phụ lục 11.1).

Bảo quản
Đối với các thuốc vô khuẩn, bảo quản thuốc trong chai lọ vô khuẩn, kín.
Thuốc xịt được đóng gói trong các lọ chứa đóng dưới áp suất cao được bảo quản nơi mát, xa nguồn nhiệt.
Nhãn thuốc theo quy định hiện hành và có ghi tên của chất bảo quản và thời hạn sử dụng sau khi mở nắp (thường không quá 4 tuần trừ khi có chỉ dẫn khác).

1.17 THUỐC HÍT
Inhalationis

Định nghĩa
Thuốc hít là dạng bào chế rắn hoặc lỏng, đóng gói kín, khi dùng thuốc sẽ bay hơi, thăng hoa trong không khí hoặc do khí đẩy tạo ra những hạt thuốc mịn phân tán trong khí để hít vào đường hô hấp, có tác dụng tại chỗ hoặc toàn thân.
Thuốc hít chứa một hoặc nhiều hoạt chất hòa tan trong dung môi hoặc phân tán đều trong khối thuốc và các tá dược thích hợp như chất dẫn, chất bảo quản kháng khuẩn, chất ổn định,... Các tá dược phải đảm bảo không ảnh hưởng tới chức năng hoặc gây tổn thương, kích ứng niêm mạc đường hô hấp.

Phân loại
Theo trạng thái: Thuốc hít có thể dưới dạng lỏng hoặc rắn.
Dạng lỏng như dung dịch tinh dầu dễ bay hơi hoặc dung dịch thuốc đóng trong bao bì chai, lọ được nạp khí để đẩy thuốc qua van kiểu khí dung hoặc dùng thuốc với dụng cụ thích hợp.
Dạng rắn là các bột để hít thường đóng dạng khí dung ở áp suất cao hoặc hít bởi các dụng cụ chuyên khoa mũi họng hoặc dạng khối rắn của hoạt chất dễ bay hơi, thăng hoa trong ống hít.
Theo dạng bào chế: Ở dạng bào chế hoàn chỉnh có thuốc khí dung để hít và ống hít.
Thuốc khí dung để hít: Dạng thuốc đóng gói dưới áp suất cao dùng qua đường hô hấp bằng cách hít vào miệng hoặc mũi. Hoạt chất trong thuốc có thể ở dạng dung dịch, hỗn dịch, hoặc nhũ tương. Nếu thuốc ở dạng hỗn dịch hoặc nhũ tương, cần lắc đều trước khi dùng. Thuốc có thể đóng gói với van phân liều hoặc không phân liều.
Tùy theo yêu cầu trị liệu mà hạt khí dung có độ mịn phù hợp. Riêng khí dung dùng để điều trị bệnh phổi có các hoạt chất kháng sinh, kháng viêm,... kích thước hạt phải nhỏ hơn 5 µm. Mặt khác, áp lực khí đẩy phải đảm bảo đưa thuốc tới được vị trí thuốc cần tác dụng, đồng thời phù hợp với đặc điểm sinh lý đường hô hấp và an toàn cho người sử dụng.
Thuốc ống hít: Dùng cho các hoạt chất dễ bay hơi, hay thăng hoa thành khí: Tinh dầu bạc hà, camphor, menthol, eucalytol, v.v... hoặc hoạt chất được hòa tan, phân tán đều trong tá dược dầu sáp, dung môi và trộn hoặc thấm vào các vật liệu thích hợp tạo thành khối xốp, đặt trong ống để hít.
Cấu tạo của ống hít gồm: Phần thân ống có đáy kín, chứa khối thuốc xốp và phía trên để rỗng chứa thuốc ở trạng thái khí. Phần đầu trên của ống có hình dạng thích hợp và đục lỗ để hít qua mũi. Nắp bảo vệ để thuốc không thoát ra khỏi ống khi bảo quản.
Bảo quản: Cần bảo quản ống hít nơi khô, mát, tránh ánh sáng.
Các thuốc khác để xông hít:
Hộp chứa bột thuốc để hít: Hộp có ngăn chứa một liều thuốc ở dạng bột mịn và nối với một đầu để hít vào miệng. Hộp mang nhiều ngăn và có thể xoay các ngăn luân phiên cho mỗi lần sử dụng.
Nang thuốc để hít: Thuốc được cấp kèm theo một dụng cụ có bộ phận nghiền thuốc thành bột mịn để hít.
Dung dịch thuốc để xông hít: Thuốc được cấp để hít trên một máy hoặc dụng cụ phân tán thuốc thành thể hạt mịn trong khí để xông hít. Máy tạo hạt để hít từ dung dịch thuốc bằng rung động siêu âm hoặc kiểu máy nén khí qua đầu phun thuốc; máy xông hơi nước dùng nhiệt độ,... Ngoài ra, dụng cụ gây mê hồi sức cũng áp dụng kiểu trị liệu tương tự như thuốc hít.

Phương pháp sản xuất
Các dạng thuốc để xông hít nhất là thuốc hít theo đường hô hấp phải chọn lựa tá dược để phù hợp không gây kích ứng niêm mạc hô hấp, không gây nguy hiểm cho bệnh nhân. Các thuốc lỏng phải chọn pH trong khoảng 3,0 đến 8,5 vừa phù hợp sinh lý vừa giúp ổn định hoạt chất. Thuốc có chứa chất bảo quản kháng khuẩn phải chứng tỏ hiệu lực ổn định theo quy định.
Dồ đựng của thuốc hít phải được lựa chọn theo quy định chung.

Tiêu chuẩn chất lượng
Đạt yêu cầu chất lượng theo các chuyên luận riêng.
Khi dung để hít đóng dưới áp suất khí đẩy phải đáp ứng các yêu cầu chung của thuốc khí dung, theo Phụ lục 1.18.
Các thuốc nếu bào chế để dùng kèm theo các y cụ để xông hít thuốc phải đáp ứng các quy định hiện hành về thuốc xông hít của ngành dược. Các y cụ để xông hít thuốc phải đáp ứng các quy định chung hiện hành về trang thiết bị y tế.

Nhãn thuốc
Nhãn thuốc theo quy định hiện hành.
Nhãn có các nội dung về liều lượng nếu ở dạng khí dung và các quy định khác theo từng chuyên luận riêng.

1.18 THUỐC KHÍ DUNG
Aerosolum

Thuốc khí dung là dạng bào chế mà trong quá trình sử dụng, hoạt chất được phân tán thành những hạt nhỏ trong không

khí do thuốc được nén qua đầu phun bởi một luồng khí đẩy ở áp suất cao để tới vị trí tác dụng.
Thuốc khí dung có thể dùng ngoài da, tóc, mũi - họng, răng miệng hoặc tai,... và hay dùng để hít theo đường hô hấp có tác dụng tại chỗ hoặc tác dụng toàn thân.

Các dạng thuốc khí dung
Thuốc khí dung hoàn chỉnh: Dạng thuốc này là một hệ thống gồm: Thuốc, chai, lọ kín chứa thuốc có gắn đầu phun cùng với van và khí đẩy được nén ở áp suất thích hợp. Khi nhấn đầu phun, thuốc sẽ tự động đẩy ra khỏi đầu van. Van có thể là loại không phân liều, nhưng nếu cần thiết thuốc phải gắn van phân liều chính xác.
Thuốc khí dung khi đóng trong đồ đựng thường ở thể lỏng như: Dung dịch, hỗn dịch, nhũ tương. Đồ đựng thuốc có thể là chai, lọ hoặc bình được chế tạo đặc biệt để có thể gắn kết với các bộ phận gồm ống dẫn thuốc, van, đầu phun và nắp đậy. Đồ đựng thuốc được chế bằng vật liệu thích hợp như thủy tinh, nhựa, kim loại hoặc phối hợp. Khí đẩy có chức năng nén thuốc qua đầu phun và lượng khí nén đóng trong thuốc khí dung phải đảm bảo đủ để đẩy hết liều lượng thuốc theo chỉ định. Khí đẩy thường dùng là hỗn hợp các loại khí như khí trơ carbonic (CO_2), nitrogen hoặc khí hydrocarbon và dẫn chất halogen của hydrocarbon. Hai nhóm sau thường dùng ở dạng khí nén hóa lỏng.
Thuốc khí dung hoàn chỉnh được sản xuất công nghiệp, tuy nhiên, kiểu đóng thuốc dưới áp lực cao của khí đẩy còn gặp ở một số chế phẩm không phải là thuốc khí dung như thuốc bọt, thuốc lỏng để xoa da hoặc sirô thuốc và mỹ phẩm...
Thuốc khí dung kiểu piston: Thuốc này không nén sẵn khí đẩy như thuốc khí dung hoàn chỉnh, mà gắn van kiểu piston để người dùng tự bơm nén không khí để đẩy thuốc. Khi nhấn, piston hoạt động như van một chiều chỉ cho khí đi vào, sau vài lần ấn áp suất đạt tới mức nhất định, van mở cho thuốc phun ra. Tiếp tục nhấn piston, chu kỳ phun thuốc được lặp lại. Đây là một dạng thuốc khí dung chưa hoàn chỉnh.
Thuốc khí dung dùng quả bóp: Thuốc đựng trong đồ đựng riêng, khi dùng thuốc được cho vào một đầu phun có gắn quả bóp (bằng nhựa hoặc cao su). Khi bóp, không khí sẽ nén với áp lực đủ để đẩy thuốc ra khỏi đầu phun. Đầu phun có hình dạng khác nhau, tùy trường hợp cho thuốc qua miệng hoặc mũi...
Đầu phun này là dụng cụ tạo khí dung cho cá nhân hay được dùng trong bệnh viện bằng cách nối chung với máy nén khí trị liệu khí dung.
Ngoài các dạng bào chế trên, còn có thể dùng dụng cụ, thiết bị khác như máy rung động siêu âm, máy dùng điện thế tạo ra thuốc khí dung để xông hít.

Kỹ thuật và điều kiện sản xuất
Kỹ thuật sản xuất thuốc khí dung phải đảm bảo cho hoạt chất ổn định trong thời hạn bảo quản. Các hoạt chất kém ổn định: Oxytetracyclin, hydrocortison, streptomycin, rifampicin,... phải sản xuất ở trạng thái khí dung khô, trong thành phần của thuốc không được chứa nước. Nếu hoạt chất ổn định với dung môi nước thì có thể bào chế thuốc ở thể dung dịch nhũ tương hoặc hỗn dịch.
Kích thước của các hạt mang hoạt chất trong thuốc khí dung phải đủ mịn và phân tán đều khi được đẩy ra khỏi đầu phun. Với khí dung trị bệnh phổi thường có hoạt chất kháng sinh, kháng viêm,... và kích thước hạt phải nhỏ hơn 5 µm. Mặt khác, áp lực khí đẩy của chế phẩm phải đảm bảo đưa thuốc tới được bề mặt vị trí thuốc cần tác dụng, đồng thời phù hợp với đặc điểm sinh lý đường hô hấp và an toàn cho người sử dụng.
Thuốc khí dung phải được sản xuất trong điều kiện đảm bảo chất lượng chung và phù hợp với đường sử dụng thuốc; phải kiểm tra giới hạn vi sinh vật (Phụ lục 13.6 Thử giới hạn nhiễm khuẩn). Thuốc sử dụng cho vết thương phải vô khuẩn (Phụ lục 13.7 Thử vô khuẩn). Chất liệu của đồ đựng thuốc phải lựa chọn đúng quy định.

Tiêu chuẩn chất lượng của thuốc thành phẩm
Đạt yêu cầu chất lượng theo các chuyên luận riêng.
Tiêu chuẩn áp dụng cho thuốc khí dung hoàn chỉnh gồm: Áp suất khí nén, cỡ hạt và phân bố cỡ hạt khi phun thuốc, khả năng phân liều của van, tốc độ phun. Đặc tính an toàn: Điểm bắt lửa của thuốc khi phun, khả năng chịu áp lực của bình, độ kín của bao bì.
Nếu dung môi dùng trong khí dung có chứa ethanol thì phải xây dựng tiêu chuẩn và phương pháp định lượng hàm lượng ethanol trong thuốc.
Thuốc thành phẩm phải đáp ứng các tiêu chuẩn chung về: Nồng độ, hàm lượng hoạt chất,...
Ghi nhãn theo quy định hiện hành và có tên các chất khí đẩy, các chất phụ.

Đồ đựng
Đồ đựng thuốc khí dung cần có độ bền vững không ảnh hưởng tới hoạt chất và các thành phần của thuốc, đồng thời phải an toàn cho sản xuất và sử dụng. Phải chịu được áp lực cao của khí đẩy. Vật liệu có thể bằng thủy tinh, kim loại, nhựa hoặc phối hợp các vật liệu này.
Đồ đựng bằng thủy tinh: Nên dùng loại trung tính và có thể được bọc nhựa dẻo ở mặt ngoài.
Đồ đựng bằng kim loại: Phải dùng loại không rỉ như nhôm, thiếc và có thể tráng các lớp vecni bảo vệ bề mặt trong của bình hay chai lọ nhất là bình bằng nhôm.
Đồ đựng bằng nhựa dẻo: Như polyethylen PE, polypropylen PP,...
Đồ đựng thuốc trước khi đưa vào quy trình sản xuất cần phải xử lý theo qui định. Riêng mặt trong của đồ đựng phải kiểm soát để giảm thiểu bụi, vi sinh vật theo yêu cầu và không chứa tạp chất bôi trơn khuôn đúc đồ đựng hoặc từ chất tẩy rửa.

Van và ống dẫn thuốc
Van giữ cho bình kín dưới áp suất cao và phun thuốc với lượng quy định. Có 2 loại van: Không phân liều và phân liều.

Van không phân liều: Van cho thuốc phun liên tục khi nhấn lên van. Thuốc sẽ phun những lượng phụ thuộc vào thời gian nhấn van, thường vài giây, song có thể kéo dài hơn nếu cần.

Van phân liều: Van chỉ phun những liều thuốc chính xác, không phun liên tục, mà theo từng liều. Liều thuốc thường tính theo thể tích thuốc lỏng tương đương với lượng hoạt chất đáp ứng yêu cầu trị liệu. Các van có thể được chế tạo để phun thuốc theo thế thẳng đứng hoặc dốc ngược bao bì để hít thuốc qua mũi hay miệng.

Ống nhúng: Là một ống nhỏ nhúng trong thuốc và nối với van. Ống nhúng có chiều dài phù hợp với chiều cao của bao bì và trạng thái tập hợp của thuốc. Đường kính trong của ống nhúng phải phù hợp với kích thước hạt và độ nhớt của thuốc. Ống nhúng và thân van thường xuyên tiếp xúc với thuốc nên ngoài đặc tính bền hóa lý, không độc, còn phải có bề mặt trong nhẵn, trơn, không bị đọng thuốc, nghẹt thuốc trong sử dụng. Nhựa polyethylen PE, polypropylen PP và nylon hay được dùng.

Đầu phun, nút bấm và nắp bảo vệ

Đầu phun là một ống dẫn thuốc có lỗ nhỏ với cấu tạo đặc biệt, gắn liền với van để đưa thuốc ra khỏi van. Đầu phun thuốc có thể theo thế thẳng đứng hay nằm ngang và có hình dạng, kích cỡ phù hợp với cơ quan đưa thuốc tới như miệng, mũi, tai, để hít hoặc dùng ngoài da.

Nút bấm là bộ phận gắn liền trong hệ thống van - đầu phun, khi ấn hay di chuyển vị trí sẽ đẩy van về vị trí mở cho thuốc phát ra khỏi đầu phun. Đầu phun và nút bấm thường được chế tạo liền một khối để dễ sử dụng, nhưng đầu phun cũng có thể tháo rời, khi dùng mới lắp.

Nắp bảo vệ có chức năng bảo vệ giữ đầu phun khỏi biến dạng và luôn sạch trong sử dụng.

Độ bền và độ an toàn sinh học của đồ đựng

Đồ đựng thuốc cần có độ bền vững không ảnh hưởng tới hoạt chất, đặc biệt không giải phóng những thành phần độc hại khi thuốc tiếp xúc với da, niêm mạc đường hô hấp. Các bộ phận của đồ đựng tiếp xúc trực tiếp với thuốc như: Chai, lọ hoặc ống dẫn thuốc, van bằng nhựa, vòng đệm bằng cao su hoặc bao bì có lớp tráng bảo vệ bên trong cần phải chọn lựa kỹ và có thử nghiệm đánh giá độ bền và độ an toàn sinh học. Các chất nhả ra từ cao su lưu hóa hoặc nhựa như các chất đa nhân thơm, nitrosamin, chất chống oxy hóa, các monome dẫn chất từ nhựa dẻo.

Vật liệu chế tạo đồ đựng có bộ phận tiếp xúc trực tiếp với thuốc cần đạt giới hạn các chất trên thông qua những thử nghiệm hóa học thích hợp.

Van và ống dẫn thuốc bằng nhựa phải có đánh giá về an toàn sinh học, tương tự đồ đựng thuốc tiêm (Phụ lục 17.3.2. Đồ đựng bằng chất dẻo dùng cho chế phẩm thuốc tiêm).

Khí đẩy

Chức năng: Khí đẩy là thành phần đặc trưng trong thuốc khí dung, chúng có có chức năng ép đẩy thuốc và tạo hệ phân tán mịn của thuốc qua đầu phun. Nhưng nhiều trường hợp khí đẩy còn tham gia với vai trò như là dung môi hòa tan hoạt chất, tham gia vào hệ phân tán trong bào chế để hình thành hệ nhũ tương trong khí dung bọt, như nhóm khí hóa lỏng. Khí đẩy có thể đóng sẵn nhưng cũng có thể nén vào khi dùng thuốc. Trong loại khí dung đóng sẵn khí đẩy, lượng khí đẩy được nén vào đồ đựng thuốc tương ứng với trạng thái áp suất dư, sao cho đảm bảo đẩy hết lượng thuốc đóng gói. Đa số thuốc khí dung đóng sẵn khí đẩy có áp suất ở khoảng 2 kg/cm² đến 7 kg/cm².

Các loại khí đẩy: Khí đẩy có thể ở trạng thái khí hoặc trạng thái lỏng (khí hóa lỏng). Khí đẩy dùng đơn giản nhất là không khí như trong trường hợp khí dung kiểu piston hoặc loại tương ứng, khi dùng khí mới được bơm vào theo chỉ dẫn. Với trường hợp khí đẩy đóng sẵn thường dùng hỗn hợp các loại khí như khí trơ, hydrocarbon và dẫn chất. Nhóm khí trơ: Khí carbonic (CO_2), nitrogen (N_2), nitơ oxyd (N_2O). Nhóm khí hóa lỏng: Hydrocarbon và dẫn chất halogenocarbon thường là dẫn chất của butan, pentan. Khí được chọn phải an toàn, phù hợp với thành phần của thuốc và phối hợp ở tỷ lệ thích hợp để đạt được đặc tính về áp suất hơi nén.

Phương pháp sản xuất

Tùy vào kiểu thuốc khí dung hoàn chỉnh hay không hoặc là thiết bị, dụng cụ cung cấp khí dung mà có phương pháp chế tạo phù hợp. Sau đây chỉ nêu phương pháp sản xuất thuốc khí dung hoàn chỉnh chứa khí đẩy ở áp suất cao. Ở dạng thuốc này có thể tiến hành theo một trong hai quy trình: Quy trình tiến hành ở nhiệt độ thường, nén khí đẩy ở áp suất cao và quy trình tiến hành ở nhiệt độ lạnh.

Quy trình tiến hành ở nhiệt độ thường, nén khí đẩy ở áp suất cao: Áp dụng được cho cả hai trạng thái của khí đẩy: Dạng khí hoặc khí hóa lỏng. Các công đoạn của quy trình này gồm: Chuẩn bị nguyên phụ liệu và chuẩn bị bao bì để đựng thuốc. Pha chế thuốc và đóng thuốc vào bao bì sạch. Đặt van và phụ tùng, gắn chặt chúng với bao bì cho kín. Đóng khí đẩy đến áp suất ấn định. Dán nhãn. Nhập kho, bảo quản chế phẩm .

Quy trình tiến hành ở nhiệt độ lạnh: Dùng riêng cho khí hóa lỏng. Tiến hành pha chế thuốc ở nhiệt độ thích hợp nhưng công đoạn đóng khí đẩy phải tiến hành ở nhiệt độ thấp, thường dưới 0 °C. Các công đoạn của quy trình này gồm: Chuẩn bị nguyên phụ liệu và chuẩn bị bao bì để đựng thuốc. Pha chế thuốc và đóng thuốc vào bao bì sạch. Đóng khí đẩy với lượng thích hợp theo phương pháp cân. Đặt van và phụ tùng, gắn chặt chúng với bao bì cho kín. Dán nhãn. Nhập kho, bảo quản chế phẩm.

Quá trình pha chế, sản xuất thuốc khí dung cần phải kiểm soát các thông số như khối lượng thuốc, lượng khí đẩy và áp suất, khả năng hoạt động của van, độ kín của bao bì,...

Nhãn thuốc

Nhãn thuốc khí dung thành phẩm phải có nội dung phù hợp với quy định hiện hành. Ngoài ra, nhãn cần có những lưu ý, cảnh báo riêng biệt cần thiết cho người sử dụng ở từng loại thuốc khí dung, chẳng hạn:

Thuốc khí dung không được phun trực tiếp vào mắt hoặc niêm mạc.
Thuốc khí dung dùng riêng để hít, khi hít phải thận trọng, phải thực hiện theo những chỉ dẫn của đơn thuốc hoặc hướng dẫn của thầy thuốc. Không nên tự dùng thuốc khí dung để hít nếu không được chỉ định vì có thể ngạt thở hoặc nguy hiểm đến tính mạng.
Thuốc khí dung là chế phẩm đóng gói khí nén ở áp suất cao. Tuyệt đối không để những loại thuốc này gần lửa hoặc để ở nơi nhiệt độ cao từ 50 °C trở lên. Không đốt, không đè nén, không chọc vật nhọn vào thuốc.
Phải để thuốc khí dung xa tầm tay trẻ em.
Việc sản xuất các thuốc khí dung có sử dụng khí đẩy là các hydrocarbon hoặc dẫn chất halogenohydrocarbon, phải tuân thủ các quy định hiện hành.

1.19 THUỐC TIÊM, THUỐC TIÊM TRUYỀN

Injectiones, infusiones

Định nghĩa

Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền là những chế phẩm thuốc vô khuẩn dùng để tiêm hoặc tiêm truyền vào cơ thể.
Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền được phân thành 3 loại:
– Thuốc tiêm (dung dịch, hỗn dịch hay nhũ tương).
– Thuốc tiêm truyền (dung dịch nước hay nhũ tương dầu trong nước).
– Bột pha tiêm hoặc dung dịch đậm đặc để pha thuốc tiêm hay thuốc tiêm truyền.

A. Quy định chung

Yêu cầu về pha chế thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền

Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền được pha chế - sản xuất bằng cách hòa tan, phân tán hoặc nhũ hóa dược chất và các tá dược vào một dung môi hoặc hỗn hợp dung môi hay chất dẫn thích hợp, trong điều kiện tuân thủ đầy đủ các yêu cầu về pha chế - sản xuất các chế phẩm thuốc vô khuẩn, để tránh nhiễm tạp và nhiễm vi sinh vật vào thuốc. Các thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền phải được tiệt khuẩn theo phương pháp quy định (Phụ lục 16.1). Trường hợp vô khuẩn bằng cách lọc thì phải sử dụng dụng cụ, thiết bị, đồ đựng đã tiệt khuẩn và pha chế trong điều kiện tuyệt đối vô khuẩn.
Quá trình pha chế một mẻ thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền từ khi pha thuốc, đóng thuốc, hàn kín và tiệt khuẩn cần hoàn thành càng nhanh càng tốt, thường trong vòng 12 h. Nếu không, phải bảo quản thuốc trong điều kiện vô khuẩn.

Thành phần

Dược chất phải là loại nguyên liệu đáp ứng yêu cầu dùng để pha thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền.
Dung môi thường dùng pha thuốc tiêm là nước cất để pha thuốc tiêm, dung môi hòa trộn với nước (ethanol, propylen glycol,...), dầu thực vật trung tính hoặc các dung môi thích hợp khác. Dung môi dùng trong thuốc tiêm phải đảm bảo an toàn và không ảnh hưởng đến hiệu lực điều trị ở thể tích tiêm.
Các tá dược: Tùy theo bản chất của dược chất, trong thành phần thuốc tiêm có thể thêm các chất để đẳng trương, điều chỉnh pH, tăng độ tan, độ ổn định của dược chất, chất gây thấm, nhũ hóa,... nhưng phải đảm bảo an toàn và không ảnh hưởng đến hiệu lực điều trị của thuốc ở nồng độ sử dụng trong chế phẩm.
Thuốc tiêm đóng nhiều liều trong một đơn vị đóng gói, thuốc tiêm không được tiệt khuẩn bằng nhiệt, sau khi đóng ống (lọ) phải cho thêm chất sát khuẩn với nồng độ thích hợp, trừ khi bản thân chế phẩm có đủ tính sát khuẩn cần thiết.
Không được cho chất sát khuẩn vào thuốc tiêm với liều trên 15 ml, trừ khi có chỉ dẫn khác.
Không được cho chất sát khuẩn vào thuốc tiêm để tiêm vào nội sọ, màng cứng, dịch não tủy hoặc các tổ chức ở mắt, trừ khi có chỉ dẫn riêng. Các chế phẩm này phải được đóng gói dưới dạng đơn liều.
Không được cho chất màu vào thuốc tiêm với mục đích nhuộm màu chế phẩm.
Khi dược chất trong thuốc tiêm dễ bị oxy hóa có thể cho thêm các chất chống oxy hóa thích hợp và/hoặc đóng thuốc dưới dòng khí nitrogen hoặc khí trơ thích hợp.

Đồ đựng

Đồ đựng thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền (chai, lọ, ống, túi...) được làm từ các nguyên liệu, sao cho đồ đựng đủ trong để cho phép kiểm tra được bằng mắt thuốc chứa bên trong, trừ trường hợp đặc biệt. Đồ đựng không được tương tác về vật lý hay hóa học với thuốc chứa trong nó. Đồ đựng thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền phải đạt các chỉ tiêu chất lượng quy định trong các Phụ lục 17.1, mục 17.3.2.
Nút chai lọ thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền phải đạt các chỉ tiêu quy định trong Phụ lục 17.5.
Đồ đựng và nút chai lọ thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền phải được xử lý theo những quy trình thích hợp, đảm bảo sạch và vô khuẩn mới được dùng để đóng thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền.

Ghi nhãn

Nhãn thuốc tiêm theo quy định hiện hành.
Nhãn không che kín đồ đựng để có thể kiểm tra được thuốc ở bên trong.
Nhãn thuốc cần có tên chế phẩm, nồng độ dược chất hoặc lượng dược chất trong một thể tích xác định đối với thuốc tiêm lỏng, hoặc lượng dược chất đối với thuốc tiêm bột, tên và nồng độ chất bảo quản (nếu có).
Đối với bột pha tiêm và dung dịch đậm đặc để pha thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền thì phải ghi rõ loại dung môi và lượng dung môi dùng để pha thuốc trước khi sử dụng, điều kiện bảo quản và thời gian sử dụng sau khi pha. Nếu có ống dung môi kèm theo thì trên ống phải có nhãn ghi rõ thành phần và thể tích dung môi.

B. Các loại thuốc tiêm, tiêm truyền

THUỐC TIÊM

Định nghĩa
Thuốc tiêm là các dung dịch, hỗn dịch hoặc nhũ tương vô khuẩn, để tiêm vào cơ thể bằng các đường tiêm khác nhau. Đối với thuốc tiêm hỗn dịch, thông thường kích thước của phần lớn (trên 90 %) các tiểu phân dược chất phải dưới 15 µm, không quá 10 % số tiểu phân kích thước 15 µm đến 20 µm và hầu như không có tiểu phân kích thước 20 µm đến 50 µm.

Yêu cầu chất lượng

Cảm quan
Màu sắc: Không màu hoặc có màu của dược chất (theo chuyên luận riêng).
Trạng thái phân tán: Thuốc tiêm hỗn dịch có thể lắng cặn nhưng phải dễ dàng phân tán đồng nhất khi lắc và phải giữ được sự đồng nhất trong thời gian đủ để lấy đúng liều thuốc.
Thuốc tiêm nhũ tương phải không có bất kỳ biểu hiện nào của sự tách lớp.

Độ trong
Thuốc tiêm dạng dung dịch phải trong suốt và không có các tiểu phân không tan khi kiểm tra bằng mắt thường ở điều kiện quy định (Phụ lục 11.8, mục B) và phải đáp ứng các yêu cầu về số lượng và giới hạn kích thước các tiểu phân không quan sát được bằng mắt thường (Phụ lục 11.8, mục A).

Thể tích
Đáp ứng yêu cầu của Phụ lục 11.1.

Thử vô khuẩn
Phải vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

Nội độc tố vi khuẩn
Phép thử nội độc tố vi khuẩn (Phụ lục 13.2) thực hiện trong những trường hợp có quy định trong chuyên luận riêng. Khi chuyên luận có quy định thử nội độc tố vi khuẩn thì không phải thử chất gây sốt, nếu không có chỉ dẫn khác.

Chất gây sốt
Không được có chất gây sốt (Phụ lục 13.4).

Độ đồng đều hàm lượng
Áp dụng đối với thuốc tiêm hỗn dịch đóng liều đơn có hàm lượng dược chất nhỏ hơn 2 mg hoặc nhỏ hơn 2 % so với khối lượng thuốc thì phải đáp ứng yêu cầu về độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2), trừ khi có chỉ dẫn riêng. Nếu chế phẩm có nhiều thành phần dược chất, yêu cầu này chỉ áp dụng cho thành phần dược chất nhỏ hơn 2 mg hoặc nhỏ hơn 2 % so với khối lượng thuốc. Yêu cầu này không áp dụng với thuốc tiêm chứa các vitamin và nguyên tố vi lượng.

Các yêu cầu kỹ thuật khác
Theo quy định trong chuyên luận riêng.

THUỐC TIÊM TRUYỀN

Định nghĩa
Thuốc tiêm truyền là dung dịch nước hoặc nhũ tương dầu trong nước vô khuẩn, không có chất gây sốt, không chứa chất sát khuẩn, thường đẳng trương với máu, dùng để tiêm truyền tĩnh mạch với thể tích lớn và tốc độ chậm.
Đối với thuốc tiêm truyền dạng nhũ tương, thông thường đường kính của phần lớn (80 %) các giọt phân tán phải nhỏ hơn 0,5 µm và không có giọt có đường kính lớn hơn 5 µm, trừ khi có chỉ dẫn riêng.

Yêu cầu chất lượng
Thuốc tiêm truyền phải đạt các yêu cầu chất lượng đối với thuốc tiêm và các yêu cầu sau đây:

Độ trong
Các dung dịch tiêm truyền phải đạt quy định về độ trong của thuốc tiêm khi kiểm tra bằng mắt thường (Phụ lục 11.8, mục B) và phải đáp ứng các yêu cầu về số lượng và giới hạn kích thước các tiểu phân không quan sát được bằng mắt thường (Phụ lục 11.8, mục A).
Các nhũ tương tiêm truyền không được có dấu hiệu của sự tách lớp.

Thể tích
Đáp ứng yêu cầu của Phụ lục 11.1.

Thử vô khuẩn
Phải vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

Chất gây sốt
Không được có chất gây sốt (Phụ lục 13.4).
Chỉ không phải thử chất gây sốt nếu đã có quy định thử nội độc tố vi khuẩn, trừ những chỉ dẫn khác. Tiêm 10 ml cho mỗi kg thỏ nếu không có chỉ dẫn khác.

Các yêu cầu kỹ thuật khác
Theo quy định trong chuyên luận riêng.

BỘT PHA TIÊM ĐỂ PHA THUỐC TIÊM HAY THUỐC TIÊM TRUYỀN

Định nghĩa
Bột pha tiêm hay bột để pha thuốc tiêm (bao gồm cả các chế phẩm đông khô) để pha thuốc tiêm hay thuốc tiêm truyền là những chế phẩm vô khuẩn, phải pha với một thể tích quy định của một chất lỏng vô khuẩn thích hợp ngay trước khi dùng.

Yêu cầu chất lượng

Độ đồng đều khối lượng
Bột để pha thuốc tiêm hay thuốc tiêm truyền phải thử độ đồng đều khối lượng (Phụ lục 11.3). Yêu cầu này không áp dụng với các chế phẩm đã thử độ đồng đều về hàm lượng với tất cả các dược chất.

Độ đồng đều hàm lượng
Bột để pha thuốc tiêm hay thuốc tiêm truyền có hàm lượng dược chất nhỏ hơn 2 mg hoặc nhỏ hơn 2 % so với khối lượng thuốc hoặc có khối lượng thuốc bằng hay nhỏ hơn 40 mg thì phải đáp ứng yêu cầu độ đồng đều về hàm lượng (Phụ lục 11.2), trừ khi có chỉ dẫn riêng. Nếu chế phẩm có nhiều thành phần dược chất, yêu cầu này chỉ áp dụng cho thành phần dược chất nhỏ hơn 2 mg hoặc nhỏ hơn 2 % so với khối lượng thuốc. Yêu cầu này không áp dụng với thuốc tiêm chứa các vitamin và nguyên tố vi lượng.

Chất gây sốt - nội độc tố vi khuẩn
Sau khi pha, thuốc phải đáp ứng yêu cầu đối với thuốc tiêm hoặc thuốc tiêm truyền.

Các yêu cầu kỹ thuật khác
Theo quy định trong chuyên luận riêng.
Sau khi pha, thuốc phải đáp ứng các yêu cầu chất lượng đối với thuốc tiêm hoặc thuốc tiêm truyền.

DUNG DỊCH ĐẬM ĐẶC ĐỂ PHA THUỐC TIÊM HAY THUỐC TIÊM TRUYỀN

Dung dịch đậm đặc để pha thuốc tiêm hay thuốc tiêm truyền là những chế phẩm vô khuẩn, phải pha với một thể tích quy định của một chất lỏng vô khuẩn thích hợp ngay trước khi dùng.

Yêu cầu chất lượng

Chất gây sốt - nội độc tố vi khuẩn
Sau khi pha, thuốc phải đáp ứng yêu cầu đối với thuốc tiêm hoặc thuốc tiêm truyền.

Các yêu cầu kỹ thuật khác
Theo quy định trong chuyên luận riêng.
Sau khi pha, thuốc phải đáp ứng các yêu cầu chất lượng đối với thuốc tiêm hoặc thuốc tiêm truyền.

1.20 THUỐC VIÊN NÉN
Tabellae

Định nghĩa
Viên nén là dạng thuốc rắn, mỗi viên là một đơn vị phân liều, dùng để uống, nhai, ngậm, đặt hoặc hòa với nước để uống, để súc miệng, để rửa.... Viên nén chứa một hoặc nhiều dược chất, có thể thêm các tá dược độn, tá dược rã, tá dược dính, tá dược trơn, tá dược bao, tá dược màu... được nén thành khối hình trụ dẹt; thuôn (caplet) hoặc các hình dạng khác. Viên có thể được bao.

Yêu cầu kỹ thuật chung của thuốc viên nén

Tính chất
Viên rắn, mặt viên nhẵn hoặc lồi, trên mặt có thể có rãnh, chữ hoặc ký hiệu, cạnh và thành viên lành lặn. Viên không bị gãy vỡ, bở vụn trong quá trình bảo quản, phân phối và vận chuyển.

Độ rã
Nếu không có chỉ dẫn gì khác, viên nén phải đạt yêu cầu về độ rã qui định, được thử theo Phụ lục 11.6 Phép thử độ rã của viên nén và nang.
Viên nén và viên bao đã thử độ hòa tan với tất cả các dược chất có trong thành phần thì không phải thử độ rã.

Độ đồng đều khối lượng
Thử theo Phụ lục 11.3 Phép thử độ đồng đều khối lượng. Viên nén và viên bao đã thử độ đồng đều về hàm lượng với tất cả các dược chất có trong thành phần thì không phải thử độ đồng đều khối lượng.

Độ đồng đều hàm lượng (Phụ lục 11.2)
Nếu không có chỉ dẫn khác, viên nén có hàm lượng dược chất dưới 2 mg hoặc dưới 2 % (kl/kl) phải thử độ đồng đều hàm lượng. Đối với viên nén có từ 2 dược chất trở lên, chỉ áp dụng yêu cầu này với thành phần có hàm lượng nhỏ như qui định ở trên.

Độ hòa tan
Yêu cầu được chỉ ra trong chuyên luận riêng. Phương pháp thử được ghi trong chuyên luận Phép thử độ hòa tan của dạng thuốc rắn phân liều (Phụ lục 11.4).

Định lượng và các yêu cầu kỹ thuật khác
Thử theo qui định trong chuyên luận riêng.

Bảo quản - ghi nhãn
Thuốc viên nén phải đựng trong bao bì kín, chống ẩm và chống va chạm cơ học.
Ghi nhãn theo qui định. Nếu là viên bao cần phải ghi rõ: Bao đường, bao phim hay bao tan trong ruột.

Viên nén không bao
Viên nén không bao gồm các loại viên điều chế bằng cách nén các hạt nhỏ của một dược chất hoặc nhiều dược chất thành viên nén một lớp hoặc viên nén nhiều lớp. Các tá dược cho thêm vào viên không được làm thay đổi hoặc hạn chế việc giải phóng dược chất trong dịch tiêu hóa.

Độ rã
Viên nén không bao phải đáp ứng yêu cầu về độ rã qui định trong chuyên luận Phép thử độ rã của viên nén và nang (Phụ lục 11.6). Dùng nước làm môi trường thử, cho đĩa vào mỗi ống thử, thời gian rã không được quá 15 min, nếu không có chỉ dẫn khác.
Nếu viên không đáp ứng được yêu cầu do viên bị dính vào đĩa thì thử lại với 6 viên khác, nhưng không cho đĩa vào ống. Viên nhai không phải thử độ rã.

Các yêu cầu kỹ thuật khác
Theo yêu cầu kỹ thuật chung của thuốc viên nén và theo chuyên luận riêng.

Viên sủi bọt
Viên sủi bọt là viên nén không bao, thường chứa tá dược sủi bọt gồm các acid hữu cơ và muối carbonat hoặc

hydrocarbonat, phản ứng khi có nước giải phóng khí carbon dioxyd. Viên được hòa tan hoặc phân tán trong nước trước khi dùng.

Độ rã
Cho một viên vào cốc chứa 200 ml nước ở 15 °C đến 25 °C, phải có nhiều bọt khí bay ra. Viên được coi là rã hết nếu hòa tan hoặc phân tán hết trong nước, không còn các hạt kết vón. Thử với 6 viên, chế phẩm đạt yêu cầu phép thử nếu mỗi viên rã trong vòng 5 min, trừ khi có các chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng.

Các yêu cầu kỹ thuật khác
Theo yêu cầu kỹ thuật chung của thuốc viên nén và theo chuyên luận riêng.

Viên bao
Viên bao là viên nén được bao bằng một hay nhiều lớp của hỗn hợp các chất bao khác nhau như các chất nhựa tự nhiên hoặc tổng hợp, gôm, gelatin, chất bao không có hoạt tính và không tan, đường, chất hóa dẻo, chống dính, chất màu.... Tá dược bao thường được điều chế dưới dạng dung dịch hay hỗn dịch trong dung môi hay dẫn chất thích hợp. Sau khi bao, dung môi phải được loại bỏ khỏi viên. Khi viên nén có lớp bao là màng polymer rất mỏng thì gọi là viên nén bao phim.

Tính chất
Viên bao có bề mặt nhẵn, có thể có màu, được đánh bóng. Khi bẻ viên có thể quan sát thấy lớp bao.

Độ rã
Viên bao phải đáp ứng yêu cầu về độ rã qui định trong chuyên luận Phép thử độ rã của viên nén và nang (Phụ lục 11.6). Dùng nước làm môi trường thử, cho đĩa vào mỗi ống thử. Nếu không có chỉ dẫn khác, viên bao phim phải rã trong 30 min, viên bao khác phải rã trong 60 min.
Nếu có viên nào không rã thì thử lại với 6 viên khác, thay nước bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Nếu phép thử không đạt yêu cầu do viên bị dính vào đĩa thì thử lại với 6 viên khác không dùng đĩa. Viên nén nhai có bao không phải thử độ rã.

Các yêu cầu kỹ thuật khác
Theo yêu cầu kỹ thuật chung của thuốc viên nén và theo chuyên luận riêng.

Viên ngậm
Viên ngậm thường là viên nén không bao được điều chế để dược chất giải phóng tại khoang miệng gây tác dụng tại chỗ hay hấp thu qua niêm mạc dưới lưỡi.

Độ rã
Viên ngậm phải rã trong vòng 4 h, thử theo chuyên luận Phép thử độ rã của viên nén và nang (Phụ lục 11.6). Nếu không có chỉ dẫn khác, dùng nước làm môi trường thử, cho đĩa vào mỗi ống thử.

Các yêu cầu kỹ thuật
Theo yêu cầu kỹ thuật chung của thuốc viên nén và theo chuyên luận riêng.

Viên nén tan trong nước
Viên nén tan trong nước là viên nén không bao hoặc viên nén bao phim, được hòa tan trong nước trước khi dùng. Dung dịch sau khi hòa tan phải trong suốt hoặc hơi đục nhẹ.

Độ rã
Viên nén phải rã trong vòng 3 min, thử theo chuyên luận Phép thử độ rã của viên nén và nang (Phụ lục 11.6). Dùng môi trường nước ở 15 °C đến 25 °C để thử, trừ khi có chỉ dẫn khác.

Các yêu cầu kỹ thuật khác
Theo yêu cầu kỹ thuật chung của thuốc viên nén và theo chuyên luận riêng.

Viên nén phân tán trong nước
Viên nén phân tán trong nước là viên nén không bao hoặc viên nén bao phim, được phân tán đồng đều trong nước tạo thành hỗn dịch đồng nhất trước khi dùng.

Độ rã
Theo yêu cầu của mục Viên nén tan trong nước.

Độ đồng đều phân tán
Cho 2 viên vào 100 ml nước, khuấy cho đến khi hoàn toàn phân tán. Độ phân tán đạt yêu cầu khi dung dịch phân tán chảy hết qua lỗ mắt rây có kích thước mắt rây 710 µm.

Các yêu cầu kỹ thuật khác
Theo yêu cầu kỹ thuật chung của thuốc viên nén và theo chuyên luận riêng.

Viên nén phân tán trong miệng
Viên nén phân tán trong miệng là viên nén không bao, khi đặt vào miệng phải phân tán nhanh trong nước bọt trước khi nuốt.

Độ rã
Viên nén phải rã trong 3 min, thử theo chuyên luận Phép thử độ rã của viên nén và viên nang (Phụ lục 11.6). Nếu không có chỉ dẫn khác, dùng nước làm môi trường thử, cho đĩa vào mỗi ống thử.

Các yêu cầu kỹ thuật khác
Theo yêu cầu kỹ thuật chung của thuốc viên nén và theo chuyên luận riêng.

Viên nén giải phóng biến đổi
Viên nén giải phóng biến đổi là viên nén không bao hay bao được bào chế với các tá dược đặc biệt hoặc bằng phương pháp đặc biệt hoặc bằng cả hai cách, để thay đổi tốc độ, vị trí hoặc thời gian giải phóng dược chất.
Viên nén giải phóng biến đổi bao gồm viên giải phóng kéo dài, viên giải phóng muộn và viên giải phóng theo nhịp.

Độ hòa tan
Phải thử độ hòa tan theo chuyên luận riêng để chứng minh sự giải phóng dược chất.

Các yêu cầu kỹ thuật khác
Theo yêu cầu kỹ thuật chung của thuốc viên nén và theo chuyên luận riêng.

Viên nén tan trong ruột
Viên nén tan trong ruột là viên nén giải phóng muộn, kháng dịch dạ dày và giải phóng dược chất trong dịch ruột. Viên thường được bào chế từ cốm hoặc hạt được bao lớp bao kháng dịch dạ dày hoặc viên được bao lớp bao kháng dịch dạ dày.

Tính chất
Viên nén tan trong ruột phải đạt các tính chất chung của viên bao.

Độ hòa tan
Viên nén chứa cốm hoặc hạt đã được bao lớp bao kháng dịch dạ dày phải tiến hành thử độ hòa tan để kiểm tra sự giải phóng dược chất theo Phụ lục 11.4 Phép thử độ hòa tan của dạng thuốc rắn phân liều và theo chuyên luận riêng.

Độ rã
Viên nén bao tan trong ruột nếu không thử độ hòa tan thì phải đáp ứng yêu cầu về độ rã qui định trong chuyên luận Phép thử độ rã của viên bao tan trong ruột (Phụ lục 11.7).

Các yêu cầu kỹ thuật khác
Theo yêu cầu kỹ thuật chung của thuốc viên nén và theo chuyên luận riêng.

1.21 THUỐC BỘT Y TẾ
Muscí medicati

Thuốc bột là dạng thuốc lỏng đóng trong bao bì kín với khí đẩy ở áp suất cao thích hợp, trong đó có một lượng khí phân tán đều trong môi trường lỏng tạo bọt, khi dùng bọt tự vỡ do khí thoát đi còn lại thuốc ở dạng mềm dễ bám dính. Thuốc bột y tế dùng để sát trùng da, niêm mạc, vết thương, trị bỏng,...hoặc vào việc thích hợp khác. Thuốc chứa một hoặc nhiều hoạt chất, thường gặp như menthol, tinh dầu tràm, clorocresol, hexetidin,...và các tá dược thích hợp như chất dẫn, chất sát trùng bảo quản, chất tạo nhũ, tạo bọt và chất ổn định. Các tá dược phải đảm bảo không ảnh hưởng tới chức năng hoặc gây tổn thương, kích ứng nơi dùng thuốc,.... Thuốc bột được hình thành bởi sự phân tán khí trong môi trường lỏng chứa hoạt chất, tá dược và trạng thái bọt phải hình thành ổn định. Thuốc được đóng trong chai, lọ chứa với khí đẩy và có phụ tùng như van, nút bấm để đẩy thuốc ra khỏi bao bì khi sử dụng.

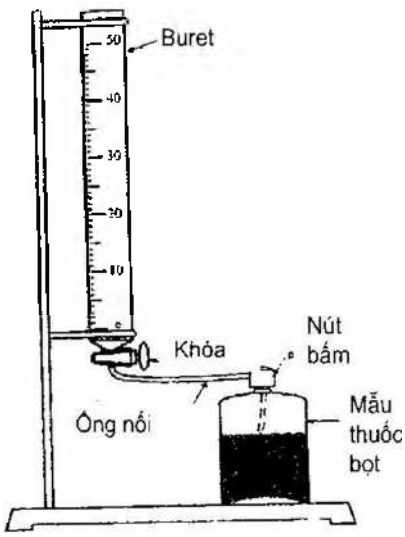
Phương pháp sản xuất
Thuốc bột được bào chế dưới dạng nhũ tương, thường là nhũ tương Dầu trong Nước, trong đó hoạt chất được hòa tan vào một trong 2 pha tùy đặc tính thân nước hoặc thân dầu của chúng. Thuốc được đóng vào một bình chứa kiểu khí dung và đặt van, nút bấm phù hợp. Khí đẩy được nén vào bình với áp suất thích hợp, khí đẩy sẽ phân tán trong tướng dầu của nhũ tương tạo ra bọt ở áp lực cao trong bình kín.
Khí đẩy thường dùng là khí hóa lỏng hydrocarbon và dẫn chất.

Tiêu chuẩn chất lượng
Đạt yêu cầu chất lượng theo các chuyên luận riêng.
Thuốc bọt y tế dạng đóng khí đẩy dưới áp suất cao phải đáp ứng các yêu cầu chung của thuốc khí dung (Phụ lục 1.18).
Nếu thuốc bọt dùng trên vết thương, phải đạt yêu cầu vô khuẩn (Phụ lục 13.7).
Tiêu chuẩn riêng cho thuốc bọt gồm: Tỷ trọng của thuốc, khả năng tạo bọt.

Xác định tỷ trọng tương đối của thuốc bọt: Đặt chai (lọ) thuốc còn nguyên vẹn ở nhiệt độ 25 °C ít nhất trong 24 h. Lấy chai thuốc ra, cẩn thận không làm cho thuốc nóng lên, và gắn 1 ống cứng có đường kính trong 1 mm và chiều dài 70 mm đến 100 mm vào lỗ phun thuốc ở đầu bấm. Lắc chai để thuốc đồng nhất và bấm nút để bỏ lượng thuốc thoát ra ban đầu khoảng 5 ml đến 10 ml. Cân bì một đĩa đáy bằng có chiều cao khoảng 35 mm và dung tích khoảng 60 ml. Cho đầu ống chạm góc của đĩa và bấm cho thuốc chuyển vào đĩa, chuyển đầu ống xoay tròn trên khắp mặt đĩa cho bọt thuốc phủ đều và cao hơn mặt đĩa. Dùng một phiến mỏng gạt cho bọt bằng phẳng và vừa đúng thể tích của đĩa. Cân khối lượng thuốc (m_t). Tiếp theo cho một thể tích *nước cất* tương tự. Cân khối lượng nước (m_n).
Tỷ trọng tương đối của thuốc = m_t / m_n
Tiến hành thí nghiệm 3 lần, lấy kết quả trung bình.
Kết quả mỗi lần thử không được lệch quá 20 % so với giá trị trung bình.

Khả năng tạo bọt của thuốc: Chuẩn bị dụng cụ (Hình 1.21) gồm: Một buret dung tích 50 ml, chia vạch đến khoảng 0,1 ml có đường kính trong 15 mm và khóa có lỗ thoát 4 mm. Gắn 1 ống dẫn bằng chất dẻo có đường kính trong 4 mm và chiều dài không quá 50 mm vào đầu ra của buret. Đặt chai (lọ) thuốc còn nguyên vẹn ở nhiệt độ 25 °C ít nhất trong 24 h. Lấy chai thuốc ra, cẩn thận không làm cho thuốc nóng lên. Lắc chai để thuốc đồng nhất và bấm nút để bỏ lượng thuốc thoát ra ban đầu khoảng 5 ml đến 10 ml. Gắn ống đã nối với buret vào lỗ phun thuốc ở đầu bấm. Bấm cho thuốc đi vào buret được 30 ml tính theo chiều cao của khối bọt cho một lần thử nghiệm. Khóa buret, đồng thời bấm đồng hồ và đọc thể tích khối bọt trên buret. Cứ mỗi 10 s đọc và ghi nhận thể tích tăng thêm đến khi khối bọt đạt thể tích cao nhất. Khi đọc, do bề mặt của khối bọt không phẳng, nên có thể đọc vạch cao nhất và vạch thấp nhất, cộng lại chia trung bình.

Tiến hành thí nghiệm 3 lần.
Kết quả: Không có lần nào cần quá 5 min để đạt được thể tích cao nhất.



Hình 1.21 - Dụng cụ xác định khả năng tạo bọt của thuốc bọt y tế

Nhãn thuốc
Theo quy định hiện hành.

1.22 RƯỢU THUỐC
Alcoholaturae

Định nghĩa
Rượu thuốc là dạng thuốc lỏng dùng để uống hay dội khi dùng ngoài, được điều chế bằng cách ngâm dược liệu (thảo mộc hoặc động vật) trong rượu trắng hoặc ethanol loãng trong một thời gian nhất định (tùy theo quy định của từng công thức) rồi gạn hoặc lọc lấy dịch trong.
Rượu thuốc phải đáp ứng các yêu cầu sau đây:
Dược liệu: Được chế biến và chuẩn bị theo yêu cầu của từng công thức. Các vị thuốc là thảo mộc được chia nhỏ đến kích thước thích hợp. Dược liệu động vật có thể dùng tươi hay sấy khô, tán bột.
Phương pháp điều chế: Rượu thuốc có thể điều chế theo phương pháp thích hợp (ngâm hoặc chiết). Khi điều chế rượu thuốc từ thang thuốc, do thành phần dược liệu đa dạng, bản chất dược liệu khác nhau nên có thể phải chiết riêng một số dược liệu để chiết xuất được tối đa hoạt chất. Dung môi để ngâm thường dùng rượu trắng hoặc ethanol loãng. Tỷ lệ dung môi, hàm lượng ethanol, nhiệt độ ngâm, thời gian ngâm, tốc độ chiết theo yêu cầu quy định của từng công thức.

Yêu cầu chất lượng
Màu sắc: Theo yêu cầu quy định trong chuyên luận riêng.
Cách tiến hành: Lấy ở 2 chai rượu trong mỗi lô sản xuất, mỗi chai 5 ml, cho vào 2 ống nghiệm (thủy tinh không màu, đồng cỡ). Quan sát màu của hai ống ở ánh sáng ban ngày bằng cách nhìn ngang, màu sắc của hai ống phải như nhau và đúng như màu sắc đã quy định trong chuyên luận riêng.
Mùi vị: Theo yêu cầu quy định trong chuyên luận riêng. Rượu thuốc có thể có mùi thơm của dược liệu, có vị ngọt do thêm đường hoặc mật ong.
Độ trong và độ đồng nhất: Rượu thuốc phải trong, đồng nhất, không có cặn bã dược liệu và vật lạ.
Cách tiến hành: Quan sát toàn chai rượu, không được có váng mốc. Hút 5 ml rượu thuốc ở vị trí cách đáy chai khoảng 2 cm, cho vào ống nghiệm (thủy tinh không màu, dung tích 10 ml đến 20 ml), quan sát ở ánh sáng ban ngày bằng cách nhìn ngang. Thuốc phải trong và đồng nhất. Nếu không đạt yêu cầu, thử lại lần thứ hai với một chai thuốc khác. Lần này không đạt thì lô thuốc coi như không đạt tiêu chuẩn.
Hàm lượng ethanol: Theo yêu cầu quy định trong chuyên luận riêng. Xác định hàm lượng ethanol theo Phụ lục 10.12.
Tỷ trọng: Theo yêu cầu quy định trong chuyên luận. Xác định tỷ trọng theo Phụ lục 6.5.
Độ lắng cặn: Theo yêu cầu quy định trong từng chuyên luận.
Cách tiến hành: Quan sát toàn chai rượu (thể tích 500 ml, nếu không có qui định khác), nếu thấy có cặn thì để yên khoảng 48 h, sau đó mở nút và thận trọng dùng ống cao su hay ống nhựa làm xiphông, hút phần rượu ở phía trên, để còn lại 15 ml đến 20 ml (đối với rượu có thể tích cặn không quá 0,5 ml) hoặc 40 - 50 ml (đối với rượu có thể tích cặn trên 0,5 ml). Lắc cặn trong chai cho tan, rót hết sang ống đong 25 ml (chia độ 0,5 ml) hoặc 50 ml (chia độ 1 ml) có nút. Lấy phần rượu trong đã hút xiphông để tráng chai, đổ vào ống đong rồi thêm rượu thuốc vừa đủ 25 ml hoặc 50 ml. Để lắng 48 h, đọc kết quả trên vạch chia của ống đong. Mỗi loại rượu phải đạt được yêu cầu của tiêu chuẩn đề ra.
Sau khi đọc kết quả, nghiêng ống đong nhẹ để gạn lớp rượu ở trên, lấy lớp cặn ra bát sứ trắng để quan sát. Trong lớp cặn phải không được có bã dược liệu và vật lạ.
Cắn sau khi sấy khô: Theo yêu cầu quy định trong từng chuyên luận. Tiến hành theo một trong hai phương pháp sau đây:
Phương pháp 1: Áp dụng với các rượu thuốc có chứa đường hoặc mật ong.
Lấy chính xác 50 ml chế phẩm vào cốc miệng rộng, bốc hơi đến khô trên cách thủy, chiết bằng *ethanol (TT)* bằng cách thêm vào cắn lần lượt, 4 lần, mỗi lần 10 ml *ethanol (TT)*, dùng đũa thủy tinh khuấy kỹ, lọc. Gộp các dịch lọc vào một chén sứ đã được xác định khối lượng, bay hơi trên cách thủy đến khô, sấy cắn ở 105 °C trong 3 h, để nguội trong bình hút ẩm 30 min, cân. Xác định khối lượng cắn thu được.
Phương pháp 2: Áp dụng với các rượu thuốc không chứa đường hoặc mật ong.
Lấy chính xác 50 ml chế phẩm vào một chén sứ đã được xác định khối lượng, bay hơi trên cách thủy đến khô, sấy cắn ở 105 °C trong 3 h, để nguội trong bình hút ẩm 30 min, cân. Xác định khối lượng cắn thu được.

Thể tích: Theo yêu cầu và cách thử ở Phụ lục 11.1.
Methanol (Nếu không có chỉ dẫn khác): Không quá 0,05 % (tt/tt) (Phụ lục 10.13).
Giới hạn nhiễm khuẩn: Rượu thuốc phải đạt yêu cầu về giới hạn nhiễm khuẩn (Phụ lục 13.6).
Định tính, định lượng và các chỉ tiêu khác: Theo yêu cầu quy định trong chuyên luận riêng.

Bảo quản
Trong đồ đựng thích hợp, đậy kín. Để ở nơi khô mát, tránh ánh sáng.

1.23 THUỐC THANG

Thuốc thang được cấu tạo từ các vị thuốc đã qua chế biến và phối hợp theo phương pháp của y học cổ truyền, bao gồm 2 dạng: Thuốc sắc và ngâm rượu. Với dạng sắc, thường được bào chế bằng cách đun sôi với nước sạch; dạng ngâm rượu, thường được ngâm với ethanol 30 % đến 40 %, trong thời gian thích hợp.

Đặc điểm của thuốc thang
Là dạng thuốc rất thông dụng, được dùng rộng rãi để phòng và điều trị nhiều chứng bệnh khác nhau, đối với các lứa tuổi, các mùa trong năm.
Dễ gia giảm theo triệu chứng của bệnh, do đó thường cho hiệu quả cao trong điều trị.
Được hấp thu nhanh qua đường tiêu hóa. Tuy vậy thuốc thang thường dùng cho từng người bệnh, bởi vậy, cũng gặp khó khăn nhất định trong bào chế.

Cấu tạo
Với thuốc thang dùng để uống thường được cấu tạo theo nguyên lý của y học cổ truyền; mỗi thang thuốc phải có đủ các thành phần: Quân, Thần, Tá, Sứ, với các công năng, chủ trị, cách dùng cụ thể của nó (cổ phương, tân phương). Đôi khi, những phương thuốc gia truyền, hoặc các phương thuốc trong dân gian, cũng không hoàn toàn theo nguyên tắc đó, nhưng phải đảm bảo tính an toàn và hiệu quả cao trong điều trị cho người bệnh.

Liều lượng của thuốc thang
Số vị trong thang, nhiều hay ít tùy theo từng thang, khối lượng của từng vị trong thang tùy theo tuổi, theo tình trạng của người bệnh (nếu là cổ phương thường được giữ nguyên số vị và khối lượng). Tuy nhiên, trong những điều kiện cụ thể có thể thay đổi cho phù hợp. Đối với các vị thuốc có tính độc, liều lượng phải thực hiện theo đúng với quy định hiện hành.

Yêu cầu chất lượng
Các vị thuốc trước khi phối hợp thành thang thuốc phải đạt yêu cầu chất lượng qui định trong từng chuyên luận riêng.
Độ đồng đều khối lượng: Thang thuốc phải đạt yêu cầu Phép thử độ đồng đều khối lượng như hướng dẫn trong chuyên luận Thuốc hoàn (Phụ lục 1.11, Bảng 1.11.3).
Giới hạn nhiễm khuẩn: Thuốc thang phải đạt yêu cầu về giới hạn nhiễm khuẩn (Phụ lục 13.6).

Dụng cụ để sắc thuốc
Dụng cụ để sắc thuốc rất đa dạng, có thể dùng siêu đất, hoặc dụng cụ bằng thép không gỉ, không dùng các dụng cụ bằng gang, đồng, sắt. Hiện nay có nhiều loại dụng cụ sắc thuốc được đun nóng bằng điện, cần chú ý theo dõi để tránh ảnh hưởng đến chất lượng của thuốc.

Nước dùng để sắc thuốc
Nước dùng để sắc thuốc phải là nước sạch, dùng để uống được. Lượng nước đưa vào mỗi thang cần vừa đủ để hoạt chất có thể chiết xuất được. Tùy theo dung tích của dụng cụ sắc, mức nước thường cao hơn mặt thoáng của thuốc khoảng 2 cm.

Nhiệt độ và thời gian sắc thuốc
Nhiệt độ và thời gian sắc thuốc phụ thuộc vào tính chất của thang thuốc.
Nếu thang thuốc lấy khí là chính (chất bay hơi), trong thành phần chứa tinh dầu, và các chất bay hơi: Thuốc giải biểu, thuốc ôn trung..., lúc đầu thường dùng lửa to (vũ hỏa), để nhanh chóng nâng nhiệt độ của thuốc đến sôi, sau đó giảm độ lửa, duy trì ở 70 °C đến 80 °C trong thời gian 10 min đến 15 min. Nếu thang thuốc lấy vị là chính (thuốc bổ, thuốc thanh nhiệt...), có thể đun sôi 1 h đến 2 h. Tuy nhiên trên thực tế, trong một thang thuốc, thường bao gồm cả vị thuốc lấy khí và lấy vị, do đó trong quá trình sắc thuốc cần chú ý duy trì nhiệt độ và thời gian thích hợp.

Nhiên liệu dùng sắc thuốc
Nhiên liệu sắc thuốc rất đa dạng, có thể dùng củi, rơm, rạ..., song tránh dùng củi khi cháy cho chất độc hoặc có mùi khó chịu; có thể dùng than khi đã cháy hồng để tránh mùi khí than; hiện nay còn dùng điện, dùng khí đốt. Cần chú ý rằng, với nguồn nhiên liệu khác nhau thì nhiệt lượng cung cấp sẽ khác nhau, do đó thời gian sắc thuốc nên tính từ lúc sôi và cần theo dõi để tránh bị cháy.

Cách uống thuốc
Tùy theo tính chất của bệnh và tính chất của thang thuốc mà cách uống thuốc có khác nhau. Các bệnh thuộc thể hàn: cảm mạo phong hàn, trúng hàn...tính chất của thang thuốc thường ôn, nhiệt, cần uống khi còn nóng. Các bệnh thể nhiệt, tính chất của thang thuốc thường hàn, lương, thường uống nguội.
Các thang thuốc mang tính chất tả (tả hạ, thanh nhiệt...), thường uống lúc đói. Tuy nhiên, nếu đói quá dễ cồn cào, buồn nôn, do đó cần ăn một chút ít để tránh cồn ruột.
Các thang thuốc mang tính chất bổ (bổ khí, huyết, âm, dương), thường uống sau khi ăn 1,5 h đến 2 h.

Kiêng kị khi dùng thuốc thang
Khi dùng thuốc thang, cũng kiêng kị theo nguyên tắc chung của y học cổ truyền. Nếu uống thuốc mang tính ôn nhiệt, cần kiêng các thức ăn sống lạnh: ốc, rau giền... Nếu uống thuốc mang tính hàn lương, cần kiêng các thức ăn cay nóng và kích thích: ớt, rượu, hạt tiêu... Một số vị thuốc kiêng đặc biệt: miết giáp kị rau giền, hành kị mật ong, kinh

giới kị thịt gà... Ngoài ra cần chú ý đến một số thang thuốc có các vị có tính độc, phải kiêng cho phụ nữ có thai, hoặc sau khi đẻ, hoặc trẻ em dưới 15 tuổi: phụ tử chế, quế chi, cà độc dược...

Lưu ý khi dùng thuốc thang

Để phát huy được hiệu quả của thuốc thang, người ghi đơn cần chú ý:

Không ghi các vị thuốc mang tính chất tương kị.

Ghi các vị thuốc cần sắc sau, để người cân thuốc có thể để riêng.

Để có thể phối hợp hài hòa giữa các lần sắc thuốc: Lần 1, đun sôi (kể từ lúc sôi) 20 min đến 30 min; lần 2, đun sôi 40 min đến 1 h; lần 3, đun sôi 1 h. Dịch thuốc sắc của mỗi lần, lấy khoảng 1 bát (100 ml). Có thể uống riêng từng lần; hoặc uống riêng nước lần 1, nước lần 2 và 3 trộn đều chia đôi, uống 2 lần nữa; hoặc trộn đều cả 3 lần sắc, rồi chia 3 lần uống.

1.24 CHÈ THUỐC

Định nghĩa

Là dạng thuốc rắn được bào chế từ hoa, lá hoặc bột thô dược liệu và các tá dược thích hợp dưới dạng gói hay bánh nhỏ. Khi dùng, đem hãm với nước sôi trong khoảng thời gian thích hợp để uống.

Phương pháp bào chế

Chè gói: Được bào chế chủ yếu từ các dược liệu là hoa lá mỏng manh. Dược liệu được sao nhỏ lửa hay sấy nhẹ (dưới 80 °C) đến khô rồi vò thành mảnh nhỏ, xát qua sàng (rây) có cỡ mắt rây 2 mm đến 5 mm. Các dược liệu có cấu tạo rắn chắc nếu có ở tỉ lệ thích hợp, thường được nghiền thành bột thô hoặc bào chế thành cao lỏng để phun vào chè trong khi sấy. Trộn đều dược liệu theo tỉ lệ trong công thức rồi đóng túi theo khối lượng quy định (nếu có cao lỏng thì phun vào chè, tiếp tục sấy khô rồi đóng gói). Túi đựng chè có thể là túi giấy thường, túi giấy lọc hay túi PE. Việc đóng túi có thể thực hiện bằng các loại máy đóng túi tự động. Túi chè cần được đóng kín, hạn chế sự hút ẩm trở lại trong quá trình bảo quản.

Chè bánh: Thường được bào chế từ các dược liệu có cấu tạo rắn chắc như thân, cành, rễ,... Dược liệu được chế biến, sấy khô rồi nghiền thành bột thô qua rây có số rây 1000 đến 2000. Thêm tá dược dính thích hợp tạo thành khối ẩm (hồ tinh bột, siro, cao đặc, bột đường,...) rồi lèn hay nén thành bánh theo khuôn. Chè bánh sau khi tháo khỏi khuôn đưa sấy đến độ ẩm quy định rồi đóng gói thích hợp.

Tiêu chuẩn chất lượng

Phải đáp ứng các yêu cầu trong chuyên luận riêng và các qui định dưới đây:

Độ ẩm

Chè gói: Độ ẩm không được quá 10 % (Phụ lục 9.6), nếu không có chỉ dẫn khác.

Chè bánh: Độ ẩm không được vượt quá 7 % (Phụ lục 9.6), nếu không có chỉ dẫn khác.

Độ đồng đều khối lượng

Cân riêng biệt 10 đơn vị đóng gói, xác định khối lượng trung bình. So sánh khối lượng từng đơn vị với khối lượng trung bình. Chênh lệch khối lượng phải nằm trong giới hạn sau:

Khối lượng trung bình	Giới hạn chênh lệch cho phép (%)
Tới 2 g	15
Trên 2 g đến 5 g	12
Trên 5 g đến 10 g	10
Trên 10 g đến 20 g	6
Trên 20 g đến 40 g	5
Trên 40 g	4

Giới hạn nhiễm khuẩn: Chè thuốc phải đạt yêu cầu về giới hạn nhiễm khuẩn (Phụ lục 13.6).

1.25 DUNG DỊCH RỬA VẾT THƯƠNG

Định nghĩa

Dung dịch rửa vết thương là những dung dịch nước vô khuẩn với dung tích lớn, được sử dụng để rửa các khoang cơ thể, các vết thương hở và bề mặt tiếp xúc trong quá trình phẫu thuật.

Sản xuất

Dung dịch rửa vết thương được điều chế bằng cách hòa tan một hoặc nhiều dược chất, chất điện giải và những chất có tính thẩm thấu trong *nước để pha thuốc tiêm* hoặc chỉ riêng là *nước để pha thuốc tiêm*.

Chế phẩm phải được dán nhãn là Dung dịch rửa vết thương. Các dung dịch này thường được điều chỉnh đạt độ đẳng trương đối với máu.

Dung dịch rửa vết thương được đóng gói đơn liều trong các dồ đựng. Đồ đựng và nút phải đáp ứng các quy định của Đồ đựng dùng cho chế phẩm thuốc tiêm (Phụ lục 17.1; 17.3.2), nhưng bộ phận thoát dung dịch của đồ đựng này phải không được tương thích với bộ dây truyền dịch. Không cho phép dùng bộ dây truyền dịch để dẫn truyền Dung dịch rửa vết thương khi sử dụng.

Những nguyên liệu được dùng và các phương pháp áp dụng trong quá trình sản xuất Dung dịch rửa vết thương phải đảm bảo tính vô khuẩn và ngăn ngừa sự xâm nhập của các chất gây ô nhiễm cũng như sự phát triển của vi sinh vật (Phụ lục 16.1).

Trong quá trình đóng gói phải đảm bao một lượng nhỏ chế phẩm có thể lấy ra được từ đồ đựng.

Yêu cầu chất lượng

Kiểm tra trong điều kiện ánh sáng thích hợp, Dung dịch rửa vết thương phải trong và không có các tiểu phân.

Yêu cầu về tính chất, pH, định tính, định lượng, sai số thể tích và các yêu cầu kỹ thuật khác
Theo quy định trong chuyên luận riêng.

Thử vô khuẩn
Phải vô khuẩn (Phụ lục 13.7).

Nội độc tố vi khuẩn
Dưới 0,5 EU/ml chế phẩm (Phụ lục 13.2).

Chất gây sốt
Những chế phẩm không kiểm tra nội độc tố vi khuẩn phải đáp ứng phép thử chất gây sốt (Phụ lục 13.4), với liều tiêm 10 ml chế phẩm/kilôgam khối lượng cơ thể của thỏ, trừ những chỉ dẫn khác.

Ghi nhãn và bảo quản
Theo quy định hiện hành và ghi rõ:
Chế phẩm không được sử dụng để tiêm.
Chế phẩm chỉ được phép dùng một lần và toàn bộ phần thuốc còn lại phải loại bỏ.
Bảo quản nơi khô mát.

Chế phẩm thường dùng
Dung dịch rửa vết thương clorhexidin.
Dung dịch rửa vết thương glucose.
Dung dịch rửa vết thương glycin.
Dung dịch rửa vết thương natri clorid.
Dung dịch rửa vết thương natri citrat.

1.26 YÊU CẦU CHUNG ĐỐI VỚI CÁC CHẾ PHẨM PROBIOTIC

Probiotic được sản xuất bằng cách nuôi cấy và gặt vi khuẩn, có nguồn gốc từ hệ vi sinh vật thông thường có trong cơ thể người hoặc từ vi khuẩn vô hại có tác dụng tăng cường sự phát triển và hoạt động của hệ vi khuẩn đường ruột, sau đó trộn với chất phụ gia phù hợp và làm khô. Probiotic được dùng để phòng và điều trị bệnh hay các triệu chứng bệnh liên quan do sự thiếu vi khuẩn gây ra. Probiotic được cấu thành từ vi khuẩn sống không có hại và tình trạng sống của vi khuẩn phải tiếp tục được duy trì ổn định trong suốt quá trình sản xuất, bảo quản và sử dụng. Chế phẩm đơn thành phần là chế phẩm chỉ chứa một loài vi khuẩn. Chế phẩm đa thành phần là chế phẩm chứa nhiều loài vi khuẩn. Dựa theo đường dùng và phương pháp sử dụng khác nhau, probiotic được sản xuất dưới dạng viên nén, viên nang, cốm, bột hay các dạng bào chế khác.

Yêu cầu cơ bản
Phương pháp và qui trình sản xuất probiotic cần đảm bảo đủ lượng vi khuẩn còn sống trong thành phẩm cuối cùng, đồng thời đảm bảo độ ổn định của thành phẩm và ngăn ngừa được sự tạp nhiễm.

Sản xuất

Chủng vi khuẩn dùng trong sản xuất
Tên và nguồn gốc
Chủng vi khuẩn dùng trong sản xuất được phân lập từ hệ vi sinh vật thông thường trong cơ thể người hoặc từ vi khuẩn vô hại, không độc có tác dụng tăng cường sự phát triển và hoạt động của hệ vi khuẩn đường ruột. Qui trình phân lập và cấy truyền chủng cần được ghi rõ trong hồ sơ, đặc tính sinh hóa và đặc tính gen của vi khuẩn phải ổn định. Chủng phải có khả năng duy trì tình trạng sống ổn định, độ an toàn và thời hạn sử dụng chủng vi khuẩn phải được khẳng định bằng các nghiên cứu tại phòng thí nghiệm hay thử nghiệm lâm sàng.
Thiết lập hệ thống chủng
Giống sản xuất cần phải được thiết lập thành hệ thống chủng giống. Chủng vi khuẩn được đông khô và bảo quản ở nhiệt độ thích hợp. Cần phải hạn chế số lần cấy truyền chủng, số lần cấy truyền từ chủng gốc không quá 10 lần, số lần cấy truyền từ chủng làm việc không quá 5 lần.
Kiểm tra chủng vi khuẩn
Việc phân loại và định tính chi, loài, kiểu của chủng có thể được tiến hành theo tài liệu *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* và *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, bao gồm việc kiểm tra hình thái học, sự phát triển, đặc tính sinh hóa của chủng vi khuẩn. Đối với chủng gốc thì cần kiểm tra đặc tính gen và độ nhạy cảm với kháng sinh.
Kiểm tra chủng vi khuẩn đông khô:
(1) Đặc điểm khuẩn lạc và hình thái tế bào vi khuẩn dưới kính hiển vi
Nuôi cấy chủng vi khuẩn trong môi trường dinh dưỡng phù hợp trong điều kiện hiếu khí và kị khí một cách riêng rẽ. Quan sát hình dáng, kích thước, bề mặt, mép, độ trong đục, màu sắc và độ bóng của một khuẩn lạc riêng lẻ trên đĩa môi trường thạch. Quan sát khả năng phát triển trong điều kiện nhiệt độ, pH hoặc nồng độ natri clorid khác nhau. Tiến hành nhuộm Gram và quan sát dưới kính hiển vi kết quả phản ứng nhuộm Gram bao gồm hình dáng, kích thước, cách sắp xếp của tế bào vi khuẩn. Nếu vi khuẩn có bào tử, cần tiến hành quan sát hình dáng, kích thước và vị trí của bào tử (có thể dùng phương pháp nhuộm bào tử). Hình thái khuẩn lạc và phản ứng nhuộm Gram của vi khuẩn phải giống với kết quả thu được từ giống gốc.
(2) Phản ứng sinh hóa
Sử dụng môi trường nuôi cấy và phương pháp thử phù hợp với chủng vi khuẩn. Phản ứng sinh hóa của vi khuẩn phải giống với kết quả thu được từ giống gốc.
(3) Thử độc tính
Thử độc tính trên động vật nhằm phát hiện liệu vi khuẩn có chứa độc tính ảnh hưởng đến sự an toàn của người hay không.
Tiêm phúc mạc cho 5 chuột nhắt có khối lượng mỗi chuột từ 18 g đến 22 g, mỗi con 0,3 ml hỗn dịch chủng vi khuẩn thuần khiết (nồng độ không dưới 1×10^9 CFU/0,3 ml), quan sát chuột trong 3 ngày liên tiếp. Phép thử đạt yêu cầu nếu

các chuột đều khỏe mạnh và tăng cân trong 3 ngày theo dõi. Có thể tiến hành phép thử bằng cách cho 5 chuột nhắt uống mỗi con 0,5 ml hỗn dịch chủng vi khuẩn thuần khiết (nồng độ không dưới 1×10^9 CFU/0,5 ml) trong 3 ngày liên tiếp. Phép thử đạt yêu cầu nếu các chuột đều khỏe mạnh và tăng cân trong 7 ngày theo dõi.

Kiểm tra chủng vi khuẩn gốc, trừ khi có chỉ dẫn riêng:

(1) Xác định sản phẩm chuyển hóa - acid béo

Tiến hành theo Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2) hoặc phương pháp thử phù hợp khác, kết quả xác định acid béo của chủng vi khuẩn gốc phải tương đồng với kết quả thu được trên chủng vi khuẩn chuẩn.

(2) Phân tích đặc tính về ADN

Chủng vi khuẩn phải đáp ứng nồng độ mol % G+C khi xác định trên ADN vi khuẩn hoặc xác định bằng phương pháp thử phù hợp khác. Kết quả xác định nồng độ G+C của của chủng vi khuẩn gốc phải tương đồng với kết quả thu được trên chủng vi khuẩn chuẩn.

(3) Độ nhạy cảm với kháng sinh

Chủng vi khuẩn phải đáp ứng yêu cầu khi thử bằng phương pháp khuếch tán trên đĩa thạch hoặc phương pháp thử phù hợp khác. Kết quả thu được trên chủng vi khuẩn gốc phải tương đồng với kết quả thu được trên chủng vi khuẩn chuẩn.

(4) Độ ổn định

Cấy truyền 30 lần chủng vi khuẩn vào môi trường dinh dưỡng phù hợp. Sử dụng chủng vi khuẩn ở lần cấy truyền thứ 30 để tiến hành các phép thử qui định trên. Tất cả các kết quả thu được trên chủng vi khuẩn phải tương đồng với kết quả thu được trên chủng vi khuẩn gốc.

Bảo quản chủng vi khuẩn

Chủng vi khuẩn giống và gốc phải được đông khô và bảo quản dưới 8 °C. Chủng vi khuẩn sản xuất có thể được bảo quản ở nhiệt độ phù hợp.

Sản xuất bán thành phẩm

Sản xuất bán thành phẩm bao gồm quá trình chuẩn bị hỗn dịch chủng vi khuẩn, nuôi cấy vi khuẩn bằng phương pháp lên men, gặt tế bào vi khuẩn (hoặc gặt bào tử), làm khô. Nếu sản xuất chế phẩm probiotic đa thành phần thì phải sản xuất bán thành phẩm của từng vi khuẩn một cách riêng biệt tương tự trên.

Chủng vi khuẩn sản xuất dùng cho sản xuất bán thành phẩm

Cấy chủng vi khuẩn sản xuất sang môi trường dinh dưỡng phù hợp để vi khuẩn nhân lên về mặt số lượng. Cần kiểm tra chủng vi khuẩn sau khi đã được nhân về số lượng bằng phản ứng nhuộm Gram. Kết quả phản ứng nhuộm Gram, hình dạng của tế bào vi khuẩn phải đồng nhất và phải tương đồng với kết quả thu được trên chủng vi khuẩn gốc. Quá trình nhân số lượng vi khuẩn phải đảm bảo không tạp nhiễm. Số lần cấy truyền từ chủng vi khuẩn sản xuất phải tuân theo qui định.

Môi trường nuôi cấy dùng cho sản xuất

Cần lựa chọn môi trường nuôi cấy phù hợp cho quá trình sản xuất.

Nuôi cấy

Nên sử dụng môi trường dạng lỏng. Cấy chủng vi khuẩn vào môi trường dinh dưỡng trong nồi lên men và nuôi cấy ở điều kiện phù hợp (điều kiện hiếu khí hoặc kị khí, nhiệt độ, thời gian). Cần lấy mẫu để kiểm tra nhuộm Gram và kiểm tra tính chất bắt màu Gram dưới kính hiển vi, giá trị pH trong quá trình nuôi cấy. Đối với chủng có bào tử, cần xác định tốc độ hình thành bào tử. Cần lấy mẫu để kiểm tra độ tinh khiết của vi khuẩn khi kết thúc quá trình nuôi cấy. Nếu thấy có sự tạp nhiễm, cần hủy ngay lô chủng sản xuất đó.

Đối với việc sản xuất chế phẩm probiotic đa thành phần, cần nuôi cấy riêng biệt các chủng vi khuẩn theo qui trình trên để thu được các bán thành phẩm đơn thành phần.

Gặt và sản xuất bột bán thành phẩm

Gặt tế bào vi khuẩn bằng phương pháp li tâm, trộn với chất phân tán và chất ổn định phù hợp. Tiến hành đông khô hoặc làm khô ở nhiệt độ phù hợp (đối với chủng vi khuẩn sinh bào tử) hỗn hợp thu được ở trên, nghiền và rây để thu được nguyên liệu bột ban đầu.

Điều kiện bảo quản và thời hạn sử dụng của bán thành phẩm

Xác định điều kiện bảo quản và thời hạn sử dụng của bán thành phẩm dựa vào nghiên cứu độ ổn định.

Yêu cầu chất lượng bán thành phẩm

Bán thành phẩm phải đạt yêu cầu chất lượng các chỉ tiêu ghi trong mục Kiểm tra chất lượng bán thành phẩm. Bán thành phẩm cuối cùng chỉ được được sản xuất sau khi bán thành phẩm đã đạt yêu cầu các chỉ tiêu chất lượng.

Sản xuất bán thành phẩm cuối cùng

Bán thành phẩm cuối cùng được sản xuất bằng cách trộn nhiều nhất 2 lô bán thành phẩm (các lô này phải được sản xuất từ cùng một lô giống vi khuẩn sản xuất) với chất phụ gia với tỷ lệ phù hợp. Đối với bán thành phẩm để sản xuất các chế phẩm probiotic đa thành phần, thì từng bán thành phẩm đơn lẻ sẽ được trộn theo thứ tự với chất phụ gia với tỷ lệ phù hợp. Cần tránh tạp nhiễm trong quá trình sản xuất bán thành phẩm cuối cùng.

Bán thành phẩm cuối cùng phải đạt yêu cầu chất lượng các chỉ tiêu ghi trong mục Kiểm tra chất lượng bán thành phẩm cuối cùng.

Sản xuất thành phẩm

Dạng bào chế: Dạng bào chế được lựa chọn dựa trên cách dùng chế phẩm, người sử dụng, đường dùng.

Đánh số lô: Số lô của thành phẩm được xác định sau khi sản xuất nguyên liệu cuối cùng. Cần xác định nguồn gốc và chất lượng của từng lô thành phẩm. Lấy mẫu kiểm tra để đánh giá toàn bộ một lô thành phẩm xem lô đó có đạt các yêu cầu chất lượng hay không.

Thời gian đóng gói bán thành phẩm cuối cùng phải được xác định dựa trên kết quả thẩm định quá trình sản xuất. Nếu thời gian đóng bán thành phẩm cuối cùng vượt quá 24 h, thì cần đánh số lô phụ dựa vào các thời gian đóng gói khác nhau.

Yêu cầu chất lượng thành phẩm: Thành phẩm phải đạt yêu cầu chất lượng các chỉ tiêu ghi trong mục Kiểm tra chất lượng thành phẩm.

Kiểm tra chất lượng

Việc kiểm tra chất lượng chế phẩm probiotic được tiến hành trên bán thành phẩm, bán thành phẩm cuối cùng và thành phẩm.

Kiểm tra chất lượng bán thành phẩm

Cảm quan: Bán thành phẩm có màu trắng, trắng xám hoặc vàng xám.

Kiểm tra vi khuẩn: Lấy một lượng nhỏ bột nguyên liệu cho vào nước muối sinh lý vô khuẩn hoặc dung dịch pha loãng phù hợp khác, cấy trải trên đĩa môi trường thạch phù hợp, ủ trong điều kiện phù hợp. Hình thái khuẩn lạc và kết quả phản ứng nhuộm Gram phải tương đồng với kết quả thu được trên chủng vi khuẩn được dùng để sản xuất lô nguyên liệu đó.

Độ nhiễm khuẩn: Tiến hành thử giới hạn nhiễm khuẩn theo Thử giới hạn nhiễm khuẩn (Phụ lục 13.6). Đánh giá kết quả theo mục Giới hạn nhiễm khuẩn cho phép của chế phẩm probiotic. Cần hủy bỏ lô bán thành phẩm nếu lô bán thành phẩm không đạt chỉ tiêu này.

Giảm độ sống do làm khô: Độ ẩm có thể ảnh hưởng trực tiếp tới khả năng sống của vi khuẩn, do đó cần kiểm soát độ ẩm của bán thành phẩm. Tiến hành theo Phụ lục 9.6.

Xác định số lượng vi khuẩn sống: Số lượng vi khuẩn sống trong bán thành phẩm phải đạt yêu cầu đưa ra. Tiến hành thử theo mục Xác định số lượng vi khuẩn sống trong chế phẩm probiotic.

Kiểm tra chất lượng bán thành phẩm cuối cùng

Cần kiểm tra độ nhiễm khuẩn của lô nguyên liệu cuối cùng. Giới hạn nhiễm khuẩn cho phép dựa theo đường dùng của chế phẩm. Tiến hành thử giới hạn nhiễm khuẩn (Phụ lục 13.6) và đánh giá kết quả theo mục Giới hạn nhiễm khuẩn cho phép của chế phẩm probiotic.

Kiểm tra chất lượng thành phẩm

Định tính: Phép thử định tính nhằm xác định xem các đặc điểm của vi khuẩn trong thành phẩm có tương đồng với các đặc điểm của chủng vi khuẩn dùng để sản xuất ra lô thành phẩm đó không. Cần tiến hành kiểm tra các đặc điểm nuôi cấy (hình thái khuẩn lạc...), tính chất bắt màu Gram, phản ứng sinh hóa như mô tả trong mục *Kiểm tra chủng vi khuẩn* của phần Chủng vi khuẩn dùng trong sản xuất và kết quả kiểm tra phải đạt yêu cầu.

Đối với thành phẩm probiotic đa thành phần, cần tiến hành các phép thử nêu trên với từng loại vi khuẩn.

Tính chất vật lý, hóa học:

(1) Hình thức cảm quan

Quan sát hình thức, màu sắc, độ bóng có phù hợp với dạng bào chế đó không.

Viên nén phải còn nguyên vẹn, bóng mịn, màu trắng hoặc trắng sữa có bột vi khuẩn phân tán đều trong viên. Đối với dạng thuốc cốm, thuốc bột, viên nang, kích thước và màu sắc của bột phải đồng nhất và có bột vi khuẩn phân tán đều.

(2) Mất khối lượng do làm khô (Phụ lục 9.6).

Đối với chế phẩm probiotic có bào tử: Không được quá 7,0 %.

Đối với chế phẩm probiotic khác: Không được quá 5,0 %.

(3) Kích thước hạt

Tiến hành kiểm tra kích thước hạt đối với dạng thuốc cốm, thuốc bột (Phụ lục 3.5).

(4) Đồng đều khối lượng

Phải đạt yêu cầu về độ đồng đều khối lượng Đối với mỗi dạng bào chế (Phụ lục 11.3).

(5) Độ rã

Viên nén, viên nang phải đạt yêu cầu về độ rã theo qui định (Phụ lục 11.6).

Xác định số lượng vi khuẩn sống:

Số lượng vi khuẩn sống trong thành phẩm phải đạt yêu cầu đưa ra. Đối với chế phẩm probiotic đa thành phần, số lượng vi khuẩn sống của từng loại vi khuẩn đều phải đáp ứng qui định.

Tiến hành xác định số lượng vi khuẩn sống trong chế phẩm probiotic như sau:

Trong điều kiện vô khuẩn, cân khoảng 5 g đến 10 g bột thuốc vào bình nón vô khuẩn (đã có sẵn vài viên bi thuỷ tinh vô khuẩn), thêm nước muối sinh lý vô khuẩn hoặc dung dịch pha loãng phù hợp khác với thể tích tính theo mililít gấp 9 lần khối lượng bột thuốc đã cân, lắc đều. Tiếp tục pha loãng 10 lần liên tiếp để thu được hỗn dịch pha loãng cuối cùng có nồng độ 30 - 300 CFU/ml (đối với phương pháp cấy trộn) hoặc 300 - 3000 CFU/ml (đối với phương pháp cấy trải bề mặt). Số độ pha loãng phụ thuộc vào hàm lượng vi khuẩn trong từng chế phẩm probiotic.

(1) Phương pháp cấy trộn

Chuyển vào 3 đĩa petri mỗi đĩa 1000 µl hỗn dịch có độ pha loãng cuối cùng. Cấy trộn với môi trường dinh dưỡng phù hợp và nuôi cấy trong điều kiện phù hợp. Sau thời gian nuôi cấy, đếm số lượng khuẩn lạc trong các đĩa petri. Nếu số khuẩn lạc trong một đĩa nhỏ hơn 30 hoặc lớn hơn 300, cần thay đổi độ pha loãng và lặp lại phép thử từ đầu.

Tính số lượng vi khuẩn (CFU/g) theo công thức:

$$\text{Số lượng vi khuẩn (CFU/g)} = C/3 \times D$$

Trong đó:

C là tổng số khuẩn lạc đếm được trên 3 đĩa petri.

D là độ pha loãng cuối cùng.

(2) Phương pháp cấy trải bề mặt

Chuyển vào 3 đĩa petri đã chứa sẵn môi trường dinh dưỡng phù hợp mỗi đĩa 100 µl hỗn dịch có độ pha loãng cuối cùng, láng đều hỗn dịch vi khuẩn trên bề mặt môi trường (có thể sử dụng thêm bi thủy tinh để trợ giúp) và nuôi cấy trong điều kiện phù hợp. Sau thời gian nuôi cấy, đếm số lượng khuẩn lạc trong các đĩa petri. Nếu số khuẩn lạc trong một đĩa nhỏ hơn 30 hoặc lớn hơn 300, cần thay đổi độ pha loãng và lặp lại phép thử từ đầu.

Tính số lượng vi khuẩn (CFU/g) theo công thức:

$$\text{Số lượng vi khuẩn (CFU/g)} = C/3 \times 10 \times D$$

Trong đó:

C là tổng số khuẩn lạc đếm được trên 3 đĩa petri.

D là độ pha loãng cuối cùng.

Kiểm tra tạp khuẩn:
Cần kiểm tra tạp khuẩn của sản phẩm nhằm đảm bảo an toàn cho người dùng. Tiến hành thử giới hạn nhiễm khuẩn theo Phụ lục 13.6. Đánh giá kết quả theo mục Giới hạn nhiễm khuẩn cho phép của chế phẩm probiotic.
Thử độ an toàn:
Thử độ an toàn chính là phép thử độc tính không đặc hiệu được tiến hành trên động vật. Phương pháp thử dựa trên đường dùng và liều dùng của chế phẩm probiotic.
(1) Thử độ an toàn đối với probiotic dùng theo đường uống
Lấy 2 g thành phẩm hòa trong 8 ml nước muối sinh lý, lắc đều, cho 5 chuột nhắt có khối lượng mỗi chuột từ 18 g đến 22 g, mỗi con uống 0,5 ml hỗn dịch này, mỗi ngày uống 1 lần, cho uống trong 3 ngày liên tiếp. Quan sát chuột trong 7 ngày, các chuột phải khỏe mạnh và tăng cân. Nếu không đạt yêu cầu, có thể tiến hành lại phép thử 1 lần trên 10 chuột khác, lần này kết quả phải đạt yêu cầu.
(2) Thử độ an toàn đối với probiotic dùng theo đường âm đạo
Chọn 5 chuột nhắt cái có khối lượng mỗi chuột từ 24 g đến 26 g. Lấy 10 mg thành phẩm cho vào mỗi âm đạo của 5 con chuột nhắt mỗi ngày 1 lần trong 3 ngày liên tiếp và quan sát chuột trong 7 ngày. Thành phẩm đạt yêu cầu nếu trong thời gian quan sát tất cả chuột đều khỏe mạnh, tăng cân, không bị đỏ da, sưng phồng, tiết dịch ở âm đạo.

Bảo quản, vận chuyển, hạn sử dụng
Điều kiện bảo quản và vận chuyển phải được phê duyệt. Thời hạn sử dụng được tính từ ngày sản xuất bán thành phẩm cuối cùng.

Giới hạn nhiễm khuẩn cho phép của chế phẩm probiotic
Chế phẩm probiotic dùng theo đường uống (bán thành phẩm, thành phẩm):
Tổng số vi sinh vật hiếu khí không quá 10^4 CFU/g.
Tổng số vi khuẩn Gram âm dung nạp mật không quá 100 CFU/g.
Tổng số nấm không quá 100 CFU/g.
Không có *E. coli, Salmonella sp., P. aeruginosa, S. aureus* trong 1 g
Chế phẩm probiotic dùng theo đường đặt âm đạo (bán thành phẩm, thành phẩm):
Tổng số vi sinh vật hiếu khí không quá 100 CFU/g.
Tổng số nấm không quá 10 CFU/g.
Không có *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Candida albicans* trong 1 g.

1.27 THUẬT NGỮ DẠNG THUỐC THEO MÔ HÌNH GIẢI PHÓNG (PHÓNG THÍCH) DƯỢC CHẤT

Dạng thuốc giải phóng quy ước (conventional-release dosage form): Là dạng thuốc trong đó không dùng các giải pháp đặc biệt thuộc về thiết kế công thức và/hoặc kỹ thuật sản xuất để tác động đến sự giải phóng dược chất khỏi dạng thuốc. Với các dạng thuốc rắn, đồ thị hòa tan phụ thuộc chủ yếu vào tính chất vốn có của dược chất. Khi thử độ hòa tan, dược chất thường được giải phóng ngay khỏi dạng thuốc, do đó dạng thuốc giải phóng quy ước còn được gọi là dạng thuốc giải phóng tức thời (immediated-release form).

Dạng thuốc giải phóng biến đổi (modified-release dosage form): Hay còn gọi là dạng thuốc giải phóng có kiểm soát, là dạng thuốc trong đó áp dụng các giải pháp đặc biệt thuộc về thiết kế công thức và/hoặc kỹ thuật sản xuất để làm thay đổi tốc độ hoặc/và nơi giải phóng dược chất so với dạng thuốc giải phóng quy ước có cùng đường dùng. Dạng thuốc giải phóng biến đổi bao gồm các dạng thuốc giải phóng kéo dài, giải phóng muộn và giải phóng theo chương trình.

Dạng thuốc giải phóng kéo dài (prolonged-release dosage form, extended-release dosage form): Là dạng thuốc giải phóng biến đổi, trong đó các giải pháp đặc biệt về thiết kế công thức và/hoặc kỹ thuật sản xuất được áp dụng để làm chậm và kéo dài quá trình giải phóng dược chất nhằm kéo dài tác dụng điều trị của thuốc (thuốc tác dụng kéo dài).

Dạng thuốc giải phóng muộn (delayed-release dosage form): Hay còn gọi là dạng thuốc giải phóng chậm, là dạng thuốc giải phóng biến đổi, trong đó các giải pháp thuộc về công thức và/hoặc kỹ thuật sản xuất được áp dụng để trì hoãn giải phóng dược chất sau một khoảng thời gian tiềm tàng nhất định. Dạng thuốc giải phóng muộn bao gồm dạng thuốc bao tan trong ruột (bao kháng dịch vị) và dạng thuốc giải phóng theo nhịp (pulsatile-release dosage form).

Dạng thuốc giải phóng theo chương trình (programmed-release dosage form): Là dạng thuốc giải phóng biến đổi, trong đó các giải pháp đặc biệt về thiết kế công thức và/hoặc kỹ thuật sản xuất được áp dụng để kiểm soát quá trình giải phóng dược chất khỏi dạng thuốc theo chương trình đã định sẵn. Hệ điều trị (therapeutic systems) là những chế phẩm giải phóng dược chất theo mô hình này.

PHỤ LỤC 2

2.1 CÁC THUỐC THỬ CHUNG

2.1.1 HÓA CHẤT VÀ THUỐC THỬ

Acetaldehyd
C_2H_4O = 44,1
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chất lỏng trong, không màu, dễ cháy. Hòa trộn với nước, ethanol, cloroform và ether.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,788.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,332.
Điểm sôi: Khoảng 21 °C.

Aceton
Propan-2-on
C_3H_6O = 58,08
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng dễ bay hơi, dễ bắt lửa.
Điểm sôi: Khoảng 56 °C.
Khối lượng riêng: Khoảng 0,79 g/ml.
Hàm lượng nước: Không được quá 0,3 % (kl/kl) (Phụ lục 10.3), dùng *pyridin khan (TT)* làm dung môi.

Acetonitril
Methyl cyanid
C_2H_3N = 41,05
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chất lỏng không màu.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,78.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,344.
Phần chưng cất được trong khoảng 80 °C đến 82 °C không được ít hơn 95 %.

Acetonitril dùng trong phương pháp quang phổ
Độ truyền quang: Không được nhỏ hơn 98 % trong khoảng bước sóng từ 255 đến 420 nm, dùng nước làm mẫu trắng.

Acetonitril dùng trong phương pháp sắc ký
Hàm lượng C_2H_3N không được ít hơn 99,8 %.
Độ truyền quang: Không được nhỏ hơn 98 % ở bước sóng 240 nm, dùng nước làm mẫu trắng.

Acetonitril (TT_1)
Hàm lượng C_2H_3N không được ít hơn 99,9 % và đạt yêu cầu sau:
Độ hấp thụ: Độ hấp thụ của chế phẩm ở bước sóng 200 nm (Phụ lục 4.1) không được lớn hơn 0,10; dùng *nước* làm mẫu trắng.

Acetaldehyd amoni trimer trihydrat
2,4,6-Trimethylhexahydro-1,3,5- triazin trihydrat
$C_6H_{15}N_3.3H_2O$ = 183,3
Điểm chảy: Khoảng từ 95 °C đến 97 °C.

Acetylaceton
Pentan-2,4-dion
$C_5H_8O_2$ = 100,1
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng dễ cháy, không màu hoặc màu vàng nhạt.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng từ 1,452 đến 1,453.
Điểm sôi: Khoảng từ 138 °C đến 140 °C.

Acetyl clorid
C_2H_3ClO = 78,50
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,10.
Phần chưng cất được trong khoảng 49 °C đến 53 °C không được ít hơn 95 %.

Acetyltyrosin ethyl ester
Ethyl N-acetyl-L-tyrosinat
$C_{13}H_{17}NO_4.H_2O$ = 269,3
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột kết tinh màu trắng.
Góc quay cực riêng ở 20 °C: +21° đến +25°, dung dịch 1 % (kl/tt) trong *ethanol (TT)*.
Giá trị A (1 %, 1 cm) ở bước sóng 278 nm: 60 đến 68, dung dịch trong *ethanol (TT)*.

Acid acetic băng
Acid acetic kết tinh được.
CH_3COOH = 60,1
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng không màu, mùi hăng cay.
Khối lượng riêng: Khoảng 1,05 g/ml.
Điểm đông đặc: Khoảng 16 °C.
Hàm lượng CH_3COOH: Không được nhỏ hơn 98,0 % (kl/kl).

Dung dịch acid acetic xM
Pha loãng 57x ml (60x g) *acid acetic băng (TT)* với *nước* vừa đủ 1000 ml.

Acid acetic (Dung dịch acid acetic 30 % - Dung dịch acid acetic 5 M)
Pha loãng 30 g *acid acetic băng (TT)* với *nước* vừa đủ 100 ml.
Hàm lượng CH_3COOH khoảng 29,0 % đến 31,0 %.

Acid acetic loãng (Dung dịch acid acetic 12 % - Dung dịch acid acetic 2 M)
Pha loãng 12 g *acid acetic băng (TT)* với *nước* vừa đủ 100 ml.
Hàm lượng CH_3COOH khoảng 11,5 % đến 12,5 %.

Dung dịch acid acetic 6 %
Lấy 100 ml *dung dịch acid acetic 30 % (TT)*, pha loãng với *nước* vừa đủ 500 ml.

Acid acetic khan
CH_3COOH = 60,1
Acid acetic băng dùng trong chuẩn độ môi trường khan, hàm lượng CH_3COOH không ít hơn 99,6 % (kl/kl).
Tỷ trọng ở 20 °C: Từ 1,052 đến 1,053.
Điểm sôi: 117 °C đến 119 °C.

Hàm lượng nước: Không được quá 0,4 % (kl/kl) (Phụ lục 10.3). Nếu hàm lượng nước lớn hơn 0,4 %, làm khan bằng cách cho thêm *anhydrid acetic (TT)* (7 ml cho mỗi gam nước).

Dung dịch acid peroxyacetic
Pha loãng 1 ml *hydrogen peroxyd 100 tt (TT)* thành 100 ml với *acid acetic khan (TT)*. Lắc đều, để yên 12 h trước khi sử dụng.
Chỉ dùng trong vòng 24 h.

Acid 4-aminobenzoic
$C_7H_7NO_2$ = 137,1
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Tinh thể màu trắng, chuyển sang màu vàng nhạt khi tiếp xúc với không khí và ánh sáng. Rất dễ tan trong nước sôi, ethanol, ether và acid acetic, tan rất ít trong nước.
Điểm chảy: Khoảng 188 °C.

Dung dịch acid 4-aminobenzoic
Hòa tan 1 g *acid 4-aminobenzoic (TT)* trong hỗn hợp gồm 18 ml *acid acetic khan (TT)*, 20 ml *nước* và 1 ml *acid phosphoric (TT)*. Trước khi dùng trộn 2 thể tích dung dịch trên với 3 thể tích *aceton (TT)*.

Acid (4-aminobenzoyl)-L-glutamic
$C_{12}H_{14}N_2O_5$ = 266,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Điểm chảy: Khoảng 173 °C.

Acid 3-aminomethylalirazin-N,N-diacetic
Acid aminomethylalirazindiacetic
$C_{19}H_{15}NO_8.2H_2O$ = 421,4
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột mịn màu nâu cam hay vàng nhạt.
Điểm chảy: Khoảng 185 °C.
Phải đạt yêu cầu sau:
Mất khối lượng do làm khô: Không quá 10,0 %, dùng 1 g.

Thuốc thử acid aminomethylalirazin-N,N-diacetic
Dung dịch I: Hòa tan 0,36 g *ceri (III) nitrat (TT)* trong *nước* vừa đủ 50 ml.
Dung dịch II: Phân tán 0,7 g *acid 3-aminomethylalirazin-N,N-diacetic (TT)* trong 50 ml *nước*. Hòa tan bằng cách thêm 0,25 ml *amoniac (TT)*. Thêm 0,25 ml *acid acetic băng (TT)* và *nước* vừa đủ 100 ml.
Dung dịch III: Hòa tan 6 g *natri acetat (TT)* trong 50 ml *nước*, thêm 11,5 ml *acid acetic băng (TT)* và *nước* vừa đủ 100 ml.
Lấy 33 ml *aceton (TT)*, thêm 6,8 ml dung dịch III, 1,0 ml dung dịch II, 1,0 ml dung dịch I và *nước* vừa đủ 50 ml.
Chỉ dùng trong vòng 5 ngày.
Phải đạt yêu cầu sau:
Độ nhạy: Lấy 1,0 ml *dung dịch fluorid chuẩn 10 phần triệu (TT)*, thêm 19,0 ml *nước* và 5,0 ml thuốc thử. Sau 20 min, dung dịch có màu xanh lam nhận thấy rõ.

Acid 4-aminomethylbenzoic
$C_8H_9NO_2$ = 151,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.

Acid 8-aminonaphthalen-2-sulfonic
Acid 8-amino-2-naphthalensulfonic; Acid 1-naphthylamin-7-sulfonic
$C_{10}H_9NO_3S$ = 223,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.

Dung dịch acid aminonaphthalensulfonic
Trộn 0,5 g *acid 8-aminonaphthalen-2-sulfonic (TT)*, 30 ml *acid acetic băng (TT)* với 120 ml *nước*, đun nóng và khuấy cho đến khi hòa tan hoàn toàn. Để nguội, lọc.
Sử dụng dung dịch trong vòng 3 tuần.

Acid aspartic
Dùng loại tinh khiết hóa học.

Acid benzoic
C_6H_5COOH = 122,1
Dùng loại tinh khiết phân tích.

Acid boric
H_3BO_3 = 61,83
Dùng loại tinh khiết phân tích.

Dung dịch acid boric 5 %
Hòa tan 5 g *acid boric (TT)* trong *nước* nóng, thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid boric 3 %
Hòa tan 3 g *acid boric (TT)* trong *nước* nóng, thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid boric
Hòa tan 5 g *acid boric (TT)* trong hỗn hợp 20 ml *nước* và 20 ml *ethanol (TT)*. Thêm *ethanol (TT)* vừa đủ 250 ml.

Acid citric
$C_6H_8O_7.H_2O$ = 210,1
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Acid citric dùng trong phép thử giới hạn sắt phải thỏa mãn yêu cầu sau:
Hòa tan 0,5 g *acid citric (TT)* trong 10 ml *nước*, thêm 0,1 ml *acid mercaptoacetic (TT)*, trộn đều, kiềm hóa bằng *dung dịch amoniac 10 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 20 ml. Màu hồng không được xuất hiện.

Dung dịch acid citric 18 %
Hòa tan 18 g *acid citric (TT)* với *nước* vừa đủ 100 ml.

Acid 2-clorobenzoic
$C_7H_5ClO_2$ = 156,7
Tan trong nước, khó tan trong ethanol khan.
Điểm sôi: Khoảng 285 °C.
Điểm chảy: Khoảng 140 °C.

Acid cloroplatinic (IV)
Acid cloroplatinic, platinic clorid
H_2PtCl_6 + nước.
Chứa ít nhất 37,0 % (kl/kl) platin (p.t.l: 195,1).

Khối kết tinh hay tinh thể đỏ nâu. Rất tan trong nước, tan trong ethanol 96 %.
Định lượng: Nung 0,200 g chế phẩm đến khối lượng không đổi ở 900 °C ± 50 °C và cân khối lượng cắn (platin).
Bảo quản tránh ánh sáng.

Dung dịch acid cloroplatinic
Dung dịch *acid cloroplatinic (IV)* trong *nước* chứa 5,0 % $H_2PtCl_6.6H_2O$

Acid cromic (dung dịch)
Hòa tan 84 g *crom trioxyd (TT)* trong 700 ml *nước*, vừa thêm vừa khuấy với 400 ml *acid sulfuric (TT)*.

Acid cyclohexylendinitrilotetra-acetic
Acid (±)-trans-1,2-diaminocyclohexan-N,N,N',N'-tetra-acetic
$C_{14}H_{22}N_2O_8.H_2O$ = 364,4
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột kết tinh trắng.
Điểm chảy: Khoảng 204 °C.

Acid 3-cyclohexylpropionic
$C_9H_{16}O_2$= 156,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,998.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,4648.
Điểm sôi: Khoảng 130 °C.

Acid ethylendinitrilotetra-acetic
$C_{10}H_{16}N_2O_8$ = 292,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Điểm chảy: Khoảng 250 °C.

Acid 2-ethylhexanoic
Acid 2-ethylhexoic
$C_8H_{16}O_2$= 144,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chất lỏng không màu.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,91.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,425.
Phải đáp ứng phép thử sau:
Tạp chất liên quan: Tiến hành bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2), dùng 1 µl dung dịch được chuẩn bị như sau: Trộn đều 0,2 g chế phẩm trong 5 ml *nước*, thêm 3 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 N (TT)* và 5 ml *hexan (TT)*, lắc trong 1 min, để yên cho tách lớp. Sử dụng lớp trên.
Sử dụng cách tiến hành như mô tả trong phép thử acid 2-ethylhexanoic, chuyên luận Amoxicilin natri. Tổng diện tích của các pic phụ không được lớn hơn 2,5 % diện tích của pic chính.

Acid fluofenamic
$C_{14}H_{10}F_3NO_2$= 281,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Tinh thể hình kim hay bột kết tinh màu vàng nhạt.
Điểm chảy: 132 °C đến 135 °C.

Acid formic
HCOOH = 46,03
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng không màu, mùi hăng cay và rất ăn da.
Khối lượng riêng: Khoảng 1,20 g/ml.
Hàm lượng HCOOH: Khoảng 90 % (kl/kl).

Acid formic khan
HCOOH = 46,03
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng không màu, mùi hăng cay và rất ăn da.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,22.
Hàm lượng HCOOH: Không ít hơn 98,0 % (kl/kl).
Định lượng: Cân chính xác một bình nón đã chứa sẵn 10 ml *nước*, cho nhanh vào khoảng 1 ml *acid formic (TT)* rồi cân lại. Thêm 50 ml *nước* và chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ)*, dùng 0,5 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ)* tương đương với 46,03 mg HCOOH.

Acid hydrocloric (Acid hydrocloric đậm đặc)
HCl = 36,46
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng trong, không màu, bốc khói.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,18.
Hàm lượng HCl: 35 % đến 38 % (kl/kl), khoảng 11,5 M.
Bảo quản ở nhiệt độ không quá 30 °C, trong bao bì bằng polyethylen hoặc vật liệu không phản ứng với acid hydrocloric.

Dung dịch acid hydrocloric xM
Pha loãng 85x ml *acid hydrocloric (TT)* với *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch acid hydrocloric 25 %
Pha loãng 61 ml *acid hydrocloric (TT)* với *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid hydrocloric 16 %
Pha loãng 39 ml *acid hydrocloric (TT)* với *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid hydrocloric 10 %
Pha loãng 24 ml *acid hydrocloric (TT)* với *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid hydrocloric loãng
Pha loãng 17 ml *acid hydrocloric (TT)* với *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid hydrocloric 1 %
Pha loãng 2,4 ml *acid hydrocloric (TT)* với *nước* vừa đủ 100 ml.

Acid hydrocloric brom hóa
Dùng loại acid hydrocloric brom hóa có hàm lượng arsen thấp, hoặc điều chế bằng cách thêm 1 ml *dung dịch brom (TT)* vào 100 ml *acid hydrocloric (TT)*.

Dung dịch acid hydrocloric thiếc hóa
Dùng loại acid hydrocloric thiếc hóa có hàm lượng arsen thấp, hoặc điều chế bằng cách thêm 1 ml dung dịch *thiếc (II) clorid (TT)* vào 100 ml *acid hydrocloric (TT)*.

Dung dịch acid hydrocloric trong ethanol
Pha như các dung dịch acid hydrocloric khác, nhưng thay *nước* bằng *ethanol 96 % (TT)*.
Nếu không ghi cụ thể nồng độ, dùng dung dịch sau: Pha loãng 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* thành 500 ml với *ethanol 96 % (TT)*.

Dung dịch acid hydrocloric trong methanol
Pha như các dung dịch acid hydrocloric khác, nhưng thay *nước* bằng *methanol (TT)*.

Acid hydrocloric không có kim loại nặng
Phải đáp ứng các yêu cầu của *acid hydrocloric (TT)* và nồng độ tối đa của các kim loại nặng như sau:
As: 0,005 phần triệu; Cd: 0,003 phần triệu; Cu: 0,003 phần triệu; Fe: 0,05 phần triệu; Hg: 0,005 phần triệu; Ni: 0,004 phần triệu; Pb: 0,001 phần triệu; Zn: 0,005 phần triệu.

Acid hydrofluoric
HF = 20,01
Dùng loại tinh khiết phân tích chứa không ít hơn 40 % (kl/kl) HF.
Chất lỏng không màu, mùi hăng, có tính ăn mòn, 1 ml acid có khối lượng khoảng 1,13 g.
Bảo quản trong lọ polyethylen.

Acid 2-hydroxyacetic
Acid glycollic
$C_2H_4O_3$ = 76,05
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Điểm chảy: Khoảng 80 °C.

Acid 4-hydroxybenzoic
Acid parahydroxybenzoic
$C_7H_6O_3$ = 138,1
Tinh thể khó tan trong nước, rất tan trong ethanol 96 %, tan trong aceton.
Điểm chảy: Khoảng từ 214 °C đến 215 °C.

Acid maleic
Acid (Z)-but-2-en-1,4-dioic
$C_4H_4O_4$ = 116,1

Acid mercaptoacetic
Acid thioglycolic
$HSCH_2COOH$ = 92,12.
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chất lỏng không màu, có mùi khó chịu.
Khối lượng riêng: Khoảng 1,33 g/ml.

Acid nitric (Acid nitric đậm đặc)
HNO_3 = 63,01
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng bốc khói, ăn mòn, có nồng độ khoảng 16 M.
Khối lượng riêng: Khoảng 1,42 g/ml.
Hàm lượng HNO_3: Khoảng 70 % (kl/kl).

Dung dịch acid nitric xM
Pha loãng 63x ml *acid nitric (TT)* với *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch acid nitric 50 %
Pha loãng 80 g *acid nitric (TT)* với *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid nitric 32 %
Pha loãng 46 g *acid nitric (TT)* với *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid nitric 25 %
Pha loãng 40 g *acid nitric (TT)* với *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid nitric 16 %
Pha loãng 23 g *acid nitric (TT)* với *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid nitric 12,5 % (Dung dịch acid nitric 2 M - Acid nitric loãng)
Pha loãng 20 g *acid nitric (TT)* với *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid nitric 10 %
Pha loãng 15 g *acid nitric (TT)* với *nước* vừa đủ 100 ml.

Acid nitric bốc khói
HNO_3 = 63,01
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng màu vàng, bốc khói, ăn mòn.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,5.
Hàm lượng HNO_3: Khoảng 95 % (kl/kl).

Acid nitric không có chì
Phải đáp ứng phép thử sau:
Chì: Không quá 0,1 phần triệu (Phụ lục 4.4). Đo độ hấp thụ ở 283,3 nm hoặc 217 nm, dùng đèn cathod rỗng chì, ngọn lửa acetylen - không khí. Dung dịch thử được chuẩn bị như sau: Thêm 0,1 g *natri carbonat khan (TT)* vào 100 g *acid nitric (TT)* và bốc hơi tới khô. Hòa tan cắn trong *nước* bằng cách đun nóng nhẹ và pha loãng thành 50 ml với *nước*.

Acid nitric không có cadmi và chì
Phải đáp ứng các phép thử sau:
Cadmi: Không được quá 0,1 phần triệu (Phụ lục 4.4). Đo độ hấp thụ ở 228,8 nm, dùng đèn cathod rỗng cadmi và ngọn lửa acetylen - không khí hay không khí - propan. Dung dịch thử được chuẩn bị như sau: Thêm 0,1 g *natri carbonat khan (TT)* vào 100 g *acid nitric (TT)* và bốc hơi tới khô. Hòa tan cắn trong nước bằng cách đun nóng nhẹ, pha loãng thành 50 ml với *nước*.
Chì: Không quá 0,1 phần triệu, xác định như acid nitric không có chì.

Acid nitric không có kim loại nặng
Phải đáp ứng các yêu cầu của *acid nitric (TT)* và nồng độ tối đa của các kim loại nặng như sau:

As: 0,005 phần triệu, Cd: 0,005 phần triệu, Cu: 0,001 phần triệu, Fe: 0,02 phần triệu, Hg: 0,002 phần triệu, Ni: 0,005 phần triệu, Pb: 0,001 phần triệu, Zn: 0,01 phần triệu.

Acid nitrilotriacetic
$C_6H_9NO_6$ = 191,1
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng. Thực tế không tan trong nước và trong hầu hết các dung môi hữu cơ.
Điểm chảy: Khoảng 246 °C, kèm phân hủy.

Acid oxalic
$(COOH)_2.2H_2O$ = 126,07
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Tinh thể màu trắng. Tan trong nước, dễ tan trong ethanol.

Dung dịch acid oxalic 10 %
Hòa tan 10 g *acid oxalic (TT)* trong *nước* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid oxalic 6,3 %
Hòa tan 6,3 g *acid oxalic (TT)* trong *nước* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid oxalic 5 %
Hòa tan 5 g *acid oxalic (TT)* trong *nước* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid oxalic 4 %
Hòa tan 4 g *acid oxalic (TT)* trong *nước* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid oxalic trong acid sulfuric
Hòa tan 5 g *acid oxalic (TT)* trong hỗn hợp 50 ml *nước* và 50 ml *acid sulfuric (TT)* đã để nguội.

Acid percloric
$HClO_4$ = 100,46
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng trong, không màu, hỗn hợp được với nước. Rất ăn mòn, có thể gây cháy nổ khi tiếp xúc với chất dễ oxy hóa.
Khối lượng riêng: Khoảng 1,7 g/ml.
Hàm lượng $HClO_4$: 70,0 % đến 73,0 % (kl/kl).

Dung dịch acid percloric xM
Pha loãng 82x ml *acid percloric (TT)* với *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch acid percloric
Pha loãng 8,5 ml *acid percloric (TT)* với *nước* vừa đủ 100 ml (khoảng 1 M).

Acid phenoldisulphonic, dung dịch
Dung dịch acid phenoldisulphonic
Chất lỏng trong, có thể có màu nâu nhạt trong quá trình bảo quản. Được điều chế bằng cách đun nóng 3,0 g *phenol (TT)* với 20 ml *acid sulfuric đậm đặc (TT)* trên cách thủy trong 6 h và chuyển dung dịch thu được vào bình nút mài. Hoặc bằng cách pha loãng dung dịch thương phẩm *phenol 25 %* với *acid sulfuric (TT)* thành dung dịch *phenol 15 % (kl/tt)*.

Dung dịch phải đạt phép thử sau:
Độ nhạy với nitrat: Cho bay hơi một lượng dung dịch chứa 0,1 mg *kali nitrat (TT)* đến khô trong chén sứ trên cách thủy. Thêm vào cắn đã nguội 1 ml thuốc thử và để yên 10 min. Thêm 10 ml *nước*, làm lạnh, thêm 10 ml *dung dịch amoniac 5 M (TT)* và pha loãng thành 25 ml với *nước*. Xuất hiện màu vàng, phân biệt rõ khi so với dung dịch được pha tương tự nhưng không có kali nitrat.

Acid phenylacetic
$C_8H_8O_2$ = 136,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Điểm sôi: Khoảng 265 °C.
Điểm chảy: Khoảng 75 °C.

Acid phosphomolybdic
Acid dodecamolybdophosphoric
$H_3PO_4.12MoO_3.24H_2O$ = 2258
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể mịn, màu vàng cam. Tan trong nước, ethanol và ether.

Dung dịch acid phosphomolybdic 10 % trong ethanol
Hòa tan 10 g *acid phosphomolybdic (TT)* trong *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid phosphomolybdic 5 % trong ethanol
Hòa tan 5 g *acid phosphomolybdic (TT)* trong *ethanol 96 % (TT)* và thêm *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ 100 ml.

Acid phosphoric (Acid phosphoric đậm đặc)
Acid orthophosphoric
H_3PO_4 = 98,00
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng ăn mòn.
Khối lượng riêng: Khoảng 1,75 g/ml.
Hàm lượng H_3PO_4: Không được nhỏ hơn 84 % (kl/kl).

Dung dịch acid phosphoric 25 %
Pha loãng 30 g *acid phosphoric (TT)* với *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid phosphoric 10 %
Pha loãng 12 g *acid phosphoric (TT)* với *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid phosphoric 3 %
Pha loãng 3,5 g *acid phosphoric (TT)* với *nước* vừa đủ 100 ml.

Acid phosphotungstic, dung dịch
Dung dịch acid phosphotungstic
Hòa tan 10 g *natri tungstat (TT)* trong 75 ml *nước* và thêm 8 ml *acid phosphoric (TT)*. Đun hồi lưu trong 3 h, để nguội, lọc và thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Acid picric
2,4,6 - Trinitrophenol
$C_6H_3O_7N_3$ = 229,11
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể hình vảy nhỏ hay lăng trụ, hay bột kết tinh màu vàng nhạt, bóng, không mùi, được làm ẩm đồng lượng với

nước để đảm bảo an toàn, nổ khi đun nóng nhanh hoặc bị va đập.
Bảo quản ẩm với nước.

Dung dịch bão hòa acid picric
Cho dần 100 ml *nước* vào 12,3 g *acid picric (TT)*, lắc liên tục, để yên 24 h, thỉnh thoảng lắc đều.
Bảo quản trong lọ thủy tinh màu nút mài, tránh ánh sáng.

Dung dịch acid picric 1 %
Hòa tan 1 g *acid picric (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid picric
Thêm 0,25 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)* vào 100 ml *dung dịch bão hòa acid picric (TT)*.

Dung dịch natri picrat kiềm
Trộn 20 ml *dung dịch acid picric 1 % (TT)* với 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 5 % (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 100 ml.
Dung dịch chỉ dùng trong vòng 2 ngày.

Acid pteroic
Acid 4-[[(2-amino-4-oxo-1,4-dihydropteridin-6-yl)methyl] amino]benzoic
$C_{14}H_{12}N_6O_3$= 312,3
Tinh thể, tan trong các dung dịch kiềm.

Acid salicylic
$C_7H_6O_3$ = 138,1
Dùng loại tinh khiết phân tích.

Dung dịch acid salicylic 0,024 %
Hòa tan 0,24 g *acid salicylic (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.
Pha trước khi dùng.

Dung dịch acid salicylic 0,01 %
Hòa tan 0,10 g *acid salicylic (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.
Pha trước khi dùng.

Acid selenic
H_2SeO_3 = 129,0
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bảo quản trong bao bì kín.

Acid silicowolframic
Acid silicotungstic
$H_4[Si(W_3O_{10})_4].xH_2O$ = 2878,29 (khan)
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Tinh thể màu trắng hay trắng ngà, dễ chảy nước. Rất dễ tan trong nước và ethanol.

Dung dịch acid silicowolframic 10 %
Hòa tan 10 g *acid silicowolframic (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid silicowolframic 5 % (Thuốc thử Bertrand)
Hòa tan 5 g *acid silicowolframic (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid silicowolframic 0,2 %
Hòa tan 0,2 g *acid silicowolframic (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Acid sulfamic
H_3NO_3S = 97,1
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột kết tinh hay tinh thể màu trắng. Dễ tan trong nước, hơi tan trong aceton, ethanol 96 % và methanol, thực tế không tan trong ether.
Điểm chảy: Khoảng 205 °C kèm phân hủy.

Acid sulfanilic
$C_6H_7NO_3S$ = 173,2
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột màu trắng hay gần như trắng. Rất dễ tan trong các dung dịch amoniac, natri hydroxyd và natri carbonat, tan trong nước nóng, tan rất ít trong nước.

Dung dịch acid sulfanilic 2,5 %
Hòa tan 2,5 g *acid sulfanilic (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid sulfanilic diazo hóa
Hòa tan 0,9 g *acid sulfanilic (TT)* trong 9 ml *acid hydrocloric (TT)* bằng cách đun nóng, pha loãng thành 100 ml với *nước*. Lấy 10 ml dung dịch thu được, làm lạnh trong nước đá và thêm 10 ml *dung dịch natri nitrit 4,5 % (TT)* đã được làm lạnh trước. Để trong nước đá 15 min, trước khi dùng thêm 20 ml *dung dịch natri carbonat 10 % (TT)*.

Dung dịch acid sulfanilic diazo hóa (TT)
Hòa tan bằng cách đun nóng 0,2 g *acid sulfanilic (TT)* trong 20 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 N (TT)*. Làm lạnh trong nước đá, thêm từng giọt 2,2 ml *dung dịch natri nitrit 4 % (TT)*, lắc liên tục. Để yên trong nước đá 10 min, thêm 1 ml *dung dịch acid sulfamic 5 %*.

Acid sulfosalicylic
$C_6H_3(OH)(SO_3H)COOH.2H_2O$ = 254,22
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh hay tinh thể màu trắng. Rất dễ tan trong nước và ethanol, tan trong ether.
Điểm chảy: Khoảng 109 °C.

Dung dịch acid sulfosalicylic
Hòa tan 100 g *acid sulfosalicylic (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.
Bảo quản trong lọ thủy tinh màu, tránh ánh sáng.

Acid sulfuric (Acid sulfuric đậm đặc)
H_2SO_4 = 98,08
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng sánh, ăn mòn mạnh.
Khối lượng riêng: Khoảng 1,84 g/ml.
Hàm lượng H_2SO_4: Khoảng 96 % (kl/kl).

Dung dịch acid sulfuric xM
Cho cẩn thận 54x ml *acid sulfuric (TT)* vào đồng thể tích *nước*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch acid sulfuric 50 %
Cho từ từ 285 ml *acid sulfuric (TT)* vào 500 ml *nước*, lắc liên tục. Làm nguội, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch acid sulfuric 38 %
Cho từ từ 22 ml *acid sulfuric (TT)* vào 60 ml *nước*, lắc liên tục. Làm nguội, thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid sulfuric 20 %
Cho từ từ 11,5 ml *acid sulfuric (TT)* vào 80 ml *nước*, lắc liên tục. Làm nguội, thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid sulfuric 10 % (Acid sulfuric loãng)
Cho từ từ 6 ml *acid sulfuric (TT)* vào 50 ml *nước*, lắc liên tục. Làm nguội, thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch acid sulfuric 5 %
Pha loãng gấp đôi *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* với *nước*.

Dung dịch acid sulfuric 2 %
Pha loãng gấp 5 lần *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* với *nước*.

Dung dịch acid sulfuric 1 %
Pha loãng gấp 10 lần *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* với *nước*.

Dung dịch acid sulfuric trong ethanol
Pha như các dung dịch acid sulfuric khác, nhưng thay *nước* bằng *ethanol 96 % (TT)*.
Nếu không ghi rõ nồng độ, dùng dung dịch sau: Cẩn thận và làm lạnh liên tục, khuấy 20 ml *acid sulfuric (TT)* với 60 ml *ethanol 96 % (TT)*, để lạnh và pha loãng thành 100 ml với *ethanol 96 % (TT)*.
Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Dung dịch acid sulfuric trong methanol
Pha như các dung dịch acid sulfuric khác, nhưng thay *nước* bằng *methanol (TT)*.

Acid sulfuric không có kim loại nặng
Phải đáp ứng các yêu cầu của *acid sulfuric (TT)* và nồng độ tối đa của các kim loại nặng như sau:
As: 0,005 phần triệu, Cd: 0,002 phần triệu, Cu: 0,001 phần triệu, Fe: 0,05 phần triệu, Hg: 0,005 phần triệu, Ni: 0,002 phần triệu, Pb: 0,001 phần triệu, Zn: 0,005 phần triệu.

Acid sulfuric không có nitrogen
H_2SO_4 = 98,08
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Có chứa khoảng 96 % (kl/kl) H_2SO_4. Phải đáp ứng phép thử sau:
Nitrat: Lấy 5 ml *nước*, thêm cẩn thận vào 45 ml chế phẩm thử, để mát đến 40 °C và thêm 8 mg *N,N'-diphenylbenzidin*. Dung dịch có màu hồng nhạt hoặc màu xanh rất nhạt.

Acid tartric
$C_4H_6O_6$ = 150,09
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể không màu hay bột kết tinh màu trắng. Dễ tan trong nước.

Dung dịch acid tartric 20 %
Hòa tan 20 g *acid tartric (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.
Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Acid toluensulfonic
Acid 4-methylbenzensulfonic; Acid toluen-p-sulfonic
$C_7H_8O_3S.H_2O$ = 190,2
Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa ít nhất 87,0 % $C_7H_8O_3S$.
Bột kết tinh hay tinh thể màu trắng. Dễ tan trong nước, tan trong ethanol và ether.

Acid tricloroacetic
$C_2HCl_3O_2$ = 163,4
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể không màu, dễ chảy nước, có mùi hăng cay. Rất dễ tan trong ether và ethanol, tan trong nước.

Dung dịch acid tricloroacetic
Hòa tan 40,0 g *acid tricloroacetic (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 1000,0 ml với cùng dung môi. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CD)* để xác định nồng độ dung dịch. Điều chỉnh nếu cần thiết để thu được dung dịch có nồng độ (4 ± 0,1) %.

Dung dịch acid tricloroacetic 10 % trong methanol
Hòa tan 10 g *acid tricloroacetic (TT)* trong *methanol (TT)* vừa đủ 100 ml.

Acid trifluoroacetic
$C_2HF_3O_2$ = 114,0
Dùng loại phù hợp với trình tự protein có chứa không ít hơn 99 % $C_2HF_3O_2$.
Điểm sôi: Khoảng 72 °C.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,53.
Bảo quản tránh ánh sáng.

Acid tropic
Acid (2RS)-3-hydroxy-2-phenylpropanoic
$C_9H_{10}O_3$ = 166,17

Adrenalon hydroclorid
1-(3,4-Dihydroxyphenyl)-2-(methylamino)ethanon hydroclorid;
3',4'-Dihydroxy-2-(methylamino)acetophenon hydroclorid
$C_9H_{12}ClNO_3$ = 217,7
Dùng loại tinh khiết hóa học.

Alcol amylic
Alcol isoamylic; 3-methylbutan-1-ol
$C_5H_{12}O$ = 88,15
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng không màu.

Điểm sôi: Khoảng 130 °C.
Khối lượng riêng: Khoảng 0,81 g/ml.

Aldehyd dehydrogenase
Enzym thu được từ nấm men bánh mì để xúc tác quá trình oxy hóa acetaldehyd thành acid acetic với sự có mặt của nicotinamid adenin dinucleotid, muối kali và các thiol ở pH 8,0.
Dùng loại tinh khiết hóa học.

Dung dịch aldehyd dehydrogenase
Hòa tan một lượng *aldehyd dehydrogenase (TT)* tương đương với 70 đơn vị trong *nước* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Dung dịch thu được ổn định trong 8 h ở 4 °C.

Alizarin S
Alizarin đỏ S
$C_{14}H_7NaO_7S.H_2O$ = 360,3
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột màu nâu vàng hay vàng cam. Dễ tan trong nước và ethanol 96 %.

Dung dịch alizarin S
Hòa tan 0,1 g *alizarin S (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.
Phải đáp ứng phép thử sau:
Độ nhạy với bari: Thêm 5 ml *nước*, 50 ml *dung dịch đệm acetat pH 3,7 (TT)* và 0,5 ml *dung dịch alizarin S (TT)* vào 5 ml *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (CĐ)*. Thêm từng giọt *dung dịch bari perclorat 0,05 M (CĐ)*. Màu chuyển từ vàng sang đỏ cam.
Khoảng chuyển màu: pH 3,7 (vàng) đến pH 5,2 (tím).

Amaranth S
$C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3$ = 604
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột mịn màu nâu đậm hoặc màu nâu đỏ đậm.
Khi dùng để chuẩn độ iod và iodid bằng kali iodat, màu chuyển từ đỏ cam sang vàng.

Dung dịch amaranth S 0,2 %
Hòa tan 0,2 g *amaranth S (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

2-Aminobutan-1-ol
Aminobutanol
$C_4H_{11}NO$ = 89,14
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Dạng dầu lỏng.
Điểm sôi: Khoảng 180 °C.
Khối lượng riêng ở 20 °C: Khoảng 0,94.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,453.

4-Aminophenol
C_6H_7NO = 109,1
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột kết tinh màu trắng hoặc có màu nhẹ.
Điểm chảy: Khoảng 186 °C, kèm theo phân hủy.
Hàm lượng C_6H_7NO: Không được ít hơn 95 %.
Bảo quản tránh ánh sáng.

3-Aminopropanol
3-Aminopropan-1-ol
C_3H_9NO = 75,1
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chất lỏng sánh, không màu, trong.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,99.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,461.
Điểm chảy: Khoảng 11 °C.

Aminopyrazolon
4-Aminophenazon
$C_{11}H_{13}N_3O$ = 203,3
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột hay tinh thể hình kim màu vàng nhạt.
Điểm chảy: Khoảng 108 °C.

Dung dịch aminophenazon (Dung dịch aminopyrazolon)
Dùng dịch *4-aminophenazon 0,1 %* trong *dung dịch đệm borat pH 9,0*.

Amoni acetat
$CH_3CO_2NH_4$ = 77,08
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể không màu, rất dễ chảy nước. Rất dễ tan trong ether và ethanol, tan trong nước.

Dung dịch amoni acetat
Hòa tan 150 g *amoni acetat (TT)* trong *nước*, thêm 3 ml *acid acetic băng (TT)* và *nước* vừa đủ 1000 ml.
Chỉ dùng trong vòng 1 tuần sau khi pha.

Dung dịch amoni acetat 2 M (dung dịch amoni acetat 15,4 %)
Hòa tan 154 *g amoni acetat (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Amoni carbonat
Amoni carbonat là hỗn hợp các tỷ lệ khác nhau của amoni hydrocarbonat (NH_4HCO_3 = 79,1) và amoni carbamat (NH_2COONH_4 = 78,1).
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột màu trắng trong. Tan trong nước, phân hủy trong nước nóng, không tan trong ethanol và dung dịch amoniac đậm đặc.
Hàm lượng NH_3 giải phóng ra không được ít hơn 30 % (kl/kl).
Bảo quản trong đồ đựng kín, ở nhiệt độ không quá 20 °C.

Dung dịch amoni carbonat 20 %
Hòa tan 20 g *amoni carbonat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch bão hòa amoni carbonat
Hòa tan *amoni carbonat (TT)* trong *nước* đến khi thu được dung dịch bão hòa, lọc.

Dung dịch amoni carbonat loãng
Hòa tan 5 g *amoni carbonat (TT)* trong hỗn hợp 7,5 ml *dung dịch amoniac 5 M (TT)* và 50 ml *nước*, pha loãng thành 100 ml với *nước*, lọc nếu cần.

Amoni ceri (IV) nitrat
Amoni and ceri nitrat, ceri amoni nitrat
$(NH_4)_2[Ce(NO_3)_6]$ = 548,2
Dùng loại tinh khiết phân tích.

Amoni ceri sulfat
Xem Ceri amoni sulfat.

Amoni clorid
NH_4Cl = 53,49
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể trắng, không mùi, vị mát và hơi mặn. Tan trong nước, tan trong ethanol.

Dung dịch amoni clorid 10 %
Hòa tan 10 g *amoni clorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Amoni dihydrophosphat
$(NH_4)H_2PO_4$ = 115,0
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh hay tinh thể màu trắng. Tan trong nước, không tan trong ethanol.

Amoni format
Ethyl nitro
$C_2H_5NO_2$ = 63,1
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Điểm chảy: Khoảng từ 119 °C đến 121 °C.
Bảo quản trong bao bì kín.

Amoni hydrocarbonat
Amoni bicarbonat
NH_4HCO_3 = 79,06
Hàm lượng NH_4HCO_3: Không được ít hơn 99 %.
Dùng loại tinh khiết phân tích.

Amoni molybdat
$(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$ = 1235,86
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể không màu hoặc màu lục vàng. Tan trong nước.

Dung dịch amoni molybdat
Hòa tan 15 g *amoni molybdat (TT)* trong 40 ml *nước*. Rót từ từ dung dịch thu được vào 130 ml *acid nitric loãng (TT)*, khuấy liên tục. Để yên hỗn hợp trong 24 h, sau đó gạn lấy lớp trong.
Dung dịch không được vẩn đục khi đun tới 50 °C.
Trộn 5 ml dung dịch với 2 ml *dung dịch natri hydrophosphat 0,01 %*, đun nhẹ. Tủa vàng phải xuất hiện rõ. Nếu kết tủa ít, phải pha dung dịch amoni molybdat mới.
Bảo quản dung dịch ở chỗ tối. Nếu trong quá trình bảo quản xuất hiện tủa, gạn lấy phần trong.

Dung dịch amoni molybdat 5 % trong acid sulfuric
Hòa tan 0,5 g *amoni molybdat (TT)* trong 10 ml *acid sulfuric (TT)*.
Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Dung dịch amoni molybdat - acid sulfuric
Hòa tan 10 g *amoni molybdat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml. Thêm từ từ dung dịch thu được vào 250 ml *dung dịch acid sulfuric 10 M (TT)* đã được làm lạnh.
Bảo quản trong chai nhựa, tránh ánh sáng.

Dung dịch sulphomolybdic
Hòa tan bằng cách đun nóng 2,5 g *amoni molybdat (TT)* trong 20 ml *nước* (dung dịch 1). Thêm từ từ 28 ml *acid sulfuric (TT)* vào 50 ml *nước* và làm lạnh (dung dịch 2). Trộn dung dịch 1 vào dung dịch 2, thêm *nước* vừa đủ 100 ml.
Bảo quản trong chai lọ polyethylen.

Amoni oxalat
$(COONH_4)_2.H_2O$ = 142,11
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể không màu. Tan trong nước.

Dung dịch amoni oxalat bão hòa
Hòa tan *amoni oxalat (TT)* trong *nước* đến khi thu được dung dịch bão hòa, lọc.

Dung dịch amoni oxalat 5 %
Hòa tan 5 g *amoni oxalat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch amoni oxalat 4 %
Hòa tan 4 g *amoni oxalat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch amoni oxalat 3,5 %
Hòa tan 3,5 g *amoni oxalat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch amoni oxalat 2,5 %
Hòa tan 2,5 g *amoni oxalat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Amoni phosphat
Diamoni hydrophosphat; Diamoni hydrogen orthophosphat
$(NH_4)_2HPO_4$ = 132,1
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột tinh thể hay tinh thể màu trắng. Tan trong nước, không tan trong ethanol.

Amoni persulfat
$(NH_4)_2S_2O_8$ = 228,20
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột tinh thể màu trắng. Dễ tan trong nước.

Dung dịch amoni persulfat 20 %
Hòa tan 20 g *amoni persulfat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch amoni persulfat 10 %
Hòa tan 10 g *amoni persulfat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Amoni pyrolidin dithiocarbamat
Amoni tetramethylen dithiocarbamat
$C_5H_{12}N_2S_2$ = 164,3
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột tinh thể màu trắng đến vàng nhạt. Hơi tan trong nước, rất khó tan trong ethanol.
Bảo quản trong lọ có chứa miếng amoni carbonat để ở trong túi vải mút-xơ-lin.

Dung dịch amoni pyrolidin dithiocarbamat
Hòa tan 1 g *amoni pyrolidin dithiocarbamat (TT)* với *nước* vừa đủ 100 ml. Ngay trước khi dùng, rửa 3 lần, mỗi lần với 25 ml *4-methylpentan-2-on (TT)*.

Amoni sulfamat
$NH_2SO_3NH_4$ = 114,1
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột kết tinh màu trắng hay tinh thể không màu, hút ẩm. Dễ tan trong nước, khó tan trong ethanol.
Điểm chảy: Khoảng 130 °C.

Amoni sulfat
$(NH_4)_2SO_4$ = 132,14
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể không màu hay bột cốm màu trắng. Rất dễ tan trong nước.

Amoni sulfocyanid
Amoni thiocyanat
NH_4SCN = 76,12
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể màu trắng. Rất dễ tan trong nước và ethanol, tan trong methanol và aceton, hầu như không tan trong cloroform và ethyl acetat.

Dung dịch amoni sulfocyanid (Dung dịch amoni sulfocyanid 1 M)
Hòa tan 7,6 *g amoni sulfocyanid (TT)* trong 50 ml *nước* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch amoni cobalthiocyanat
Hòa tan 37,5 g *cobalt (II) nitrat (TT)* và 150 g *amoni thiocyanat (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.
Pha trước khi dùng.

Amoni vanadat
Amoni meta vanadat
NH_4VO_3 = 116,98
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột tinh thể màu trắng đến hơi vàng. Khó tan trong nước, tan trong dung dịch amoniac loãng.

Dung dịch amoni metavanadat (Dung dịch amoni vanadat)
Hòa tan 5 g *amoni vanadat (TT)* trong hỗn hợp gồm 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 5 N (TT)* và 90 ml *nước* bằng cách đun nóng. Để nguội, lọc qua bông thủy tinh nếu cần.

Dung dịch amoni vanadat 1 % trong acid sulfuric
Hòa tan 0,1 g *amoni vanadat (TT)* trong 10 ml *acid sulfuric (TT)*.

Amoniac (Amoniac đậm đặc)
Amoniac 13,5 M
NH_3 = 17,03
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng trong, không màu, mùi mạnh đặc biệt.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,91.
Hàm lượng NH_3: Khoảng 25 % (kl/kl).

Dung dịch amoniac xM
Pha loãng 75x ml *amoniac (TT)* với *nước* thành 1000 ml.

Dung dịch amoniac loãng (Dung dịch amoniac 10 %)
Lấy 440 ml *amoniac (TT)* hòa vào *nước* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch amoniac 5 %
Lấy 500 ml *dung dịch amoniac loãng (TT)* hòa vào *nước* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch amoniac trong methanol
Pha như các dung dịch amoniac khác, nhưng thay *nước* bằng *methanol (TT)*.

Dung dịch amoniac loãng (TT_3)
Pha loãng 0,7 g *amoniac đậm đặc (TT)* thành 100 ml bằng *nước*. Dung dịch thu được không được chứa ít hơn 0,16 % (kl/tt) và không được lớn hơn 0,18 % (kl/tt) NH_3.

Dung dịch kiềm - amoniac
Lấy 5 g *natri hydroxyd (TT)* thêm 2 ml *amoniac đậm đặc (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Amoniac 18 M
NH_3 = 17,03
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng trong, không màu, mùi mạnh đặc biệt.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,88.
Hàm lượng NH_3: Khoảng 35 % (kl/kl).

Anhydrid acetic
$(CH_3CO)_2O$ = 102,09
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng trong, không màu, mùi hắc. Dung dịch trong nước bị thủy phân nhanh và tỏa mùi acid acetic.
Điểm sôi: 136 - 142 °C.
Hàm lượng $(CH_3CO)_2O$: Không được ít hơn 97,0 %.

Anhydrid maleic
Furan-2,5-dion
$C_4H_2O_3$ = 98,06
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Điểm chảy: Khoảng 52 °C.
Cắn không không tan trong toluen: Không quá 5 % (acid maleic).

Anhydrid pentafluoropropionic
$C_6F_{10}O_3$ = 310,0

Anhydrid propionic
$C_6H_{10}O_3$ = 130,1
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng trong, không màu, mùi hăng. Tan trong ethanol và ether.
Khối lượng riêng: Khoảng 1,01 g/ml.
Điểm sôi: Khoảng 167 °C.

Thuốc thử anhydrid propionic
Hòa tan 1 g *acid toluensulfonic (TT)* trong 30 ml *acid acetic băng (TT)*, thêm 5 ml *anhydrid propionic (TT)*, để yên ít nhất 15 min.
Sử dụng trong 24 h.

Anilin
$C_6H_5NH_2$ = 93,13
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng sánh, không màu hay màu vàng nhạt.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,02.
Điểm sôi: Khoảng 183 °C đến 186 °C.
Bảo quản tránh ánh sáng.

Dung dịch anilin 2,5 %
Hòa tan 2,5 g *anilin (TT)* trong 80 ml *nước* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch anilin trong cyclohexan
Hòa tan 0,9 g *anilin (TT)* trong *cyclohexan (TT)* vừa đủ 100 ml.

Anisaldehyd
4-Methoxybenzaldehyd
$C_8H_8O_2$ = 136,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chất lỏng sánh, không màu đến vàng nhạt, có mùi thơm.
Điểm sôi: Khoảng 248 °C.
Khối lượng riêng: Khoảng 1,125 g/ml.

Dung dịch anisaldehyd
Trộn đều theo thứ tự 0,5 ml *anisaldehyd (TT)*, 10 ml *acid acetic băng (TT)*, 85 ml *methanol (TT)* và 5 ml *acid sulfuric (TT)*.

Dung dịch anisaldehyd trong ethanol
Thêm 90 ml *ethanol 96 % (TT)* vào 10 ml *anisaldehyd (TT)*, trộn đều. Thêm 10 ml *acid sulfuric (TT)* và trộn đều.

Dung dịch anisaldehyd trong acid sulfuric
Trộn 10 ml *acid sulfuric (TT)* vào 5 ml *anisaldehyd (TT)*.

Antimony triclorid
Stibi triclorid
$SbCl_3$ = 228,1
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể hay vảy không màu, bốc khói trong không khí ẩm. Tan trong ethanol, aceton, ether và benzen.

Dung dịch antimony triclorid
Rửa nhanh 30 g *antimony triclorid (TT)* 2 lần, mỗi lần với 15 ml *cloroform không có ethanol (TT)*. Hòa tan ngay các tinh thể đã rửa trong 100 ml *cloroform không có ethanol (TT)* bằng cách làm nóng nhẹ.
Bảo quản với vài gam natri sulfat khan.

Thuốc thử antimony triclorid
Chuẩn bị 2 dung dịch gốc bằng cách sau:
Dung dịch A: Hòa tan 110 g *antimony triclorid (TT)* trong 400 ml *ethylen clorid (TT)*, thêm 2 g *nhôm oxyd khan (TT)*, trộn đều, lọc qua phễu xốp vào bình định mức 500 ml, pha loãng thành 500 ml với *ethylen clorid (TT)*. Độ hấp thụ của dung dịch thu được (Phụ lục 4.1), đo trong cốc dày 2 cm, không được lớn hơn 0,07, dùng *ethylen clorid (TT)* làm mẫu trắng.
Dung dịch B: Trộn 100 ml *acetyl clorid (TT)* đã cất lại, không màu với 400 ml *ethylen clorid (TT)* và bảo quản ở chỗ lạnh.
Trộn đều 90 ml dung dịch A với 10 ml dung dịch B. Bảo quản trong chai thủy tinh màu nút mài. Dùng trong vòng 7 ngày. Nếu thuốc thử có màu thì không dùng.

Arginin
L-Arginin
$C_6H_{14}N_4O_2$ = 174,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Điểm chảy: Khoảng 235 °C, kèm phân hủy.

Arsen trioxyd
As_2O_3 = 197,84
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh màu trắng. Khó tan trong nước, tan trong nước sôi.

Dung dịch natri arsenit 0,1 M
Hòa tan 4,946 g *arsen trioxyd (TT)* trong hỗn hợp gồm 20 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)* và 20 ml *nước*, pha loãng thành 400 ml với *nước*, thêm *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* đến khi trung tính với giấy quỳ. Hòa tan 2 g *natri hydrocarbonat (TT)* trong dung dịch này và thêm *nước* vừa đủ 500 ml.

Barbiton
Barbital; acid 5,5-diethylbarbituric
$C_8H_{12}N_2O_3$ = 184,2
Điểm chảy: Khoảng 190 °C.

Barbiton natri
Barbital natri; natri 5,5-diethylbarbiturat
$C_8H_{11}N_2NaO_3$ = 206,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bari clorid
$BaCl_2.2H_2O$ = 244,28
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể không màu. Dễ tan trong nước.

Dung dịch bari clorid 5 %
Hòa tan 5 g *bari clorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch bari clorid 0,5 M
Hòa tan 12,2 g *bari clorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch bari clorid 0,25 M (6,1 %)
Hòa tan 6,1 g *bari clorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Bari hydroxyd
$Ba(OH)_2.8H_2O$ = 315,5

Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể không màu. Tan trong nước.

Dung dịch bari hydroxyd
Hòa tan 4,73 g *bari hydroxyd (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Bạc nitrat
$AgNO_3$ = 169,87
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể không màu hay màu trắng, chuyển thành màu xám đen khi để ngoài ánh sáng.

Dung dịch bạc nitrat 5 %
Hòa tan 5 g *bạc nitrat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.
Bảo quản trong lọ thủy tinh màu, có nút mài.

Dung dịch bạc nitrat 4,25 %
Hòa tan 4,25 g *bạc nitrat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.
Bảo quản trong chai lọ thủy tinh màu, có nút mài.

Dung dịch bạc nitrat 4 %
Hòa tan 4 g *bạc nitrat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.
Bảo quản trong lọ thủy tinh màu, có nút mài.

Dung dịch bạc nitrat 2 %
Hòa tan 2 g *bạc nitrat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.
Bảo quản trong lọ thủy tinh màu, có nút mài.

Bạc oxyd
Ag_2O = 231,7
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột màu đen nâu. Hầu như không tan trong nước và ethanol, dễ tan trong acid nitric loãng và amoniac.
Bảo quản tránh ánh sáng.

Benzen
C_6H_6 = 78,11
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng không màu, dễ bắt lửa.
Điểm sôi: Khoảng 80 °C.

Benzil
Diphenylethandion
$C_{14}H_{10}O_2$= 210,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Điểm chảy: 95 °C.

Benzophenon
$C_{13}H_{10}O$ = 182,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Điểm chảy: Khoảng 48 °C.

1,4-Benzoquinon
Cyclohexa-2,5-dien-1,4-dion
$C_6H_4O_2$ = 108,1
Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa không ít hơn 98,0 % $C_6H_4O_2$.
Bột kết tinh vàng, có mùi đặc trưng. Ít tan trong nước, tan trong ethanol và ether.

Benzoyl clorid
C_7H_5ClO = 140,6
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng không màu, gây chảy nước mắt, bốc khói trong không khí ẩm.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,21.
Điểm sôi: Khoảng 197 °C.

Bismuth nitrat pentahydrat
$Bi(NO_3)_3.5H_2O$ = 485,1
Điểm chảy: Khoảng 30 °C.

Bismuth nitrat base
Bismuth oxynitrat; Bismuth subnitrat
$4[BiNO_3(OH_2).BiO(OH)]$ = 1462
Muối base chứa khoảng 80 % Bi_2O_3.
Bột màu trắng, nặng, hơi hút ẩm. Tan trong acid hydrocloric, acid nitric, acid sulfuric loãng và acid acetic, hầu như không tan trong nước và ethanol.

Borneol
D-borneol, endo-1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]heptan-2-ol
$C_{10}H_{18}O$ = 154,3
Tinh thể không màu, dễ thăng hoa, thực tế không tan trong nước, dễ tan trong ethanol 96 % và ether dầu hỏa có nhiệt độ sôi từ 50 °C đến 70 °C.
Điểm chảy: Khoảng 208 °C.
Phải đạt yêu cầu sau:
Tính đồng nhất: Tiến hành phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4). Bản mỏng *silica gel G (TT)*, pha động *cloroform (TT)*. Chấm lên bản mỏng 10 µl dung dịch chế phẩm 0,1 % trong *toluen (TT)*. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 10 cm, để khô bản mỏng ngoài không khí và phun *dung dịch anisaldehyd (TT)* (dùng 10 ml dung dịch cho bản mỏng 200 mm × 200 mm) và sấy khô ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C trong 10 min. Sắc ký đồ chỉ được có duy nhất một vết chính.

Boron triclorid
BCl_3 = 117,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Khí không màu, phản ứng rất mạnh với nước. Tồn tại ở dạng dung dịch trong các dung môi thích hợp (2-cloroethanol, diclorometan, hexan, heptan, methanol).
Điểm sôi: Khoảng 12,6 °C.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,420.

Dung dịch boron triclorid trong methanol
Dung dịch 12 % *boron triclorid (TT)* trong *methanol (TT)*.
Bảo quản tránh ánh sáng ở -20 °C, nắp kín.

Boron trifluorid
BF_3 = 67,8
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Khí không màu.

Dung dịch boron trifluorid (Dung dịch boron trifluorid trong methanol)
Dung dịch chứa khoảng 14 % BF_3 trong *methanol (TT)*.

Brom
Br_2 = 159,8
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng nặng, bốc khói, màu đỏ nâu, ăn da mạnh.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 3,1.

Nước brom (Dung dịch bão hòa brom)
Điều chế bằng cách thỉnh thoảng lắc 3 ml *brom (TT)* với 100 ml *nước* trong 24 h, rồi để yên cho tách lớp.
Bảo quản trong lọ thủy tinh màu nút mài, tránh ánh sáng và ở trên một lượng dư *brom (TT)*.

Dung dịch brom
Hòa tan 30 g *brom (TT)* và 30 g *kali bromid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch brom trong acid acetic
Hòa tan 100 g *kali acetat (TT)* trong *acid acetic băng (TT)*, thêm 4 ml *brom (TT)* và *acid acetic băng (TT)* vừa đủ 1000 ml.

Bromelain
Cô đặc các enzym thủy phân protein được lấy từ *Ananas comosus* Merr.
Bột màu vàng xám.
Phải đáp ứng phép thử sau:
Hoạt tính: 1 g chế phẩm làm giải phóng khoảng 1,2 g amino nitrogen từ một dung dịch gelatin chuẩn trong 20 min, ở nhiệt độ 45 °C và pH 4,5.

Butan-2-on
Methyl ethyl keton; Ethyl methyl keton
C_4H_8O = 72,11
Dùng loại tinh khiết sắc ký.
Chất lỏng không màu, dễ bắt lửa, có mùi đặc trưng.
Điểm sôi: Khoảng 79 °C.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,81.

Butanol
n-Butanol, Butan-1-ol
$CH_3(CH_2)_2CH_2OH$ = 74,12
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng trong, không màu.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,81.
Điểm sôi: 116 °C đến 119 °C.

***tert*-Butanol**
Cồn tert-butyl; 2-Methyl-2-propanol; 2-Methyl-propan- 2-ol
$C_4H_{10}O$ = 74,1
Sử dụng loại tinh khiết phân tích.
Chất rắn hay chất lỏng sánh không màu, mùi đặc trưng.
Hòa trộn với ethanol và ether.
Điểm đông đặc: Khoảng 25 °C.
Điểm sôi: Khoảng 82 °C.
Khối lượng riêng ở 26 °C: Khoảng 0,78 g/ml.

Butyl acetat
$C_6H_{12}O_2$ = 116,2
Chất lỏng không màu, trong, dễ cháy, khó tan trong nước, có thể trộn lẫn với ethanol 96 %.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,88.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,395.
Phần chưng cất được trong khoảng 123 °C đến 126 °C không được ít hơn 95 %.

Butylamin
n-Butylamin
$C_4H_{11}N$ = 73,1
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chất lỏng không màu, có mùi amoniac.
Điểm sôi: Khoảng 78 °C.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,401.
Cất và dùng trong vòng 1 tháng.

Butyl hydroxytoluen
BHT; 2,6-Di-tert-butyl-p-cresol
$C_{15}H_{24}O$ = 220,4
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột kết tinh màu trắng hay tinh thể không màu.
Điểm chảy: Khoảng 70 °C.

Calcein
Bột dạng hạt màu trắng hoặc vàng nhạt, không mùi.
Không tan trong nước hoặc các dung môi tự nhiên khác; dễ tan trong dung dịch hydroxyd kiềm.

Hỗn hợp chỉ thị màu calcein
Trộn đều 0,1 g *calcein (TT)* và 10 g *kali clorid (TT)* bằng cách nghiền.

Calci carbonat
$CaCO_3$ = 100,09
Dùng loại tinh khiết phân tích.

Calci clorid
$CaCl_2.2H_2O$ = 147,0
Dùng loại tinh khiết phân tích.

Dung dịch calci clorid 10 %
Hòa tan 10 g *calci clorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch calci clorid
Hòa tan 7,35 g *calci clorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Calci clorid khan
$CaCl_2$ = 110,99
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Cốm trắng, dễ chảy nước. Rất dễ tan trong nước và ethanol.
Hàm lượng $CaCl_2$ không được ít hơn 98,0 %, tính theo chế phẩm đã sấy khô.
Mất khối lượng do làm khô: Không được quá 5,0 %, khi làm khô đến khối lượng không đổi ở 200 °C.

Calci clorid tetrahydrat
$CaCl_2.4H_2O$ = 183,1
Dùng loại tinh khiết hóa học, chứa không quá 0,05 phần triệu Fe.

Calci hydroxyd
$Ca(OH)_2$ = 74,09
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột màu trắng, tan gần như hoàn toàn trong 600 phần nước.

Dung dịch bão hòa calci hydroxyd
Lắc kỹ 10 g *calci hydroxyd (TT)* với 1000 ml *nước* và để yên đến khi dung dịch trong.

Calci lactat
Calci lactat pentahydrat
$C_6H_{10}CaO_6.5H_2O$ = 218,2
Dùng loại tinh khiết phân tích.

Calci sulfat
$CaSO_4.1/2H_2O$ = 145,15
Bột màu trắng, khi trộn 1 phần với 1/2 phần nước, bột bị rắn lại thành khối cứng và xốp.

Dung dịch calci sulfat
Lắc 5 g *calci sulfat (TT)* với 100 ml *nước* trong 1 h và lọc.

Carbomer
Polymer liên kết ngang của acid acrylic, chứa 56 % đến 68 % nhóm acid carboxylic (COOH) sau khi sấy ở 80 °C trong 1 h.
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Khối lượng phân tử tương đối trung bình khoảng 3×10^6.

Carbon disulfid
CS_2 = 76,14
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng không màu, dễ bay hơi, dễ bắt lửa, mùi khó chịu.
Khối lượng riêng: Khoảng 1,26 g/ml.
Điểm sôi: Khoảng 46 °C.

Carbon tetraclorid
Tetrachloromethan
CCl_4 = 153,82
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng không màu, có mùi đặc trưng.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,59.
Điểm sôi: Từ 76 °C đến 77 °C.

Carbophenothion
O,O-Diethyl S-{[(4-clorophenyl)thio]methyl}phosphorodithioat
$C_{11}H_{16}ClO_2PS_3$ – 342,9
Dùng loại tinh khiết thích hợp cho phân tích dư lượng thuốc trừ sâu. Có thể sử dụng loại nguyên liệu đối chiếu (10 ng/µl trong isooctan).
Tỷ trọng ở 25 °C: Khoảng 1,27.

Celulose dùng cho sắc ký
Bột trắng mịn, đồng nhất, kích thước hạt trung bình nhỏ hơn 30 µm.
Chuẩn bị bản mỏng: Trộn 15 g chế phẩm với 100 ml *nước* và khuấy đều trong 60 s. Tráng lớp dày 0,1 mm lên bản sạch và để khô ngoài không khí.

Ceri amoni nitrat
Xem Amoni ceri (IV) nitrat

Ceri amoni sulfat
$Ce(SO_4)_2.2(NH_4)_2SO_4.2H_2O$ = 632,6
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột kết tinh hay tinh thể màu vàng cam. Tan chậm trong nước, tan nhanh hơn khi có mặt acid vô cơ.

Ceri nitrat
$Ce(NO_3)_3.6H_2O$ = 434,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Tinh thể không màu hoặc màu vàng nhạt. Tan trong nước, ethanol và aceton.

Ceri sulfat
$Ce(SO_4)_2.4H_2O$ = 404,3
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Tinh thể hoặc bột kết tinh màu vàng hay vàng cam. Rất ít tan trong nước lạnh, tan chậm trong các dung dịch acid vô cơ loãng lạnh, tan nhanh hơn trong các dung môi này khi đun nóng.

Dung dịch ceri sulfat 1 % trong acid sulfuric 10 %
Hòa tan 10 g *ceri sulfat (TT)* trong 850 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* bằng cách đun nóng nhẹ. Để nguội, thêm *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)* cho vừa đủ 1000 ml.

Cetrimid
$C_{17}H_{38}BrN$ = 336,4
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột trắng hoặc gần như trắng, dễ trơn chảy. Dễ tan trong nước và ethanol 96 %.
Hàm lượng $C_{17}H_{38}BrN$: Không được ít hơn 96,0 %, tính theo chế phẩm đã làm khô.

Chì acetat
$Pb(CH_3COO)_2.3H_2O$ = 379,35
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh hay tinh thể màu trắng. Dễ tan trong nước, tan trong ethanol.

Bông tẩm chì acetat
Ngâm bông hút nước trong hỗn hợp 10 thể tích *dung dịch chì acetat 9,5 % (TT)* và 1 thể tích *dung dịch acid acetic 2 M (TT)*. Loại bỏ dung dịch thừa bằng cách thấm bằng giấy lọc nhưng không làm khô kiệt khối bông. Để khô bông ở nhiệt độ phòng. Bảo quản trong bao bì kín.

Giấy tẩm chì acetat
Nhúng giấy lọc vào hỗn hợp gồm 10 thể tích *dung dịch chì acetat 9,5 % (TT)* và 1 thể tích *acid acetic 2 M (TT)*, để ráo rồi hong khô, tránh ánh sáng. Cắt thành từng băng dài khoảng 5 cm, rộng 6 mm.
Bảo quản trong lọ thủy tinh nút mài, tránh ánh sáng, tránh acid hay kiềm.

Dung dịch chì acetat 20 %
Hòa tan 20 g *chì acetat (TT)* trong *nước*, thêm *acid acetic (TT)* tới khi được dung dịch trong, thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch chì acetat 9,5 %
Hòa tan 9,5 g *chì acetat (TT)* trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* vừa đủ 100 ml.

Chì nitrat
$Pb(NO_3)_2$ = 331,2
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh màu trắng hay tinh thể không màu. Dễ tan trong nước.

Dung dịch chì nitrat
Hòa tan 3,3 g *chì nitrat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Chromotrop II B
Chromotrop 2B
$C_{16}H_9N_2Na_2O_{10}S_2$ = 513,4
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột màu nâu đỏ.

Dung dịch chromotrop II B
Hòa tan 0,005 g *chromotrop II B (TT)* trong 100 ml *acid sulfuric (TT)*.

Clor
Cl_2 = 70,91

Nước clor (Dung dịch bão hòa clor)
Điều chế bằng cách cho luồng khí clor chạy qua nước đến bão hòa.
Đóng đầy trong chai lọ thủy tinh màu nút mài, để chỗ mát, tránh ánh sáng.
Dung dịch không bảo quản được lâu.

Cloral hydrat
$C_2H_3Cl_3O_2$ = 165,40
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Tinh thể không màu, mùi đặc biệt, dễ hút ẩm.
Điểm chảy: Khoảng 55 °C.

Dung dịch cloral hydrat
Hòa tan 50 g *cloral hydrat (TT)* trong hỗn hợp gồm 15 ml *nước* và 10 ml *glycerin (TT)*.

Cloramin B
Muối natri của N-clorobenzen sulfonamid
$C_6H_5ClNNaO_2S$ = 213,6
Dùng loại tinh khiết hóa học.

Cloramin T
Muối natri của N-clorotoluen-p-sulfonamid
$C_7H_7ClNNaO_2S.3H_2O$ = 281,7
Dùng loại tinh khiết hóa học.

Dung dịch cloramin T 2 %
Hòa tan 2 g *cloramin T (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.
Pha trước khi dùng.

Dung dịch cloramin T 0,02 %
Hòa tan 0,02 g *cloramin T (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.
Pha trước khi dùng.

4'-Cloroacetanilid
Cloroacetanilid
C_8H_8ClNO = 169,6
Hàm lượng C_8H_8ClNO: Không được ít hơn 95 %.
Bột kết tinh. Thực tế không tan trong nước, tan trong ethanol 96 %.
Điểm chảy: Khoảng 178 °C.

1-Clorobutan
Butyl clorid
C_4H_9Cl = 92,6
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chất lỏng trong, không màu, dễ bay hơi.
Điểm sôi: Khoảng 78 °C.
Khối lượng riêng: Khoảng 0,886 g/ml.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,402.

1-Cloro-2,4-dinitrobenzen
$C_6H_3ClN_2O_4$ = 202,6
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh hay tinh thể màu vàng nhạt.
Điểm chảy: Khoảng 51 °C.

2-Cloro-4-nitroanilin
$C_6H_5ClN_2O_2$ = 172,6
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh màu vàng đến nâu.
Điểm chảy: Khoảng 107 °C.
Bảo quản tránh ánh sáng.

2-Cloro-*N*-(2,6-dimethylphenyl)acetamid
$C_{10}H_{12}ClNO$ = 197,7

Cloroform
Tricloromethan
$CHCl_3$ = 119,38
Dùng loại tinh khiết phân tích chứa 0,4 % đến 1,0 % (kl/kl) ethanol.
Chất lỏng trong, không màu, mùi đặc biệt.
Điểm sôi: Khoảng 60 °C.
Tỷ trọng ở 20 °C: 1,475 đến 1,481.

Cloroform không có ethanol
Rửa *cloroform (TT)* với *nước* nhiều lần, làm khan bằng *natri sulfat khan (TT)*, rồi cất lại.
Xác định khối lượng riêng (Phụ lục 6.5), không được thấp hơn 1,49 g/ml.
Cloroform không có ethanol chỉ điều chế trước khi dùng.

Cloroform khan
Cho 100 g *calci clorid khan (TT)* vào 1000 ml *cloroform (TT)*, lắc mạnh, để yên 24 h. Gạn chất lỏng vào bình khô có nút mài.

Cloroform dùng cho phổ hồng ngoại
Dùng loại tinh khiết quang phổ.

Cloroform được ổn định với amylen
Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa không ít hơn 99,8 % $CHCl_3$ được xác định bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2) và phải đáp ứng các yêu cầu sau:
Nước: Không quá 0,05 %.
Cặn sau khi bay hơi: Không quá 0,001 %.
Độ truyền quang: Không ít hơn 50 % ở 255 nm, 80 % ở 260 nm và 98 % ở 300 nm, dùng nước làm mẫu trắng.

Cobalt acetat
$(CH_3CO_2)_2Co.4H_2O$ = 249,1
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Tinh thể màu đỏ tím. Tan trong nước, ethanol và acid loãng.

Dung dịch cobalt acetat 0,2 % trong methanol
Hòa tan 0,2 g *cobalt acetat (TT)* trong *methanol (TT)* vừa đủ 100 ml.

Cobalt clorid
$CoCl_2.6H_2O$ = 237,93
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh màu đỏ hay tinh thể đỏ đậm. Rất dễ tan trong nước, tan trong ethanol.

Dung dịch cobalt clorid 2 %
Hòa tan 2 g *cobalt clorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch cobalt clorid 1 % trong methanol
Hòa tan 1 g *cobalt clorid (TT)* trong *methanol (TT)* vừa đủ 100 ml.

Cobalt nitrat
$Co(NO_3)_2.6H_2O$ = 291,04
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể nhỏ màu đỏ ngọc. Rất dễ tan trong nước.

Dung dịch cobalt nitrat
Hòa tan 5 g *cobalt nitrat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch cobalt nitrat 10 %
Hòa tan 10 g *cobalt nitrat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Copolymer styren – divinylbenzen
Dùng loại tinh khiết sắc ký khí.
Các hạt polymer liên kết ngang, cứng, xốp. Có nhiều loại với kích thước hạt khác nhau.

Cresol
o-Cresol
C_7H_8O = 108,1
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Khối rắn tinh thể không màu hay có màu rất nhạt, hoặc chất lỏng chậm đông, có mùi phenol - hắc ín.
Điểm đông đặc: Không dưới 30,5 °C.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,05.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: 1,540 đến 1,550.
Điểm sôi: Khoảng 190 °C.
Bảo quản tránh ánh sáng, ẩm và oxygen. Cất lại trước khi dùng.

Crom (VI) oxyd
Crom trioxyd
CrO_3 = 100,0
Hình kim hay mảnh vụn hoặc chảy rữa, màu đỏ hơi nâu.
Rất tan trong nước.
Bảo quản trong lọ thủy tinh kín.

Curcumin
$C_{21}H_{20}O_6$ = 368,4
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột kết tinh màu nâu vàng. Tan trong acid acetic băng, thực tế không tan trong nước và ether.
Điểm chảy: Khoảng 183 °C.

Cyanogen bromid (Dung dịch)
Thêm từng giọt *dung dịch amoni thiocyanat 0,1 M (TT)* vào *nước brom (TT)* trong điều kiện làm lạnh cho tới khi mất màu.
Pha ngay trước khi dùng.

Cyclohexan
C_6H_{12} = 84,16
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng không màu.
Điểm sôi: Khoảng 81 °C.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,78.

Cyclohexan dùng cho phương pháp quang phổ
Độ truyền quang: Không được nhỏ hơn 45 % ở 220 nm; 70 % ở 235 nm; 90 % ở 240 nm và 98 % ở 250 nm, dùng nước làm mẫu trắng.

Cyclohexan (TT_1)
Sử dụng loại *cyclohexan dùng cho phương pháp quang phổ (TT)* và đáp ứng phép thử sau:
Huỳnh quang: Dưới bức xạ ở bước sóng 365 nm, huỳnh quang đo được ở bước sóng 460 nm, trong cốc đo dày 1 cm, không được lớn hơn huỳnh quang của dung dịch chứa 0,002 µg quinin trong 1 ml *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (TT)*.

L-Cystein
$C_3H_7NO_2S$ = 121,2
Bột dễ tan trong nước, trong ethanol 96 % và trong acid acetic; thực tế không tan trong aceton.

Cytosin
$C_4H_5N_3O$ = 111,1
Hàm lượng không được dưới 95,0 %.

Dibenzosuberon
Dibenzo[a,d]cyclohepta-1,4-dien-3-on; 10,11-dihydro-5H-dibenzo[a,d]cyclohepten-5-on
$C_{15}H_{12}O$ = 208,3

Dùng loại tinh khiết hóa học.
Điểm cháy: Khoảng 34 °C.

Dibutylamin
Di-n-butylamin,N-Butylbutan-1-amin.
$C_8H_{19}N$ = 129,3
Chất lỏng không màu.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C (n_D^{20}): Khoảng 1,417; điểm sôi khoảng 159°.

Dibutylamoni phosphat dùng tạo cặp ion
Dung dịch không màu chứa 10 % đến 15 % (tt/tt) *di-n-butylamin (TT)* và 12 % đến 17 % (tt/tt) *acid phosphoric (TT)* trong *nước*, dùng tạo cặp ion trong sắc ký lỏng.

Dibutyl ether
$C_8H_{18}O$ =130,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chất lỏng không màu, dễ bắt lửa.
Điểm sôi: Khoảng 140 °C.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,77.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,399.
Chú ý: Cẩn thận khi cất hoặc làm bay hơi dibutyl ether, vì có thể giải phóng peroxyd.

Di-n-butylamin
N-butylbutan-1-amin, dibutylamin
$C_8H_{19}N$ = 129,3
Chất lỏng không màu.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,417.
Điểm sôi: Khoảng 159 °C.

Dibutyl phtalat
Di-n-butyl phtalat
$C_{16}H_{22}O_4$ = 278,3
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chất lỏng không màu hay có màu rất nhạt.
Tỷ trọng ở 20 °C: 1,043 đến 1,048.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: 1,490 đến 1,495.

Dịch dạ dày giả
Hòa tan 2,0 g *natri clorid (TT)* và 3,2 g *pepsin (TT)* trong *nước*, thêm 80 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

2,6-Diclorophenol-indophenol natri
$C_{12}H_6Cl_2NNaO_2$ = 290,08.
Là muối natri của 2,6-dicloro-N-(4-hydroxyphenyl)-1,4-benzoquinon monoimin.
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột màu lục thẫm. Dung dịch nước có màu lam đậm, chuyển sang màu hồng khi acid hóa.

Dung dịch 2,6-diclorophenol-indophenol
Hòa tan 0,1 g *2,6-diclorophenol-indophenol natri (TT)* với 100 ml *nước* ấm và lọc.
Dung dịch chỉ dùng trong vòng 3 ngày.

2,6-Dicloroquinon clorimid
$C_6H_2Cl_3NO$ = 210,45
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột kết tinh màu vàng hay da cam. Không tan trong nước, tan trong ethanol và các dung dịch kiềm loãng.
Điểm chảy: Khoảng 66 °C.

Dung dịch 2,6-dicloroquinon clorimid
Hòa tan 0,02 g *2,6-dicloroquinon clorimid (TT)* trong 50 ml *n-butanol (TT)* hay *alcol isopropylic (TT)*.
Bảo quản trong lọ thủy tinh màu, ở chỗ mát.
Không dùng dung dịch khi đã có màu hồng.

2,5- Diethoxytetrahydrofuran
$C_8H_{16}O_3$ = 160,2
Dùng loại tinh khiết hóa học, chứa hỗn hợp đồng phân cis và trans.
Chất lỏng không màu hay vàng nhạt.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,98.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,418.

Diethylamin
$(C_2H_5)_2NH$ = 73,14
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng không màu, dễ bay hơi.
Điểm sôi: Khoảng 55 °C.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,71.

N,N-Diethylanilin
$C_{10}H_{15}N$ = 149,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chất lỏng màu vàng nhạt, có mùi amoniac.
Điểm sôi: Khoảng 217 °C.
Khối lượng riêng: Khoảng 0,93 g/ml.

1,3-Dihydroxynaphthalen
Naphthalen-1,3-diol; Naphthoresorcin
$C_{10}H_8O_2$ = 160,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột kết tinh màu tím nâu. Dễ tan trong nước và ethanol.
Điểm chảy: Khoảng 125 °C.

2,7-Dihydroxynaphthalen
Naphthalen-2,7-diol
$C_{10}H_8O_2$ = 160,2
Tinh thể hình kim, tan trong nước và trong ethanol 96 %.
Điểm chảy: Khoảng 190 °C.

Dung dịch 2,7-dihydroxynaphthalen
Hòa tan 10 mg *2,7-dihydroxynaphthalen (TT)* trong 100 ml *acid sulfuric (TT)*, để yên cho mất màu (dùng trong vòng 2 ngày sau khi pha).

Di-isopropyl ether
Isopropyl ether
$C_6H_{14}O$ = 102,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.

Chất lỏng không màu, có mùi đặc trưng.
Điểm sôi: Từ 67 °C đến 69 °C.
Tỷ trọng ở 20 °C: Từ 0,723 đến 0,728.
Chú ý: Chỉ cất di-isopropyl ether khi đạt phép thử nghiệm sau: Peroxyd: Cho 8 ml *dung dịch hồ tinh bột có kali iodid (TT)* vào ống nghiệm nút mài dung tích 12 ml, đường kính khoảng 1,5 cm, đổ đầy ống nghiệm với di-isopropyl ether cần thử. Đậy nút, lắc mạnh và để yên tránh ánh sáng trong 30 min. Không được có màu tạo thành.
Bảo quản tránh ánh sáng. Trên nhãn phải ghi tên và nồng độ chất bảo quản đưa vào.

Dikali hydrophosphat
K_2HPO_4 = 174,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột kết tinh trắng, dễ hút ẩm. Rất dễ tan trong nước, ít tan trong ethanol.

Dimethylacetamid
C_4H_9NO = 87,12
Dùng loại tinh khiết hóa học, chứa không ít hơn 99,5 % C_4H_9NO.
Chất lỏng không màu.
Điểm sôi: Khoảng 165 °C.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,94.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,437.

p-Dimethylaminobenzaldehyd
4-Dimethylaminobenzaldehyd
$(CH_3)_2NC_6H_4CHO$ = 149,19
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh màu trắng hay vàng nhạt. Tan trong ethanol, aceton, cloroform, ether và acid acetic, tan ít trong nước.
Điểm chảy: Khoảng 74 °C.

Dung dịch p-dimethylaminobenzaldehyd 2 % trong ethanol.
Hòa tan 2 g *p-dimethylaminobenzaldehyd (TT)* trong *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch p-dimethylaminobenzaldehyd (TT_1)
Hòa tan 0,2 g *p-dimethylaminobenzaldehyd (TT)* trong 20 ml *ethanol 96 % (TT)*, thêm 0,5 ml *acid hydrocloric (TT)*. Lắc dung dịch với *than hoạt (TT)*, lọc. Dung dịch không được đậm hơn màu của dung dịch iod pha như sau: Lấy 10 ml *dung dịch iod 0,1 N (CD)*, thêm 0,6 g *kali iodid (TT)* và *nước* vừa đủ 100 ml. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được với *nước* thành 100 ml.
Pha ngay trước khi dùng.

Dung dịch p-dimethylaminobenzaldehyd (TT_2)
Hòa tan 0,2 g *p-dimethylaminobenzaldehyd (TT)* trong hỗn hợp gồm 4,5 ml *nước* và 5,5 ml *acid hydrocloric (TT)*.
Pha ngay trước khi dùng.

Dung dịch p-dimethylaminobenzaldehyd (TT_3)
Hòa tan 0,125 g *p-dimethylaminobenzaldehyd (TT)* trong hỗn hợp gồm 35 ml *nước* và 65 ml *acid sulfuric (TT)* đã được làm nguội, thêm 0,1 ml dung dịch *sắt (III) clorid (TT)* 5 % và lắc đều. Để yên 24 h trước khi dùng, tránh ánh sáng. Khi bảo quản dung dịch ở nhiệt độ phòng dùng được trong vòng 7 ngày, khi bảo quản trong tủ lạnh dùng được trong vài tháng.

4-Dimethylaminocinnamaldehyd
$C_{11}H_{13}NO$ = 175,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột hay tinh thể màu cam tới nâu cam.
Điểm chảy: Khoảng 138 °C.

Dung dịch 4-dimethylaminocinnamaldehyd
Hòa tan 2,0 g *4-dimethylaminocinnamadehyd (TT)* trong hỗn hợp gồm 100 ml *dung dịch acid hydrocloric 7 N (TT)* và 100 ml *ethanol (TT)*.
Bảo quản chỗ mát. Pha loãng gấp bốn với *ethanol (TT)* ngay trước khi dùng.

Dimethylanilin
N,N-dimethylanilin
$C_8H_{11}N$ = 121,2
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng không màu, chuyển màu trong quá trình bảo quản. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong cồn và trong ether.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,568.
Không ít hơn 95 % chưng cất được ở 192 °C đến 194 °C.

2,6-Dimethylanilin
2,6-Xylidin
$C_8H_{11}N$ = 121,2
Chất lỏng không màu, hơi tan trong nước, tan trong ethanol 96 %.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,98.

Dimethyl carbonat
$C_3H_6O_3$ = 90,1
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chất lỏng không màu, không mùi hoặc hơi có mùi khó chịu.
Điểm sôi: Khoảng 90 °C.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,368.
Tỉ trọng ở 17 °C: Khoảng 1,065.

Dimethyldecylamin
$C_{12}H_{27}N$ = 185,4
Dùng loại tinh khiết hóa học, chứa không ít hơn 98,0 % (kl/kl) $C_{12}H_{27}N$.
Điểm sôi: Khoảng 234 °C.

1,1-Dimethylethyl methyl ether
Tert-butyl methyl ether
$C_5H_{12}O$ = 88,1
Chất lỏng không màu, trong và dễ cháy.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,376.
Độ truyền quang: Không được quá 50 % ở bước sóng 240 nm, 80 % ở bước sóng 255 nm, 98 % ở bước sóng 280 nm, dùng *nước* làm mẫu trắng.

Dimethylformamid
$HCON(CH_3)_2$ = 73,10
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng không màu, mùi đặc biệt, hòa lẫn với nước và ethanol.
Điểm sôi: Khoảng 153 °C.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,95.
Nước: Không được quá 0,1 % (Phụ lục 10.3).

1,3-Dimethyl-imidazolidinon
DMI
$C_5H_{10}N_2O$ = 114,2.
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,472.
Điểm sôi: Khoảng 224 °C.

***N,N*-Dimethyloctylamin**
Octyldimethylamin
$C_{10}H_{23}N$ = 157,3
Chất lỏng không màu.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,765.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,424.
Điểm sôi: Khoảng 195 °C.

Dimethyl sulfoxid
C_2H_6OS = 78,1
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng không màu, không mùi hoặc hơi có mùi khó chịu.
Điểm sôi: Khoảng 189 °C.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,479.
Tỉ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,10.
Phải đáp ứng yêu cầu sau:
Nước: Không quá 1,0 % (Phụ lục 10.3).

Dimethyl sulfoxid dùng cho phương pháp quang phổ
Độ truyền quang: Không nhỏ hơn 10 % ở 262 nm, 35 % ở 270 nm, 70 % ở 290 nm và 98 % ở 340 nm và những bước sóng cao hơn, dùng nước làm mẫu trắng.

Dinatri hydrophosphat
$Na_2HPO_4.12H_2O$ = 358,17.
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể trong suốt, không màu. Tan trong nước, không tan trong ethanol.

Dung dịch dinatri hydrophosphat 12 %
Hòa tan 12 g *dinatri hydrophosphat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch dinatri hydrophosphat 4 %
Hòa tan 4 g *dinatri hydrophosphat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dinatri hydrophosphat khan
Na_2HPO_4 = 142,0
Dùng loại tinh khiết phân tích.

Dung dịch dinatri hydrophosphat 0,235 M
Hòa tan 33,36 g *dinatri hydrophosphat khan (TT)* trong 1000 ml *nước*, điều chỉnh pH tới 10,3 đến 10,5 với *dung dịch natri hydroxyd 2 N (TT)*.

Dinitrobenzoyl clorid
3,5-Dinitrobenzoyl clorid
$C_7H_3ClN_2O_5$ = 230,6
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Tinh thể hình kim màu vàng, phân hủy trong không khí ẩm.
Điểm chảy: Khoảng 68 °C.

2,4-Dinitrophenylhydrazin
$C_6H_3(NO_2)_2NHNH_2$ = 198,14
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh hay tinh thể màu cam đỏ. Ít tan trong ethanol, rất khó tan trong nước.
Điểm chảy: Khoảng 203 °C.

Dung dịch 2,4-dinitrophenylhydrazin trong acid hydrocloric
Thêm 4 ml *acid hydrocloric (TT)* vào 0,10 g *2,4-dinitrophenylhydrazin (TT)*, rồi thêm 20 ml *nước* nóng để hòa tan.
Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Dung dịch dinitrophenylhydrazin-aceto-hydrocloric
Hòa tan 0,2 g *2,4-dinitrophenylhydrazin (TT)* trong 20 ml *methanol (TT)* và thêm 80 ml hỗn hợp đồng thể tích *acid acetic 30 % (TT)* và *dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT)*.
Dung dịch chỉ pha ngay trước khi dùng.

Dioctyl natri sulfosuccinat
Natri docusat
$C_{20}H_{37}NaO_7S$ = 444,6
Dùng loại tinh khiết hóa học, chứa 90 % $C_{20}H_{37}NaO_7S$.
Các mảnh sáp màu trắng. Tan trong nước, methanol và aceton. Dễ thủy phân trong các dung dịch kiềm.

Dioxan
1,4-Dioxan
$C_4H_8O_2$ = 88,11
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng không màu, có mùi ether.
Điểm đông đặc: 9 °C đến 11 °C.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,03.
Nước: Không được quá 0,5 %.
Chú ý: Chỉ cất 1,4-dioxan khi đạt phép thử sau:
Peroxyd: Cho 8 ml *dung dịch hồ tinh bột có kali iodid (TT)* vào ống nghiệm nút mài dung tích 12 ml, đường kính 1,5 cm, đổ đầy ống nghiệm với dioxan cần thử. Đậy nút, lắc mạnh và để yên tránh ánh sáng trong 30 min. Không được có màu xuất hiện.

Dung dịch gốc dioxan
Hòa tan 1 g *dioxan (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml. Pha loãng 5 ml dung dịch thu được thành 50 ml bằng *nước* (1,0 mg/ml).

Dung dịch dioxan
Pha loãng 50 ml *dung dịch gốc dioxan (TT)* thành 100 ml với *nước* (0,5 mg/ml).

Dung dịch dioxan (TT_1)
Pha loãng 10,0 ml *dung dịch dioxan (TT)* thành 50 ml với *nước* (0,1 mg/ml).

Diphenylamin
$C_{12}H_{11}N$ = 169,2
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể màu trắng, có mùi đặc biệt. Ít tan trong nước, tan trong ethanol.
Điểm chảy: Khoảng 55 °C.

Dung dịch diphenylamin
Hòa tan 0,5 g *diphenylamin (TT)* trong hỗn hợp gồm 100 ml *acid sulfuric đậm đặc (TT)* và 20 ml *nước*.

Diphenylcarbazon
1,5-Diphenylcarbazon
$C_{13}H_{12}N_4O$ = 240,3
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột kết tinh màu cam. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong ethanol.
Điểm chảy: Khoảng 157 °C cùng với phân hủy.

Thuốc thử diphenylcarbazon - thủy ngân
Hòa tan 0,1 g *diphenylcarbazon (TT)* trong *ethanol (TT)* vừa đủ 50 ml (dung dịch A).
Hòa tan 1 g *thủy ngân (II) clorid (TT)* trong *ethanol (TT)* vừa đủ 50 ml (dung dịch B).
Trộn đều đồng thể tích dung dịch A và dung dịch B.

Diphenylmethanol
Benzhydrol
$C_{13}H_{12}O$ = 184,2
Tinh thể trắng hoặc gần như trắng.
Điểm chảy: Khoảng 66 °C.

2,2'-Dipyridylamin
N-(pyridin-2-yl)pyridin-2-amin
$C_{10}H_9N_3$ = 171,2
Điểm chảy: Khoảng 95 °C.

Dithizon
1,5-Diphenylthiocarbazon
$C_{13}H_{12}N_4S$ = 256,3
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột màu xanh đen, nâu đen hay đen. Thực tế không tan trong nước, tan trong ethanol.

Dung dịch dithizon 0,025 % trong ethanol
Hòa tan 25 mg *dithizon (TT)* trong *ethanol (TT)* vừa đủ 100 ml.

Divanadi pentoxyd
Vanadi oxyd
V_2O_5 = 181,9
Dùng loại tinh khiết hóa học, chứa không ít hơn 98,5 % V_2O_5.
Bột tinh thể màu vàng cam hay tinh thể màu nâu đỏ. Khó tan trong nước, tan trong dung dịch acid và dung dịch kiềm.
Phải đáp ứng phép thử sau:
Độ nhạy với hydrogen peroxyd: Đun nóng 1 g *divanadi pentoxyd (TT)* với 10 ml *acid sulfuric (TT)* trong 30 min, để nguội, bổ sung *acid sulfuric (TT)* cho đủ 10 ml. Pha loãng cẩn thận 1 ml dung dịch trong thành 50 ml bằng *nước*. Lấy 0,5 ml dung dịch thu được, thêm 0,1 ml *dung dịch hydrogen peroxyd 0,01 %*. Xuất hiện màu cam, thấy rõ khi so sánh với mẫu trắng gồm 0,5 ml dung dịch trên và 0,1 ml *nước*. Thêm tiếp 0,4 ml *dung dịch hydrogen peroxyd 0,01 %*, màu chuyển sang vàng cam.

Dung dịch divanadi pentoxyd trong acid sulfuric
Hòa tan 0,2 g *divanadi pentoxyd (TT)* trong 4 ml *acid sulfuric (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Đỏ rutheni
$H_{42}Cl_6N_{14}O_2Ru_3.4H_2O$ = 858
Dùng loại phẩm màu siêu mịn.
Bột màu đỏ nâu. Tan trong nước.

Dung dịch đỏ rutheni
Hòa tan 0,08 g *đỏ rutheni (TT)* trong *dung dịch chì acetat 9,5 % (TT)* vừa đủ 100 ml.

Đồng acetat
Cu $(CH_3COO)_2.H_2O$ = 199,65.
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh hay tinh thể màu lục thẫm. Tan trong nước và ethanol, ít tan trong ether và glycerin.

Dung dịch đồng edetat
Lấy 2 ml *dung dịch đồng acetat 2 %*, thêm 2 ml *dung dịch trilon B 0,1 M (CĐ)* và pha loãng với *nước* thành 50 ml.

Dung dịch đồng acetat 5 %
Hòa tan 5 g *đồng acetat (TT)* trong *nước* đã acid hóa bằng vài mililít *dung dịch acid acetic loãng (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Đồng phôi
Cu = 63,54
Dùng loại tinh khiết hóa học.

Đồng sulfat
$CuSO_4.5H_2O$ = 249,69
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh hay tinh thể màu xanh lam. Rất dễ tan trong nước, ít tan trong ethanol.

Dung dịch đồng sulfat 10 %
Hòa tan 10 g *đồng sulfat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch đồng sulfat 5 %
Hòa tan 5 g *đồng sulfat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch đồng sulfat 4 %
Hòa tan 4 g *đồng sulfat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch đồng sulfat 0,5 M (12,5 %)
Hòa tan 12,5 g *đồng sulfat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch đồng sulfat 0,01 M
Hòa tan 2,5 g *đồng sulfat (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đồng - citrat
Hòa tan 2,5 g *đồng sulfat (TT)*, 5 g *acid citric (TT)* và 14,4 g *natri carbonat khan (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Đồng sulfat khan
$CuSO_4$ = 159,6
Dùng loại tinh khiết phân tích, hoặc điều chế bằng cách sấy *đồng sulfat (TT)* ở 230 °C đến khối lượng không đổi.

Ethan-1,2-diol
Ethylen glycol
$HOCH_2$-CH_2OH = 62,07
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng sánh, không màu.
Tỷ trọng ở 20 °C: 1,113 đến 1,115.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: 1,430 đến 1,433.
Điểm sôi: Khoảng 196 °C.

Dung dịch ethan-1,2-diol 50 %
Hòa tan 50 g *ethan-1,2-diol (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Ethanol
Ethanol tuyệt đối
C_2H_5OH = 46,07
Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa không ít hơn 99,5 % (tt/tt) C_2H_5OH.
Chất lỏng trong, không màu, dễ hút nước, có mùi đặc biệt.
Điểm sôi: 78 °C đến 79 °C.
Tỷ trọng ở 20 °C: 0,791 đến 0,794.

Ethanol 96 %
C_2H_5OH = 46,07
Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa 95,1 % đến 96,9 % (tt/tt) C_2H_5OH.
Chất lỏng không màu.
Khối lượng riêng: Khoảng 0,81 g/ml.

Ethanol 96 % không có aldehyd
Trộn 1200 ml *ethanol 96 % (TT)* với 5 ml *dung dịch bạc nitrat 40 %* và 10 ml *dung dịch kali hydroxyd 50 %* đã làm lạnh. Lắc mạnh, để yên vài ngày và lọc. Cất dịch lọc ngay trước khi sử dụng.

Ether
Ether ethylic; Diethylether
$C_4H_{10}O$ = 74,12
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng không màu, trong suốt, dễ bắt lửa, dễ bay hơi, mùi đặc biệt.
Tỷ trọng ở 20 °C: 0,713 đến 0,715.
Điểm sôi: 34 °C đến 35 °C.
Chú ý: Chỉ cất ether khi đạt phép thử sau:
Peroxyd: Cho 8 ml *dung dịch hồ tinh bột có kali iodid (TT)* vào ống nghiệm nút mài dung tích 12 ml, đường kính khoảng 1,5 cm, đổ đầy ống nghiệm với ether cần thử. Đậy nút, lắc mạnh và để yên tránh ánh sáng trong 30 min. Không được có màu tạo thành.
Bảo quản tránh ánh sáng, ở nhiệt độ không quá 15 °C. Trên nhãn phải ghi tên và nồng độ chất bảo quản đưa vào.

Ether không có peroxyd
Dung dịch sắt (II) sulfat: Hòa tan 30 g *sắt (II) sulfat (TT)* trong hỗn hợp gồm 55 ml *nước* và 3 ml *acid sulfuric (TT)*.
Lắc 1000 ml *ether (TT)* với 20 ml *dung dịch sắt (II) sulfat*. Tiếp tục lắc cho tới lúc không còn xuất hiện màu xanh lam, khi lắc lượng nhỏ mẫu thử với đồng thể tích *dung dịch kali iodid 2 % (TT)* và 0,1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)*.

Ether dầu hỏa
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng trong, không màu, dễ bay hơi, rất dễ bắt lửa, chứa hỗn hợp các dãy hydrocarbon parafin bậc thấp, chia thành các phân đoạn sau:
Khoảng sôi 30 °C đến 40 °C; khối lượng riêng: Khoảng 0,63 g/ml.
Khoảng sôi 40 °C đến 60 °C; khối lượng riêng: Khoảng 0,64 g/ml.
Khoảng sôi 50 °C đến 70 °C; khối lượng riêng: Khoảng 0,66 g/ml.
Khoảng sôi 60 °C đến 80 °C; khối lượng riêng: Khoảng 0,67 g/ml.
Khoảng sôi 80 °C đến 100 °C; khối lượng riêng: Khoảng 0,70 g/ml.
Khoảng sôi 100 °C đến 120 °C; khối lượng riêng: Khoảng 0,72 g/ml.
Khoảng sôi 120 °C đến 160 °C; khối lượng riêng: Khoảng 0,75 g/ml.

p-Ethoxycrysoidin hydroclorid
4-p-Ethoxyphenylazo-m-phenylendiamin hydroclorid
$C_{14}H_{16}N_4O.HCl$ = 292,8
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột màu đỏ. Tan trong nước và ethanol.

Dung dịch p-ethoxycrysoidin hydroclorid 0,1 % trong ethanol
Hòa tan 0,1 g *p-ethoxycrysoidin hydroclorid (TT)* trong *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ 100 ml.
Dung dịch phải đạt phép thử độ nhạy với brom: Thêm 0,05 ml *dung dịch brom 0,1 N (TT)* vào hỗn hợp 0,05 ml *dung dịch p-ethoxycrysoidin hydroclorid 0,1 % trong ethanol (TT)* và 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*. Màu chuyển từ đỏ sang vàng nhạt trong vòng 2 min.

Ethyl acetat
$CH_3COOC_2H_5$ = 88,11
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng không màu, mùi thơm hoa quả.
Tan trong nước, hòa lẫn với ethanol.

Tỷ trọng ở 20 °C: 0,901 đến 0,904.
Điểm sôi: 76 °C đến 78 °C.

Ethyl cyanoacetat
$C_5H_7NO_2$ = 113,1
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng không màu hoặc gần như không màu. Tan trong nước, hòa lẫn được với ethanol và ether.
Điểm sôi: 205 °C đến 209 °C kèm phân hủy.

Ethylen clorid
1,2-Dicloroethan
$C_2H_4Cl_2$ = 98,96
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng không màu, có mùi giống mùi cloroform.
Điểm sôi: Khoảng 83 °C.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,25.
Lượng cất được trong khoảng 82 °C đến 84 °C không ít hơn 95 %.

Ethylen diamin
1,2-Diaminoethan
$C_2H_8N_2$ = 60, 10
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Điểm sôi: Khoảng 116 °C.
Khối lượng riêng: Khoảng 0,90 g/ml.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,457.

Ethylen oxyd
Oxiran
C_2H_4O = 44,05
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Khí không màu.
Điểm hóa lỏng: Khoảng 12 °C.

Dung dịch gốc ethylen oxyd (Dung dịch đậm đặc ethylen oxyd)
Toàn bộ quá trình pha chế phải được tiến hành trong tủ hút. Người pha chế phải mang găng tay polyethylen và mặt nạ bảo vệ thích hợp. Bảo quản các dung dịch trong bình kín, ở nhiệt độ từ 4 °C đến 8 °C. Tiến hành định lượng 3 lần.
Cho chậm luồng khí *ethylen oxyd (TT)* vào một ống nghiệm khô, sạch, đã được làm lạnh chứa hỗn hợp gồm 1 phần *natri clorid (TT)* và 3 phần nước đá nghiền, để tạo thành lớp đông đặc bám trên mặt trong thành ống nghiệm. Dùng bơm thủy tinh đã được làm lạnh ở -10 °C, tiêm khoảng 300 µl (ứng với khoảng 0,25 g) *ethylen oxyd (TT)* lỏng vào 50 ml *macrogol 200 (TT_1)*. Xác định lượng ethylen oxyd đã hấp thụ bằng cách cân trước và sau khi cho hấp thụ (M_{eo}). Pha loãng thành 100 ml với *macrogol 200 (TT_1)*. Trộn kỹ trước khi dùng.
Xác định nồng độ chính xác của ethylen oxyd theo phương pháp sau:
Lấy 10 ml hỗn dịch *magnesi clorid (TT)* 50 % trong *ethanol (TT)* vào bình nón nút mài, thêm 20 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N trong ethanol (TT)*, đậy nắp, lắc mạnh để thu được dung dịch bão hòa và để cân bằng qua đêm. Cân 5 g dung dịch cần định lượng vào bình đã chuẩn bị ở trên, để yên 30 min. Chuẩn độ bằng *dung dịch kali hydroxyd 0,1 N trong ethanol (CĐ)*, xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Song song tiến hành một mẫu trắng, dùng *macrogol 200 (TT_1)* thay thế cho dung dịch cần định lượng.
Nồng độ ethylen oxyd (mg/g) trong dung dịch được tính bằng công thức:

$$4,404(V_0 - V_1) / m$$

Trong đó:
V_0 và V_1 là số ml *dung dịch kali hydroxyd 0,1 N trong ethanol (CĐ)* đã dùng cho mẫu trắng và mẫu thử;
m là lượng mẫu thử đã cân để định lượng (g).

Dung dịch ethylen oxyd (TT_1)
Cân chính xác một lượng *dung dịch gốc ethylen oxyd (TT)* đã được làm lạnh ứng với 2,5 mg ethylen oxyd vào một bình lạnh, pha loãng thành 50,0 g với *macrogol 200 (TT_1)*. Trộn kỹ, pha loãng 2,5 g dung dịch này thành 25 ml với *macrogol 200 (TT_1)* (5 µg ethylen oxyd/g).
Dung dịch pha trước khi dùng.

Dung dịch ethylen oxyd (TT_2)
Cân 1 g *dung dịch gốc ethylen oxyd (TT)* lạnh (tương ứng với 2,5 mg ethylen oxyd) vào bình lạnh có chứa 40 ml *macrogol 200 (TT_1)* lạnh. Trộn, xác định khối lượng chính xác và pha loãng để thu được dung dịch chứa 50 µg ethylen oxyd trong 1 g dung dịch. Cân 10 g dung dịch vào bình chứa khoảng 30 ml *nước*, trộn và pha loãng thành 50 ml với *nước* (10 µg ethylen oxyd/ml).
Dung dịch pha chế ngay trước khi dùng.

Dung dịch ethylen oxyd (TT_3)
Pha loãng 10 ml *dung dịch ethylen oxyd (TT_2)* thành 50 ml với *nước* (2 µg ethylen oxyd/ml). Dung dịch pha ngay trước khi dùng.

Ethyl parahydroxybenzoat
Ethyl 4-hydroxybenzoat
$C_9H_{10}O_3$ = 166,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Điểm chảy: Khoảng 117 °C.

Ferroin
Dung dịch ferroin
Phức hợp tris(1,10-phenanthrolin) sắt (II) sulfat được chuẩn bị như sau: Hòa tan 0,7 g *sắt (II) sulfat (TT)* và 1,76 g *phenanthrolin hydroclorid (TT)* trong 70 ml *nước* và pha loãng thành 100 ml bằng *nước*.
Phải đáp ứng phép thử sau:
Độ nhạy của ceri (IV): Thêm 0,1 ml dung dịch trên và 0,15 ml *dung dịch osmium tetroxyd (TT)* vào 50 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)*. Thêm 0,1 ml *dung dịch amoni ceri (IV) nitrat 0,1 M (TT)*. Màu chuyển từ màu đỏ sang xanh dương.

Fibrin đỏ congo
Ngâm qua đêm 1,5 g fibrin trong 50 ml *dung dịch đỏ congo 2 % (kl/tt) trong ethanol 90 %*. Lọc, rửa fibrin với *nước* và bảo quản trong *ether (TT)*.

1-Fluoro-2,4-dinitrobenzen
2,4-Dinitrofluorobenzen
$C_6H_3FN_2O_4$ = 186,1.
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chất lỏng, chất rắn hay tinh thể màu vàng nhạt với hơi làm cay mắt.
Điểm chảy: Khoảng 29 °C.
Khối lượng riêng: Khoảng 1,48 g/ml.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,569.

Formaldehyd
Formaldehyd; Dung dịch formol; Formalin
CH_2O = 30,03
Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa 34,0 % đến 37,0 % CH_2O.
Chất lỏng trong, không màu hay gần như không màu, mùi hăng đặc biệt.
Khối lượng riêng: Khoảng 1,08 g/ml.
Bảo quản trong lọ kín, ở nhiệt độ 15 °C đến 25 °C.

Dung dịch formaldehyd trong acid sulfuric
Hòa tan 0,2 g *formaldehyd (TT)* trong 10 ml *acid sulfuric (TT)*.

Formamid
CH_3NO = 45,0.
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng sánh, không màu. Hòa trộn được với nước và ethanol.
Khối lượng riêng: Khoảng 1,13 g/ml.

Fuchsin
Fuchsin base
Hỗn hợp rosanilin hydroclorid ($C_{20}H_{19}N_3.HCl$ = 337,9) và para-rosanilin hydroclorid ($C_{19}H_{17}N_3.HCl$ = 323,8).
Bột màu đỏ đậm hay tinh thể xanh lục có ánh kim. Tan trong nước và ethanol.
Bảo quản tránh ánh sáng.

Dung dịch fuchsin đã khử màu
Hòa tan 0,1 g *fuchsin base (TT)* trong 60 ml *nước*, thêm 10 ml *dung dịch natri sulfit khan 10 % (kl/tt)*. Thêm từ từ 2 ml *acid hydrocloric (TT)*, lắc liên tục, pha loãng thành 100 ml với *nước*. Để yên tránh ánh sáng ít nhất 12 h. Lắc với 0,2 g đến 0,3 g *than hoạt (TT)* để khử màu và lọc ngay lập tức. Nếu dung dịch bị đục, lọc trước khi sử dụng. Trong quá trình bảo quản, nếu dung dịch có màu tím, khử màu bằng *than hoạt (TT)*.
Dung dịch phải đạt phép thử độ nhạy với formaldehyd: Lấy 1,0 ml dung dịch, thêm 1,0 ml *nước* và 0,1 ml *ethanol không có aldehyd (TT)*. Thêm 0,2 ml *dung dịch formaldehyd 0,01 %*, phải xuất hiện màu hồng nhạt trong vòng 5 min.
Bảo quản tránh ánh sáng.

Dung dịch fuchsin đã khử màu (TT_1)
Hòa tan 0,1 g *fuchsin base (TT)* trong 100 ml *nước*, đun nóng đến 50 °C và để nguội, lắc liên tục. Để yên 48 h, lắc đều và lọc. Thêm 6 ml *acid hydrocloric (TT)* vào 4 ml dịch lọc, trộn đều và pha loãng thành 100 ml bằng *nước*. Để yên ít nhất 1 h để đảm bảo mất màu tối đa.

Gelatin
Dùng loại tinh khiết hóa học.

Gelatin thủy phân
Hòa tan 50 g *gelatin (TT)* trong 1000 ml *nước*. Hấp trong nồi hấp bão hòa hơi nước ở 121 °C trong 90 min và làm đông khô.

Thuốc thử gelatin - natri clorid
Hòa tan 1 g *gelatin (TT)* và 10 g *natri clorid (TT)* trong 100 ml *nước* bằng cách đun nóng trên cách thủy ở nhiệt độ dưới 60 °C. Dung dịch chỉ pha khi dùng.

L-γ-Glutamyl-L-cystein
$C_8H_{14}N_2O_5S$ = 250,3
Dùng loại tinh khiết hóa học.

L-Glutathion đã oxy hóa
Bis(L-γ-glutamyl-L-cysteinylglycin) disulfid
$C_{20}H_{32}N_6O_{12}S_2$ = 612,6
Dùng loại tinh khiết hóa học.

Glycerin
Propan-1,2,3 triol
$C_3H_8O_3$ = 92,10
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng sánh, không màu.
Khối lượng riêng: Khoảng 1,26 g/ml.

Dung dịch glycerin - acid acetic: xem Thuốc thử Smith.

Glycerin 85 %
Glycerin (TT) có chứa 12,0 % đến 16,0 % (kl/kl) nước.
Khối lượng riêng: 1,22 g/ml đến 1,24 g/ml.

Glyoxal (dung dịch)
Dùng loại tinh khiết hóa học chứa khoảng 40 % (kl/kl) glyoxal ($C_2H_2O_2$).
Định lượng: Lấy 1 g vào bình nón nút mài, thêm 20 ml *dung dịch hydroxylamin hydroclorid 7 % (TT)* và 50 ml *nước*. Để yên 30 min và thêm 1 ml *dung dịch hỗn hợp đỏ methyl (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ)* đến khi màu chuyển sang xanh lục. Song song tiến hành một mẫu trắng. 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ)* tương đương với 29,02 mg $C_2H_2O_2$.

Guanidin hydroclorid
$CH_5N_3.HCl$ = 95,5.
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột tinh thể trắng. Dễ tan trong nước và ethanol.
Nhiệt độ nóng chảy: Khoảng 178 °C đến 189 °C.

Haemoglobin
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Hàm lượng sắt: Từ 0,2 % đến 0,3 %.
Hàm lượng nitrogen: Từ 15 % đến 16 %.
Mất khối lượng do làm khô: Không quá 2 %.
Tro sulfat: Không quá 1,5 %.

Dung dịch haemoglobin
Hòa tan 2 g *haemoglobin (TT)* trong 75 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,03 M (TT)*, điều chỉnh pH của dung dịch tới 1,5 đến 1,7 bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*, pha loãng thành 100 ml với *dung dịch acid hydrocloric 0,03 M (TT)* và thêm 25 mg *thiomersal (TT)*.
Dung dịch pha trong ngày, bảo quản ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C, chỉnh pH đến 1,6 trước khi dùng.

Heli dùng cho sắc ký khí
He = 4,003
Dùng loại tinh khiết hóa học đóng ống dùng cho phòng thí nghiệm có chứa không ít hơn 99,5 % (tt/tt) He.

Heptan
n-Heptan
C_7H_{16} = 100,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chất lỏng không màu, dễ cháy.
Tỷ trọng ở 20 °C: 0,683 đến 0,686.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,387 đến 1,388.

Hexamethyldisilazan
$C_6H_{19}NSi_2$= 161,4
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chất lỏng không màu.
Điểm sôi: Khoảng 125 °C
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,78
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,408.
Bảo quản trong đồ chứa kín.

Hexan
C_6H_{14} = 86,2
Chất lỏng không màu, dễ cháy.
Tỷ trọng ở 20 °C: Từ 0,659 đến 0,663.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Từ 1,375 đến 1,376.
Không ít hơn 95 % được cất ở 67 °C đến 69 °C.

Hexan dùng cho phương pháp quang phổ
Độ truyền quang: Không ít hơn 97 % trong khoảng 260 nm đến 420 nm, dùng nước làm mẫu trắng.

n-Hexan
C_6H_{14} = 86,2
Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa không ít hơn 99 % đồng phân tinh khiết.
Chất lỏng không màu, dễ cháy.
Điểm sôi: Khoảng 68 °C.
Khối lượng riêng: Khoảng 0,66 g/ml.

Hexylamin
$C_6H_{15}N$ = 101,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chất lỏng không màu.
Điểm sôi: 127 °C đến 131 °C.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,766.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,418.

Hydrazin sulfat
$N_2H_4.H_2SO_4$ = 130,1
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể không màu. Dễ tan trong nước nóng, ít tan trong nước và ethanol.

Hydridantin
2,2'-Dihydroxy-2,2'-bi-indan-1,1',3,3'-tetraon dihydrat
$C_{18}H_{10}O_6.2H_2O$ = 358,3.
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Điểm chảy: Khoảng 258 °C.

Hydrogen
H_2 = 2,02
Dùng loại tinh khiết hóa học đóng ống dùng cho phòng thí nghiệm, chứa không ít hơn 99,95 % (tt/tt) H_2.

Hydrogen peroxyd
Nước oxy già
H_2O_2 =34,02

Dung dịch hydrogen peroxyd 200 tt
Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa khoảng 60 % (kl/tt) H_2O_2.
Chất lỏng không màu.
Khối lượng riêng: Khoảng1,18 g/ml.

Dung dịch hydrogen peroxyd 100 tt (Dung dịch hydrogen peroxyd đậm đặc)
Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa khoảng 30 % (kl/tt) H_2O_2.
Chất lỏng không màu.
Khối lượng riêng: Khoảng 1,10 g/ml.

Dung dịch hydrogen peroxyd 20 tt
Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa khoảng 6 % (kl/tt) H_2O_2 hay pha loãng dung dịch *hydrogen peroxyd 100 tt (TT)* với 4 thể tích *nước*.
Chất lỏng không màu.
Khối lượng riêng: Khoảng 1,02 g/ml.

Dung dịch hydrogen peroxyd 10 tt (Dung dịch hydrogen peroxyd loãng)
Pha loãng *dung dịch hydrogen peroxyd 20 tt (TT)* với đồng thể tích *nước*.

Hydrogen sulfid
H_2S =34,08
Dùng loại cho phòng thí nghiệm, hay điều chế bằng cách cho *sắt sulfid* tác dụng với *acid hydrocloric (TT)* đã pha

loãng gấp đôi với *nước* và rửa khí thu được bằng cách cho chạy qua nước.
Khí độc, không màu, có mùi đặc trưng, khó chịu.
Hydrogen sulfid chứa không ít hơn 99,7 % (tt/tt) H_2S.

Dung dịch hydrogen sulfid
Dung dịch bão hòa khí hydrogen sulfid trong *nước* mới điều chế.
Dung dịch này chứa khoảng 0,45 % (kl/tt) H_2S ở 20 °C.
Bảo quản trong đồ đựng kín, tránh ánh sáng.
Dung dịch không bảo quản được lâu.

Hydroquinon
Quinol; Benzen-1,4-diol
$C_6H_6O_2$ = 110,1
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh hay tinh thể không màu hay gần như không màu, bị sẫm màu khi tiếp xúc với không khí và ánh sáng.
Tan trong nước, ethanol và ether.
Điểm chảy: Khoảng 173 °C.

Dung dịch hydroquinon 1 % trong ethanol
Hòa tan 1,0 g *hydroquinon (TT)* trong *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ 100 ml.

Hydroxylamin hydroclorid
$NH_2OH.HCl$ = 69,49
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh trắng. Rất dễ tan trong nước, tan trong ethanol.

Dung dịch hydroxylamin hydroclorid 20 %
Hòa tan 20 g *hydroxylamin hydroclorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch hydroxylamin hydroclorid 25 %
Hòa tan 25 g *hydroxylamin hydroclorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch hydroxylamin hydroclorid 0,5 N
Hòa tan 6,95 g *hydroxylamin hydroclorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 200 ml.

Dung dịch hydroxylamin hydroclorid 7 %
Hòa tan 7 g *hydroxylamin hydroclorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch hydroxylamin hydroclorid 0,5 %
Hòa tan 0,5 g *hydroxylamin hydroclorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch hydroxylamin hydroclorid trong ethanol
Hòa tan 3,5 g *hydroxylamin hydroclorid (TT)* trong 95 ml *ethanol 60 %*, thêm 0,5 ml *dung dịch methyl da cam 0,2 % trong ethanol 60 % (TT)* và thêm *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol 60 % (CD)* đến khi xuất hiện màu vàng hoàn toàn, pha loãng thành 100 ml với *ethanol 60 %*.

Dung dịch hydroxylamin trong kiềm
Trước khi dùng, trộn đều đồng thể tích *dung dịch hydroxylamin hydroclorid 13,9 %* với *dung dịch natri hydroxyd 15 % (TT)*.

Dung dịch hydroxylamin hydroclorid
Hòa tan 3,5 g *hydroxylamin hydroclorid (TT)* trong *ethanol 60 %* vừa đủ 100 ml.

Hydroxyquinolin
8-Hydroxyquinolin; Quinolin-8-ol
C_9H_7NO = 145,2
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh trắng hay trắng ngà, có mùi phenol, dễ bị sẫm màu khi tiếp xúc với ánh sáng. Rất dễ tan trong ethanol, aceton, cloroform và acid vô cơ, hầu như không tan trong nước.
Điểm chảy: Khoảng 74 °C.

Dung dịch hydroxyquinolin 0,5 % trong cloroform
Hòa tan 0,5 g *hydroxyquinolin (TT)* trong *cloroform (TT)* vừa đủ 100 ml. Chỉ pha trước khi dùng.

Imidazol
Glyoxalin
$C_3H_4N_2$ = 68,1
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột kết tinh trắng. Dễ tan trong nước.
Điểm chảy: Khoảng 90 °C.

Imidazol kết tinh lại
Lấy 25 g *imidazol (TT)*, kết tinh lại 2 lần với 100 ml *toluen (TT)*, làm lạnh trong nước đá, khuấy liên tục, rửa với *ether (TT)*, làm khô trên silica gel khan, ở nhiệt độ phòng và áp suất 2 kPa.
Phải đáp ứng yêu cầu sau:
Độ hấp thụ ánh sáng: Độ hấp thụ của dung dịch 8 % (kl/tt) ở 325 nm không quá 0,10 (Phụ lục 4.1).

Thuốc thử imidazol thủy ngân
Hòa tan 8,25 g *imidazol kết tinh lại (TT)* trong 60 ml *nước*, thêm 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 5 M (TT)*. Dùng máy khuấy từ, khuấy và thêm từng giọt 10 ml *dung dịch thủy ngân (II) clorid 0,27 %*. Nếu dung dịch có tủa, pha lại dung dịch khác và nhỏ dung dịch thủy ngân (II) clorid chậm hơn. Điều chỉnh pH đến 6,8 ± 0,05 bằng *dung dịch acid hydrocloric 5 M (TT)* (khoảng 4 ml) và thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Iminodibenzyl
10,11-Dihydrodibenz[b,f]azepin
$C_{14}H_{13}N$ = 195,3
Bột kết tinh vàng nhạt. Thực tế không tan trong nước, dễ tan trong aceton.
Điểm chảy: Khoảng 106 °C.

Iod
I_2 = 253,8

Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể màu đen tía có ánh kim loại. Tan trong ethanol, ether và trong dung dịch kali iodid, tan rất ít trong nước.

Dung dịch iod-iodid (Thuốc thử Bouchardat)
Hòa tan 2 g *iod (TT)* và 4 g *kali iodid (TT)* trong 10 ml *nước*, lắc, để yên cho tan, rồi thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch iod-iodid (TT$_1$)
Hòa tan 500 mg *iod (TT)* và 1,5 g *kali iodid (TT)* trong *nước* và pha loãng thành 25 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch iod 1 % trong ethanol
Hòa tan 1 g *iod (TT)* trong *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ 100 ml.
Bảo quản tránh ánh sáng.

Dung dịch iod 5 % trong ethanol
Hòa tan 5 g *iod (TT)* trong *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch iod trong ethanol
Dung dịch iod-iodid trong ethanol
Hòa tan 25 g *iod (TT)* và 25 g *kali iodid (TT)* trong 25 ml *nước*, thêm *ethanol 90 % (TT)* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch iod (TT$_1$)
Dung dịch iod 0,05 M: Hòa tan 20 g *kali iodid (TT)* trong một lượng *nước* tối thiểu, thêm 13 g *iod (TT)*, để yên để hòa tan rồi thêm *nước* vừa đủ 100 ml.
Thêm 0,6 g *kali iodid (TT)* vào 10,0 ml dung dịch iod 0,05 M thu được ở trên và pha loãng thành 100,0 ml bằng *nước*.
Chuẩn bị ngay trước khi dùng.

Iod bromid
IBr = 206,8
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể màu đen nâu hay đen lam.
Điểm chảy: Khoảng 40 °C.
Điểm sôi: Khoảng 116 °C.
Bảo quản ở nơi lạnh, tránh ánh sáng.

Dung dịch iod bromid
Hòa tan 2 g *iod bromid (TT)* trong *acid acetic băng (TT)* vừa đủ 100 ml.

Iod pentoxyd
Iod pentoxyd kết tinh lại
I_2O_5 = 333,8.
Dùng loại tinh khiết hóa học được kết tinh lại theo phương pháp sau: Đun dung dịch bão hòa iod pentoxyd trong *acid nitric (TT)* trong 1 h, rồi để yên trong 24 h. Loại bỏ chất lỏng phía trên, làm khô các tinh thể thu được ban đầu bằng luồng không khí ở nhiệt độ phòng, sau sấy trên *phosphor pentoxyd (TT)* ở áp suất không quá 5,2 mmHg (0,7 kPa).
Bột kết tinh màu trắng, dễ hút ẩm, chứa không ít hơn 99,5 % I_2O_5.
Định lượng: Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 50 ml *nước*, thêm 3,0 g *kali iodid (TT)* và 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*. Định lượng iod giải phóng bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)*, dùng 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 2,782 mg I_2O_5.
Bảo quản trong bao bì kín, tránh ánh sáng.

Iod triclorid
ICl_3 = 233,3
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể màu cam đỏ.

Dung dịch iod monoclorid
Dung dịch A: Hòa tan 0,8 g *iod triclorid (TT)* trong 20 ml *acid acetic băng (TT)*.
Dung dịch B: Hòa tan 0,9 g *iod (TT)* trong 30 ml *dicloromethan (TT)*.
Trộn dung dịch A và dung dịch B, pha loãng với *acid acetic băng (TT)* vừa đủ 100 ml.
Bảo quản dung dịch trong bình nút kín, tránh ánh sáng, ở nhiệt độ không quá 15 °C.

Isopropanol
Propan-2-ol
C_3H_8O = 60,1
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng không màu, có mùi đặc biệt. Hòa tan trong nước và ethanol.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,785.
Điểm sôi: 81 °C đến 83 °C.

Isopropanol (TT$_1$)
Propan -2-ol (TT$_1$)
Propan-2-ol thỏa mãn các yêu cầu sau:
Chỉ số khúc xạ: Khoảng 1,378.
Độ truyền quang: Không nhỏ hơn 25 % ở 210 nm, 55 % ở 220 nm, 75 % ở 230 nm, 95 % ở 250 nm và 98 % ở 260 nm, dùng nước làm mẫu trắng.
Nước: Không quá 0,05 % (kl/kl) (Phụ lục 10.3), dùng 10 g.

Kali acetat
$C_2H_3O_2K$ = 98,1
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột hay tinh thể màu trắng, dễ hút ẩm. Dễ tan trong nước và ethanol.

Kali antimony tartrat
Kali antimony oxyd (+)-tartrat
$KSbO.C_4H_4O_6.½H_2O$ = 333,9
Dùng loại tinh khiết phân tích.

Kali antimonat (V)
Kali pyroantimonat
$KSbO_3.3H_2O$ = 262,9
Dùng loại tinh khiết phân tích.

Dung dịch kali antimonat (V)
Hòa tan 2 g *kali antimonat (TT)* trong 85 ml *nước* nóng, làm nguội nhanh, thêm 50 ml *dung dịch kali hydroxyd 5 %*

(TT) và 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 8,5 % (TT)*. Để yên trong 24 h, lọc và pha loãng với *nước* thành 150 ml.

Kali biphtalat
Kali hydrophtalat
$C_8H_5O_4K$ = 204,23
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể trắng. Tan trong nước, ít tan trong ethanol.

Kali bromat
$KBrO_3$ = 167,01
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột cốm hay tinh thể màu trắng, tan trong nước, ít tan trong ethanol.

Kali bromid
KBr = 119,01
Dùng loại tinh khiết phân tích.

Kali bromid tinh khiết IR
Viên nén dày 2 mm, được làm từ *kali bromid (TT)* mới sấy khô ở 250 °C trong 1 h, phải cho đường nền phẳng trong khoảng từ 4000 cm^{-1} đến 620 cm^{-1}, không được có cực đại với độ hấp thụ lớn hơn 0,02 so với đường nền, trừ cực đại của nước ở 3440 cm^{-1} và 1630 cm^{-1}.

Dung dịch kali bromid 10 %
Hòa tan 10 g *kali bromid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch kali bromid 0,0015 %
Hòa tan 0,15 g *kali bromid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml. Lấy 1 ml dung dịch này pha loãng với *nước* thành 100 ml. Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Kali carbonat
$K_2CO_3.1,5H_2O$ = 165,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Tinh thể hay cốm màu trắng. Tan trong nước, không tan trong ethanol.

Kali carbonat khan
K_2CO_3 = 138,2
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột cốm màu trắng, dễ hút ẩm. Tan trong nước, không tan trong ethanol.

Dung dịch kali carbonat 15 %
Hòa tan 15 g *kali carbonat khan (TT)* trong 100 ml *nước*.

Kali clorat
Muối Berthollet
$KClO_3$ = 122,55
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột, cốm hay tinh thể màu trắng. Rất dễ tan trong nước sôi, tan trong nước, hầu như không tan trong ethanol.

Kali clorid
KCl = 74,55
Dùng loại tinh khiết phân tích.

Dung dịch kali clorid 10 %
Hòa tan 10 g *kali clorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Kali cromat
K_2CrO_4 = 194,20
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể màu vàng. Tan trong nước, không tan trong ethanol.

Dung dịch kali cromat 5 %
Hòa tan 5 g *kali cromat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Kali cyanid
KCN = 65,12
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh hay tinh thể màu trắng. Tan trong nước, ít tan trong ethanol.

Dung dịch kali cyanid 10 %
Hòa tan 10 g *kali cyanid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Kali dicromat
$K_2Cr_2O_7$ = 294,20
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể màu da cam. Tan trong nước, không tan trong ethanol.

Dung dịch kali dicromat 5 %
Hòa tan 5 g *kali dicromat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch kali dicromat 10,6 %
Hòa tan 10,6 g *kali dicromat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Kali dihydro citrat
$C_6H_7KO_7$ = 230,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.

Kali dihydrophosphat
KH_2PO_4 = 136,09
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể không màu. Tan trong nước, không tan trong ethanol.

Kali fericyanid
$K_3Fe(CN)_6$ = 329,26
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể màu đỏ. Dễ tan trong nước, không tan trong ethanol.

Dung dịch kali fericyanid 5 %
Hòa tan 5 g *kali fericyanid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch kali fericyanid 10 %
Hòa tan 10 g *kali fericyanid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch kali fericyanid 1 %
Hòa tan 1 g *kali fericyanid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml. Pha trước khi dùng.

Dung dịch kali fericyanid loãng
Thêm 0,5 ml *dung dịch sắt (III) clorid 5 % (TT)* và 40 ml *nước* vào 10 ml *dung dịch kali fericyanid 1 % (TT)*, lắc đều. Pha trước khi dùng.

Kali ferocyanid
$K_4Fe(CN)_6.3H_2O$ = 422,41
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể trong, màu vàng. Dễ tan trong nước, không tan trong ethanol.

Dung dịch kali ferocyanid
Hòa tan 5,3 g *kali ferocyanid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch kali ferocyanid 10 %
Hòa tan 10 g *kali ferocyanid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Kali hydrocarbonat
Kali bicarbonat
$KHCO_3$ = 100,1
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể không màu trong suốt. Dễ tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol.

Dung dịch bão hòa kali hydrocarbonat trong methanol
Hòa tan 0,1 g *kali hydrocarbonat (TT)* trong 0,4 ml *nước* bằng cách đun nóng trên cách thủy. Thêm 25 ml *methanol (TT)* và khuấy, để trên cách thủy cho đến khi tan hoàn toàn.
Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Kali hydrophtalat
$C_8H_5KO_4$ = 204,2
Dùng loại tinh khiết phân tích.

Kali hydrosulfat
Kali bisulfat
$KHSO_4$ = 136,17
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể không màu, trong suốt. Dễ tan trong nước, cho dung dịch có tính acid mạnh.

Kali hydroxyd
KOH = 56,11
Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa không ít hơn 85,0 % lượng kiềm tính theo KOH và không quá 2,0 % K_2CO_3.
Hạt, que hay phiến màu trắng, dễ chảy nước.

Dung dịch kali hydroxyd 30 %
Hòa tan 300 g *kali hydroxyd (TT)* trong *nước*, để nguội, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml. Để lắng và gạn lấy phần nước trong.

Dung dịch kali hydroxyd 5 %
Hòa tan 50 g *kali hydroxyd (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch kali hydroxyd 0,5 M
Hòa tan 34 g *kali hydroxyd (TT)* trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch kali hydroxyd 3 %
Hòa tan 3 g *kali hydroxyd (TT)* trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch kali hydroxyd 1 % trong ethanol
Hòa tan 10 g *kali hydroxyd (TT)* trong *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch kali hydroxyd 2 M trong ethanol
Hòa tan 12 g *kali hydroxyd (TT)* trong 10 ml *nước*, thêm *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch kali hydroxyd 1,5 M trong ethanol
Hòa tan 84 g *kali hydroxyd (TT)* trong *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ 1000 ml.
Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Dung dịch kali hydroxyd 0,5 M trong ethanol
Hòa tan 28 g *kali hydroxyd (TT)* trong *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch kali hydroxyd 0,1 M trong ethanol
Hòa tan 5,6 g *kali hydroxyd (TT)* trong *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch kali hydroxyd trong ethanol
Hòa tan 3 g *kali hydroxyd (TT)* trong 5 ml *nước* và pha loãng thành 100 ml bằng *ethanol không có aldehyd (TT)*. Gạn lấy dung dịch trong, dung dịch thu được gần như không màu.

Dung dịch kali hydroxyd trong ethanol (TT_1)
Hòa tan 6,6 g *kali hydroxyd (TT)* trong 50 ml *nước* và pha loãng thành 1000 ml bằng *ethanol (TT)*.

Dung dịch kali hydroxyd 0,1 M trong methanol
Hòa tan 5,6 g *kali hydroxyd (TT)* trong *methanol (TT)* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch kali hydroxyd 10 % trong methanol
Hòa tan 100 g *kali hydroxyd (TT)* trong *methanol (TT)* vừa đủ 1000 ml.
Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Dung dịch kali hydroxyd 3 % trong methanol
Hòa tan 3 g *kali hydroxyd (TT)* trong *methanol (TT)* vừa đủ 100 ml.
Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Kali iodat
KIO_3 = 214,0
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh màu trắng. Tan trong nước và acid sulfuric loãng, không tan trong ethanol.

Dung dịch kali iodat 5 %
Hòa tan 5 g *kali iodat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Kali iodid
KI = 166,01
Dùng loại tinh khiết phân tích.

Dung dịch bão hòa kali iodid
Dung dịch bão hòa kali iodid trong *nước không có carbon dioxyd (TT)*, có chứa một vài tinh thể không tan.
Bảo quản tránh ánh sáng và gạn bỏ nếu không đáp ứng phép thử sau:

Thêm 0,1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* vào 0,5 ml thuốc thử trong 30 ml hỗn hợp gồm 3 thể tích *dung dịch acid acetic 6 M (TT)* và 2 thể tích *cloroform (TT)*. Nếu xuất hiện màu xanh lam, màu phải mất khi cho thêm không quá 0,05 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)*.

Dung dịch kali iodid 50 %
Hòa tan 50 g *kali iodid (TT)* trong *nước* mới đun sôi để nguội vừa đủ 100 ml. Dung dịch không được có màu.

Dung dịch kali iodid
Hòa tan 16,6 g *kali iodid (TT)* trong *nước* mới đun sôi để nguội vừa đủ 100 ml. Dung dịch không được có màu.

Dung dịch kali iodid 10 % (Dung dịch kali iodid loãng)
Hòa tan 10 g *kali iodid (TT)* trong *nước* mới đun sôi để nguội vừa đủ 100 ml. Dung dịch không được có màu.

Dung dịch kali iodid 2 %
Hòa tan 2 g *kali iodid (TT)* trong *nước* mới đun sôi để nguội vừa đủ 100 ml. Dung dịch không được có màu.

Dung dịch kali iodid - hồ tinh bột
Hòa tan 0,75 g *kali iodid (TT)* trong 100 ml *nước*, đun sôi. Thêm 35 ml dung dịch chứa 0,5 g *tinh bột (TT)*, khuấy liên tục. Đun sôi 2 min và để nguội.
Độ nhạy với iod: Lấy 15 ml thuốc thử, thêm 0,05 ml *acid acetic băng (TT)* và 0,3 ml *dung dịch iod 0,0005 M*, phải xuất hiện màu xanh lam.

Dung dịch kali tetraiodomercurat kiềm
Hòa tan 11 g *kali iodid (TT)* và 15 g *thủy ngân (II) iodid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml. Trước khi dùng, trộn đều đồng thể tích dung dịch trên với *dung dịch natri hydroxyd 25 % (TT)*.

Kali periodat
Kali meta-periodat
KIO_4 = 230,0
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh màu trắng hay tinh thể không màu. Tan trong nước nóng, tan ít trong nước.

Dung dịch kali periodat 0,1 %
Hòa tan 1 g *kali periodat (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Kali permanganat
$KMnO_4$ = 158,04
Dùng loại tinh khiết phân tích.

Dung dịch kali permanganat 5 %
Hòa tan 5 g *kali permanganat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch kali permanganat trong acid phosphoric
Hòa tan 3 g *kali permanganat (TT)* trong hỗn hợp 15 ml *acid phosphoric (TT)* và 70 ml *nước*, thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Kali sulfat
Dikali sulfat
K_2SO_4 = 174,27
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh hay tinh thể màu trắng. Tan trong nước, không tan trong ethanol.

Dung dịch kali sulfat 0,001 M
Hòa tan 0,174 g *kali sulfat (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Kali sulfocyanid
Kali thiocyanat
KSCN = 97,18
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể không màu, dễ chảy nước. Tan trong nước và ethanol.

Dung dịch kali sulfocyanid 10 %
Hòa tan 10 g *kali sulfocyanid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Kali tetraoxalat
Kali trihydro dioxalat
$C_4H_3KO_8.2H_2O$ = 254,2
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh màu trắng.

Kẽm
Zn = 65,37.
Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa không được ít hơn 99,5 % Zn.
Hạt hay cốm màu trắng bạc. Tan trong acid loãng kèm giải phóng khí hydrogen.
Phải đáp ứng phép thử sau:
Arsen: Không quá 0,2 phần triệu (Phụ lục 9.4.2).
Lấy 5,0 g, thêm 15 ml *acid hydrocloric (TT)*, 0,1 ml *dung dịch thiếc (II) clorid AsT (TT)* và 25 ml *nước*. Tiến hành theo phương pháp A.

Kẽm bột
Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa không được ít hơn 90,0 % Zn.
Bột mịn, xanh xám nhạt. Tan trong acid loãng kèm giải phóng khí hydrogen.

Kẽm clorid
$ZnCl_2$ = 136,3
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột cốm màu trắng hay gần như trắng. Rất dễ tan trong nước, tan trong ethanol.

Dung dịch kẽm clorid-iod
Hòa tan 20 g *kẽm clorid (TT)* và 6,5 g *kali iodid (TT)* trong 10,5 ml *nước*. Thêm 0,5 g *iod (TT)* và lắc 15 min, lọc nếu cần. Bảo quản tránh ánh sáng.

Kẽm không có arsen
Ngâm một lượng *kẽm (TT)* trong *dung dịch acid cloroplatinic 0,005 %*. Để yên 10 min, rửa với *nước*, gạn kiệt và làm khô ngay lập tức.

Phải đáp ứng các phép thử sau:
Arsen (Phụ lục 9.4.2): Lấy 5,0 g, thêm 15 ml *acid hydrocloric (TT)*, 0,1 ml *dung dịch thiếc (II) clorid AsT (TT)* và 25 ml *nước*. Tiến hành theo phương pháp A. Không được có vết màu trên *giấy tẩm thủy ngân (II) bromid (TT)*.
Độ nhạy: Lặp lại phép thử arsen như mô tả ở trên, nhưng thêm 1 ml *dung dịch arsen mẫu 1 phần triệu As (TT)*. Phải xuất hiện vết màu thẫy rõ trên *giấy tẩm thủy ngân (II) bromid (TT)*.

Kẽm oxyd
ZnO = 81,4
Dùng loại tinh khiết hóa học.

Kẽm sulfat
$ZnSO_4.7H_2O$ = 287,5
Dùng loại tinh khiết phân tích.

Kieselguhr
Dùng loại tinh khiết hóa bằng acid.

Kieselguhr G
Kieselguhr (TT) được xử lý với acid hydrocloric và nung, kích thước hạt trung bình 10 µm đến 40 µm, chứa khoảng 15 % calci sulfat hemihydrat.
Phải đáp ứng phép thử sau:
Phân tách sắc ký: Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Chế từ *kieselguhr* trong *dung dịch natri acetat 0,27 %*.
Dung môi khai triển: *Ethyl acetat - propan-2-ol - nước* (65 : 23 : 12).
Cách tiến hành: Chấm 5 µl dung dịch chứa 0,01 % (kl/tt) *lactose*, *đường trắng*, *D-glucose* và *D-fructose* trong *pyridin (TT)*. Triển khai bản mỏng cho đến khi dung môi đi được 14 cm (thời gian triển khai khoảng 40 min). Lấy bản mỏng ra, để khô ngoài không khí và phun 10 ml *dung dịch anisaldehyd (TT)*. Sấy 5 min đến 10 min ở 100 °C đến 105 °C. Trên sắc ký đồ thu được phải có 4 vết, tách nhau rõ ràng.

Lanthan nitrat
$La(NO_3)_3.6H_2O$ = 433,0
Dùng loại tinh khiết sử dụng cho quang phổ hấp thụ nguyên tử.
Tinh thể màu trắng. Tan trong nước, ethanol và aceton.

Dung dịch lanthan nitrat 5 %
Hòa tan 5 g *lanthan nitrat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Lanthan trioxyd
Lanthan oxyd
La_2O_3 = 325,8
Dùng loại tinh khiết hóa học có chứa không quá 5 phần triệu calci.

Dung dịch lanthan clorid
Thêm từ từ 100 ml *acid hydrocloric (TT)* vào 58,65 g *lanthan trioxyd (TT)* và đun nóng tới sôi. Để nguội và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Linalol
(RS)-3,7-Dimethylocta-1,6-dien-3-ol, linalool
$C_{10}H_{18}O$ = 154,2
Hỗn hợp của 2 stereoisomer (licareol và coriandrol). Dạng lỏng và thực tế không tan trong nước.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,860.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,462.
Điểm sôi: Khoảng 200 °C.
Linalol dùng trong sắc ký khí phải đạt yêu cầu: Hàm lượng không dưới 98,0 %. Được xác định bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Lithi
Li = 6,9
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Kim loại mềm, bề mặt mới cắt có màu xám bạc. Phản ứng rất mạnh với nước. Trước khi sử dụng, rửa sạch dầu parafin bảo quản với *toluen (TT)*.
Bảo quản trong ether dầu hoả nhẹ hay parafin lỏng.

Lithi clorid
LiCl = 42,4
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bảo quản trong đồ chứa kín.

Lithi sulfat
$Li_2SO_4.H_2O$ = 128,0
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể màu trắng. Tan trong nước, không tan trong ethanol.

Lưu huỳnh (Lưu huỳnh kết tủa)
S = 32,06
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột xốp, màu vàng xám nhạt hay vàng lục nhạt.

Dung dịch lưu huỳnh kết tủa 1 % trong carbon disulfid
Hòa tan 1 g *lưu huỳnh (TT)* trong *carbon disulfid (TT)* vừa đủ 100 ml.

Macrogol 200
Polyethylen glycol 200
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chất lỏng nhớt.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,127.
Chỉ số khúc xạ: Khoảng 1,450.

Macrogol 200 (TT_1)
Polyethylen glycol 200 (TT_1)
Cho 500 ml *polyethylen glycol 200 (TT)* vào bình cầu dung tích 1000 ml. Cất quay ở 60 °C, với áp suất 1,5 đến 2,5 kPa, trong 6 h để loại các thành phần bay hơi.

Magnesi
Mg = 24,31
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột màu xám hoặc vỏ bào màu trắng bạc.

Magnesi acetat
$C_4H_6MgO_4.4H_2O$ = 214,5
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể không màu, dễ chảy nước. Dễ tan trong nước và ethanol.

Dung dịch magnesi uranyl acetat
Hòa tan bằng cách đun nóng trên cách thủy 3,2 g *uranyl acetat (TT)*, 10 g *magnesi acetat (TT)*, 2 ml *acid acetic băng (TT)* và khoảng 30 ml *nước*. Để nguội. Thêm 50 ml *ethanol (TT)* và *nước* vừa đủ 100 ml. Để yên 24 h, lọc.

Magnesi clorid
$MgCl_2.6H_2O$ = 203,3
Dùng loại tinh khiết phân tích.

Magnesi nitrat
$Mg(NO_3)_2.6H_2O$ = 256,4
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể màu trắng, dễ hút ẩm. Tan trong nước, ethanol và amoniac.

Dung dịch magnesi nitrat
Hòa tan 17,3 g *magnesi nitrat (TT)* trong 5 ml *nước* hơi ấm, thêm 80 ml *ethanol 96 % (TT)*. Để nguội và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi.

Dung dịch magnesi nitrat (TT_1)
Hòa tan 20 g *magnesi nitrat (TT)* trong *nước trao đổi ion* và pha loãng thành 100 ml với cùng dung môi. Ngay trước khi dùng, pha loãng 10 ml dung dịch thu được thành 100 ml bằng *nước trao đổi ion*. 5 µl dung dịch có chứa 0,06 mg $Mg(NO_3)_2$.

Magnesi oxyd
Magnesi oxyd nhẹ
MgO = 40,31
Dùng loại tinh khiết hóa học.

Magnesi oxyd nặng
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Magnesi sulfat
$MgSO_4.7H_2O$ = 246,8
Dùng loại tinh khiết phân tích.

Dung dịch magnesi sulfat 25 %
Hòa tan 25 g *magnesi sulfat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch magnesi sulfat 12 %
Hòa tan 12 g *magnesi sulfat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch magnesi sulfat 5 %
Hòa tan 5 g *magnesi sulfat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Mangan sulfat
$MnSO_4.H_2O$ = 169,0
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể hay bột tinh thể màu hồng nhạt. Dễ tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol 96 %.
Phải đáp ứng phép thử sau:
Mất khối lượng do nung: 10,0 % đến 12,0 %. Xác định trên 1,000 g ở 500 °C.

Giấy tẩm mangan bạc
Ngâm các dải giấy lọc trong dung dịch chứa 0,85 % *mangan sulfat (TT)* và 0,85 % *bạc nitrat (TT)*, để vài min. Làm khô giấy đã tẩm trên *phosphor pentoxyd (TT)*, tránh hơi acid và kiềm.

D-Mannose
Mannose
$C_6H_{12}O_6$ = 180,2
Tinh thể nhỏ hay bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng. Rất tan trong nước, khó tan trong ethanol khan.
Góc quay cực riêng: Từ +13,7° đến +14,7°. Dùng dung dịch chế phẩm 200 g/l trong *nước* chứa 0,05 % *amoniac (TT)* để đo.
Điểm chảy: Khoảng 132 °C, kèm theo phân hủy.

(-) Menthol
(-)-p-Menthan-3-ol
$C_{10}H_{20}O$ = 156,3
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột kết tinh trắng, mùi thơm bạc hà.
Điểm chảy: Khoảng 44 °C.
Năng suất quay cực ở 20 °C: Khoảng -50°, dùng dung dịch 5 % (kl/tt) trong *ethanol (TT)*.

(±) Menthol
(±)-p-Menthan-3-ol
$C_{10}H_{20}O$ = 156,3
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Điểm chảy: Khoảng 34 °C.

Methanol
Alcol methylic
CH_3OH = 32,04
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng trong, không màu, dễ bắt lửa. Trộn lẫn với nước và ethanol.
Tỷ trọng ở 20 °C: 0,791 đến 0,793.
Điểm sôi: 64 °C đến 65 °C.

Methanol khan
Dùng cho phương pháp Karl Fischer và các phương pháp chuẩn độ môi trường khan.
Hàm lượng nước không được quá 0,03 % (kl/tt) (Phụ lục 10.3).
Có thể điều chế bằng phương pháp sau:
Xử lý 1000 ml *methanol (TT)* với 5 g *magnesi (TT)*. Nếu cần, khơi mào phản ứng với 0,1 ml *dung dịch thủy ngân (II) diclorid 5 % (TT)*. Khi bọt khí bay hết, cất và thu dịch cất vào bình khô, để tránh ẩm.

Methanol dùng cho phương pháp quang phổ
Methanol (TT_1)

Phải có độ truyền quang tối thiểu là 20 % ở 210 nm, 50 % ở 220 nm, 75 % ở 230 nm, 95 % ở 250 nm và 98 % ở 260 nm, dùng nước làm mẫu trắng.

Methanol (TT)
Hàm lượng methanol không nhỏ hơn 99,8 %.
Độ hấp thụ: Độ hấp thụ của chế phẩm ở 225 nm (Phụ lục 4.1) không được lớn hơn 0,17, dùng *nước* làm mẫu trắng.

Methanol không có aldehyd
Hòa tan 25 g *iod (TT)* trong 1 L *methanol (TT)*. Vừa rót dung dịch thu được vào 400 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, vừa khuấy. Thêm 150 ml *nước* và để yên 16 h. Lọc và đun sôi dưới sinh hàn đến khi hết iod. Chưng cất phân đoạn dung dịch thu được.
Aldehyd và keton: Không được quá 0,001 %.

2-Methoxyethanol
Ethylen glycol monomethyl ether
$C_3H_8O_2$ = 76,10
Dùng loại tinh khiết dùng cho sắc ký.
Chất lỏng không màu.
Điểm sôi: Khoảng 125 °C.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,93.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,406.

Methyl acetat
$C_3H_6O_2$= 74,1
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,933.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,361.
Điểm sôi: 56 °C đến 58 °C.

4-Methylaminophenol sulfat
Metol
$(C_7H_9NO)_2.H_2SO_4$= 344,4
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Điểm chảy: Khoảng 260 °C.

Methylbenzothiazolon hydrazon hydroclorid
3-Methylbenzothiazol-2 (3H)-on hydrazon hydroclorid monohydrat
$C_8H_{10}ClN_3S.H_2O$ = 233,7
Bột kết tinh gần như trắng hoặc vàng.
Điểm chảy: Khoảng 270 °C.
Kiểm tra tính thích hợp để xác định aldehyd:
Dung dịch thử: Lấy 2 ml *methanol không có aldehyd (TT)*, thêm 60 µl dung dịch *propionaldehyd (TT)* 0,1 % trong *methanol không có aldehyd (TT)* và 5 ml dung dịch *methylbenzothiazolon hydrazon hydroclorid* 0,4 %, trộn đều, để yên 30 min.
Dung dịch mẫu trắng: Chuẩn bị như dung dịch thử, không có dung dịch propionaldehyd.
Thêm 25,0 ml *dung dịch sắt (III) clorid 0,2 %* vào dung dịch thử và mẫu trắng và pha loãng thành 100,0 ml bằng *aceton (TT)* và trộn đều.
Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch thử ở bước sóng 660 nm không được nhỏ hơn 0,62.

(R)-(+)-α-Methylbenzyl isocyanat
(+)-(R)-α-methylbenzylisocyanat;(+)-[(1R)-1-isocyanato ethyl]benzen; (+)-(1R)-1-phenylethyl isocyanat
C_9H_9NO = 147,2
Chất lỏng không màu, chứa ít nhất 99,0 % (*R*)-(+)-α-methylbenzyl isocyanat.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,045.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,513.
Điểm sôi: Khoảng 55 °C đến 56 °C ở 2,5 mmHg.
Tinh khiết đồng phân đối quang: Không được nhỏ hơn 99,5 %.
Bảo quản ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.

Methyl decanoat
Methyl caprat
$C_{11}H_{22}O_2$ = 186,3
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chất lỏng không màu hay màu vàng.
Tỷ trọng ở 20 °C: 0,871 đến 0,876.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: 1,425 đến 1,426.
Phải đáp ứng phép thử sau:
Tạp chất liên quan: Xác định bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).
Dùng các dung dịch sau:
Dung dịch (1): Dung dịch chế phẩm 0,002 % (kl/tt) trong *carbon disulfid (TT)*.
Dung dịch (2): Dung dịch chế phẩm 0,2 % (kl/tt) trong *carbon disulfid (TT)*.
Dung dịch (3): *Carbon disulfid (TT)*.
Điều kiện sắc ký:
Cột thủy tinh (1,5 m × 4 mm) nhồi *diatomit silan hóa* (như Diatomit CQ là thích hợp) (100 đến 120 mesh) được bao bằng cao su (methyl) gum silicon 10 % (kl/kl) (như SE-30 là thích hợp). Duy trì nhiệt độ cột ở 150 °C và sử dụng tiền cột chứa bông thủy tinh silan hóa.
Tổng diện tích các pic phụ trong sắc ký đồ thu được của dung dịch (2) không được lớn hơn diện tích pic chính trong sắc ký đồ thu được của dung dịch (1).

Methylen clorid
Dicloromethan
CH_2Cl_2 = 84,93
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng dễ bay hơi, ngửi thấy ngọt.
Điểm sôi: Khoảng 40 °C.
Khối lượng riêng: Khoảng 1,32 g/ml.

Methylen clorid đã được acid hóa
Dicloromethan đã được acid hóa
Thêm 10 ml *acid hydrocloric (TT)* vào 100 ml *methylen clorid (TT)*, lắc đều, để yên cho tách thành 2 lớp. Lấy lớp dưới để dùng.

4-Methylpentan-2-on
Methyl isobutyl keton
$C_6H_{12}O$ = 100,2

Chất lỏng trong và không màu. Khó tan trong nước, có thể trộn với hầu hết các dung môi hữu cơ.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,80.
Điểm sôi: Khoảng 115 °C.
Khoảng chưng cất: Chưng cất 100 ml chế phẩm, khoảng nhiệt độ để chưng cất được từ 1 ml đến 95 ml chế phẩm không được quá 4,0 °C .
Cặn sau khi bay hơi: Không được quá 0,01 %. Xác định bằng cách bốc hơi trong cách thủy và sấy khô ở nhiệt độ từ 100 °C đến 105 °C.

4-Methylpentan-2-on (TT)
Methyl isobutyl keton TT
Lắc 50 ml dung dịch mới cất *4-methylpentan-2-on (TT)* với 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 25 % (TT)* trong 1 min. Để yên cho tách lớp và dùng lớp trên. Chuẩn bị ngay trước khi dùng.

N-Methylpyrolidin
$C_5H_{11}N$ = 85,2
Hàm lượng $C_5H_{11}N$: Không được ít hơn 97,0 %.
Điểm sôi: Khoảng 80 °C.

N-Methylpyrolidon
1-Methylpyrolidin-2-on
C_5H_9NO = 99,1
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,028.
Điểm sôi: Khoảng 202 °C.
Điểm chảy: Khoảng -24 °C.

Muối natri của acid cromotropic
Dinatri 4,5-dihydroxynaphthalen-2,7-disulfonat dihydrat
$C_{10}H_6Na_2O_8S_2.2H_2O$ = 400,3
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột màu trắng vàng. Tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol.

Dung dịch acid cromotropic-acid sulfuric
Hòa tan 5 mg muối natri của *acid cromotropic (TT)* trong 10 ml hỗn hợp gồm 9 ml *acid sulfuric (TT)* và 4 ml *nước*.
Phải đáp ứng phép thử sau:
Độ nhạy với formaldehyd: Thêm 5 ml *dung dịch formaldehyd (TT)* có nồng độ 1 µg/ml vào 13 ml dung dịch, đun nóng trong cách thủy 30 min. Màu tím xuất hiện, so sánh với mẫu trắng được chuẩn bị tương tự, dùng *nước* thay cho *dung dịch formaldehyd*.

Naphtalen
$C_{10}H_8$ = 128,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Tinh thể trắng.
Điểm chảy: Khoảng 81 °C.

1-Naphthylamin
Naphthylamin; 1-Aminonaphthalen
$C_{10}H_9N$ = 143,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Tinh thể gần như không màu hay bột kết tinh màu trắng.
Điểm chảy: Khoảng 51 °C.
Bảo quản tránh ánh sáng.

Dung dịch naphthylamin 0,001 %
Hòa tan 1 mg *naphthylamin (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

N-(1-naphthyl)-ethylendiamin dihydroclorid
$C_{12}H_{14}N_2.2HCl$ = 259,2.
Dùng loại tinh khiết hóa học, có thể chứa methanol lúc kết tinh.
Bột trắng hay màu kem.
Điểm chảy: Không thấp hơn 188 °C.

Dung dịch N-(1-naphthyl)-ethylendiamin dihydroclorid 0,5 %
Hòa tan 0,5 g *N-(1-naphthyl)-ethylendiamin dihydroclorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

1-Naphtol
α-Naphtol
$C_{10}H_8O$ = 144,17
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể không màu, có mùi phenol. Dễ tan trong ethanol, cloroform và ether, ít tan trong nước.
Điểm chảy: Khoảng 95 °C.

Dung dịch 1-naphtol
Hòa tan 0,1 g *1-naphtol (TT)* trong 3 ml *dung dịch natri hydroxyd 15 % (TT)* và pha loãng thành 100 ml với *nước*.
Chỉ pha trước khi dùng.

2-Naphtol
β-Naphtol
$C_{10}H_7OH$ = 144,17
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh trắng hay hồng nhạt. Khó tan trong nước, dễ tan trong ethanol, ether và dung dịch natri hydroxyd.
Điểm chảy: Khoảng 122 °C.

Dung dịch 2-naphtol
Hòa tan 5 g *2-naphtol (TT)* mới kết tinh lại trong 40 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml.
Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Dung dịch 2-naphtol trong kiềm
Hòa tan 0,20 g *2-naphtol (TT)* trong 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)* và pha loãng thành 100 ml với *nước*.
Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Natri
Na = 23,0
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Kim loại mềm màu xám bạc. Phản ứng rất mạnh với nước.
Bảo quản trong ether dầu hỏa nhẹ hay parafin lỏng.

Natri acetat
$CH_3COONa.3H_2O$ = 136,08
Dùng loại tinh khiết phân tích.

Tinh thể trong, không màu, chảy nước ở ngoài không khí. Rất dễ tan trong nước, tan trong ethanol.

Dung dịch natri acetat 40 %
Hòa tan 40 g *natri acetat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.
Dung dịch không bảo quản được lâu.

Dung dịch natri acetat 20 %
Hòa tan 20 g *natri acetat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.
Dung dịch không bảo quản được lâu.

Natri acetat khan
$C_2H_3O_2Na$ = 82,0
Tinh thể hoặc hạt không màu. Rất tan trong nước, hơi tan trong ethanol 96 %.
Mất khối lượng do làm khô: Không được quá 2,0 % (Phụ lục 9.6, 105 °C).

Natri azid
NaN_3 = 65,01
Dùng loại tinh khiết hóa học, chứa không dưới 98,5 % NaN_3.
Bột trắng.
Chú ý: Natri azid là một chất độc mạnh. Khi thực nghiệm với natri azid phải tiến hành trong tủ hút có độ thông hơi tốt, đeo găng tay bảo vệ.

Natri benzoat
$C_7H_5NaO_2$ = 144,11
Dùng loại tinh khiết phân tích.

Natri bismuthat
$NaBiO_3$ = 280,0
Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa không ít hơn 85 % $NaBiO_3$.
Bột màu vàng tới nâu vàng, phân hủy chậm khi gặp ẩm hoặc nhiệt độ cao.

Natri butansulfonat
Natri 1-butansulfonat
$C_4H_9NaO_3S$ = 160,2
Dùng loại tinh khiết sắc ký.

Natri carbonat khan
Na_2CO_3 = 106,00
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột màu trắng, dễ hút ẩm. Tan trong nước, không tan trong ethanol.
Khối lượng mất đi không được quá 1 % khi nung ở 300 °C.

Dung dịch natri carbonat bão hòa
Hòa tan *natri carbonat khan (TT)* trong *nước* đến bão hòa, lọc.

Dung dịch natri carbonat 30 %
Hòa tan 30 g *natri carbonat khan (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch natri carbonat 20 %
Hòa tan 20 g *natri carbonat khan (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch natri carbonat 10 %
Hòa tan 10 g *natri carbonat khan (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch natri carbonat 5 %
Hòa tan 5 g *natri carbonat khan (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Natri citrat
$C_6H_5Na_3O_7.2H_2O$ = 294,10
Dùng loại tinh khiết phân tích.

Natri clorid
NaCl = 58,44
Dùng loại tinh khiết phân tích.

Dung dịch natri clorid bão hòa
Hòa tan 400 g *natri clorid (TT)* trong 1000 ml *nước* và để yên 24 h, thỉnh thoảng lắc. Lọc.

Dung dịch natri clorid 10 %
Hòa tan 10 g *natri clorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch natri clorid 1 %
Hòa tan 1 g *natri clorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch natri clorid đẳng trương (nước muối sinh lý)
Hòa tan 9,0 g *natri clorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.
Lọc và tiệt khuẩn.

Dung dịch natri clorid 2 M
Hòa tan 11,688 g *natri clorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch natri clorid - gelatin
Hòa tan 1 g *gelatin (TT)* và 10 g *natri clorid (TT)* trong 100 ml *nước* bằng cách đun nóng trên cách thủy ở nhiệt độ dưới 60 °C.
Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Natri cobaltinitrit
$Na_3[Co(NO_2)_6]$ = 403,9
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột màu vàng cam. Dễ tan trong nước, khó tan trong ethanol.

Dung dịch natri cobaltinitrit 10 %
Hòa tan 10 g *natri cobaltinitrit (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.
Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Natri dihydrophosphat
$NaH_2PO_4.2H_2O$ = 156,01
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể trắng hay không màu. Dễ tan trong nước, hầu như không tan trong ethanol.

Natri dihydrophosphat khan
Natri dihydro orthophosphat khan
NaH_2PO_4 = 120,0
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể màu trắng. Tan trong nước, không tan trong ethanol.

Natri dithionit
$Na_2S_2O_4$ = 174.
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột kết tinh màu trắng hay trắng xám.
Bảo quản trong đồ đựng kín.

Natri fluorid
NaF = 41,99
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể hay bột màu trắng. Tan trong nước, không tan trong ethanol.

Dung dịch natri fluorid 2,5 %
Hòa tan 2,5 g *natri fluorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Natri heptansulfonat
$C_7H_{15}NaO_3S$ = 202,3
Dùng loại tinh khiết sắc ký, chứa không ít hơn 96,0 % $C_7H_{15}NaO_3S$.
Khối tinh thể trắng hay gần như trắng. Dễ tan trong nước, tan trong methanol.

Natri hydrocarbonat
Natri bicarbonat
$NaHCO_3$ = 84,01
Dùng loại tinh khiết phân tích.

Dung dịch natri bicarbonat 5 %
Hòa tan 5 g *natri bicarbonat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 %
Hòa tan 4,2 g *natri hydrocarbonat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch bão hòa natri hydrocarbonat
Hòa tan 15 g *natri hydrocarbonat (TT)* trong 100 ml *nước*, để yên 24 h, thỉnh thoảng lắc. Lọc, sử dụng dịch lọc.

Natri hydrosulfat
Natri bisulfat
$NaHSO_4$ = 120,1
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Điểm chảy: Khoảng 315 °C.

Natri hydroxyd
NaOH = 40,00
Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa không ít hơn 97 % lượng kiềm toàn phần tính theo NaOH và không quá 2,0 % Na_2CO_3.
Phiến hay hạt màu trắng, dễ hút ẩm. Dễ tan trong nước và ethanol.

Dung dịch natri hydroxyd 40 % (Dung dịch natri hydroxyd 10 M)
Hòa tan 400 g *natri hydroxyd (TT)* trong *nước*, để nguội, pha loãng thành 1000 ml với *nước*. Để lắng và gạn lấy phần trong.

Dung dịch natri hydroxyd 30 %
Hòa tan 300 g *natri hydroxyd (TT)* trong *nước*, để nguội, pha loãng thành 1000 ml với *nước*. Để lắng và gạn lấy phần trong.

Dung dịch natri hydroxyd 20 % (Dung dịch natri hydroxyd 5 M)
Hòa tan 200 g *natri hydroxyd (TT)* trong *nước*, để nguội, pha loãng thành 1000 ml với *nước*. Để lắng và gạn lấy phần trong.

Dung dịch natri hydroxyd 15 %
Hòa tan 150 g *natri hydroxyd (TT)* trong *nước*, để nguội, pha loãng thành 1000 ml với *nước*. Để lắng và gạn lấy phần trong.

Dung dịch natri hydroxyd 10 %
Hòa tan 100 g *natri hydroxyd (TT)* trong *nước*, để nguội, pha loãng thành 1000 ml với *nước*. Để lắng và gạn lấy phần trong.

Dung dịch natri hydroxyd 1 M
Hòa tan 40 g *natri hydroxyd (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch natri hydroxyd 2 M
Hòa tan 80 g *natri hydroxyd (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch natri hydroxyd loãng
Hòa tan 8,5 g *natri hydroxyd (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch natri hydroxyd 5 %
Hòa tan 5 g *natri hydroxyd (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch natri hydroxyd 2 %
Hòa tan 2 g *natri hydroxyd (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch natri hydroxyd trong methanol (TT_1)
Hòa tan 0,2 g *natri hydroxyd (TT)* trong 50 ml *nước*, để nguội và thêm 50 ml *methanol (TT)*.

Dung dịch natri hydroxyd không có carbonat
Hòa tan *natri hydroxyd (TT)* vào *nước không có carbon dioxyd (TT)* để được dung dịch 50 %, để yên. Gạn lấy phần dịch trong ở trên, cẩn thận để tránh sự xâm nhập của carbon dioxyd.

Natri hypobromit (dung dịch)
Trộn 20 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)* với 500 ml *nước*, để lạnh trong nước đá. Thêm 5 ml *dung dịch brom (TT)*, khuấy nhẹ đến khi thu được dung dịch trong.
Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Natri hypoclorit (dung dịch)
Dùng loại tinh khiết hóa học, chứa từ 10 % đến 14 % Cl.

Dung dịch natri hypoclorit (3 % Cl) (Dung dịch natri hypoclorit mạnh)
Pha loãng *dung dịch natri hypoclorit (TT)* với *nước* để thu được dung dịch chứa từ 2,5 % đến 3 % Cl.

Định lượng: Cho lần lượt vào bình nón 50 ml *nước*, 1 g *kali iodid (TT)* và 12,5 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)*. Pha loãng 10,0 ml thuốc thử cần định lượng thành 100 ml với *nước*. Lấy 10,0 ml dung dịch thu được vào bình nón đã chuẩn bị ở trên và chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)*, dùng 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 3,546 mg Cl.
Bảo quản tránh ánh sáng.

Natri hypophosphit
Natri phosphinat monohydrat
$NaH_2PO_2.H_2O$ = 106,0
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột kết tinh màu trắng hay tinh thể không màu, dễ hút ẩm. Dễ tan trong nước, tan trong ethanol.

Dung dịch hypophosphit (Thuốc thử Tilé)
Hòa tan 20 g *natri hypophosphit (TT)* trong 40 ml *nước*. Đổ dung dịch thu được vào 180 ml *acid hydrocloric đậm đặc (TT)* và để yên 24 h. Khi các tinh thể natri clorid hình thành đã lắng cặn, gạn lấy phần nước. Dung dịch không được có màu.

Natri iodid
NaI = 149,9
Dùng loại tinh khiết phân tích.

Natri kali tartrat
Muối Seignette
$C_4H_4O_6NaK.4H_2O$ = 282,23
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể hình lăng trụ không màu. Rất dễ tan trong nước.

Dung dịch natri kali tartrat 5 %
Hòa tan 5 g *natri kali tartrat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Natri lauryl sulfat
Natri dodecyl sulfat
$C_{12}H_{25}NaO_4S$ = 288,4
Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa không ít hơn 99,0 % $C_{12}H_{25}NaO_4S$.
Bột hay tinh thể màu trắng đến trắng ngà. Dễ tan trong nước, tan trong ethanol nóng.

Natri metabisulfit
Natri pyrosulfit
$Na_2S_2O_5$ = 190,1
Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa không ít hơn 95,0 % $Na_2S_2O_5$.

Natri molybdat
$Na_2MoO_4.2H_2O$ = 242,0
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột tinh thể màu trắng, mất nước kết tinh ở 100 °C. Tan trong nước.

Natri nitrit
$NaNO_2$ = 69,00
Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa không được ít hơn 97,0 % $NaNO_2$.
Cốm hay tinh thể màu trắng ngà đến trắng. Tan trong nước, tan ít trong ethanol và ether.

Dung dịch natri nitrit 10 %
Hòa tan 10 g *natri nitrit (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.
Pha ngay trước khi dùng.

Dung dịch natri nitrit 5 %
Hòa tan 5 g *natri nitrit (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.
Pha ngay trước khi dùng.

Dung dịch natri nitrit 1 %
Hòa tan 1 g *natri nitrit (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.
Pha ngay trước khi dùng.

Natri nitroprusiat
Natri nitroprussid
$Na_2[Fe(CN)_5(NO)].2H_2O$ = 297,95.
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột hay tinh thể màu nâu đỏ. Dễ tan trong nước, khó tan trong ethanol.

Dung dịch natri nitroprusiat 0,5 %
Hòa tan 0,5 g *natri nitroprusiat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch natri nitroprusiat 1 %
Hòa tan 1 g *natri nitroprusiat (TT)* trong *nước* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch natri nitroprusiat 2 %
Hòa tan 2 g *natri nitroprusiat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch natri nitroprusiat 5 %
Hòa tan 5 g *natri nitroprusiat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch natri nitroprusiat 10 %
Hòa tan 10 g *natri nitroprusiat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Natri octansulfonat
Muối natri của acid octansulfonic
$C_8H_{17}NaO_3S$ = 216,3
Dùng loại tinh khiết sắc ký, chứa không ít hơn 98 % $C_8H_{17}NaO_3S$.

Natri pentansulfonat
Natri 1-pentansulfonat
$C_5H_{11}NaO_3S$ = 174,2
Dùng loại tinh khiết sắc ký.
Tinh thể màu trắng. Tan trong nước.

Natri perclorat
$NaClO_4.H_2O$ = 140,5
Dùng loại tinh khiết hóa học, chứa không ít hơn 99,0 % $NaClO_4.H_2O$.
Dễ chảy nước.

Natri periodat
Natri metaperiodat
$NaIO_4$ = 213,9
Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa không ít hơn 99,0 % $NaIO_4$.
Bột kết tinh hay tinh thể màu trắng. Tan trong nước, trong các acid vô cơ và acid acetic.

Dung dịch natri periodat 2,14 %
Hòa tan 2,14 g *natri metaperiodat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Natri phosphat, tribasic
Trinatri orthophosphat; Trinatri phosphat dodecahydrat
$Na_3PO_4.12H_2O$ = 380,1
Dùng loại tinh khiết hóa học.

Natri pyrophosphat
$Na_4P_2O_7.10H_2O$ = 446,1
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể không màu, hơi thăng hoa. Dễ tan trong nước.

Natri sulfat
$Na_2SO_4.10H_2O$ = 322,2
Dùng loại tinh khiết phân tích.

Dung dịch natri sulfat 10 %
Hòa tan 10 g *natri sulfat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Natri sulfat khan
Na_2SO_4 = 142,0
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh màu trắng, dễ hút ẩm. Tan trong nước, không tan trong ethanol.
Mất khối lượng khi sấy khô ở 130 °C không được quá 0,5 %.

Natri sulfid
$Na_2S.9H_2O$ = 240,19.
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể màu trắng, dễ chảy nước. Rất dễ tan trong nước, tan ít trong ethanol, bị vàng trong quá trình bảo quản.

Dung dịch natri sulfid 2 %
Hòa tan 2 g *natri sulfid (TT)* trong *nước*, thêm 2 - 3 giọt *glycerin (TT)* và pha loãng thành 100 ml với *nước*.

Dung dịch natri sulfid
Hòa tan bằng cách làm nóng 12 g *natri sulfid (TT)* trong 45 ml hỗn hợp gồm 10 thể tích *nước* và 29 thể tích *glycerin 85 % (TT)*, để nguội và pha loãng thành 100 ml với cùng hỗn hợp dung môi. Dung dịch phải không màu.

Dung dịch natri sulfid (TT_1)
Hòa tan 5 g *natri sulfid (TT)* trong hỗn hợp 10 ml *nước* và 30 ml *glycerin (TT)*. Hoặc hòa tan 5 g *natri hydroxyd (TT)* trong hỗn hợp 30 ml *nước* và 90 ml *glycerin (TT)*, bão hòa 1/2 thể tích dung dịch thu được bằng *hydrogen sulfid (TT)*, để nguội, rồi trộn với 1/2 thể tích còn lại.

Natri sulfit
$Na_2SO_3.7H_2O$ = 252,15.
Dùng loại tinh khiết hóa học, chứa không ít hơn 95,0 % $Na_2SO_3.7H_2O$.
Tinh thể trắng trong. Tan trong nước, tan rất ít trong ethanol.

Dung dịch natri sulfit 40 %
Hòa tan 40 g *natri sulfit (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.
Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Dung dịch natri sulfit 20 %
Hòa tan 20 g *natri sulfit (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.
Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Natri (+) -tartrat
$C_4H_4O_6Na_2.2H_2O$ = 230,1
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể hay cốm màu trắng. Rất dễ tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol.

Natri tetraborat
Borax
$Na_2B_4O_7.10H_2O$ = 381,4
Dùng loại tinh khiết phân tích.

Natri borohydrid
Natri tetrahydroborat
$NaBH_4$ = 37,83
Tinh thể hút ẩm, dễ tan trong nước, tan trong ethanol.

Natri tetraphenylborat
$(C_6H_5)_4BNa$ = 342,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột màu trắng hay hơi vàng. Dễ tan trong nước, methanol, ethanol khan và aceton.

Dung dịch natri tetraphenylborat 1 %
Hòa tan 1,0 g *natri tetraphenylborat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.
Dùng trong vòng một tuần và lọc trước khi dùng nếu cần.

Natri thiosulfat
$Na_2S_2O_3.5H_2O$ = 248,2
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Cốm màu trắng hay tinh thể trong, không màu. Tan trong nước, tan ít trong ethanol.

Natri tungstat
$Na_2WO_4.2H_2O$ = 329,9
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột tinh thể màu trắng. Tan trong nước, ít tan trong ethanol.

Nghệ
Thân rễ cây Nghệ (*Curcuma longa* L.), họ Gừng (Zingiberaceae).

Cồn nghệ
Lấy 20 g bột thân rễ cây nghệ đã sấy khô, ngâm 4 lần, mỗi lần với 100 ml *nước*. Mỗi lần đều gạn nước trong bỏ đi.

Sấy khô cắn thu được ở 100 °C đến 105 °C, rồi ngâm với 100 ml *ethanol 90 %* trong 3 ngày, lọc.

Nhôm (Dây)
Al = 26,98
Dùng loại tinh khiết phân tích.

Nhôm clorid
Nhôm clorid hexahydrat
$AlCl_3.6H_2O$ = 241,4
Dùng loại tinh khiết hóa học chứa không ít hơn 98,0 % $AlCl_3.6H_2O$.
Bảo quản trong đồ chứa kín.

Dung dịch nhôm clorid
Hòa tan 65 g *nhôm clorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml, thêm 0,5 g *than hoạt (TT)*, khuấy 10 min, lọc. Thêm *dung dịch natri hydroxyd 1 %* vào dịch lọc, khuấy liên tục, để điều chỉnh pH đến khoảng 1,5 (cần dùng khoảng 60 ml).

Dung dịch nhôm clorid 3 %
Hòa tan 3 g *nhôm clorid (TT)* trong vừa đủ 100 ml *ethanol (TT)*.

Nhôm nitrat
$Al(NO_3)_3.9H_2O$ = 375,1
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể dễ bị chảy nước.

Dung dịch nhôm nitrat 10 %
Hòa tan 10 g *nhôm nitrat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Nhôm - nickel hợp kim (Hợp kim Raney)
Chứa 48 % đến 52 % nhôm và 48 đến 52 % nickel.
Kim loại màu xám. Thực tế không tan trong nước, tan trong các acid vô cơ.
Trước khi dùng tán thành bột mịn.

Nhôm - nickel hợp kim không chứa halogen
Có chứa 48 % đến 52 % nhôm (Al; 26,98) và 48 % đến 52 % nickel (Ni; 58,71). Bột mịn màu xám. Thực tế không tan trong nước, tan trong các acid vô cơ và tạo thành muối của các acid đó.
Clorid: Không được quá 10 phần triệu.
Hòa tan 0,400 g chế phẩm trong 40 ml dung dịch hỗn hợp *acid sulfuric - dung dịch acid nitric loãng* (67 : 33). Bay hơi dung dịch gần đến khô, hòa tan cắn thu được trong *nước* và pha loãng thành 20,0 ml với cùng dung môi.
Lấy 1/2 thể tích của dung dịch thu được, thêm 1,0 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 M (TT)*. Sau 15 min, lọc và thêm 0,2 ml dung dịch *natri clorid (TT)* (có chứa 10 µg clorid/1 ml) vào dịch lọc. Sau 5 min, dung dịch thu được đục hơn hỗn hợp gồm 1/2 thể tích dung dịch còn lại và 1,0 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 M (TT)*.

Nhựa trao đổi ion acid mạnh
Hạt nhựa acid mạnh, kích thước 0,3 mm đến 1,2 mm.
Hiệu suất: 4,5 - 5 mmol/g với hàm lượng nước 50 % đến 60 %.
Chuẩn bị cột:
Dùng ống thủy tinh (40 cm × 20 mm), phía dưới lót đĩa thủy tinh xốp và chiều cao nhựa nhồi khoảng 20 cm. Trộn nhựa với *nước*, đổ hỗn hợp vào cột sao cho không có bọt khí giữa các hạt nhựa. Khi sử dụng, chất lỏng phải luôn phủ trên bề mặt nhựa.
Nếu nhựa ở dạng quá acid, rửa với *nước* cho đến khi cần không quá 0,05 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* để trung hòa 50 ml dịch rửa, dùng *dung dịch da cam methyl (TT)* làm chỉ thị. Nếu nhựa ở dạng natri hoặc cần phải hoàn nguyên, cho 100 ml hỗn hợp đồng thể tích *dung dịch acid hydrocloric 7 M (TT)* và *nước* chảy chậm qua cột, sau đó rửa cột như mô tả ở trên.

Nickel (II) sulfat
$NiSO_4.7H_2O$ = 280,9
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh hay tinh thể màu lục. Tan trong nước và ethanol.

Nicotinamid-adenin dinucleotid
NAD^+; $C_{21}H_{27}N_7O_{14}P_2$ = 663
Dùng loại tinh khiết hóa học.

Dung dịch nicotinamid-adenin dinucleotid
Hòa tan 40 mg *nicotinamid-adenin dinucleotid (TT)* trong *nước* vừa đủ 10 ml.
Pha ngay trước khi dùng.

Ninhydrin
$C_9H_4O_3.H_2O$ = 178,15
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh trắng ngà. Tan trong nước và ethanol, ít tan trong cloroform và ether.
Điểm chảy: Khoảng 255 °C.

Dung dịch ninhydrin 2 %
Hòa tan 2 g *ninhydrin (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch ninhydrin 0,25 %
Hòa tan 0,25 g *ninhydrin (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch ninhydrin 0,1 %
Hòa tan 0,1 g *ninhydrin (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch ninhydrin 0,2 %
Hòa tan 0,2 g *ninhydrin (TT)* trong 100 ml hỗn hợp gồm 95 thể tích *n-butanol (TT)* và 5 thể tích *acid acetic 2 M (TT)*.

Dung dịch ninhydrin 0,3 % trong ethanol
Hòa tan 0,3 g *ninhydrin (TT)* trong *ethanol (TT)* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch ninhydrin
Dung dịch ninhydrin (TT_1)
Hòa tan 1,0 g *ninhydrin (TT)* trong 50 ml *ethanol 96 % (TT)*, thêm 10 ml *acid acetic băng (TT)*.

Dung dịch ninhydrin (TT_2)
Hòa tan 3 g *ninhydrin (TT)* trong 100 ml *dung dịch natri metabisulfit 4,55 %*.

Thuốc thử ninhydrin - thiếc clorid
Hòa tan 0,2 g *ninhydrin (TT)* trong 4 ml *nước* nóng, thêm 5 ml *dung dịch thiếc (II) clorid 0,16 %*, để yên 30 min, lọc và bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C. Trước khi dùng, thêm vào 2,5 ml dung dịch thu được 5 ml *nước* và 45 ml *isopropanol (TT)*, trộn đều.

p-Nitroanilin
$C_6H_6N_2O_2$ = 138,13
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh màu vàng đậm. Rất khó tan trong nước, dễ tan trong methanol, tan trong ethanol và ether.
Điểm chảy: Khoảng 148 °C.

Dung dịch p-nitroanilin diazo hóa
Hòa tan 0,4 g *p-nitroanilin (TT)* trong 60 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* bằng cách đun nóng, làm lạnh đến 15 °C và nhỏ *dung dịch natri nitrit 10 % (TT)* đến khi 1 giọt hỗn hợp này làm xanh *giấy hồ tinh bột có iodid (TT)*.
Chỉ pha trước khi dùng.

Thuốc thử diazo p-nitroanilin
Hòa tan 0,4 g *p-nitroanilin (TT)* trong một hỗn hợp gồm 20 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và 40 ml *nước*. Làm lạnh ở 15 °C và thêm *dung dịch acid nitric 10 % (TT)* cho đến khi một giọt dung dịch làm giấy hồ tinh bột có iodid chuyển thành màu xanh.

Nitrobenzaldehyd
2-Nitrobenzaldehyd
$C_7H_5NO_3$ = 151,1
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Tinh thể hình kim màu vàng, có mùi hạnh nhân.
Điểm chảy: Khoảng 42 °C.

Dung dịch nitrobenzaldehyd
Thêm 0,12 g bột mịn *nitrobenzaldehyd (TT)* vào 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*. Lắc đều. Để yên 10 min, thỉnh thoảng lắc, lọc.
Chỉ pha trước khi dùng.

Nitrobenzen
$C_6H_5NO_2$ = 123,1
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng màu vàng nhạt, có mùi hạnh nhân.
Điểm sôi: khoảng 211 °C.
Phải đạt thử nghiệm sau đây:
Dinitrobenzen: Thêm 5 ml *aceton (TT)*, 5 ml *nước* và 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)* vào 0,1 ml *nitrobenzen (TT)*, lắc và để yên. Lớp chất lỏng ở trên phải gần như không màu.

Nitrobenzoyl clorid
$C_7H_4ClNO_3$= 185,6
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể màu vàng, mùi cay hắc.
Điểm chảy: Khoảng 73 °C.

Nitrogen
N_2= 28,0
Dùng loại tinh khiết cho phòng thí nghiệm.

Nitrogen dùng cho sắc ký khí
Nitrogen có chứa không ít hơn 99,5 % (tt/tt) N_2.

Nitrogen không có oxygen
Nitrogen được sục qua *dung dịch kiềm pyrogalol (TT)* để đuổi oxygen.

Nitromethan
CH_3NO_2 = 61,04
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chất lỏng không màu.
Tỷ trọng ở 20 °C: Từ 1,132 đến 1,134.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Từ 1,381 đến 1,383.
Điểm sôi: Khoảng 102 °C.

Nước
Xem chuyên luận "Nước tinh khiết".

Nước không có amoniac (Nước không có amoni)
Lấy 100 ml nước, thêm 0,1 ml *acid sulfuric (TT)* và cất (dùng dụng cụ cất như mô tả trong Phụ lục 6.8), bỏ 10 ml dịch cất đầu, lấy 50 ml dịch cất tiếp theo.

Nước không có carbon dioxyd
Đun sôi một lượng *nước* cần thiết trong 10 min, làm nguội đến 20 °C, tránh sự thâm nhập của carbon dioxyd từ không khí.
Phải đáp ứng phép thử sau: Thêm 1 giọt *dung dịch phenolphtalein (TT)* và 0,05 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,01 N (TT)* vào 10 ml *nước*, hỗn hợp phải có màu hồng bền vững trong ít nhất 120 s.

Nước không có nitrat
Lấy 100 ml *nước*, thêm 5 mg *kali permanganat (TT)* và 5 mg *bari hydroxyd (TT)*, cất (dùng dụng cụ cất như đã mô tả trong Phụ lục 6.8), bỏ 10 ml dịch cất đầu, lấy 50 ml dịch cất tiếp theo.

Nước không có các tiểu phân
Nước được lọc qua màng lọc có đường kính lỗ lọc 0,22 µm.

Nước dùng cho sắc ký
Nước khử ion, có điện trở suất không ít hơn 0,18 Mohm·m.

Nước trao đổi ion
Nước cất khử ion, có điện trở suất không ít hơn 18 Mohm·m.

Nước cất
Xem chuyên luận "Nước cất".

Nước muối sinh lý (Dung dịch natri clorid 0,9%)
Là Dung dịch natri clorid đẳng trương.

Oracet lam 2R
1-Amino-4-(phenylamino)anthracen-9,10-dion
$C_{20}H_{14}N_2O_2$ = 314,3

Dùng loại tinh khiết hóa học.
Điểm chảy: Khoảng 174 °C.

Osmi tetroxyd
Acid osmic
OsO_4 = 254,2
Khối kết tinh màu vàng hoặc tinh thể hình kim màu vàng nhạt, hút ẩm, nhạy cảm với ánh sáng. Tan trong nước và trong ethanol 96 %.
Bảo quản trong bao bì kín.

Dung dịch osmi tetroxyd
Hòa tan *osmi tetroxyd (TT)* trong *dung dịch acid sulfuric 0,05 M (TT)* để được dung dịch có nồng độ khoảng 0,25 %.

Paladi
Pd = 106,4
Dùng loại tinh khiết hóa học.

Pararosanilin hydroclorid
Basis red 9
$C_{19}H_{18}ClN_3$ = 323,8
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột kết tinh màu đỏ lam.
Điểm chảy: Khoảng 270 °C kèm phân hủy.

Dung dịch pararosanilin đã khử màu
Lấy 0,1 g *pararosanilin hydroclorid (TT)* vào bình nón nút mài, thêm 60 ml *nước* và 10 ml *nước* chứa 1,0 g *natri sulfit khan (TT)* hoặc 2,0 g *natri sulfit (TT)*, hoặc 0,75 g *natri metabisulfit (TT)*. Thêm từ từ 6 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*, khuấy liên tục. Đậy nắp bình, tiếp tục khuấy cho đến khi tan hoàn toàn, pha loãng thành 100 ml với *nước*. Để yên 12 h trước khi dùng.
Bảo quản tránh ánh sáng.

Penicilinase, dung dịch
Dung dịch penicilinase
Hòa tan 10 g casein thủy phân, 2,72 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 5,88 g *natri citrat (TT)* trong 200 ml *nước*, chỉnh đến pH 7,2 bằng *dung dịch natri hydroxyd 5 M (TT)* và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*. Hòa tan 0,41 g *magnesi sulfat (TT)* trong 5 ml *nước*, thêm 1 ml dung dịch *amoni sắt (II) sulfat (TT)* 0,16 % và thêm *nước* vừa đủ 10 ml. Hấp tiệt trùng cả 2 dung dịch bằng nồi hấp autoclave. Để nguội, trộn đều 2 dung dịch và rót vào các bình nón thành lớp mỏng và cấy vào đó chủng vi khuẩn *Bacillus cereus* (NCTC 9946). Ủ các bình ở nhiệt độ từ 18 °C đến 37 °C đến khi quan sát thấy vi khuẩn phát triển thì ủ ở nhiệt độ 35 °C đến 37 °C trong 16 h, lắc liên tục để đảm bảo thông khí tối đa. Ly tâm và tiệt trùng lớp dịch ở trên bằng cách lọc qua màng lọc thích hợp.
1,0 ml dung dịch penicilinase phải thủy phân benzylpenicilin thành acid benzylpeniciloic với tốc độ thấp nhất là 500 mg/h ở 30 °C và pH 7,0, với điều kiện nồng độ benzylpenicilin không xuống thấp dưới mức cần để bão hòa enzym. Hằng số Michaelis đối với benzylpenicilin của penicilinase trong dung dịch penicilinase xấp xỉ bằng 12 µg/ml.

Thử vô khuẩn: Phải đáp ứng yêu cầu Thử vô khuẩn (Phụ lục 13.7).
Bảo quản ở nhiệt độ từ 0 °C đến 2 °C và dùng trong vòng 2 đến 3 ngày. Nếu đông khô và đựng trong lọ kín có thể bảo quản trong vài tháng.

Pentan
n-Pentan
C_5H_{12} = 72,15
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chất lỏng không màu, dễ bay hơi.
Điểm sôi: Khoảng 36 °C.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,63.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,359.

Pentan dùng cho phương pháp quang phổ
Phải đáp ứng phép thử sau:
Độ truyền quang: Không ít hơn 20 % ở 200 nm, 50 % ở 210 nm, 85 % ở 220 nm, 93 % ở 230 nm, 98 % ở 240 nm, dùng nước làm mẫu trắng.

Pentanol
Pentan-1-ol, n-Pentanol
$C_5H_{12}O$ = 88,15
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chất lỏng không màu.
Điểm sôi: Khoảng 137 °C.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,410.

Phèn chua
Nhôm kali sulfat dodecahydrat
$AlK(SO_4)_2.12H_2O$ = 474,4
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột hay tinh thể màu trắng, trong. Dễ tan trong nước, không tan trong ethanol.

Dung dịch phèn chua 2 %
Hòa tan 2 g *phèn chua (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Phenazon
2,3-Dimethyl-1-phenyl-3-pyrazolin-5-on
$C_{11}H_{12}N_2O$ = 188,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột kết tinh không màu.
Điểm chảy: Khoảng 112 °C.

Phenol
C_6H_6O = 94,11
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể dễ chảy nước, ăn da, có mùi đặc trưng.
Điểm đông đặc: Không thấp hơn 40 °C.
Điểm sôi: Khoảng 180 °C.

Dung dịch acid phenoldisulphonic
Xem Acid phenoldisulphonic, dung dịch

Phenoxyethanol
2-Phenoxyethanol
$C_8H_{10}O_2$ = 138,2

Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chất lỏng dạng dầu, không màu.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,11.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,537.
Điểm đông đặc: Không được nhỏ hơn 12 °C.

L-Phenylalanin
$C_9H_{11}NO_2$ = 165,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột kết tinh màu trắng.
Điểm chảy: Khoảng 272 °C, kèm theo phân hủy.
Góc quay cực riêng ở 20 °C: Khoảng -34° (dùng dung dịch 2 % trong nước để đo).
Phải đạt phép thử sau:
Tính đồng nhất: Xác định bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4), tiến hành tránh ánh sáng. Bản mỏng *silica gel G (TT)*, pha động: *Nước - phenol* (25 : 75). Chấm lên bản mỏng 5 µl dung dịch chế phẩm 0,2 %, đặt bản mỏng trong bình bão hòa hơi pha động trước khi khai triển 12 h. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 12 cm từ vạch chấm sắc ký. Lấy bản mỏng ra, sấy khô và phun *dung dịch ninhydrin 0,1 %* trong *butan-1-ol đã bão hòa nước (TT)*, sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 10 min. Sắc ký đồ chỉ được có một vết chính.

p-Phenylendiamin dihydroclorid
1,4-Diaminobenzen dihydroclorid
$C_6H_8N_2.2HCl$ = 181,1
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh hay tinh thể màu trắng hoặc vàng nâu nhạt, chuyển màu hồng khi tiếp xúc với không khí. Dễ tan trong nước, ít tan trong ethanol và ether.

Phenylhydrazin hydroclorid
$C_6H_5NH - NH_2.HCl$ = 144,61
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh màu trắng hay gần như trắng, chuyển sang nâu khi tiếp xúc với không khí. Dễ tan trong nước, tan trong ethanol.
Điểm chảy: Khoảng 245 °C kèm theo phân hủy.

Dung dịch phenylhydrazin - acid sulfuric
Hòa tan 65 mg *phenylhydrazin hydroclorid (TT)* đã được kết tinh lại trong *ethanol 85 %* trong hỗn hợp gồm 80 ml *nước* và 170 ml *acid sulfuric (TT)* vừa đủ 100 ml.
Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Dung dịch phenylhydrazin hydroclorid
Hòa tan 0,9 g *phenylhydrazin hydroclorid (TT)* trong 50 ml *nước*. Khử màu bằng *than hoạt (TT)* và lọc. Thêm vào dịch lọc 30 ml *acid hydrocloric (TT)* và pha loãng với *nước* thành 250 ml.

Phloroglucinol
Benzen-1,3,5-triol
$C_6H_6O_3.2H_2O$ = 162,1
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể màu trắng hay màu kem nhạt. Dễ tan trong nước, tan trong ethanol 96 %.
Điểm chảy: Khoảng 223 °C (Phụ lục 6.7, phương pháp 3).

Dung dịch phloroglucinol
Thêm 9 ml *acid hydrocloric (TT)* vào 1 ml dung dịch *phloroglucinol 10 % (kl/tt)* trong *ethanol 96 % (TT)*.

Phosphor pentoxyd
Diphosphor pentoxid
P_2O_5 = 142,0
Sử dụng loại chuyên dùng cho bình hút ẩm.
Bột vô định hình màu trắng, chảy rữa khi hydrat hóa với nước và tỏa nhiệt.
Bảo quản trong đồ đựng kín.

Phthalaldehyd
$C_8H_6O_2$ = 134,1
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Tinh thể màu vàng nhạt. Tan trong nước, ethanol và ether.
Điểm chảy: Khoảng 55 °C.

Thuốc thử phthalaldehyd
Hòa tan 2,47 g *acid boric (TT)* trong 75 ml *nước*, điều chỉnh pH đến 10,4 bằng *dung dịch kali hydroxyd 45 %* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml (dung dịch A).
Hòa tan 1,0 g *phthalaldehyd (TT)* trong 5 ml *methanol (TT)*, thêm 95 ml dung dịch A và 2 ml *acid mercaptoacetic (TT)*, điều chỉnh pH đến 10,4 bằng *dung dịch kali hydroxyd 45 %*.
Bảo quản tránh ánh sáng và dùng trong vòng 3 ngày.

Piperidin
Hexahydropyridin
$C_5H_{11}N$ = 85,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chất lỏng có tính kiềm, không màu đến hơi vàng. Trộn lẫn được với nước, ethanol 96 %, ether và dầu hỏa nhẹ.
Điểm sôi: Khoảng 106 °C.

Poly(dimethyl)siloxan
Silicone gum rubber (methyl)
Dùng loại tinh khiết hóa học dùng cho sắc ký khí.
Organosilicon polymer có bề ngoài là lớp gôm không màu, bán lỏng. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) không được có đỉnh hấp thụ tại 3053 cm^{-1} của nhóm vinyl, chuẩn bị mẫu đo bằng cách phân tán chất thử vào vài giọt *carbon tetraclorid*, tạo đĩa natri clorid để đo phổ.

Polyethylen glycol 300
Macrogol 300
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chất lỏng nhớt, khối lượng riêng khoảng 1,13 g/ml.
Chỉ số khúc xạ: Khoảng 1,465.
Độ nhớt ở 25 °C: Khoảng 80 mPa·s (Phụ lục 6.3, phương pháp 2).

Polyethylen glycol 1500
Macrogol 1500

Dùng loại tinh khiết hóa học.
Khối sáp màu trắng.
Điểm đông đặc: Khoảng 43 °C đến 48 °C.
Độ nhớt: Khoảng 70 mPas đối với dung dịch 50 % (kl/kl).

Polysorbat-80 (Tween 80)
Thuốc thử Tween-80
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chất lỏng sánh, màu vàng hoặc màu đỏ nhạt.
Khối lượng riêng: Khoảng 1,10 g/ml.

Propanol
Propan-1-ol, n-Propyl alcol
C_3H_8O = 60,1
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng không màu.
Điểm sôi: Khoảng 97 °C.
Tỷ trọng ở 20 °C: 0,802 đến 0,806.
Lượng cất được ở khoảng từ 96 °C đến 99 °C, không được ít hơn 95 %.

Propionaldehyd
Propanal
C_3H_6O = 58,1
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Điểm chảy: Khoảng -81 °C.
Điểm sôi: Khoảng 49 °C.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,365.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,81.

Pyrazin-2-carbonitril
2-Cyanopyrazin
$C_5H_3N_3$ = 105,1
Chất lỏng màu vàng nhạt, trong suốt.
Hàm lượng không được nhỏ hơn 99 %.
Điểm sôi: Khoảng 199 °C.

Pyridin
C_5H_5N = 79,10
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng không màu, mùi đặc biệt khó chịu, rất hút ẩm.
Hòa lẫn được với nước và ethanol.
Điểm sôi: Khoảng 115 °C.
Ghi chú: Nếu chỉ định dùng pyridin khan, dùng loại có hàm lượng nước không quá 0,01 % (kl/kl).

Pyridin-2-amin
2-Aminopyridin
$C_5H_6N_2$ = 94,1
Tinh thể to, tan trong nước và trong ethanol 96 %.
Điểm sôi: Khoảng 210 °C.
Điểm chảy: Khoảng 58 °C.

Pyrocatechol
Catechol, Benzen-1,2-diol
$C_6H_6O_2$ = 110,1
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột kết tinh trắng. Tan trong nước, aceton, ethanol và ether.
Điểm chảy: Khoảng 103 °C.

Pyrogalol
Benzen-1,2,3-triol
$C_6H_6O_3$ = 126,1
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể màu trắng, chuyển sang màu nâu khi tiếp xúc với không khí và ánh sáng. Tan trong nước, ethanol và ether, tan ít trong cloroform.
Điểm chảy: Khoảng 131 °C.

Dung dịch kiềm pyrogalol
Hòa tan 0,5 g *pyrogalol (TT)* trong 2 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*. Hòa tan 12,0 g *kali hydroxyd (TT)* trong 8 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*. Trộn hai dung dịch này ngay trước khi dùng.

Pyrrolidin
C_4H_9N = 71,1
Hàm lượng C_4H_9N: Không được dưới 99 %.
Điểm sôi: 87 °C đến 88 °C.

2-Pyrrolidon
Pyrrolidin-2-on
C_4H_7NO = 85,1
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Hàm lượng không được dưới 98,0 %.
Trên 25 °C ở trạng thái lỏng.
Tỷ trọng ở 25 °C: Khoảng 1,116.

Resorcin
Benzen-1,3-diol
$C_6H_4(OH)_2$ = 110,1
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể hay bột kết tinh không màu. Tan trong nước, ethanol và ether.
Điểm chảy: Khoảng 111 °C.

Dung dịch resorcin
Hòa tan 50 g *resorcin (TT)* trong 50 ml *nước*, để yên 24 h, thỉnh thoảng lắc, lọc.

Dung dịch resorcin 2 %
Hòa tan 2 g *resorcin (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch resorcin 5 % trong ethanol
Hòa tan 5 g *resorcin (TT)* trong *ethanol (TT)* vừa đủ 100 ml.

Rhodamin B
Basic violet 10
$C_{28}H_{31}ClN_2O_3$ = 479,0
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Tinh thể màu xanh lá hay bột màu tím đỏ. Dễ tan trong nước và ethanol.

Salicylaldehyd
2-Hydroxybenzaldehyd
$C_7H_6O_2$ = 122,1

Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chất lỏng dầu, không màu với mùi đặc trưng.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,167.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: 1,574.
Điểm chảy: Khoảng -7 °C.
Điểm sôi: Khoảng 196 °C.

Salicylaldehyd azin
$C_{14}H_{12}N_2O_2$= 240,3
Hòa tan 0,30 g *hydrazin sulfat (TT)* trong 5 ml *nước*, thêm 1 ml *acid acetic băng (TT)* và 2 ml *dung dịch salicylaldehyd 20 %* trong *propan-2-ol (TT)* mới pha. Lắc đều, để yên cho đến khi tạo thành tủa màu vàng. Lắc với *dicloromethan (TT)* 2 lần, mỗi lần 15 ml, để yên cho tách lớp, làm khô các lớp dicloromethan bằng *natri sulfat khan (TT)*, cho bay hơi đến khô. Kết tinh lại cắn thu được bằng hỗn hợp 60 thể tích *toluen (TT)* và 40 thể tích *methanol (TT)* bằng cách làm lạnh. Điểm chảy của tinh thể thu được, sau khi làm khô trên *phosphor pentoxyd (TT)* và ở áp suất 1,5 đến 2,5 kPa, khoảng 213 °C.
Phải đáp ứng phép thử sau:
Độ đồng nhất: Tiến hành như mô tả trong phép thử Hydrazin trong chuyên luận Povidon. Sắc ký đồ chỉ có một vết duy nhất.

Sắt (II) amoni sulfat
Amoni sắt (II) sulfat
$(NH_4)_2Fe(SO_4)_2.6H_2O$ = 392,1
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bảo quản tránh ánh sáng.

Sắt (III) amoni sulfat
Phèn sắt amoni; Amoni sắt (III) sulfat
$FeNH_4(SO_4)_2.12H_2O$ = 482,2
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể màu trắng tới tím nhạt. Dễ tan trong nước, thực tế không tan trong ethanol.

Dung dịch sắt (III) amoni sulfat 20 %
Hòa tan 20 g *sắt (III) amoni sulfat (TT)* trong 75 ml *nước*, thêm 10 ml *dung dịch acid sulfuric 2,8 %* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch sắt (III) amoni sulfat
Hòa tan 30 g *sắt (III) amoni sulfat (TT)* trong 40 ml *acid nitric (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml. Nếu dung dịch đục thì phải lọc hoặc ly tâm.

Dung dịch sắt (III) amoni sulfat 10 %
Hòa tan 10 g *sắt (III) amoni sulfat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Sắt (III) clorid
$FeCl_3.6H_2O$ = 270,30
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Khối kết tinh màu vàng nâu hay vàng cam, dễ chảy nước. Rất dễ tan trong nước, tan trong ethanol và ether.

Dung dịch sắt (III) clorid 20 %
Hòa tan 20 g *sắt (III) clorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch sắt (III) clorid 10,5 %
Hòa tan 10,5 g *sắt (III) clorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch sắt (III) clorid 5 %
Hòa tan 5 g *sắt (III) clorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch sắt (III) clorid 1,3 %
Hòa tan 1,3 g *sắt (III) clorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch sắt (III) clorid trong ethanol
Hòa tan 1 g *sắt (III) clorid (TT)* trong *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch sắt (III) clorid 5 % trong acid nitric 50 %
Hòa tan 5 g *sắt (III) clorid (TT)* trong *acid nitric 50 % (TT)* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch sắt (III) clorid - fericyanid - arsenit
Dung dịch A: Hòa tan 2,7 g *sắt (III) clorid (TT)* trong 100 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*.
Dung dịch B: Hòa tan 3,5 g *kali fericyanid (TT)* trong 100 ml *nước*.
Dung dịch C: Hòa tan 3,8 g *arsen trioxyd (TT)* trong 25 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)* nóng. Để nguội, thêm 50 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* và pha loãng 100 ml với *nước*.
Trước khi dùng, trộn đều 5 thể tích dung dịch A, 5 thể tích dung dịch B và 1 thể tích dung dịch C.

Sắt (III) sulfat pentahydrat
Sắt (III) sulphat pentahydrat; sắt sufat pentahydrat
$Fe_2(SO_4)_3.5H_2O$ = 489,9
Bột màu trắng hoặc vàng.

Sắt (III) nitrat
$Fe(NO_3)_3.9H_2O$ = 404,0
Dùng loại tinh khiết phân tích.

Dung dịch sắt (III) nitrat 0,1 % trong acid nitric 0,1 %
Hòa tan 0,1 g *sắt (III) nitrat (TT)* trong *dung dịch acid nitric 0,1 %* vừa đủ 100 ml.

Sắt (II) sulfat
$FeSO_4.7H_2O$ = 278,0
Dùng loại tinh khiết phân tích.

Dung dịch sắt (II) sulfat 8 %
Hòa tan 8,0 g *sắt (II) sulfat (TT)* trong *nước* mới đun sôi để nguội vừa đủ 100 ml.
Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Dung dịch sắt (II) sulfat 1,5 %
Hòa tan 1,5 g *sắt (II) sulfat (TT)* trong *nước* mới đun sôi để nguội vừa đủ 100 ml.
Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Dung dịch sắt (II) sulfat (TT_1)
Hòa tan 3 g *sắt (II) sulfat (TT)* trong hỗn hợp gồm 3 ml *dung dịch acid sulfuric 16 % (TT)* và 3 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*.

Dung dịch sắt (II) sulfat (TT_2)
Hòa tan 0,45 g *sắt (II) sulfat (TT)* trong 50 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và pha loãng thành 100 ml bằng *nước không có carbon dioxyd (TT)*.
Chỉ pha trước khi dùng.

Selen
Se = 78,96
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột màu đỏ rất tối đến đen.
Điểm chảy: Khoảng 220 °C.

Silica gel F_{254}
Bột trắng mịn, đồng nhất, kích thước hạt khoảng 15 µm, có chứa chất bám dính (gắn) thích hợp và khoảng 1,5 % chỉ thị huỳnh quang có cường độ cực đại ở 254 nm. Phải đáp ứng phép thử sau:
Huỳnh quang: Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Dung môi khai triển: Hỗn hợp *acid formic khan - propan-2-ol* (1: 9).
Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 vết, từ 1 µl đến 10 µl dung dịch acid benzoic 0,1 % trong pha động. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 10 cm. Làm khô bản mỏng bằng luồng khí nóng và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Các vết acid benzoic màu sẫm nằm ở 1/3 phía trên của sắc ký đồ và phát hiện được các vết từ 2 µl trở lên.

Silica gel G
Bột trắng mịn, đồng nhất, kích thước hạt trung bình 10 - 40 µm, có chứa khoảng 13 % $CaSO_4.1/2H_2O$.
Hàm lượng $CaSO_4.1/2H_2O$:
Cân chính xác khoảng 0,25 g chế phẩm, thêm 3 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và 100 ml *nước*, lắc mạnh trong 30 min. Lọc, rửa cặn bằng *nước*. Gộp nước rửa vào dịch lọc và tiến hành định lượng calci bằng phương pháp chuẩn độ complexon (Phụ lục 10.5).
1 ml *dung dịch trilon B 0,1 M (CĐ)* tương đương với 14,51 mg $CaSO_4.1/2H_2O$.
Độ acid - kiềm:
Lắc 1 g chế phẩm với 10 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)* trong 5 min, pH của hỗn dịch thu được vào khoảng 7.

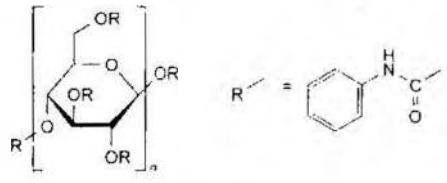
Silica gel GF_{254}
Bột trắng mịn, đồng nhất, kích thước hạt khoảng 15 µm, có chứa khoảng 13 % $CaSO_4.1/2H_2O$ và khoảng 1,5 % chỉ thị huỳnh quang có cường độ cực đại ở 254 nm. Phải đáp ứng yêu cầu về hàm lượng calci sulfat và độ acid - kiềm như mô tả trong chuyên luận "Silica gel G" và phép thử sau:
Huỳnh quang: Tiến hành bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Dung môi khai triển: Hỗn hợp *acid formic khan - propan-2-ol* (1: 9).
Chấm riêng biệt lên bản mỏng 10 vết, từ 1 µl đến 10 µl dung dịch acid benzoic 0,1 % trong pha động. Triển khai sắc ký tới khi dung môi đi được 10 cm. Làm khô bản mỏng bằng luồng khí nóng và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Các vết acid benzoic nằm ở 1/3 phía trên của sắc ký đồ và phát hiện được các vết từ 2 µl trở lên.

Silica gel H
Bột trắng mịn, đồng nhất, có kích thước hạt trung bình khoảng 15 µm.
Phải đáp ứng phép thử Độ acid - kiềm như mô tả trong chuyên luận "Silica gel G".

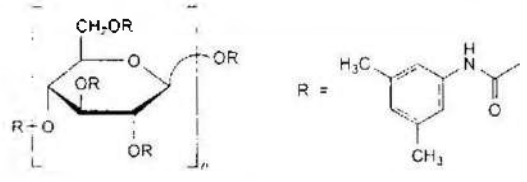
Silica gel HF_{254}
Bột trắng mịn, đồng nhất, có kích thước hạt trung bình khoảng 15 µm, chứa 1,5 % chỉ thị huỳnh quang có cường độ cực đại ở 254 nm.
Phải đáp ứng phép thử Độ acid - kiềm như mô tả trong chuyên luận "Silica gel G" và phép thử Huỳnh quang như mô tả trong chuyên luận "Silica gel GF_{254}".

Silica gel khan
Acid silicic vô định hình, polyme hóa, đã loại nước một phần, ở 20 °C hấp thụ lượng nước tương ứng với khoảng 30 % trọng lượng. Thực tế không tan trong nước, tan một phần trong các dung dịch natri hydroxyd. Chứa chỉ thị thích hợp để xác định trạng thái ẩm: Màu thay đổi khi chế phẩm chuyển từ dạng khan sang dạng ngậm nước.

Silica Gel OC để tách các Chiral
Là silica gel dùng cho sắc ký được làm thành bột rất mịn (5 µm), có chứa các tiểu phân được bao bằng dẫn chất sau đây:



Silica Gel OD để tách các Chiral
Là silica gel dùng cho sắc ký được làm thành bột rất mịn (5 µm), có chứa các tiểu phân được bao bằng dẫn chất sau đây:



Silica Gel OJ để tách các Chiral
Là silica gel dùng cho sắc ký được làm thành bột rất mịn, có chứa các hạt hình cầu được bao bằng tris(4-methylbenzoat) celulose. Kích thước các tiểu phân được qui định trong chuyên luận riêng.

Squalan
2,6,10,15,19,23-Hexamethyltetracosan
$C_{30}H_{62}$ = 422,8
Dùng loại tinh khiết sắc ký khí.
Chất lỏng sánh, không màu.
Tỷ trọng ở 20 °C: 0,811 đến 0,813.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: 1,451 đến 1,453.

Sudan III
Sudan đỏ; 1-(4-phenylazophenylazo)-2-naphthol
$C_{22}H_{16}N_4O$ = 352,4
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột màu nâu đỏ.

Dung dịch sudan III
Dung dịch *sudan III (TT)* 0,5 % trong *acid acetic khan (TT)*.

Sulfanilamid
4-Aminobenzenesulfonamid,
4-aminobenzenesulphonamid, sulphanilamid
$C_6H_8N_2O_2S$ = 172,2
Bột trắng hoặc gần như trắng. Khó tan trong nước, dễ tan trong nước sôi, trong aceton và trong dung dịch acid loãng, dung dịch kiềm loãng; hơi tan trong ethanol 96 % và trong ether dầu hỏa có nhiệt độ sôi từ 50 °C đến 60 °C.
Điểm chảy: Khoảng 165 °C.

Sulfur dioxyd
Sulphur dioxyd, sulfurous anhydrid
SO_2 = 64,05
Khí không màu. Khi nén trở thành chất lỏng không màu.

Dung dịch sulfur dioxyd
Dung dịch sulphur dioxyd, acid sulfurous, acid sulphurous
H_2SO_3 = 82,08
Dung dịch pha sẵn chứa 5 % SO_2. 1 ml dung dịch có khối lượng khoảng 1,03 g.

Tanin
Acid tanic
$C_{76}H_{52}O_{46}$ = 1701
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột vô định hình hay dạng vảy lấp lánh, màu vàng tới nâu nhạt. Tan trong nước và ethanol.

Dung dịch tanin 5 %
Hòa tan 5 g *tanin (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Tetrabutylamoni bromid
$(C_4H_9)_4NBr$ = 322,4
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Điểm chảy: Khoảng 102 °C đến 104 °C.

Tetrabutylamoni hydrosulfat
Tetrabutylamino hydrosulphat
$C_{16}H_{37}NO_4S$ = 339,5
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh màu trắng.
Điểm chảy: 169 °C đến 173 °C.
Độ hấp thụ: Độ hấp thụ của dung dịch chế phẩm 5 % (kl/tt) trong khoảng 240 nm đến 300 nm (Phụ lục 4.1) không được lớn hơn 0,05.
pH của dung dịch chế phẩm 1,7 % khoảng 1,5.

Tetrabutylamoni hydroxyd
$C_{16}H_{37}NO.30H_2O$ = 800
Dùng loại tinh khiết hóa học, chứa không ít hơn 98,0 % $C_{16}H_{37}NO.30H_2O$.
Định lượng: Hòa tan 1 g trong 100 ml *nước* và chuẩn độ ngay bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)*. Xác định điểm kết thúc bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế. 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 80,0 mg $C_{16}H_{37}NO.30H_2O$.

Tetrabutylamoni iodid
$C_{16}H_{36}IN$ = 369,4
Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa không ít hơn 98,0 % $C_{16}H_{36}IN$.
Bột kết tinh hay tinh thể màu trắng hay trắng ngà. Tan trong ethanol.
Phải đáp ứng các phép thử sau:
Tro sulfat: Không quá 0,02 % (Phụ lục 9.9).
Định lượng: Hòa tan 1,200 g chế phẩm trong 30 ml *nước*. Thêm 50,0 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* và 5 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)*. Định lượng bạc nitrat thừa bằng *dung dịch amoni thiocyanat 0,1 N (CĐ)*, dùng 2 ml *dung dịch sắt (III) amoni sulfat (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* tương ứng với 0,03694 g $C_{16}H_{36}IN$.

Tetracloroethan
1,1,2,2-tetracloroethan
$C_2H_2Cl_4$ = 167,9
Dùng loại tinh khiết hóa học
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,59.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,495.
Phần chưng cất được trong khoảng 145 °C đến 147 °C không được ít hơn 95 %.

n-Tetradecan
$C_{14}H_{30}$ = 198,4
Dùng loại tinh khiết hóa học, chứa không ít hơn 99,5 % $C_{14}H_{30}$.
Chất lỏng không màu.
Điểm sôi: Khoảng 253 °C.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,429.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,76.
Điểm chảy: Khoảng - 5 °C.

Tetradecylamoni bromid
$C_{40}H_{84}BrN$ = 659,0
Dùng loại tinh khiết sắc ký
Điểm chảy: Từ 88 °C đến 89 °C.

Tetraheptylamoni bromid
$C_{28}H_{60}BrN$ = 490,7

Dùng loại tinh khiết sắc ký.
Điểm chảy: 89 °C đến 91 °C.

Tetrahydrofuran
Tetramethylen oxyd
C_4H_8O = 72,1.
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng trong, không màu, dễ cháy.
Điểm sôi: Khoảng 66 °C.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,89.
Chú ý: Chỉ cất nếu đạt phép thử sau:
Peroxyd: Cho 8 ml *dung dịch hồ tinh bột có kali iodid (TT)* vào ống nghiệm nút mài dung tích 12 ml, đường kính khoảng 1,5 cm, đổ đầy ống nghiệm với tetrahydrofuran cần thử. Đậy nút, lắc mạnh và để yên tránh ánh sáng trong 30 min. Không được có màu tạo thành.

Tetrahydrofuran dùng cho phương pháp quang phổ
Độ truyền quang: Không nhỏ hơn 20 % ở 255 nm, 80 % ở 270 nm và 98 % ở 310 nm, dùng nước làm mẫu trắng.

Tetramethylamoni hydrosulfat
$C_4H_{13}NO_4S$ = 171,2.
Dùng loại tinh khiết sắc ký.
Tetramethylamoni hydrosulfat dùng cho sắc ký lỏng phải thỏa mãn yêu cầu sau:
Độ truyền quang: Không được ít hơn 50 % ở 200 nm và 90 % ở 220 nm. Dùng dung dịch 0,005 M để xác định.

Tetramethylamoni hydroxyd pentahydrat
$C_4H_{13}NO.5H_2O$ = 181,2.
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Điểm chảy: Khoảng 66 °C.

Dung dịch tetramethylamoni hydroxyd
Dùng loại tinh khiết hóa học, có chứa không ít hơn 10,0 % $C_4H_{13}NO$ (kl/kl).
Chất lỏng trong, không màu hoặc có màu rất nhạt.
Định lượng: Lấy 1,0 g chế phẩm, thêm 50 ml *nước* và định lượng bằng *dung dịch acid sulfuric 0,1 N (CĐ)*, dùng *dung dịch đỏ methyl (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch acid sulfuric 0,1 N (CĐ)* tương đương với 9,115 mg $C_4H_{13}NO$.

Dung dịch tetramethylamoni hydroxyd loãng
Pha loãng 10 ml dung dịch *tetramethylamoni hydroxyd (TT)* với *ethanol không có aldehyd (TT)* thành 100 ml.
Dung dịch chứa khoảng 1 % $C_4H_{13}NO$ (kl/tt).
Pha ngay trước khi dùng.

Tetramethylethylendiamin
Tetramethylethan-1,2-diamin;
N,N,N',N'-tetramethylethylendiamin
$C_6H_{16}N_2$ = 116,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chất lỏng không màu.
Điểm sôi: Khoảng 121 °C.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,78.

Tetrazoli lam
Muối tetrazoli lam; 3,3'-(3,3'-dimethoxy-4,4'-biphenylylen) bis(2,5-diphenyl-2H-tetrazoli clorid)
$C_{40}H_{32}Cl_2N_8O_2$ = 727,7.
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Tinh thể màu vàng. Ít tan trong nước, dễ tan trong methanol, ethanol và cloroform.
Điểm chảy: Khoảng 245 °C, kèm phân hủy.

Thạch trắng (Thạch)
Agar agar
Dùng loại tinh khiết vi sinh.
Phiến, sợi màu trắng hay trắng ngà, gần như trong suốt, hoặc bột không màu hay trắng ngà. Tan trong nước sôi, ít tan trong nước lạnh, nhưng trương nở thành khối sền sệt.

Theobromin
$C_7H_8N_4O_2$ = 180,2
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết trắng, rất khó tan trong nước và ethanol, khó tan trong amoniac. Tan trong các dung dịch hydroxyd kiềm loãng và acid loãng.

Thiếc
Thiếc hạt
Sn = 118,7
Dùng loại hạt tinh khiết phân tích và đáp ứng phép thử sau:
Arsen: Không quá 10 phần triệu, Phụ lục 9.4.2, phương pháp A, dùng 1 g.

Thiếc (II) clorid
$SnCl_2.2H_2O$ = 225,63
Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa không ít hơn 97,0 % $SnCl_2.2H_2O$.
Tinh thể màu trắng. Tan trong nước, ethanol và dung dịch natri hydroxyd.

Dung dịch thiếc (II) clorid 4 %
Hòa tan 4 g *thiếc (II) clorid (TT)* trong 4 ml *acid hydrocloric (TT)*, pha loãng thành 100 ml với *nước*.
Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Dung dịch thiếc (II) clorid 40 % trong acid hydrocloric
Hòa tan 40 g *thiếc (II) clorid (TT)* trong *acid hydrocloric (TT)* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch thiếc (II) clorid
Đun nóng 20 g *thiếc* với 85 ml *acid hydrocloric (TT)* đến khi không còn khí hydro bay ra.

Dung dịch thiếc (II) clorid AsT
Pha loãng gấp đôi dung dịch *thiếc (II) clorid (TT)* với *acid hydrocloric (TT)*. Bốc hơi tới thể tích ban đầu và lọc qua giấy lọc mịn.
Phải đáp ứng phép thử sau:
Lấy 10 ml thuốc thử, thêm 6 ml *nước* và 10 ml *acid hydrocloric (TT)*, lấy 16 ml, thêm 50 ml *nước*, 0,1 ml thuốc thử, 5 ml *dung dịch kali iodid 0,1 M* và 5 g *kẽm không có*

arsen (TT). Tiến hành thử giới hạn arsen (Phụ lục 9.4.2). Vết thu được trên *giấy thủy ngân (II) bromid (TT)* không được đậm màu hơn vết khi lặp lại phép thử trên nhưng thêm 1 ml *dung dịch arsen mẫu 1 phần triệu As (TT)*.

Dung dịch thiếc (II) clorid (TT_1)
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch thiếc (II) clorid (TT)* bằng 10 thể tích *acid hydrocloric 2 M (TT)*. Chỉ pha dung dịch trước khi dùng.

Dung dịch thiếc (II) clorid (TT_2)
Lấy 8 g *thiếc (II) clorid (TT)*, thêm 100 ml *dung dịch acid hydrocloric 20 %*. Lắc đến khi tan hoàn toàn, đun nóng trên cách thủy ở 50 °C nếu cần. Sục khí *nitrogen (TT)* vào dung dịch trong 15 min.
Chỉ pha dung dịch trước khi dùng.

Thioacetamid
CH_3CSNH_2 = 75,13
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột kết tinh hay tinh thể màu trắng. Tan trong nước và ethanol, tan ít trong ether.
Điểm chảy: Khoảng 113 °C.

Dung dịch thioacetamid 4 %
Hòa tan 4 g *thioacetamid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch thioacetamid
Thêm 1 ml hỗn hợp gồm 15 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 N (TT)*, 5 ml *nước* và 20 ml *glycerin 85 % (TT)* vào 0,2 ml *dung dịch thioacetamid 4 % (TT)*, đun nóng trong cách thủy 20 s, làm lạnh và dùng ngay.

Thiodiglycol
Thiodiethylen glycol; 2,2'-thiodiethanol
$C_4H_{10}O_2S$ = 122,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,522.

Thioure
$NH_2.CS.NH_2$ = 76,12
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh hay tinh thể trắng. Tan trong nước và ethanol.
Điểm chảy: Khoảng 178 °C.

Dung dịch thioure 10 %
Hòa tan 10 g *thioure (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

L-Threonin
$C_4H_9NO_3$ = 119,1
Dùng loại tinh khiết dùng cho sắc ký.
Bột kết tinh màu trắng.
Góc quay cực riêng ở 20 °C: Khoảng -28° (dùng dung dịch 2 % trong *nước* để đo).
Phải đáp ứng phép thử sau:
Tính đồng nhất: Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4). Tiến hành tránh ánh sáng. Bản mỏng *silica gel G (TT)*, pha động: *Nước - phenol* (25 : 75). Chấm lên bản mỏng 5 µl dung dịch chế phẩm 0,2 %, đặt bản mỏng trong hơi pha động trước khi khai triển 12 h. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 12 cm từ đường chấm vết. Lấy bản mỏng ra, sấy khô và phun *dung dịch ninhydrin 0,1 %* trong *butan-1-ol (TT)* đã bão hòa *nước* và sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 10 min. Sắc ký đồ chỉ được có một vết.

Thuốc thử Bouchardat: Xem Dung dịch iod - iodid.

Thuốc thử Diazo
Dung dịch acid sulfanilic: Hòa tan 4,5 g *acid sulfanilic (TT)* và 45 ml *acid hydrocloric (TT)* trong *nước* vừa đủ 500 ml.
Cho 5 ml *dung dịch acid sulfanilic* vào bình định mức 100 ml được làm lạnh bên ngoài bằng nước đá, thêm 2,5 ml *dung dịch natri nitrit 10 % (TT)*, để yên trong nước đá 5 min. Thêm 10 ml *dung dịch natri nitrit 10 % (TT)* và *nước* vừa đủ đến vạch.
Bảo quản trong nước đá.

Thuốc thử Dragendorff
Dung dịch kali iodobismuthat
Dung dịch 1: Hòa tan 0,85 g *bismuth nitrat base (TT)* trong 40 ml *nước* và 10 ml *acid acetic (TT)*.
Dung dịch 2: Hòa tan 8 g *kali iodid (TT)* trong 20 ml *nước*.
Trộn đồng thể tích dung dịch 1 và dung dịch 2. Thêm 100 ml *nước* và 20 ml *acid acetic (TT)* vào mỗi 10 ml hỗn hợp thu được.

Thuốc thử Erdmann
Trộn 20 ml *acid sulfuric (TT)* với 10 giọt hỗn hợp gồm 10 giọt *acid nitric (TT)* và 100 ml *nước*.

Thuốc thử Fehling
Dung dịch A: Hòa tan 34,66 g *đồng sulfat (TT)* trong *nước* đã acid hóa bằng 2 giọt đến 3 giọt *acid sulfuric loãng (TT)* vừa đủ 500 ml.
Dung dịch B: Hòa tan 173 g *natri kali tartrat (TT)* và 50 g *natri hydroxyd (TT)* trong 400 ml *nước*, làm nguội, thêm *nước* vừa đủ 500 ml.
Khi dùng, trộn đồng thể tích dung dịch A và dung dịch B. Pha loãng 5 ml thuốc thử Fehling với 5 ml *nước* và đun sôi, dung dịch phải trong, không được xuất hiện vết tủa.

Thuốc thử iodoplatinat
Thêm 97 ml *nước* và 100 ml *dung dịch kali iodid 6 %* vào 3 ml *dung dịch acid cloroplatinic 10 %*.

Thuốc thử kali iodobismuthat (TT_1)
Hòa tan 100 g *acid tartric (TT)* trong 400 ml *nước*, thêm *8,5 g bismuth nitrat base (TT)*, lắc trong 1 h. Thêm 200 ml *dung dịch kali iodid 40 %*, lắc đều. Để yên 24 h và lọc.

Thuốc thử kali iodobismuthat loãng
Hòa tan 100 g *acid tartric (TT)* trong 500 ml *nước*, thêm 50 ml *thuốc thử kali iodobismuthat (TT_1)*, trộn đều.

Thuốc thử kali iodobismuthat (TT2)
Dung dịch kali iodobismuthat (TT_2)
Phân tán 1,7 g *bismuth oxynitrat (TT)* và 20 g *(+)-acid tartaric (TT)* trong 40 ml *nước*. Thêm 40 ml *dung dịch*

kali iodid 40 % (TT), khuấy trong 1 h và lọc. Dung dịch có thể giữ được trong vài ngày trong điều kiện tránh ánh sáng. Trộn đều 5 ml dung dịch trên với 15 ml *nước* ngay trước khi dùng.

Thuốc thử kẽm dithiol
Hòa tan 0,2 g *toluen - 3,4 dithiol - kẽm phức hợp (TT)* trong *dung dịch natri hydroxyd 1 % (TT)* chứa 0,25 ml *ethanol 96 % (TT)*. Thêm 1 ml *acid thioglycolic (TT)* và *dung dịch natri hydroxyd 1 % (TT)* vừa đủ 100 ml.
Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Thuốc thử Mayer
Dung dịch kali tetraiodomercurat
Hòa tan 1,358 g *thủy ngân diclorid (TT)* trong 60 ml *nước*, thêm 10 ml *dung dịch kali iodid 50 %* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Thuốc thử methylaminophenol - sulfit
Hòa tan 0,1 g *4-methylaminophenol sulfat (TT)*, 20 g *natri metabisulfit (TT)* và 0,5 g *natri sulfit khan (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Thuốc thử Molybdovanadic
Nghiền mịn 4 g *amoni molybdat (TT)* và 0,1 g *amoni metavanadat (TT)*, hòa tan trong 70 ml *nước*, thêm 20 ml *acid nitric (TT)* và *nước* vừa đủ 100 ml.

Thuốc thử Nessler
Hòa tan 10 g *kali iodid (TT)* trong 10 ml *nước*, thêm từ từ *dung dịch bão hòa thủy ngân diclorid (TT)*, khuấy liên tục, cho tới khi xuất hiện tủa đỏ bền vững. Thêm 30 g *kali hydroxyd (TT)*, lắc cho tan, thêm 1 ml *dung dịch bão hòa thủy ngân diclorid (TT)*. Pha loãng thành 200 ml với *nước*. Để yên và gạn lấy phần nước trong.
Cho 3 giọt thuốc thử vào 10 ml *dung dịch amoni mẫu 2 phần triệu NH_4 (TT)*, màu vàng cam phải xuất hiện ngay tức khắc.

Thuốc thử phosphomolybdotungstic
Thuốc thử Folin ciocalteau phenol
Hòa tan 100 g *natri tungstat (TT)* và 25 g *natri molybdat (TT)* trong 700 ml *nước*, thêm 100 ml *acid hydrocloric (TT)* và 50 ml *acid phosphoric (TT)*, đun nóng hỗn hợp dưới ống sinh hàn ngược trong 10 h. Thêm 150 g *lithi sulfat (TT)*, 50 ml *nước* và 0,2 ml *brom (TT)*, đun sôi (khoảng 15 min) để đuổi brom thừa, để nguội, pha loãng thành 1000 ml với *nước*, lọc. Thuốc thử có thể có màu vàng. Nếu thuốc thử có màu xanh thì không được dùng. Xử lý bằng cách đun sôi với 0,2 ml *brom (TT)*. Thận trọng khi đun sôi để đuổi brom thừa.
Bảo quản ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.

Thuốc thử pyridin - anhydrid acetic
Hòa tan 25 g *anhydric acetic (TT)* trong *pyridin khan (TT)* vừa đủ 100 ml.

Thuốc thử Schweitzer
Hòa tan 10 g *đồng sulfat (TT)* trong 100 ml *nước* và thêm *dung dịch natri hydroxyd* vừa đủ để kết tủa đồng hydroxyd. Lọc lấy tủa, rửa với *nước* cho tới khi không còn phản ứng với sulfat. Hòa tan tủa còn ướt trong lượng tối thiểu *amoniac*.

Thuốc thử Smith
Dung dịch glycerin - acid acetic
Trộn đều 1 thể tích *glycerin (TT)*, 1 thể tích dung dịch *acid acetic 50 % (TT)* và 1 thể tích *nước*.

Thuốc thử Stiasny
Dung dịch gồm *formaldehyd - acid hydrocloric đậm đặc* (2 : 1), thuốc thử pha khi dùng.

Thuốc thử Tilé
Dung dịch hypophosphit.

Thủy ngân (II) acetat
$Hg(CH_3COO)_2$ = 318,68
Dùng loại thuốc thử tinh khiết.
Bột kết tinh hay tinh thể màu trắng. Tan trong nước và ethanol.

Dung dịch thủy ngân (II) acetat 5 %
Hòa tan 5 g *thủy ngân (II) acetat (TT)* trong *acid acetic khan (TT)*, để nguội, thêm *acid acetic khan (TT)* vừa đủ 100 ml.
Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Dung dịch thủy ngân (II) acetat
Hòa tan 3,19 g *thủy ngân (II) acetat (TT)* trong *acid acetic khan (TT)* vừa đủ 100 ml. Nếu cần, trung hòa với *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, dùng *dung dịch tím tinh thể (TT)* làm chỉ thị.

Thủy ngân (II) bromid
$HgBr_2$ = 360,4
Dùng loại tinh khiết phân tích.

Giấy tẩm thủy ngân (II) bromid
Nhúng giấy lọc màu trắng, loại 80 g/m^2 (Whatman No.1 là thích hợp) kích thước 20 cm × 15 mm đã được gập làm đôi vào một đĩa hình chữ nhật có chứa *dung dịch thủy ngân (II) bromid (TT)* 5 % trong *ethanol (TT)*. Gạn bỏ dung dịch thừa và làm khô bằng cách treo giấy lên một sợi dây không phải bằng kim loại, ở nơi tránh ánh sáng. Cắt bỏ 1 cm ở chỗ nếp gấp và cạnh ngoài. Cắt thành những mẩu vuông có cạnh 15 cm hoặc thành những đĩa hình tròn có đường kính 15 mm. Bảo quản trong lọ thủy tinh nút kín có bọc giấy đen.

Thủy ngân diclorid
Thủy ngân (II) clorid
$HgCl_2$ = 271,50
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh hay tinh thể màu trắng. Tan trong nước, ethanol, aceton và ether.

Dung dịch thủy ngân diclorid 5 %
Hòa tan 5 g *thủy ngân diclorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Thủy ngân (II) nitrat
$Hg(NO_3)_2.H_2O$ = 342,6
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh màu trắng hay trắng ngà. Dễ tan trong nước và acid loãng.

Dung dịch thủy ngân (II) nitrat
Hòa tan 40 g *thủy ngân oxyd vàng (TT)* trong hỗn hợp gồm 32 ml *acid nitric (TT)* và 15 ml *nước*.

Thủy ngân oxyd vàng
HgO = 216,6
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột vô định hình màu vàng cam. Thực tế không tan trong nước và ethanol.

Thủy ngân (II) sulfat
$HgSO_4$ = 296,7
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột kết tinh hay cốm màu trắng, không mùi.

Dung dịch thủy ngân (II) sulfat
Trộn 5 g *thủy ngân oxyd vàng (TT)* với 40 ml *nước*, thêm 20 ml *acid sulfuric (TT)* và 40 ml *nước*, khuấy liên tục cho tới khi tan hoàn toàn.

Thủy ngân (II) thiocyanat
$Hg(SCN)_2$ = 316,8
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột kết tinh màu trắng. Rất khó tan trong nước, khó tan trong ethanol và ether, tan trong dung dịch natri clorid.

Dung dịch thủy ngân (II) thiocyanat
Hòa tan 0,3 g *thủy ngân (II) thiocyanat (TT)* trong *ethanol (TT)* vừa đủ 100 ml.
Dùng trong vòng một tuần.

Thymin
5-Methylpyrimidin-2,4(1H,3H)-dion
$C_5H_6N_2O_2$ = 126,1
Dùng loại tinh khiết hóa học.

Thymidin
1-(2-Deoxy-β-D-erythro-pentofuranosyl)-5-methylpyrimidin-2,4(1H,3H)-dion
$C_{10}H_{14}N_2O_5$ = 242,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.

Thymol
2-Isopropyl-5-methylphenol
$C_{10}H_{14}O$ = 150,2
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể không màu.
Điểm chảy: Khoảng 50 °C.

Thymol dùng để pha dung dịch phun bắn mỏng
Bột kết tinh hoặc tinh thể màu trắng, có mùi thơm. Rất tan trong methanol và ethanol, thực tế không tan trong nước.
Định tính: Phương pháp quang phổ hấp thụ hồng ngoại, chuẩn bị mẫu đo dạng đĩa nén kali bromid. Phổ của chế phẩm có đỉnh hấp thụ ở 2960 cm^{-1}, 1420 cm^{-1}, 1290 cm^{-1}, 1090 cm^{-1}, và 810 cm^{-1}.
Điểm chảy: Từ 49 °C đến 52 °C.
Các phenol khác: Lắc mạnh 1,0 g chế phẩm với 20 ml *nước* ấm trong 1 min và lọc. Thêm 1 giọt dung dịch *sắt (III) clorid (TT)* 27 % vào 5 ml dịch lọc. Dung dịch thu được cho màu xanh lá cây và màu xanh không được chuyển sang màu tím.

Thuốc thử thymol - acid sulfuric - methanol để phun bắn mỏng
Hòa tan 1,5 g *thymol dùng để pha dung dịch phun bắn mỏng (TT)* trong 100 ml *methanol (TT)*, thêm 5,7 ml *acid sulfuric (TT)*, trộn đều.

Titan
Ti = 47,9
Bột kim loại, sợi mảnh (đường kính nhỏ hơn 0,5 mm) hoặc hạt xốp chứa ít nhất 99 % Ti.
Điểm chảy: Khoảng 1668 °C.
Khối lượng riêng: 4,507 g/cm^3.

Titan (III) clorid
Titan triclorid
$TiCl_3$= 154,3
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Tinh thể màu tím đỏ.
Điểm chảy: Khoảng 440 °C.
Bảo quản trong đồ chứa kín.

Dung dịch titan (III) clorid (Dung dịch titan triclorid)
Dùng loại chứa khoảng 15 % (kl/tt) $TiCl_3$ trong *dung dịch acid hydrocloric 10 %*.
Khối lượng riêng: Khoảng 1,2 g/ml.

Thuốc thử titan (III) clorid - acid sulfuric (Thuốc thử titan (III) triclorid – acid sulfuric)
Trộn cẩn thận 20 ml *dung dịch titan (III) clorid (TT)* với 13 ml *acid sulfuric (TT)*. Thêm *dung dịch hydrogen peroxyd 100 tt (TT)* vừa đủ để dung dịch có màu vàng. Đun nóng cho đến khi khói trắng bay lên, để nguội. Pha loãng với *nước*. Lặp lại quá trình bốc hơi và thêm *nước* cho đến khi dung dịch không màu. Pha loãng với *nước* thành 100 ml.

Toluen
Methyl benzen
$C_6H_5CH_3$ = 92,14
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Chất lỏng trong, không màu, dễ cháy. Rất ít tan trong nước, hỗn hợp được với ethanol.
Điểm sôi: Khoảng 110 °C.
Tỷ trọng ở 20 °C: 0,865 đến 0,870.

Toluen-p-sulfonamid
p-Toluensulfonamid; Toluen sulfonamid; 4-Methylbenzensulfonamid
$C_7H_9NO_2S$ = 171,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Điểm chảy: Khoảng 136 °C.
Phải đáp ứng các phép thử sau:
Độ đồng nhất: Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: *Silica gel G.*
Dung môi khai triển: *Cloroform - methanol - acid formic khan* (90 : 8 : 2).
Cách tiến hành: Chấm 5 µl dung dịch chế phẩm 0,015 % trong *aceton (TT)*. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được 15 cm. Lấy bản mỏng ra, làm khô bằng luồng không khí ẩm và sấy 10 min ở 110 °C. Trên sắc ký đồ thu được phải có 4 vết, tách nhau rõ ràng. Đặt dưới đáy bình triển khai sắc ký khô một cốc chứa *dung dịch kali permanganat 5 %*, thêm đồng thể tích *acid hydrocloric (TT)*. Đặt bản mỏng còn đang nóng vào bình, đậy nắp. Để bản mỏng tiếp xúc với *hơi clor* trong 2 min. Lấy bản mỏng ra, để dưới luồng khí lạnh cho đến khi hết clor dư và khu vực dưới vết chấm có màu lam rất nhạt khi nhỏ 1 giọt *dung dịch hồ tinh bột có kali iodid (TT)*. Tránh để quá lâu dưới luồng khí lạnh. Phun *dung dịch hồ tinh bột có kali iodid (TT)* và để yên 5 min. Trên sắc ký đồ thu được chỉ có duy nhất một vết chính.

Toluensulfonyl ure
4-Methylbenzensulfonylure; 4-methylbenzensulphonylure; p-toluensulfonylure; p-toluensulphonylure; (4-methylphenyl) sulfonylure; (4-methylphenyl)sulphonylure
$C_8H_{10}N_2O_3S$ = 214,2
Bột kết tinh trắng hoặc gần như trắng.
Điểm chảy: Khoảng từ 196 °C đến 198 °C.

Tosylarginin methyl ester hydroclorid
Methyl N-tosyl-L-argininat hydroclorid
$C_{14}H_{22}N_4O_4S.HCl$ = 378,9
Dùng loại tinh khiết hóa học thích hợp cho định lượng trypsin.
Bột kết tinh màu trắng.
Điểm chảy: Khoảng 145 °C.
Góc quay cực riêng ở 20 °C: -12° đến -16°, dung dịch 4 % (kl/tt) trong *nước*.

Tributyl phosphat (tributyl orthophosphat)
$C_{12}H_{27}O_4P$ = 266,3
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chất lỏng không màu.
Khối lượng riêng: Khoảng 0,98 g/ml.
Trước khi dùng, rửa 3 lần với dung dịch chứa 10 % *natri clorid (TT)* và 1 % *dinatri hydrophosphat (TT)*, mỗi lần với lượng bằng 1/6 thể tích tributyl phosphat.

Triethanolamin
$C_6H_{15}NO_3$ = 149,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chất lỏng nhớt, không màu, rất hút ẩm, hơi có mùi amoniac, chuyển sang màu nâu khi tiếp xúc với không khí và ánh sáng.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 1,13.

Triethylamin
$C_6H_{15}N$ = 101,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chất lỏng không màu, có mùi amoniac.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,727.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,401.
Điểm sôi: Khoảng 90 °C.

Triethylendiamin
1,4- Diazobicyclo [2,2,2] octan
$C_6H_{12}N_2$ = 112,17
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Tinh thể dễ hút ẩm, thăng hoa ở nhiệt độ phòng. Dễ tan trong nước, aceton và ethanol.
Điểm chảy: Khoảng 158 °C.
Điểm sôi: Khoảng 174 °C.

Trilon B
Dinatri dihydro ethylendiamin tetraacetat; natri edetat
$C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8.2H_2O$ = 372,24
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh trắng. Tan trong nước, tan rất ít trong ethanol.

Trimethylclorosilan
Clorotrimethylsilan
C_3H_9ClSi = 108,7
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chất lỏng không màu.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,86.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,388.
Điểm sôi: Khoảng 57 °C.

Trimethylpentan
Iso-octan; 2,2,4-Trimethylpentan
C_8H_{18} = 114,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chất lỏng không màu, dễ bắt lửa. Không tan trong nước, tan trong aceton, cloroform và ether.
Tỷ trọng ở 20 °C: 0,691 đến 0,696.
Chỉ số khúc xạ 20 °C: 1,391 đến 1,393.
Phải đáp ứng các phép thử sau:
Khoảng chưng cất: Không ít hơn 95 % được chưng cất ở 98 °C đến 100 °C.

Trimethylpentan dùng cho phương pháp quang phổ
Độ truyền quang: Không nhỏ hơn 98 % trong khoảng 250 nm đến 420 nm, dùng nước làm mẫu trắng.

Triphenylmethanol
Triphenylcarbinol
$C_{19}H_{16}O$ = 260,3
Dùng loại tinh khiết hóa học.

Triphenyl tetrazoli clorid
2,3,5- Triphenyl tetrazolium clorid; Muối tetrazolium
$C_{19}H_{15}ClN_4$ = 334,8.
Dùng loại tinh khiết phân tích, chứa không ít hơn 98,0 % $C_{19}H_{15}ClN_4$.
Bột màu kem hay vàng nhạt.
Điểm chảy: Khoảng 240 °C kèm phân hủy.
Định lượng: Hòa tan 1,0 g trong hỗn hợp gồm 5 ml *acid nitric 2 N (TT)* và 45 ml nước, thêm 50 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* và đun đến sôi. Để nguội, thêm 3 ml *dibutyl phthalat (TT)*, lắc mạnh và định lượng bằng *dung dịch amoni thiocyanat 0,1 N (CĐ)*, dùng 2 ml *dung dịch amoni sắt (II) sulfat 10 % (TT)* làm chỉ thị.
1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 33,48 mg $C_{19}H_{15}ClN_4$.

Dung dịch triphenyl tetrazoli clorid
Hòa tan 0,5 g *triphenyl tetrazoli clorid (TT)* trong 100 ml *ethanol không có aldehyd (TT)*.

Tris(hydroxymethyl)aminomethan
Tris(hydroxymethyl)methylamin; Trometamol; THAM
$C_4H_{11}NO_3$ = 121,14.
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Điểm chảy: Khoảng 170 °C.

Uracil
$C_4H_4N_2O_2$ = 112,1
Hàm lượng không được dưới 95,0 %.

Uranyl acetat
$(CH_3COO)_2UO_2.2H_2O$ = 424,15
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột kết tinh màu vàng.
Tan trong nước, tan ít trong ethanol.

Ure
$CO(NH_2)_2$ = 60,06
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh hay tinh thể màu trắng. Tan trong nước, ethanol và benzen, thực tế không tan trong cloroform và ether.
Điểm chảy: Khoảng 133 °C.

Urotropin
Hexamin; Hexamethylentetramin
$(CH_2)_6N_4$ = 140,2
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Tinh thể màu trắng. Tan trong nước, ethanol và cloroform, tan ít trong ether.

Vàng clorid
Acid cloroauric; Hydrogen tetracloroaurat
$HAuCl_4$ + nước
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Khối màu nâu, dễ chảy nước.

Dung dịch vàng clorid (TT)
Hòa tan 1 g *vàng clorid (TT)* trong 35 ml *nước*.

Vanilin
4-Hydroxy-3-methoxy benzaldehyd
$C_8H_8O_3$ =152,2
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Bột kết tinh hay tinh thể hình kim trắng hoặc màu kem, có mùi thơm vani. Dễ tan trong ethanol, cloroform và ether, tan trong dầu và dung dịch natri hydroxyd.
Điểm chảy: Khoảng 81 °C, xác định bằng cách không sấy trước.

Dung dịch vanilin 1 % trong acid sulfuric
Hòa tan 1 g *vanilin (TT)* trong *acid sulfuric đậm đặc (TT)* vừa đủ 100 ml.
Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Dung dịch vanilin 2 % trong acid sulfuric
Hòa tan 0,1 g *vanilin (TT)* trong 5 ml *acid sulfuric (TT)*, pha dùng ngay.

Dung dịch vanilin 5 % trong acid sulfuric
Hòa tan 5 g *vanilin (TT)* trong *acid sulfuric (TT)* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch vanilin trong acid hydrocloric
Hòa tan 0,2 g *vanilin (TT)* trong 10 ml *acid hydrocloric đậm đặc (TT)*.
Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Dung dịch vanilin trong ethanol 96 %
Thêm cẩn thận từng giọt 2 ml *acid sulfuric (TT)* vào 100 ml *dung dịch vanilin 1 % trong ethanol 96 %*.

Dung dịch vanilin trong acid sulfuric
Thuốc thử vanilin trong acid sulfuric
Hòa tan *vanilin (TT)* trong *ethanol 96 % (TT)* đến được dung dịch bão hòa. Lấy phần dung dịch bão hòa, thêm *acid sulfuric (TT)* đến khi có màu vàng.

Dung dịch vanilin-acid sulfuric
Thuốc thử vanilin-acid sulfuric
Trộn đồng lượng dung dịch *vanilin (TT)* 1 % trong *ethanol 96 % (TT)* và *dung dịch acid sulfuric 5 % trong ethanol 96 %*. Pha trước khi dùng.

Dung dịch vanilin trong acid phosphoric
Hòa tan 1 g *vanilin (TT)* trong 25 ml *ethanol 96 % (TT)*, thêm 25 ml *nước* và 35 ml *acid phosphoric (TT)*.
Dùng trong 48 h.

Vinyl acetat
Ethenyl acetat
$C_4H_6O_2$ = 86,1
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,930.
Điểm sôi: Khoảng 72 °C.

2- Vinylpyridin
C_7H_7N = 105,1
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Chất lỏng màu vàng.

Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,97.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,549.

1-Vinylpyrrolidin-2-on
1-Ethenylpyrrolidin-2-on
C_6H_9NO = 111,1
Hàm lượng không được dưới 99,0 %.
Chất lỏng trong, không màu.
Nước: Không được quá 0,1 % (Phụ lục 10.3). Dùng 2,5 g chế phẩm. Dùng dung môi là hỗn hợp 50 ml *methanol khan (TT)* và 10 ml *butyrolacton (TT)*.
Định lượng: Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).
Cột silica nung chảy, dài 30 m, đường kính trong 0,5 mm, được phủ pha tĩnh *macrogol 20 000*.
Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký*.
Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 5	35
	5 - 15	35 → 85
Buồng tiêm		250
detector		250

Detector: Ion hóa ngọn lửa.
Thể tích tiêm: 0,3 µl.
Điều chỉnh tốc độ dòng của khí mang để thời gian lưu của pic tương ứng với 1-vinylpyrrolidin-2-on khoảng 17 min.

Xanh methylen
$C_{16}H_{18}N_3ClS.3H_2O$ = 373,90
Bột kết tinh màu nâu sẫm hay lục sẫm, gần như không mùi. Dễ tan trong nước nóng.

Dung dịch xanh methylen 0,15 %
Hòa tan 0,15 g *xanh methylen (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch xanh methylen 0,37 %
Hòa tan 0,37 g *xanh methylen (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Xanh tetrazolium
$C_{40}H_{32}Cl_2N_8O_2$ = 727,7
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Tinh thể màu vàng. Ít tan trong nước, dễ tan trong ethanol, methanol và cloroform.
Điểm chảy: Khoảng 245 °C kèm phân hủy.

Dung dịch xanh tetrazolium
Trộn 1 thể tích *dung dịch xanh tetrazolium (TT) 0,2 %* trong *methanol (TT)* với 3 thể tích *dung dịch natri hydroxyd (TT) 12 %* trong *methanol (TT)*.
Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Xanthydrol
9-Hydroxyxanthen; Xanthen-9-ol
$C_{13}H_{10}O_2$ = 198,2
Dùng loại tinh khiết hóa học chứa không ít hơn 90,0 % $C_{13}H_{10}O_2$.
Bột màu trắng hay vàng nhạt.
Điểm chảy: Khoảng 123 °C.
Xanthydrol còn có dạng dung dịch trong methanol chứa 9,0 % đến 11,0 % $C_{13}H_{10}O_2$.
Định lượng: Cân 0,3 g chế phẩm vào bình nón 250 ml, thêm 3 ml *methanol (TT)* để hòa tan hay lấy 3 ml dung dịch. Thêm 50 ml *acid acetic băng (TT)* và từng giọt 25 ml *dung dịch ure 2 %*, lắc liên tục. Để yên 12 h, lọc lấy tủa qua phễu xốp thủy tinh (16 µm). Rửa tủa với 20 ml *ethanol 96 % (TT)*, sấy ở 100 °C đến 105 °C và cân.
Mỗi g tủa tương ứng với 0,9429 g xanthydrol.
Bảo quản tránh ánh sáng. Nếu sử dụng dung dịch trong methanol, bảo quản trong các ống nhỏ, hàn kín và lọc nếu cần trước khi sử dụng.

Xylen
Dimethyl benzen
$C_6H_4(CH_3)_2$ = 106,17
Dùng loại tinh khiết phân tích.
Hỗn hợp của ortho, meta và para-xylen.
Chất lỏng trong, không màu, dễ bắt lửa.
Tỷ trọng ở 20 °C: Khoảng 0,867.
Chỉ số khúc xạ ở 20 °C: Khoảng 1,497.
Điểm sôi: Khoảng 138 °C.

Zirconyl nitrat
Công thức khoảng: $ZrO(NO_3)_2$ + nước.
Dùng loại tinh khiết hóa học, thường chứa khoảng 44,5 % ZrO_2.

Dung dịch Zirconyl nitrat
Hòa tan 0,1 g *zirconyl nitrat (TT)* trong hỗn hợp gồm 60 ml *acid hydrocloric (TT)* và 40 ml *nước*.

2.1.2 CÁC CHẤT CHỈ THỊ

Calcon
Solochrom dark blue; Mordant black 17; Natri 2-Hydroxy-1-(2-hydroxy-1-naphthylazo)-naphthalen-4-sulfonat
$C_{20}H_{13}N_2NaO_5S$ = 416,4
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột màu đen nâu có ánh tím. Tan trong nước và ethanol.
Trong môi trường kiềm, tạo màu đỏ tía với ion calci. Khi không có mặt ion kim loại và dư thừa một lượng nhỏ trilon B, dung dịch có màu xanh lam.

Hỗn hợp calcon
Nghiền, trộn đều 0,1 g *calcon (TT)* với 9,9 g *natri sulfat khan (TT)*.
Độ nhạy: Hòa tan 0,2 g *hỗn hợp calcon (TT)* trong 5 ml *nước*. Lấy 1 ml dung dịch thu được, thêm 50 ml *nước*, 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 N (CĐ)* và 1 ml *dung dịch magnesi sulfat 1 %*, dung dịch có màu xanh lam. Thêm 0,1 ml *dung dịch calci clorid 0,15 %*, màu chuyển sang đỏ tía. Thêm 0,1 ml *dung dịch trilon B 0,01 M (CĐ)*, màu lại chuyển sang màu xanh lam.

Da cam methyl

Helianthin; Natri 4'-dimethylaminoazobenzen-4-sulfonat

$C_{14}H_{14}N_3NaO_3S$ = 327,3

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột hay tinh thể màu vàng cam. Dễ tan trong nước nóng, không tan trong ethanol.

Vùng chuyển màu: pH 3,0 (đỏ) đến pH 4,4 (vàng).

Dung dịch da cam methyl

Hòa tan 0,1 g *da cam methyl (TT)* trong 80 ml *nước*, thêm *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ 100 ml.

Độ nhạy: Lấy 100 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, thêm 0,1 ml *dung dịch da cam methyl (TT)*, dung dịch có màu vàng. Khi thêm không quá 0,1 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)*, màu phải chuyển sang đỏ.

Da cam xylenol

Tetranatri3,3'-(3H-2,1-benzoxathiol-3-yliden)bis[(6-hydroxy-5-methyl-3,1-phenylen)methyleneiminobisacetat] S,S-dioxid.

$C_{31}H_{28}N_2Na_4O_{13}S$ = 761,0

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột kết tinh màu nâu đỏ. Dễ tan trong nước, không tan trong ethanol.

Trong các dung dịch kiềm, tạo màu tím với ion thủy ngân, chì, kẽm và một số ion kim loại khác. Khi không có mặt các ion kim loại và dư trilon B, dung dịch có màu vàng.

Hỗn hợp da cam xylenol

Nghiền, trộn đều 1 phần *da cam xylenol (TT)* với 99 phần *kali nitrat (TT)*.

Thử độ nhạy: Thêm 50 mg *hỗn hợp da cam xylenol (TT)* vào hỗn hợp gồm 50 ml *nước*, 1 ml *acid acetic 2 M (TT)* và 0,05 ml *dung dịch chì nitrat (TT)*. Thêm vừa đủ một lượng *hexamin (TT)* để làm chuyển màu từ vàng sang đỏ tím, thêm 0,1 ml *dung dịch trilon B 0,1 M (CĐ)*, màu chuyển sang vàng.

Dung dịch da cam xylenol

Hòa tan 0,1 g *da cam xylenol (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml và lọc nếu cần.

Diclorofluorescein

2,7-Diclorofluorescein; Acid 2-(2,7-dicloro-6-hydroxy-3-oxo-3H-xanthen-9-yl) benzoic

$C_{20}H_{10}Cl_2O_5$ = 401,2

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột màu nâu vàng đến cam vàng. Ít tan trong nước, dễ tan trong ethanol và các dung dịch hydroxyd kiềm loãng, thực tế không tan trong ether.

Đen eriocrom T

Mordant black 11; Natri 2- hydroxy-1-[(1-hydroxy-naphth-2-yl)azo]-6-nitronaphthalen-4-sulfonat

$C_{20}H_{12}N_3NaO_7S$ = 461,4

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột màu đen nâu, có ánh kim loại. Tan trong nước và ethanol. Trong môi trường kiềm, tạo màu đỏ với ion calci, magnesi, kẽm và một số kim loại khác. Khi không có mặt các ion kim loại và dư thừa một lượng nhỏ trilon B, dung dịch có màu xanh lam.

Dung dịch đen eriocrom T

Hòa tan 0,1 g *đen eriocrom T (TT)* trong *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Hỗn hợp đen eriocrom T

Nghiền, trộn đều 1 phần *đen eriocrom T (TT)* với 99 phần *natri clorid (TT)*.

Độ nhạy: Hòa tan 0,05 g *hỗn hợp đen eriocrom T (TT)* trong 100 ml *nước*, dung dịch có màu tím nâu. Thêm 0,3 ml *dung dịch amoniac 10 % (TT)*, dung dịch chuyển thành màu xanh lam, thêm tiếp 0,1 ml *dung dịch magnesi sulfat 1 %*, màu phải chuyển sang tím.

Đỏ congo

Dinatri(biphenyl-4,4'-diyl-bis-2,2'-azo)bis(1-aminonaphthalen-4-sulfonat)

$C_{32}H_{22}N_6Na_2O_6S_2$ = 697,0

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột màu đỏ nâu. Tan trong nước.

Vùng chuyển màu: pH 3,0 (lam) đến pH 5,0 (hồng).

Dung dịch đỏ congo

Hòa tan 0,1 g *đỏ congo (TT)* trong 20 ml *ethanol 96 % (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Độ nhạy: Lấy 100 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, thêm 0,2 ml *dung dịch đỏ congo (TT)* và 0,3 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)*, dung dịch có màu xanh lam. Khi thêm không quá 0,3 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*, màu phải chuyển sang hồng đỏ.

Đỏ cresol

o-Cresolsulfonphthalein; 4,4'-(3H-2,1-benzoxathiol-3-yliden) di-o-cresol S,S-dioxyd

$C_{21}H_{18}O_5S$ = 382,4

Dùng loại tinh khiết hóa học.

Bột kết tinh màu nâu đỏ. Ít tan trong nước, dễ tan trong ethanol và dung dịch natri hydroxyd.

Vùng chuyển màu: pH 7,0 (vàng) đến pH 8,8 (đỏ).

Dung dịch đỏ cresol

Hòa tan bằng cách đun nóng nhẹ 0,1 g *đỏ cresol (TT)* với hỗn hợp gồm 2,65 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (TT)* và 20 ml *ethanol 96 % (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Độ nhạy: Lấy 100 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, thêm 0,1 ml *dung dịch đỏ cresol (TT)* và 0,15 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)*, dung dịch có màu đỏ tía. Khi thêm không quá 0,15 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,02 N (CĐ)*, màu phải chuyển sang vàng.

Đỏ methyl

Acid 2-(4-dimethylaminophenylazo)benzoic

$C_{15}H_{15}N_3O_2$ = 269,3

Dùng loại tinh khiết hóa học.
Tinh thể màu tím hay bột màu đỏ sẫm. Thực tế không tan trong nước, tan trong ethanol và acid acetic.
Vùng chuyển màu: pH 4,4 (đỏ) đến pH 6,0 (vàng).

Dung dịch đỏ methyl
Hòa tan 50 mg *đỏ methyl (TT)* trong hỗn hợp gồm 1,86 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (TT)* và 50 ml *ethanol 96 % (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 100 ml.
Độ nhạy: Lấy 100 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, thêm 0,05 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,02 N (CĐ)* và 0,1 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)*, dung dịch có màu đỏ. Khi thêm không quá 0,1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)*, màu phải chuyển sang vàng.

Dung dịch hỗn hợp đỏ methyl
Hòa tan 0,1 g *đỏ methyl (TT)* và 0,05 g *xanh methylen (TT)* trong *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ 100 ml.

Đỏ phenol
Phenolsulfonphthalein; 4,4'-(3H-2,1-Benzoxathiol-3-yliden) diphenol S,S-dioxyd
$C_{19}H_{14}O_5S$ = 354,4
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột màu đỏ. Rất khó tan trong nước, khó tan trong ethanol, dễ tan trong các dung dịch kiềm.
Vùng chuyển màu: pH 6,8 (vàng) đến pH 8,4 (đỏ).

Dung dịch đỏ phenol (TT_1)
Hòa tan 0,1 g *đỏ phenol (TT)* trong hỗn hợp gồm 2,82 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (TT)* và 20 ml *ethanol 96 % (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 100 ml.
Độ nhạy: Lấy 100 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, thêm 0,1 ml *dung dịch đỏ phenol (TT)*, dung dịch có màu vàng. Khi thêm không quá 0,1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)*, màu phải chuyển sang tím đỏ.

Dung dịch đỏ phenol (TT_2)
Dung dịch 1: Hòa tan 33 mg *đỏ phenol (TT)* trong 1,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 100 ml.
Dung dịch 2: Hòa tan 25 mg *amoni sulfat (TT)* trong 235 ml *nước*, thêm 105 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)* và 135 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)*.
Thêm 25 ml dung dịch 1 vào dung dịch 2. Nếu cần, điều chỉnh pH của hỗn hợp tới 4,7.

Đỏ tía bromocresol
3',3-Dibromo-o-cresolsulfonphthalein; 4,4'-(3H-2,1-Benzoxathiol-3-yliden)bis(6-bromo-o-cresol) S,S-dioxyd
$C_{21}H_{16}Br_2O_5S$ = 540,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột kết tinh màu hồng. Thực tế không tan trong nước, tan trong ethanol và các dung dịch kiềm loãng.
Vùng chuyển màu: pH 5,2 (vàng) đến pH 6,8 (lam).

Dung dịch đỏ tía bromocresol
Hòa tan 0,05 g *đỏ tía bromocresol (TT)* trong hỗn hợp gồm 0,92 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (TT)* và 20 ml *ethanol 96 % (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 100 ml.
Độ nhạy: Lấy 100 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, thêm 0,2 ml *dung dịch đỏ tía bromocresol (TT)* và 0,05 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)*, dung dịch có màu tím xanh. Khi thêm không quá 0,20 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,02 N (TT)*, màu phải chuyển sang vàng.

Đỏ tía cresol
m-Cresolsulfonphthalein
$C_{21}H_{18}O_5S$ = 382,4
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột kết tinh màu lục nâu. Khó tan trong nước, tan trong methanol, ethanol và acid acetic băng.
Vùng chuyển màu: pH 1,2 (đỏ) đến pH 2,8 (vàng); pH 7,4 (vàng) đến pH 9,0 (đỏ tía).

Dung dịch đỏ tía cresol
Hòa tan 0,1 g *đỏ tía cresol (TT)* trong 13 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Đỏ tía phthalein
Metalphtalein;(1,3-Dihydro-3-oxo-isobenzofuran-1-yliden) bis[(6-hydroxy-5-methyl-3,1-phenylen)bis(methylen eimino) diacetic acid]
$C_{32}H_{32}N_2O_{12}$ + nước
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột màu trắng kem đến nâu. Thực tế không tan trong nước, tan trong ethanol.
Độ nhạy: Hòa tan 10 mg *đỏ tía phthalein (TT)* trong 1 ml *amoniac 13,5 M (TT)*, pha loãng thành 100 ml với *nước*. Lấy 5 ml dung dịch thu được, thêm 95 ml *nước*, 4 ml *amoniac 13,5 M (TT)*, 50 ml *ethanol 96 % (TT)* và 0,1 ml *dung dịch bari clorid 0,1 M (CĐ)*; dung dịch có màu tím lam. Thêm 0,15 ml *dung dịch trilon B 0,1 M (CĐ)*, dung dịch mất màu.

Đỏ trung tính
Basic red 5; 2-Methyl-3-amino-7-dimethylamino-phenazin hydroclorid
$C_{15}H_{17}ClN_4$ = 288,8
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột màu đỏ nhạt. Ít tan trong nước và ethanol.
Vùng chuyển màu: pH 6,8 (đỏ) đến pH 8,0 (da cam).

Dung dịch đỏ trung tính
Hòa tan 0,1 g *đỏ trung tính (TT)* trong *ethanol 50 %* vừa đủ 100 ml.

Eosin
Acid đỏ 87
$C_{20}H_6Br_4Na_2O_5$ = 691,9
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột màu đỏ. Dễ tan trong nước, ít tan trong ethanol.

Dung dịch eosin
Hòa tan 0,5 g *eosin (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Ethoxycrysoidin hydroclorid
4-[(4-Ethoxyphenyl)diazenyl]phenylen-1,3-diamin hydroclorid

$C_{14}H_{16}N_4O$. HCl = 292,8
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột màu đỏ. Tan trong nước và ethanol.

Dung dịch ethoxycrysoidin
Hòa tan 0,1 g *ethoxycrysoidin hydroclorid (TT)* trong *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ 100 ml.
Độ nhạy: Thêm 0,05 ml *dung dịch brom 0,0167 M (TT)* vào hỗn hợp gồm 0,05 ml *dung dịch ethoxycrysoidin hydroclorid (TT)* và 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*. Màu của dung dịch chuyển từ đỏ sang vàng nhạt trong vòng 2 min.

Lam hydroxy naphtol
Muối dinatri Acid (1-(2-Naphtholazo-3,6-disulfonic acid)-2-naphthol-4-sulfonic.
$C_{20}H_{12}N_2O_{11}S_2Na_2$ = 598,50
Làm kết tinh tinh thể natri clorid trong dung dịch nồng độ 1 %.

Lục bromocresol
3',3'',5',5''-Tetrabromo-m-cresolsulfonphthalein; 4,4'- (3H-2,1-Benzoxathiol-3-yliden) bis (2,6-dibromo-m -cresol) S,S-dioxyd
$C_{21}H_{14}Br_4O_5S$ = 698,0
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột màu trắng nâu hay vàng nhạt. Ít tan trong nước, tan trong ethanol và các dung dịch kiềm loãng.
Vùng chuyển màu: pH 3,6 (vàng) đến pH 5,2 (lam).

Dung dịch lục bromocresol (TT_1)
Hòa tan 0,05 g *lục bromocresol (TT)* trong hỗn hợp gồm 0,72 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (TT)* và 20 ml *ethanol 96 % (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 100 ml.
Độ nhạy: Lấy 100 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, thêm 0,2 ml *dung dịch lục bromocresol (TT)*, dung dịch có màu xanh lam. Khi thêm không quá 0,2 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,02 N (CĐ)*, màu phải chuyển sang vàng.

Dung dịch lục bromocresol (TT_2)
Nghiền kỹ 0,2 g *lục bromocresol (TT)* với 2,8 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (TT)*, pha loãng thành 200 ml với *nước* và lọc nếu cần.

Dung dịch lục bromocresol - đỏ methyl (Dung dịch xanh bromocresol - đỏ methyl)
Hòa tan 0,15 g *lục bromocresol (TT)* và 0,1 g *đỏ methyl (TT)* trong 180 ml *ethanol (TT)*, pha loãng với *nước* thành 200 ml.

Lục malachit
Victoria green; [4-[[4-Dimethylamino)phenyl]phenyl-methylen]cyclohexan-2,5-dien-1-yliden] dimethyl amoni clorid
$C_{23}H_{25}ClN_2$ = 364,9
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Tinh thể màu lục, có ánh kim loại. Rất dễ tan trong nước, tan trong ethanol và methanol.
Dung dịch 0,001 % (kl/tt) trong *ethanol 96 % (TT)* có hấp thụ cực đại ở 617 nm.

Dung dịch lục malachit 0,5 %
Hòa tan 0,5 g *lục malachit (TT)* trong *acid acetic khan (TT)* vừa đủ 100 ml.

Magneson
Tím azo; 4-(4-nitrophenylazo)resorcinol
$C_{12}H_9N_3O_4$ = 259,2
Dùng loại tinh khiết chỉ thị hóa học. Khi dùng làm chỉ thị trong phép thử định lượng môi trường khan, phải chuyển từ màu cam (môi trường acid) sang màu hồng (môi trường trung tính) đến màu xanh lam (môi trường kiềm).

Thuốc thử magneson
Hòa tan *magneson (TT)* trong *dung dịch natri hydroxyd 0,1 % (TT)* để được dung dịch magneson 0,1 %.

Murexid
Muối monoamoni 5,5'-nitrilobis[pirimidin-2,4,6-(1H,3H,5H) trion] của acid purpuric.
$C_8H_8N_6O_6$. H_2O = 302,20
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột tinh thể màu đỏ nâu. Khó tan trong nước lạnh, tan trong nước nóng và ethanol. Tan trong các dung dịch kali hydroxyd và natri hydroxyd, cho màu xanh lam.

Dung dịch murexid
Hòa tan 0,25 g *murexid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.
Dung dịch chỉ pha khi dùng.

Hỗn hợp murexid
Nghiền, trộn đều 0,25 g *murexid (TT)* với 25 g *natri clorid (TT)*.

1-Naphtholbenzein
α-Naphtholbenzein;Phenylbis(4-hydroxynaphthyl)-methanol
$C_{27}H_{20}O_3$ = 392,5
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột màu nâu đỏ. Thực tế không tan trong nước, tan trong ethanol và acid acetic băng.

Dung dịch 1-naphtholbenzein
Hòa tan 0,2 g *1-naphtholbenzein (TT)* trong 100 ml *acid acetic khan (TT)*.
Độ nhạy: Lấy 50 ml *acid acetic khan (TT)*, thêm 0,25 ml *dung dịch 1-naphtholbenzein (TT)*, dung dịch có màu vàng nâu. Khi thêm không quá 0,05 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, màu phải chuyển sang xanh lục.

O-Phenanthrolin
1,10-Phenanthrolin hydroclorid
$C_{12}H_8N_2$. HCl. H_2O = 234,7
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột trắng hoặc gần như trắng. Dễ tan trong nước, tan trong ethanol.
Điểm chảy: Khoảng 215 °C kèm phân hủy.

Dung dịch feroin sulfat
Hòa tan 0,7 g *sắt (II) sulfat (TT)* và 1,76 g *O-phenanthrolin (TT)* trong 70 ml *nước*. Thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Phenolphtalein
3,3'-Bis(4-hydroxyphenyl)phthalid
$C_{20}H_{14}O_4$ = 318,3
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột màu trắng hay trắng ngà. Thực tế không tan trong nước, tan trong ethanol.
Vùng chuyển màu: pH 8,2 (không màu) đến pH 10,0 (đỏ).

Dung dịch phenolphtalein
Hòa tan 0,1 g *phenolphtalein (TT)* trong 80 ml *ethanol 96 % (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml.
Độ nhạy: Lấy 100 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)*, dung dịch không màu. Khi thêm không quá 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)*, phải xuất hiện màu hồng.

Dung dịch phenolphtalein (TT_1)
Hòa tan 1 g *phenolphtalein (TT)* trong *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ 100 ml.

Quỳ
Là sắc tố màu chàm chiết từ các loại địa y như *Rocella, Lecanora* v.v....
Mảnh nhỏ màu lục thẫm. Tan trong nước và ethanol.
Vùng chuyển màu: đỏ (pH 5,0) đến xanh lam (pH 8,0).

Giấy quỳ xanh
Đun sôi 10 phần *quỳ (TT)* đã tán thành bột thô với 100 phần *ethanol 96 % (TT)* dưới sinh hàn trong 1 h. Gạn bỏ phần ethanol. Thêm hỗn hợp gồm 45 phần *ethanol 96 % (TT)* và 55 phần *nước* vào cặn. Để yên 2 ngày, gạn lấy phần dịch trong (dịch chiết A). Tẩm dịch chiết A vào các mảnh giấy lọc, để khô.
Độ nhạy: Nhúng mảnh giấy quỳ xanh, kích thước 10 mm × 60 mm, vào hỗn hợp gồm 100 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,002 N (TT)* và 90 ml *nước*. Lắc nhẹ, giấy phải chuyển màu sang đỏ trong vòng 45 s.

Giấy quỳ đỏ
Lấy dịch chiết A trong điều chế Giấy quỳ xanh, thêm từng giọt *dung dịch acid hydrocloric 2 N (TT)* cho đến khi màu xanh chuyển thành đỏ. Tẩm dung dịch thu được vào các mảnh giấy lọc, để khô.
Độ nhạy: Nhúng mảnh giấy quỳ đỏ, kích thước 10 mm × 60 mm, vào 100 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,002 N (TT)*. Lắc nhẹ, giấy phải chuyển màu sang xanh trong vòng 45 s.

Dung dịch quỳ
Đun sôi 25 g *quỳ (TT)* đã tán thành bột thô với 100 ml *ethanol 90 %* dưới sinh hàn trong 1 h. Gạn bỏ phần dịch trong, lặp lại quá trình này 2 lần, mỗi lần với 75 ml *ethanol 90 %*. Hòa lượng quỳ đã được chiết vào 250 ml *nước*, lọc.

Thymolphtalein
3,3-Bis (4-hydroxy-5-isopropyl-2-methylphenyl) phthalid
$C_{28}H_{30}O_4$ = 430,5
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột màu trắng. Thực tế không tan trong nước, tan trong ethanol và các dung dịch kiềm loãng.
Vùng chuyển màu: Không màu (pH 9,3) đến xanh lam (pH 10,5).

Dung dịch thymolphtalein
Hòa tan 0,10 g *thymolphtalein (TT)* trong *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ 100 ml.
Độ nhạy: Lấy 100 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, thêm 0,2 ml *dung dịch thymolphtalein (TT)*, dung dịch không màu. Khi thêm không quá 0,05 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*, phải xuất hiện màu xanh lam.

Tím pyrocatechin
Pyrocatechinsulfonphthalein; Tím catechol; 4,4'-(3H-2,1-Benzoxanthiol-3-yliden)dipyrocatechol S,S-dioxyd
$C_{19}H_{14}O_7S$ = 386,38
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột kết tinh màu nâu đỏ với ánh kim loại. Dễ tan trong nước và ethanol.
Trong môi trường acid (pH 2 - 3) tạo màu xanh lam với ion bismuth và khi không có mặt ion này, dung dịch có màu vàng. Trong môi trường kiềm tạo màu lam lục với ion magnesi và ion kẽm, khi không có mặt các ion này, dung dịch có màu tím đỏ.

Dung dịch tím pyrocatechin
Hòa tan 0,1 g *tím pyrocatechin (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Tím tinh thể
Gentialviolet; Hexamethyl-p-rosanilin clorid
$C_{25}H_{30}ClN_3$ = 408,0
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột kết tinh hay tinh thể màu lục thẫm, có ánh kim loại. Tan trong nước, ethanol và acid acetic khan.
Khi dùng chuẩn độ trong môi trường khan, màu chuyển từ tím (kiềm) qua lục lam (trung tính) đến lục vàng (acid).

Dung dịch tím tinh thể
Hòa tan 0,50 g *tím tinh thể (TT)* trong *acid acetic khan (TT)* vừa đủ 100 ml.
Độ nhạy: Lấy 50 ml *acid acetic khan (TT)*, thêm 0,1 ml *dung dịch tím tinh thể (TT)*, dung dịch có màu tím. Thêm 0,10 ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)*, màu của hỗn hợp phải chuyển sang lục lam.

Tinh bột
Bột rất mịn, không mùi, không vị.
Dùng loại tinh khiết.

Dung dịch hồ tinh bột
Nghiền 1 g *tinh bột (TT)* với 5 ml *nước*, rồi vừa đổ vừa khuấy vào 100 ml *nước* sôi. Đun sôi tiếp cho đến khi thu được chất lỏng chỉ hơi đục.
Pha trước khi dùng.
Độ nhạy: Lấy 5 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)*, pha loãng thành 100 ml với *nước*, thêm 2 giọt *dung dịch iod 0,1 N (CĐ)*, dung dịch phải có màu xanh lam.

Dung dịch hồ tinh bột có kali iodid
Hòa tan 0,5 g *kali iodid (TT)* vào 100 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* mới pha.
Dung dịch này chỉ dùng trong 24 h.

Giấy hồ tinh bột có iodid
Tẩm ướt giấy lọc với *dung dịch hồ tinh bột có kali iodid (TT)*, để khô ở chỗ tối không có hơi acid. Cắt giấy thành những băng dài 50 mm, rộng 6 mm. Khi nhỏ 1 giọt *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* vào băng giấy chỉ thị, không được xuất hiện màu xanh lam ngay lập tức.
Bảo quản trong lọ thủy tinh màu nâu, nút mài.
Độ nhạy: Trộn 0,05 ml *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)* và 4 ml *acid hydrocloric (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 100 ml. Nhỏ 0,05 ml dung dịch thu được lên băng giấy chỉ thị, phải xuất hiện màu xanh lam ngay tức khắc.

Vàng alizarin
4-Nitro-4'-oxyazobenzen-3'-natri carboxylat
$C_{13}H_8N_3NaO_5$ = 309,2
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột kết tinh màu nâu đỏ hay nâu vàng. Ít tan trong nước và ethanol.
Vùng chuyển màu: pH 10,1 (vàng) đến pH 12,1 (tím hồng).

Dung dịch vàng alizarin
Đun cách thủy để hòa tan 0,1 g *vàng alizarin (TT)* đã tán nhỏ trong một ít *nước*, để nguội và thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Vàng metanil
Natri 3-[4-(phenylamino) phenylazo] benzensulphonat
$C_{18}H_{14}N_3NaO_3S$ = 375,4
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột màu vàng nâu. Tan trong nước và ethanol, rất ít tan trong ether.
Khi dùng để chuẩn độ trong môi trường khan, màu chuyển từ vàng (kiềm) sang đỏ tía (acid).

Dung dịch vàng metanil
Hòa tan 0,1 g *vàng metanil (TT)* trong *methanol (TT)* vừa đủ 100 ml.
Độ nhạy: Thêm 0,1 ml *dung dịch vàng metanil (TT)* vào 50 ml *acid acetic khan (TT)*, dung dịch có màu đỏ hồng. Thêm 0,05 ml *dung dịch acid percloric 0,1 M (CĐ)*, màu chuyển sang tím.
Vùng chuyển màu: pH 1,2 (đỏ) đến pH 2,3 (vàng cam).

Vàng titan
Thiazol yellow
Dinatri 2,2'-[(1-triazen-1,3-diyl)di-4,1-phenylen] bis-[6-methylbenzothiazol-7-sulfonat]
$C_{28}H_{19}N_5Na_2O_6S_4$ = 696,0
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột màu nâu vàng. Dễ tan trong nước và ethanol.

Dung dịch vàng titan
Hòa tan 0,05 g *vàng titan (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.
Độ nhạy: Thêm 0,1 ml *dung dịch vàng titan (TT)* vào hỗn hợp gồm 10 ml *nước*, 0,2 ml *dung dịch magnesi mẫu 10 phần triệu (TT)* và 1,0 ml *natri hydroxyd 1 M (CĐ)*. Dung dịch có màu hồng, thấy rõ khi so sánh với dung dịch đối chiếu được chuẩn bị tương tự, nhưng không có *dung dịch magnesi mẫu 10 phần triệu (TT)*.

Giấy vàng titan
Tẩm giấy lọc bằng *dung dịch vàng titan (TT)*, rồi để khô ở nhiệt độ phòng.

Xanh bromophenol
3,3'-5,5' Tetrabromophenolsulfonphthalein
4,4'-(3H-2,1-Benzoxathiol-3-yliden) bis (2,6-Dibromophenol) S,S-dioxyd
$C_{19}H_{10}Br_4O_5S$ = 670,0
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột màu vàng cam. Rất khó tan trong nước, khó tan trong ethanol, dễ tan các dung dịch kiềm hydroxyd loãng.
Vùng chuyển màu: pH 2,8 (vàng) đến pH 4,6 (tím lam).

Dung dịch xanh bromophenol
Hòa tan 0,1 g *xanh bromophenol (TT)* trong hỗn hợp gồm 1,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (TT)* và 20 ml *ethanol 96 % (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 100 ml.
Độ nhạy: Lấy 20 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, thêm 0,05 ml *dung dịch xanh bromophenol (TT)* và 0,05 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)*, dung dịch có màu vàng. Khi thêm không quá 0,10 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*, màu phải chuyển sang tím lam.

Dung dịch xanh bromophenol trong ethanol
Hòa tan 0,1g *xanh bromophenol (TT)* trong *ethanol 20 %* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch xanh bromophenol (TT_1)
Hòa tan 50 mg *xanh bromophenol (TT)* bằng cách đun nóng nhẹ với 3,73 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (TT)*, pha loãng với *nước* vừa đủ 100 ml.

Xanh bromothymol
3,3'-Dibromothymolsulfonphthalein
4,4'-(3H-2,1-Benzoxathiol-3-yliden) bis (2-bromothymol) S,S-dioxyd
$C_{27}H_{28}Br_2O_5S$ = 624
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột kết tinh màu hồng đỏ hay nâu. Thực tế không tan trong nước, tan trong ethanol và các dung dịch kiềm loãng.
Vùng chuyển màu: pH 6,0 (vàng) đến pH 7,6 (xanh lam).

Dung dịch xanh bromothymol
Hòa tan 50 mg *xanh bromothymol (TT)* trong hỗn hợp gồm 4 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (TT)* và 20 ml *ethanol 96 % (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 100 ml.
Độ nhạy: Lấy 100 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, thêm 0,3 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)*, dung dịch có màu vàng. Khi thêm không quá 0,10 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)*, màu phải chuyển sang xanh lam.

Dung dịch xanh bromothymol (TT_1)
Dung dịch chỉ thị BRP
Hòa tan 0,1 g *xanh bromothymol (TT)*, 20 mg *đỏ methyl (TT)* và 0,2 g *phenolphtalein (TT)* trong *ethanol 96 % (TT)* vừa đủ 100 ml, lọc.

Dung dịch xanh bromothymol (TT_2)
Dung dịch 1 % *xanh bromothymol (TT)* trong *dimethylformamid (TT)*.

Xanh thymol
Thymolsulfonphthalein
4,4''-(3H-2,1-Benzoxathiol-3-yliden) dithymol S,S-dioxyd
$C_{27}H_{30}O_5S$ = 466,6
Dùng loại tinh khiết hóa học.
Bột kết tinh màu lam lục đến lục nâu. Khó tan trong nước, tan trong ethanol và các dung dịch kiềm loãng.
Vùng chuyển màu: pH 1,2 (đỏ) đến pH 2,8 (vàng); pH 8,0 (lục nâu) đến pH 9,6 (lam).

Dung dịch xanh thymol
Hòa tan 0,1 g *xanh thymol (TT)* trong hỗn hợp gồm 2,15 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (TT)* và 20 ml *ethanol 96 % (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 100 ml.
Độ nhạy: Lấy 100 ml *nước không có carbon dioxyd (TT)*, thêm 0,1 ml *dung dịch xanh thymol (TT)* và 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)*, dung dịch có màu xanh lam. Khi thêm không quá 0,1 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,02 N (CĐ)*, phải chuyển sang vàng.

Dung dịch xanh thymol trong dimethylformamid
Hòa tan 1 g *xanh thymol (TT)* trong *dimethylformamid (TT)* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch xanh thymol trong methanol
Hòa tan 0,3 g *xanh thymol (TT)* trong *methanol (TT)* vừa đủ 100 ml. Lọc, nếu cần.

Khoảng pH và màu chuyển của các chất chỉ thị

Chỉ thị	Khoảng pH	Màu chuyển
Đỏ cresol	0,2 đến 1,8	Đỏ - Vàng
	7,0 đến 8,8	Vàng - Đỏ
Xanh thymol	1,2 đến 2,8	Đỏ - Vàng
Tropeolin 00	1,3 đến 3,2	Đỏ - Vàng
Da cam methyl	3,0 đến 4,4	Đỏ - Vàng
Xanh bromophenol	2,8 đến 4,6	Vàng - Tím lam
Đỏ congo	3,0 đến 5,0	Lam - Hồng
Lục bromocresol	3,6 đến 5,2	Vàng - Lam
Đỏ methyl	4,4 đến 6,0	Đỏ - Vàng
Đỏ tía bromocresol	5,2 đến 6,8	Vàng - Tím lam
Xanh bromothymol	6,0 đến 7,6	Vàng - Lam
Đỏ trung tính	6,8 đến 8,0	Đỏ - Da cam
Đỏ phenol	6,8 đến 8,4	Vàng - Tím đỏ
Xanh thymol	8,0 đến 9,6	Lục nâu - Lam
Phenolphtalein	8,2 đến 10,0	Không màu - Đỏ
Thymolphtalein	9,3 đến 10,5	Không màu - Lam
Vàng alizarin	10,1 đến 12,1	Vàng - Tím hồng

2.2 CÁC DUNG DỊCH CHUẨN ĐỘ (CĐ)

Quy định chung
Dung dịch chuẩn độ là dung dịch có nồng độ chính xác, biết trước dùng trong phân tích định lượng thể tích.
Nồng độ của dung dịch chuẩn độ thường được biểu thị bằng:
Nồng độ đương lượng gam (N): Số đương lượng gam của chất tan trong 1000 ml dung dịch.
Nồng độ mol (M): Số mol của chất tan trong 1000 ml dung dịch.
Tỷ số giữa nồng độ thực và nồng độ lý thuyết là hệ số hiệu chỉnh K, không được nằm ngoài giới hạn 1,00 ± 0,10. Nên dùng các dung dịch chuẩn độ với K trong khoảng từ 0,970 đến 1,030. Nồng độ dung dịch chuẩn độ được xác định với số lần chuẩn độ thích hợp và độ lệch chuẩn tương đối của các kết quả thu được không được quá 0,2 %.

Phương pháp chung để pha chế các dung dịch chuẩn độ
Đối với mỗi loại dung dịch chuẩn độ, phương pháp pha chế và chuẩn hóa những dung dịch ở các nồng độ hay được sử dụng nhất sẽ được mô tả dưới đây. Các dung dịch đậm đặc hơn được pha chế và chuẩn hóa bằng cách tăng lượng thuốc thử lên tương ứng. Các dung dịch nước có nồng độ loãng hơn được điều chế bằng cách pha loãng chính xác một dung dịch đậm đặc hơn với *nước không có carbon dioxyd (TT)*. Hệ số hiệu chỉnh của những dung dịch này chính là hệ số hiệu chỉnh của dung dịch đã dùng để pha loãng. Các dung dịch nước có nồng độ mol nhỏ hơn 0,1 M phải được pha chế với *nước không có carbon dioxyd (TT)*.
Khi pha chế các dung dịch kém bền vững như kali permanganat, natri thiosulfat, phải dùng nước mới đun sôi để nguội. Đối với dung dịch chuẩn độ được dùng trong định lượng mà điểm tương đương được xác định bằng phương pháp điện hóa thì kỹ thuật xác định điểm tương đương này cũng phải được dùng trong chuẩn hóa dung dịch đó.
Tất cả các dung dịch chuẩn độ phải được pha chế, chuẩn hóa và sử dụng ở nhiệt độ 25 °C. Nếu nhiệt độ khi định lượng khác với nhiệt độ lúc chuẩn hóa thì thể tích dung dịch chuẩn độ sẽ được hiệu chỉnh lại.
Dưới đây là phương pháp pha chế và chuẩn hóa các dung dịch chuẩn độ được dùng:

Pha chế từ chất chuẩn độ gốc
Cân chính xác một lượng chất chuẩn độ gốc tương ứng với lượng chất lý thuyết tính theo nồng độ và thể tích dung dịch chuẩn độ cần pha, hòa tan trong dung môi chỉ dẫn vừa đủ thể tích.

Pha gần đúng rồi chuẩn hóa bằng chất chuẩn độ gốc hoặc bằng dung dịch chuẩn độ có hệ số K đã biết
Chất chuẩn độ gốc: Các hóa chất loại tinh khiết phân tích dưới đây, sau khi làm khô trong những điều kiện chỉ dẫn, được dùng làm chất chuẩn độ gốc để xác định K của dung dịch chuẩn độ:
Acid benzoic ($C_7H_6O_2$): Để 24 h trong bình hút ẩm chứa silica gel khan.

Acid sulfanilic ($C_6H_7NO_3S$): Sấy ở 100 °C đến 105 °C đến khối lượng không đổi.
Arsen trioxyd (As_2O_3): Để 24 h trong bình hút ẩm chứa silicagel khan.
Kali bromat ($KBrO_3$): Sấy ở 180 °C đến khối lượng không đổi.
Kali dicromat ($K_2Cr_2O_7$): Sấy ở 150 °C đến khối lượng không đổi.
Kali hydrophtalat ($C_8H_5O_4K$): Sấy ở 110 °C đến khối lượng không đổi.
Kali iodat (KIO_3): Sấy ở 130 °C đến khối lượng không đổi.
Kẽm hạt (Zn): Sử dụng loại có hàm lượng Zn không ít hơn 99,9 %.
Natri carbonat khan (Na_2CO_3): Nung ở 270 °C đến 300 °C đến khối lượng không đổi.
Natri clorid (NaCl): Nung ở 300 °C đến khối lượng không đổi.
Cách xác định K:
Chuẩn hóa bằng chất chuẩn độ gốc: Cân chính xác một lượng chất chuẩn độ gốc, hòa tan trong dung môi chỉ dẫn, chuẩn độ bằng dung dịch chuẩn độ mới pha, tính K theo công thức:

$$K = \frac{a}{T \times V} \quad (1)$$

Trong đó:
a là lượng chất chuẩn độ gốc đã cân (g);
T là độ chuẩn lý thuyết của chất chuẩn độ gốc (g/ml);
V là số ml dung dịch chuẩn độ đã dùng.
Chuẩn hóa bằng dung dịch chuẩn độ có hệ số K_0 đã biết:
Trong trường hợp này, K được tính theo công thức:

$$K = \frac{V_0 \times K_0 \times C_0}{V \times C} \quad (2)$$

Trong đó:
C_0 là nồng độ lý thuyết của dung dịch chuẩn độ dùng để chuẩn hóa;
K_0 là hệ số hiệu chỉnh của dung dịch chuẩn độ dùng để chuẩn hóa;
V_0 là số ml dung dịch chuẩn độ dùng để chuẩn hóa đã dùng;
C là nồng độ lý thuyết của dung dịch chuẩn độ cần pha;
V là số ml dung dịch chuẩn độ cần xác định hệ số K đã dùng.
Ghi chú:
Nếu K nằm ngoài giới hạn quy định, cần pha loãng hay làm đậm đặc dung dịch. Khi cần pha loãng, tích (K - 1) nhân với 1000 là số ml dung môi cần thêm vào 1000 ml dung dịch. Trong trường hợp cần làm đậm đặc, tích (1 - K) nhân với số g hóa chất cần lấy để pha 1000 ml dung dịch là số g hóa chất phải thêm vào 1000 ml dung dịch. Sau khi thêm dung môi hay hóa chất, xác định lại K của dung dịch thu được.

Pha loãng những dung dịch chuẩn độ có nồng độ cao
Pha loãng một cách chính xác dung dịch chuẩn độ có nồng độ cao thành dung dịch có nồng độ thấp hơn 2 lần, 5 lần, 10 lần v.v... bằng dung môi tương ứng. Hệ số hiệu chỉnh của dung dịch chuẩn độ pha được chính là hệ số hiệu chỉnh của dung dịch đã dùng để pha loãng. Những dung dịch chuẩn độ có nồng độ nhỏ hơn 0,1 N chỉ được điều chế theo cách này ngay trước khi dùng.

Dùng ống chuẩn pha sẵn
Ống chuẩn pha sẵn (fixanal) chứa lượng hóa chất hay dung dịch hóa chất đủ để pha thành một thể tích dung dịch chuẩn độ quy định. Dùng dung môi pha chế theo chỉ dẫn ghi trên nhãn ống, thu được dung dịch chuẩn độ có K đã biết.

Cách pha chế một số dung dịch chuẩn độ

Dung dịch acid acetic 0,1 N
1 ml dung dịch chứa 0,00601 g acid acetic ($C_2H_4O_2$).
Điều chế: Lấy 6,0 g *acid acetic băng (TT)* pha loãng với *nước* vừa đủ 1000 ml.
Chuẩn độ: Lấy 25,0 ml dung dịch acid acetic đã điều chế, chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1N (CĐ)*, dùng 0,5 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* làm chỉ thị.
Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (2).

Dung dịch acid hydrocloric 1 N
1 ml dung dịch chứa 0,03646 g acid hydrocloric (HCl).
Điều chế: Lấy 85 ml *acid hydrocloric đậm đặc (TT)* pha loãng với *nước* vừa đủ 1000 ml.
Chuẩn độ: Cân chính xác khoảng 0,50 g chất chuẩn gốc natri carbonat, hòa tan trong 50 ml *nước*, thêm 2 giọt *dung dịch da cam methyl (TT)*. Chuẩn độ bằng dung dịch acid hydrocloric đã điều chế cho đến khi chuyển sang màu hồng cam. Đun sôi 2 min, để nguội, chuẩn độ tiếp đến màu hồng cam.
Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (1), trong đó T = 0,053 g/ml.

Dung dịch acid hydrocloric 0,5 N
1 ml dung dịch chứa 0,01823 g acid hydrocloric (HCl).
Điều chế: Lấy 42 ml *acid hydrocloric đậm đặc (TT)* pha loãng với *nước* vừa đủ 1000 ml.
Chuẩn độ: Tiến hành như mô tả trong *Dung dịch acid hydrocloric 1 N*, dùng khoảng 0,25 g (cân chính xác) chất chuẩn gốc natri carbonat.
Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (1), trong đó T = 0,0265 g/ml.

Dung dịch acid hydrocloric 0,1 N
1 ml dung dịch chứa 0,003646 g acid hydrocloric (HCl).
Điều chế: Lấy 8,5 ml *acid hydrocloric đậm đặc (TT)* pha loãng với *nước* vừa đủ 1000 ml.
Chuẩn độ: Tiến hành như mô tả trong *Dung dịch acid hydrocloric 1 N*, dùng khoảng 0,10 g (cân chính xác) chất chuẩn gốc natri carbonat.
Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (1), trong đó T = 0,0053 g/ml.

Dung dịch acid hydrocloric 0,1 N trong methanol
1 ml dung dịch chứa 0,003646 g acid hydrocloric (HCl).
Điều chế: Lấy 8,5 ml *acid hydrocloric đậm đặc (TT)* pha loãng với *methanol (TT)* vừa đủ 1000 ml.
Chuẩn độ: Tiến hành như mô tả trong *Dung dịch acid hydrocloric 0,1 N*.

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (1), trong đó T = 0,0053 g/ml.

Dung dịch acid percloric 0,1 N

1 ml dung dịch chứa 0,01005 g acid percloric ($HClO_4$).

Điều chế: Lấy 900 ml *acid acetic băng (TT)*, thêm 8,5 ml *acid percloric (TT)*, trộn đều và thêm 30 ml *anhydrid acetic (TT)*. Thêm *acid acetic băng (TT)* vừa đủ 1000 ml. Lắc đều, để yên 24 h. Xác định hàm lượng nước theo Phụ lục 10.3 mà không thêm methanol, và nếu cần thì điều chỉnh hàm lượng nước trong khoảng từ 0,1 % đến 0,2 % bằng *anhydrid acetic* hoặc *nước*. Sau đó, để yên 24 h.

Chuẩn độ: Cân chính xác khoảng 0,35 g chất chuẩn gốc kali hydrophtalat, hòa tan trong 50 ml *acid acetic khan (TT)* trong một bình nón có nút mài, đun nóng nhẹ nếu cần. Thêm 0,05 ml *dung dịch tím tinh thể (TT)* và chuẩn độ bằng dung dịch acid percloric đã điều chế cho đến khi chuyển màu từ tím sang xanh lơ.

Song song tiến hành một mẫu trắng.

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (1), trong đó T = 0,02042 g/ml.

Ghi nhiệt độ khi tiến hành chuẩn hóa. Nếu nhiệt độ khi định lượng khác với nhiệt độ lúc chuẩn hóa dung dịch, thể tích dung dịch chuẩn độ acid percloric dùng trong định lượng được hiệu chỉnh theo công thức sau:

$$V_c = V[1 - 0,0011(t_1 - t_2)]$$

Trong đó:

t_1 là nhiệt độ khi chuẩn hóa;

t_2 là nhiệt độ khi định lượng;

V là thể tích đã dùng khi định lượng;

V_c là thể tích hiệu chỉnh.

Các dung dịch acid percloric nồng độ loãng hơn được điều chế bằng cách pha loãng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* với *acid acetic khan (TT)*.

Dung dịch acid sulfuric 1 N

1 ml dung dịch chứa 0,04904 g acid sulfuric (H_2SO_4).

Điều chế: Rót cẩn thận 30 ml *acid sulfuric (TT)* vào 200 ml *nước*, lắc đều, làm nguội đến nhiệt độ phòng và pha loãng với *nước* vừa đủ 1000 ml, trộn đều.

Chuẩn độ: Tiến hành như mô tả trong *Dung dịch acid hydrocloric 1 N*.

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (1), trong đó T = 0,053 g/ml.

Dung dịch acid sulfuric 0,5 N

1 ml dung dịch chứa 0,02452 g acid sulfuric (H_2SO_4).

Điều chế: Rót cẩn thận 15 ml *acid sulfuric (TT)* vào 200 ml *nước*, lắc đều, làm nguội đến nhiệt độ phòng và pha loãng với *nước* vừa đủ 1000 ml, trộn đều.

Chuẩn độ: Tiến hành như mô tả trong *Dung dịch acid hydrocloric 0,5 N*.

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (1), trong đó T = 0,0265 g/ml.

Dung dịch acid sulfuric 0,1 N

1 ml dung dịch chứa 0,004904 g acid sulfuric (H_2SO_4).

Điều chế: Pha loãng 100,0 ml *dung dịch acid sulfuric 1 N (CĐ)* với *nước* vừa đủ 1000 ml.

Chuẩn độ: Tiến hành như mô tả trong *Dung dịch acid hydrocloric 0,1 N*.

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (1), trong đó T = 0,0053 g/ml.

Dung dịch amoni ceri nitrat 0,1 M

1 ml dung dịch chứa 0,05482 g *amoni ceri (IV) nitrat* $(NH_4)_2[Ce(NO_3)_6]$.

Lắc dung dịch chứa 56 ml *acid sulfuric (TT)* và 54,82 g *amoni ceri (IV) nitrat (TT)* trong 2 min và thêm *nước* 5 lần, mỗi lần 100 ml, lắc cẩn thận mỗi lần thêm. Sau đó thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Sau 10 ngày, xác định nồng độ chính xác của dung dịch bằng cách như sau: Thêm 2 g *kali iodid (TT)* và 150 ml *nước* vào 25 ml dung dịch. Chuẩn độ ngay lập tức bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 M (CĐ)*, dùng 1 ml *dung dịch hồ tinh bột* làm chỉ thị.

1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 M (TT)* tương đương với 54,82 mg $(NH_4)_2[Ce(NO_3)_6]$.

Bảo quản tránh ánh sáng.

Dung dịch amoni ceri nitrat 0,01 M

1 ml dung dịch chứa 0,005482 g *amoni ceri (IV) nitrat* $(NH_4)_2[Ce(NO_3)_6]$.

Thêm 30 ml *acid sulfuric (TT)* vào 100 ml *dung dịch amoni ceri (IV) nitrat 0,1 M (CĐ)* trong khi đang làm lạnh và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch amoni ceri sulfat 0,1 M (Dung dịch amoni và ceri sulfat 0,1 M)

1 ml dung dịch chứa 0,06326 g amoni ceri sulfat $[2(NH_4)_2SO_4.Ce(SO_4)_2.2H_2O)]$.

Điều chế: Hòa tan 65,0 g *amoni ceri sulfat (TT)* trong hỗn hợp 30 ml *acid sulfuric (TT)* và 500 ml *nước*, để nguội và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Chuẩn độ: Lấy 25,0 ml dung dịch amoni ceri sulfat đã điều chế, thêm 2 g *kali iodid (TT)* và 150 ml *nước*. Chuẩn độ ngay lập tức bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)*, dùng *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị.

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (2).

Bảo quản trong lọ thủy tinh nâu, tránh ánh sáng.

Dung dịch amoni sulfocyanid 0,1 N (Dung dịch amoni thiocyanat 0,1 N)

1 ml dung dịch chứa 0,007612 g amoni sulfocyanid (NH_4SCN).

Điều chế: Hòa tan 7,63 g *amoni sulfocyanid (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Chuẩn độ: Lấy 20,0 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)*, thêm 25 ml *nước*, 2 ml *acid nitric 2 M (TT)*, 2 ml *dung dịch sắt (III) amoni sulfat (TT)* và chuẩn độ bằng dung dịch amoni sulfocyanid đã điều chế cho đến màu hồng cam.

Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (2).

Dung dịch bạc nitrat 0,1 N

1 ml dung dịch chứa 0,01699 g bạc nitrat ($AgNO_3$).

Điều chế: Hòa tan 17,5 g *bạc nitrat (TT)* trong *nước* và pha loãng vừa đủ 1000 ml.
Chuẩn độ: Cân chính xác khoảng 0,12 g chất chuẩn gốc natri clorid, hòa tan trong 50 ml *nước*, thêm vài giọt *dung dịch kali cromat (TT)*. Chuẩn độ bằng dung dịch bạc nitrat đã điều chế đến khi xuất hiện tủa màu đỏ nhạt.
Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (1), trong đó T = 0,005844 g/ml.
Bảo quản trong lọ thủy tinh nâu, tránh ánh sáng.

Dung dịch bari clorid 0,1 M
1 ml dung dịch chứa 0,02443 g bari clorid ($BaCl_2.2H_2O$)
Điều chế: Hòa tan 24,4 g *bari clorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.
Chuẩn độ: Lấy 10,0 ml dung dịch bari clorid đã điều chế, thêm 60 ml *nước*, 3 ml *dung dịch amoniac 13,5 M (TT)* và 0,5 mg đến 1,0 mg *đỏ tía phtalein (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)*. Khi dung dịch bắt đầu nhạt màu, thêm 50 ml *ethanol 96 % (TT)* và chuẩn độ cho đến khi mất màu tím xanh.
Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (2).

Dung dịch bismuth nitrat 0,01 M
1 ml dung dịch chứa 0,004851 g *bismuth nitrat pentahydrat* [$Bi(NO_3)_3.5H_2O$].
Hòa tan 4,86 g *bismuth nitrat pentahydrat (TT)* trong 60 ml *dung dịch acid nitric loãng (TT)* và pha loãng thành 1000,0 ml bằng *nước*.
Chuẩn độ: Lấy 25,0 ml *dung dịch nitrat bismuth*, thêm 50 ml *nước* và chuẩn độ bằng *dung dịch natri edetat 0,01 M (CĐ)* dùng 0,05 ml *dung dịch xylenol da cam* 0,1 % làm chỉ thị.

Dung dịch brom 0,1 N
1 ml dung dịch chứa 0,00799 g brom (Br_2).
Điều chế: Hòa tan 2,7835 g chất chuẩn gốc kali bromat và 13 g *kali bromid (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.
Bảo quản dung dịch trong lọ thủy tinh nâu, tránh ánh sáng.

Dung dịch ceri sulfat 0,1 M
1 ml dung dịch chứa 0,04043 g ceri sulfat [$Ce(SO_4)_2.4H_2O$].
Điều chế: Hòa tan 40,4 g *ceri sulfat (TT)* trong hỗn hợp gồm 50 ml *acid sulfuric (TT)* và 500 ml *nước*, để nguội và thêm *nước* đến vừa đủ 1000 ml.
Chuẩn độ: Tiến hành như mô tả trong *Dung dịch amoni ceri sulfat 0,1 M*, dùng 25,0 ml dung dịch ceri sulfat đã điều chế.
Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (2).
Bảo quản trong lọ thủy tinh nâu, tránh ánh sáng.

Dung dịch chì nitrat 0,1 M
1 ml dung dịch chứa 0,03312 g chì nitrat [$Pb(NO_3)_2$].
Điều chế: Hòa tan 33,0 g *chì nitrat (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.
Chuẩn độ: Lấy 20,0 ml dung dịch chì nitrat đã điều chế, thêm 300 ml *nước* và chuẩn độ bằng phương pháp chuẩn độ complexon cho chì (Phụ lục 10.5).
Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (2).

Dung dịch chì nitrat 0,1 N (Dung dịch chì nitrat 0,05 M)
1 ml dung dịch chứa 0,01656 g chì nitrat [$Pb(NO_3)_2$].
Điều chế: Hòa tan 16,6 g *chì nitrat (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.
Chuẩn độ: Lấy 50,0 ml dung dịch chì nitrat đã điều chế, thêm 300 ml *nước* và chuẩn độ bằng phương pháp chuẩn độ complexon cho chì (Phụ lục 10.5).
Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (2).

Dung dịch iod 0,1 N
1 ml dung dịch chứa 0,01269 g iod (I_2).
Điều chế: Hòa tan 20 g *kali iodid (TT)* trong 50 ml *nước*, thêm 12,7 g *iod (TT)*, lắc cho tan và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Chuẩn độ: Lấy 25,0 ml dung dịch iod đã điều chế, thêm 1 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)* và 30 ml *nước*. Chuẩn độ ngay lập tức bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)*, dùng *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị.
Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (2).
Bảo quản trong lọ thủy tinh nâu, tránh ánh sáng.

Dung dịch kali bromat 0,1 N (Dung dịch kali bromat 0,0167 M)
1 ml dung dịch chứa 0,002784 g kali bromat ($KBrO_3$).
Điều chế: Hòa tan 2,7840 g chất chuẩn gốc kali bromat trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch kali dicromat 0,1 N (Dung dịch kali dicromat 0,0167 M)
1 ml dung dịch chứa 0,004903 g kali dicromat ($K_2Cr_2O_7$).
Điều chế: Hòa tan 4,9033 g chất chuẩn gốc kali dicromat trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch kali hydrophtalat 0,1 M
1 ml dung dịch chứa 0,02042 g kali hydrophtalat ($C_8H_5O_4K$).
Điều chế: Hòa tan 20,42 g chất chuẩn gốc kali hydrophtalat trong khoảng 800 ml *acid acetic khan (TT)*, đun trên cách thủy cho tới khi tan hoàn toàn, tránh ẩm. Làm lạnh tới 20 °C, thêm *acid acetic khan (TT)* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch kali hydroxyd 1 N
1 ml dung dịch chứa 0,05611 g kali hydroxyd (KOH).
Điều chế: Hòa tan 60 g *kali hydroxyd (TT)* trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* vừa đủ 1000 ml.
Chuẩn độ: Lấy 25,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 N (CĐ)* và chuẩn độ bằng dung dịch kali hydroxyd đã điều chế, dùng 0,5 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* làm chỉ thị.
Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (2).

Dung dịch kali hydroxyd 0,1 N
1 ml dung dịch chứa 0,00561 g kali hydroxyd (KOH).
Điều chế: Hòa tan 6 g *kali hydroxyd (TT)* trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* vừa đủ 1000 ml.
Chuẩn độ: Tiến hành như mô tả trong *Dung dịch kali hydroxyd 1 N*, dùng 25,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)*.
Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (2).

Dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol
1 ml dung dịch chứa 0,02805 g kali hydroxyd (KOH).
Điều chế: Hòa tan 30 g *kali hydroxyd (TT)* trong 50 ml *nước* và thêm *ethanol 96 % không có aldehyd (TT)* vừa đủ 1000 ml. Để yên 24 h và gạn nhanh phần dung dịch trong sang lọ thủy tinh màu.
Chuẩn độ: Tiến hành như mô tả trong Dung dịch kali hydroxyd 1 N, dùng 25,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,5 N (CD)*.
Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (2).
Bảo quản trong lọ thủy tinh nâu, tránh ánh sáng.

Dung dịch kali hydroxyd 0,1 N trong ethanol
1 ml dung dịch chứa 0,00561 g kali hydroxyd (KOH).
Điều chế: Hòa tan 6 g *kali hydroxyd (TT)* trong 50 ml *nước* và thêm *ethanol 96 % không có aldehyd (TT)* vừa đủ 1000 ml.
Chuẩn độ: Tiến hành như mô tả trong *Dung dịch kali hydroxyd 0,1 N*.
Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (2).
Bảo quản trong lọ thủy tinh nâu, tránh ánh sáng.

Dung dịch kali iodat 0,05 M
1 ml dung dịch chứa 0,0107 g kali iodat (KIO_3).
Điều chế: Hòa tan 10,700 g chất chuẩn gốc kali iodat trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch kali iodat 0,1 N (Dung dịch kali iodat 1/60 M)
1 ml dung dịch chứa 0,003567 g kali iodat (KIO_3).
Điều chế: Hòa tan 3,5670 g chất chuẩn gốc kali iodat trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch kali permanganat 0,1 N (Dung dịch kali permanganat 0,02 M)
1 ml dung dịch chứa 0,00316 g kali permanganat ($KMnO_4$).
Điều chế: Hòa tan 3,20 g *kali permanganat (TT)* trong 1000 ml *nước*, đun nóng trên cách thủy 1 h, để nguội và lọc qua phễu thủy tinh xốp.
Chuẩn độ: Lấy 20,0 ml dung dịch kali permanganat đã điều chế, thêm 2 g *kali iodid (TT)* và 10 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CD)*, dùng 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị. Song song tiến hành một mẫu trắng.
Hệ số hiệu chỉnh tính theo công thức (2).
Bảo quản trong lọ thủy tinh nâu, tránh ánh sáng.

Dung dịch kẽm clorid 0,05 M
1 ml dung dịch chứa 0,006815 g kẽm clorid ($ZnCl_2$).
Điều chế: Hòa tan 6,82 g *kẽm clorid (TT)* trong *nước*. Nếu cần, thêm từng giọt *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* cho đến khi hết đục và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Chuẩn độ: Lấy 20,0 ml dung dịch kẽm clorid đã điều chế, thêm 5 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)* và chuẩn độ bằng phương pháp chuẩn độ complexon cho kẽm (Phụ lục 10.5).
Hệ số hiệu chỉnh tính theo công thức (2).

Dung dịch kẽm sulfat 0,1 M
1 ml dung dịch chứa 0,02875 g kẽm sulfat ($ZnSO_4.7H_2O$).
Điều chế: Hòa tan 29,0 g *kẽm sulfat (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.
Chuẩn độ: Lấy 20,0 ml dung dịch kẽm sulfat đã điều chế, thêm 5 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)* và chuẩn độ bằng phương pháp chuẩn độ complexon cho kẽm (Phụ lục 10.5).
Hệ số hiệu chỉnh tính theo công thức (2).

Dung dịch lithi methoxyd 0,1 M
1 ml dung dịch chứa 0,003797 g lithi methoxyd (CH_3OLi).
Điều chế: Hòa tan từng lượng nhỏ 0,694 g *lithi (TT)* trong 150 ml *methanol khan (TT)*, thêm *toluen (TT)* vừa đủ 1000 ml.
Chuẩn độ ngay trước khi dùng: Lấy 10 ml *dimethylformamid (TT)*, thêm 0,05 ml *dung dịch xanh thymol 0,3 % trong methanol (TT)* và chuẩn độ bằng dung dịch lithi methoxyd đã điều chế tới màu xanh lam. Ngay lập tức thêm 0,2 g chất chuẩn gốc acid benzoic, lắc cho tan hoàn toàn và chuẩn độ bằng dung dịch lithi methoxyd đã điều chế cho tới khi màu xanh lam xuất hiện trở lại. Tránh carbon dioxyd từ môi trường xung quanh trong suốt quá trình chuẩn độ. Số ml dung dịch lithi methoxyd đã điều chế dùng cho lần chuẩn độ sau là thể tích dung dịch chuẩn độ đã dùng (V).
Hệ số hiệu chỉnh tính theo công thức (1), trong đó T = 0,01221 g/ml.
Nên bảo quản trong lọ có gắn buret tự động và thiết bị chống ẩm và carbon dioxyd.

Dung dịch magnesi clorid 0,1 M
1 ml dung dịch chứa 0,02033 g magnesi clorid ($MgCl_2.6H_2O$)
Điều chế: Hòa tan 20,33 g *magnesi clorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.
Chuẩn độ: Lấy chính xác 25,0 ml dung dịch magnesi clorid đã điều chế và chuẩn độ bằng phương pháp chuẩn độ complexon cho magnesi (Phụ lục 10.5).
Hệ số hiệu chỉnh tính theo công thức (2).

Dung dịch magnesi sulfat 0,05 M
1 ml dung dịch chứa 0,01233 g magnesi sulfat ($MgSO_4.7H_2O$).
Điều chế: Hòa tan 12,5 g *magnesi sulfat (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.
Chuẩn độ: Lấy đúng 25,0 ml dung dịch magnesi sulfat đã điều chế và chuẩn độ bằng phương pháp complexon cho magnesi (Phụ lục 10.5).
Hệ số hiệu chỉnh tính theo công thức (2).

Dung dịch natri arsenit 0,1 M
1 ml dung dịch chứa 0,01299 g natri arsenit ($NaAsO_2$).
Điều chế: Hòa tan 4,946 g chất chuẩn gốc arsen trioxyd trong hỗn hợp gồm 20 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)* và 20 ml *nước*, pha loãng với *nước* thành 400 ml và thêm *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* cho đến khi trung tính với giấy quỳ. Hòa tan 2 g *natri hydrocarbonat (TT)* trong dung dịch thu được và thêm *nước* vừa đủ 500 ml.

Dung dịch natri hydroxyd 1 N
1 ml dung dịch chứa 0,0400 g natri hydroxyd (NaOH).

Điều chế: Hòa tan 45,0 g *natri hydroxyd (TT)* trong 50 ml *nước*. Đậy kín bình bằng nút cao su, để yên qua đêm, gạn phần dung dịch trong ở trên và pha loãng với *nước không có carbon dioxyd (TT)* vừa đủ 1000 ml.
Chuẩn độ: Lấy 20,0 ml dung dịch natri hydroxyd đã điều chế, thêm loại chỉ thị sẽ dùng trong phép định lượng mà dung dịch natri hydroxyd 1 N được sử dụng làm dung dịch chuẩn độ và chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 N (CĐ)*.
Hệ số hiệu chỉnh tính theo công thức (2).

Dung dịch natri hydroxyd 0,5 N
1 ml dung dịch chứa 0,0200 g natri hydroxyd (NaOH).
Điều chế: Hòa tan 25 g *natri hydroxyd (TT)* trong 25 ml *nước* và tiến hành như mô tả trong *Dung dịch natri hydroxyd 1 N*.
Chuẩn độ: Tiến hành như mô tả trong *Dung dịch natri hydroxyd 1 N*, chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,5 N (CĐ)*.
Hệ số hiệu chỉnh tính theo công thức (2).

Dung dịch natri hydroxyd 0,1 N
1 ml dung dịch chứa 0,0040 g natri hydroxyd (NaOH).
Điều chế: Hòa tan 4,50 g *natri hydroxyd (TT)* trong 5 ml *nước* và tiến hành như mô tả trong *Dung dịch natri hydroxyd 1 N*.
Chuẩn độ: Tiến hành như mô tả trong *Dung dịch natri hydroxyd 1 N*, chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)*.
Hệ số hiệu chỉnh tính theo công thức (2).

Dung dịch natri hydroxyd 0,1 N trong ethanol
1 ml dung dịch chứa 0,0040 g natri hydroxyd (NaOH).
Điều chế: Thêm 3,3 g *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)* vào 250 ml *ethanol (TT)*.
Chuẩn độ: Hòa tan 0,2 g chất chuẩn gốc acid benzoic trong hỗn hợp gồm 10 ml *ethanol 96 % (TT)* và 2 ml *nước*. Chuẩn độ bằng dung dịch natri hydroxyd trong ethanol đã điều chế, dùng 0,2 ml *dung dịch thymolphtalein (TT)* làm chỉ thị.
Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (1), trong đó T = 0,01221 g/ml.

Dung dịch natri methoxyd 0,1 M
1 ml dung dịch chứa 0,005402 g natri methoxyd (CH_3ONa).
Điều chế: Lấy 175 ml *methanol khan (TT)*, làm lạnh trong nước đá và thêm từng lượng nhỏ 2,5 g *natri (TT)* mới cắt. Khi natri tan hết, thêm *toluen (TT)* vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Xác định độ chuẩn ngay trước khi dùng: Tiến hành như mô tả trong *Dung dịch lithi methoxyd 0,1 N*, chuẩn độ bằng dung dịch natri methoxyd đã điều chế.
Hệ số hiệu chỉnh tính theo công thức (1), trong đó T = 0,01221 g/ml.
Nên bảo quản trong lọ có gắn buret tự động và thiết bị chống ẩm và carbon dioxyd.

Dung dịch natri nitrit 0,1 M
1 ml dung dịch chứa 0,0069 g natri nitrit ($NaNO_2$).
Điều chế: Hòa tan 7,30 g *natri nitrit (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.
Xác định độ chuẩn ngay trước khi dùng theo cách sau: Hòa tan 0,3 g chất chuẩn gốc acid sulfanilic trong 50 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*, thêm 3 g *kali bromid (TT)*, làm lạnh trong nước đá và chuẩn độ bằng dung dịch natri nitrit đã điều chế, xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo ampe (Phụ lục 10.1).
Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (1), trong đó T = 0,01732 g/ml.
Bảo quản trong lọ thủy tinh nâu, tránh ánh sáng.

Dung dịch natri periodat 0,1 M
1 ml dung dịch chứa 0,02139 g natri periodat ($NaIO_4$).
Điều chế: Hòa tan 21,4 g *natri periodat (TT)* trong khoảng 500 ml *nước* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Chuẩn độ: Lấy 20,0 ml dung dịch natri periodat đã điều chế cho vào bình nón nút mài, thêm 5 ml *acid percloric (TT)*, đậy nắp bình, lắc. Điều chỉnh tới pH 6,4 bằng dung dịch bão hòa *natri hydrocarbonat (TT)*, thêm 10 ml *dung dịch kali iodid (TT)*, đậy nắp bình, lắc và để yên 2 min. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri arsenit 0,1 M (CĐ)* cho đến màu vàng nhạt, thêm 2 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* và chuẩn độ chậm cho tới mất màu hoàn toàn.
Hệ số hiệu chỉnh tính theo công thức (2).

Dung dịch natri thiosulfat 0,1 N
1 ml dung dịch chứa 0,02482 g natri thiosulfat ($Na_2S_2O_3.5H_2O$).
Điều chế: Hòa tan 25,0 g *natri thiosulfat (TT)* và 0,2 g *natri carbonat (TT)* trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* vừa đủ 1000 ml.
Chuẩn độ: Lấy 20,0 ml *dung dịch kali bromat 0,1 N (CĐ)*, thêm 40 ml *nước*, 10 ml *dung dịch kali iodid (TT)* và 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 7 M (TT)*. Chuẩn độ bằng dung dịch natri thiosulfat đã điều chế, dùng 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị.
Hệ số hiệu chỉnh tính theo công thức (2).

Dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,1 M
1 ml dung dịch chứa 0,02595 g tetrabutylamoni hydroxyd ($C_{16}H_{37}NO$).
Điều chế: Hòa tan 40,0 g *tetrabutylamoni iodid (TT)* trong 90 ml *methanol khan (TT)*, thêm 20 g *bạc oxyd (TT)* nghiền mịn và lắc mạnh trong 1 h. Ly tâm vài ml hỗn hợp và thử phản ứng iodid của dung dịch trong ở trên. Nếu phản ứng dương tính, thêm 2 g *bạc oxyd (TT)* và lắc 30 min. Lặp lại qui trình này cho đến khi hỗn hợp không còn iodid. Lọc hỗn hợp qua phễu lọc thủy tinh xốp, rửa bình và phễu lọc 3 lần, mỗi lần với 50 ml *toluen (TT)*. Thêm dịch rửa vào dịch lọc và thêm *toluen (TT)* vừa đủ 1000 ml. Cho luồng khí nitrogen không có carbon dioxyd sục 5 min qua dung dịch.
Xác định độ chuẩn ngay trước khi dùng: Tiến hành như mô tả trong *Dung dịch lithi methoxyd 0,1 N*, chuẩn độ bằng dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd đã điều chế.
Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (1), trong đó T = 0,01221 g/ml.
Nên bảo quản trong lọ có gắn buret tự động và thiết bị chống ẩm, carbon dioxyd.

Dung dịch thủy ngân (II) nitrat 0,02 M
1 ml dung dịch chứa 0,006852 g thủy ngân (II) nitrat [$Hg(NO_3)_2.H_2O$].
Điều chế: Hòa tan 6,85 g *thủy ngân (II) nitrat (TT)* trong 20 ml *dung dịch acid nitric 1 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Chuẩn độ: Cân chính xác khoảng 0,15 g chất chuẩn gốc natri clorid cho vào bình định mức 100 ml, thêm 50 ml *nước*, lắc cho tan hoàn toàn và thêm *nước* vừa đủ 100 ml, lắc đều. Lấy 10,0 ml dung dịch thu được, thêm 40 ml *nước*. Chuẩn độ bằng dung dịch thủy ngân nitrat đã điều chế, xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2), dùng điện cực chỉ thị platin hoặc thủy ngân và điện cực so sánh thủy ngân - thủy ngân (I) sulfat.
Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (1), trong đó T = 0,002338 g/ml.

Dung dịch Trilon B 0,05 M (Dung dịch natri edetat 0,05 M)
1 ml dung dịch chứa 0,01861 g Trilon B ($C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2.2H_2O$).
Điều chế: Hòa tan 18,8 g *Trilon B (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.
Chuẩn độ: Cân chính xác khoảng 1,64 g chất chuẩn gốc kẽm hạt, hòa tan trong 20 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 500 ml. Lấy 25,0 ml dung dịch thu được, thêm 5 ml *dung dịch đệm amoniac pH 10,0 (TT)*, khoảng 0,1 g hỗn hợp *chỉ thị đen eriocrom T (TT)* và 70 ml *nước*. Chuẩn độ bằng dung dịch Trilon B đã điều chế cho đến khi chuyển màu sang xanh lam.
Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (1) trong đó T = 0,003269 g/ml.

Dung dịch Trilon B 0,1 M (Dung dịch natri edetat 0,1 M)
1 ml dung dịch chứa 0,03722 g Trilon B ($C_{10}H_{14}N_2O_8Na_2.2H_2O$).
Điều chế: Hòa tan 37,5 g *Trilon B (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.
Chuẩn độ: Tiến hành như mô tả trong *Dung dịch Trilon B 0,05 M*.
Hệ số hiệu chỉnh được tính theo công thức (1), trong đó T = 0,00654 g/ml.

2.3 CÁC DUNG DỊCH ĐỆM

Các dung dịch đệm được pha trong *nước không có carbon dioxyd (TT)*.

Dung dịch đệm acetat pH 4,5
Hòa tan 77,1 g *amoni acetat (TT)* trong *nước*, thêm 70 ml *acid acetic băng (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm acetat pH 4,7
Hòa tan 136,1 g *natri acetat (TT)* trong 500 ml *nước*. Trộn 250 ml dung dịch thu được với 250 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)*. Lắc 2 lần với *dung dịch dithizon 0,01 % trong cloroform (TT)* mới pha và lọc. Lắc với *carbon tetraclorid (TT)* đến khi dịch chiết trở nên không màu, lọc lớp nước để loại bỏ hết carbon tetraclorid.

Dung dịch đệm acetat pH 5,0
Thêm 100 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,1 M (TT)* và khoảng 250 ml *nước* vào 120 ml *dung dịch acid acetic 0,6 % (TT)*. Trộn đều, chỉnh pH tới 5,0 bằng *dung dịch acid acetic 0,6 % (TT)* hoặc *dung dịch kali hydroxyd 0,1 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm acetat - edetat pH 5,5
Hòa tan 250 g *amoni acetat (TT)* và 15 g *dinatri edetat (TT)* trong 400 ml *nước* và thêm 125 ml *acid acetic băng (TT)*.

Dung dịch đệm aceton
Hòa tan 8,15 g *natri acetat (TT)* và 42 g *natri clorid (TT)* trong *nước*, thêm 68 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và 150 ml *aceton (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 500 ml.

Dung dịch đệm amoni carbonat 0,1 M pH 10,3
Hòa tan 7,91 g *amoni carbonat (TT)* trong 800 ml *nước*. Điều chỉnh pH bằng *dung dịch natri hydroxyd loãng (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm amoni clorid pH 9,5 (Đệm amoniac pH 9,5)
Hòa tan 33,5 g *amoni clorid (TT)* trong 150 ml *nước*, thêm 42 ml *amoniac (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 250 ml. Bảo quản trong đồ đựng bằng polyethylen.

Dung dịch đệm amoni clorid pH 10,4
Hòa tan 70 g *amoni clorid (TT)* trong 200 ml *nước*, thêm 330 ml *amoniac (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml. Điều chỉnh pH nếu cần tới 10,4 bằng *amoniac (TT)*.

Dung dịch đệm borat kiềm
Dung dịch acid boric và kali clorid 0,2 N: Hòa tan 12,37 g *acid boric (TT)* và 14,91 g *kali clorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.
Dung dịch natri hydroxyd 0,2 N: Pha như mô tả trong dung dịch chuẩn độ.
Cách pha: Lấy 50 ml dung dịch acid boric và kali clorid 0,2 N, thêm lượng dung dịch natri hydroxyd 0,2 N như ghi trong bảng và thêm *nước* vừa đủ 200 ml.

pH	Số ml dung dịch natri hydroxyd 0,2 N
8,0	3,9
8,2	6,0
8,4	8,6
8,6	11,8
8,8	15,8
9,0	20,8
9,2	26,4
9,4	32,1
9,6	36,9
9,8	40,6
10,0	43,7

Dung dịch đệm borat 0,0015 M pH 8,0
Hòa tan 0,572 g *natri tetraborat (TT)* và 2,94 g *calci clorid (TT)* trong 800 ml *nước*, điều chỉnh tới pH 8,0 bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm borat pH 10,4
Hòa tan 24,64 g *acid boric (TT)* trong 900 ml *nước*, điều chỉnh tới pH 10,4 bằng *dung dịch natri hydroxyd 40 % (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm citrat pH 5,0
Chuẩn bị dung dịch chứa *acid citric 2,01 %* và *natri hydroxyd 0,80 %*. Điều chỉnh pH bằng *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*.

Dung dịch đệm diethanolamin pH 10,0
Hòa tan 96,4 g *diethanolamin (TT)* trong *nước* vừa đủ 400 ml. Thêm 0,5 ml *dung dịch magnesi clorid 18,6 %*, điều chỉnh pH tới 10,0 bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 500 ml.

Dung dịch đệm đồng sulfat pH 4,0
Hòa tan 0,25 g *đồng (II) sulfat (TT)* và 4,5 g *amoni acetat (TT)* trong *dung dịch acid acetic* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch đệm đồng sulfat pH 5,2
Hòa tan 15,22 g *dinatri hydrophosphat khan (TT)* trong *nước* vừa đủ 536 ml, thêm *dung dịch acid citric 2,1 %* đến khi pH trong khoảng từ 5,15 đến 5,25 (khoảng 464 ml). Trộn 985 ml dung dịch thu được với 15 ml *dung dịch đồng (II) sulfat 0,393 % (TT)*.

Dung dịch đệm glycin
Hòa tan 42 g *natri hydrocarbonat (TT)* và 50 g *kali hydrocarbonat (TT)* trong 180 ml *nước*. Thêm vào dung dịch thu được một dung dịch chứa 37,5 g *glycin (TT)* và 15 ml *amoniac (TT)* trong 180 ml *nước*. Thêm *nước* vừa đủ 500 ml và khuấy đều cho tới khi thu được dung dịch đồng nhất.

Dung dịch đệm HEPES pH 7,5
Hòa tan 2,38 g *acid 2-[4-(2-hydroxyethyl)piperazin-1-yl] ethansulfonic* trong khoảng 90 ml *nước*, điều chỉnh pH bằng *dung dịch natri hydroxyd 20 % (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch đệm imidazol pH 6,5
Hòa tan 6,81 g *imidazol (TT)*, 1,23 g *magnesi sulfat (TT)* và 0,73 g *calci sulfat (TT)* vào 752 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (CĐ)*. Điều chỉnh pH nếu cần và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm imidazol pH 7,3
Hòa tan 3,4 g *imidazol (TT)* và 5,8 g *natri clorid (TT)* trong *nước*, thêm 18,6 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml. Điều chỉnh pH nếu cần.

Dung dịch đệm maleat pH 7,0
Hòa tan 10 g *natri clorid (TT)*; 6,06 g *tris(hydroxymethyl) methylamin (TT)* và 4,90 mg *anhydrid maleic (TT)* trong 900 ml *nước*. Điều chỉnh pH bằng *dung dịch natri hydroxyd 17,0 %* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Bảo quản ở 2 °C đến 8 °C trong 3 ngày.

Dung dịch đệm natri acetat pH 4,5
Hòa tan 63 g *natri acetat khan (TT)* trong *nước*, thêm 90 ml *dung dịch acid acetic 5 M (TT)*, điều chỉnh pH đến 4,5 và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm natri acetat pH 6,0
Hòa tan 4,1 g *natri acetat khan (TT)* trong 1000 ml *nước*, điều chỉnh pH đến 6,0 bằng *acid acetic băng (TT)*.

Dung dịch đệm natri citrat pH 7,8 (natri citrat 0,034 M, natri clorid 0,101 M)
Hòa tan 10 g *natri citrat (TT)* và 5,9 g *natri clorid (TT)* trong 900 ml, điều chỉnh pH bằng *acid hydrocloric (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm pH 2,0
Hòa tan 6,57 g *kali clorid (TT)* trong *nước*, thêm 119 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (CĐ)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm pH 2,2
Trộn 6,7 ml *acid phosphoric (TT)* với 50 ml dung dịch 4 % (tt/tt) của *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm pH 2,5 (Đệm phosphat pH 2,5)
Hòa tan 100 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 800 ml *nước*, điều chỉnh tới pH 2,5 bằng *acid hydrocloric (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm pH 2,5 số 1 (Đệm phosphat pH 2,5 số 1)
Thêm 5 ml *dung dịch acid phosphoric 2 M (TT)* vào 250 ml *nước*. Điều chỉnh tới pH 2,5 bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)* và pha loãng với *nước* vừa đủ 500 ml.

Dung dịch đệm pH 3,0
Hòa tan 21,0 g *acid citric (TT)* trong 200 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml. Pha loãng 40,3 ml dung dịch này thành 100 ml với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.

Dung dịch đệm pH 3,7 (Đệm acetic - amoniac trong ethanol pH 3,7)
Thêm 60 ml *ethanol 96 % (TT)* và 20 ml *nước* vào 15 ml *dung dịch acid acetic 5 M (TT)*. Điều chỉnh pH tới 3,7 bằng *dung dịch amoniac 10 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch đệm pH 5,2
Hòa tan 1,02 g *kali dihydrophthalat (TT)* trong 30 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ)* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Ở 20 °C dung dịch này có thể được sử dụng làm dung dịch pH chuẩn.

Dung dịch đệm pH 5,5
Hòa tan 54,4 g *natri acetat (TT)* trong 50 ml *nước*, làm nóng đến 35 °C nếu cần. Để nguội, thêm từ từ 10 ml *acid acetic khan (TT)*, lắc đều và thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch đệm pH 6,5
Hòa tan 60,5 g *dinatri hydrophosphat (TT)* và 46 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong *nước*, thêm 100 ml *dung dịch dinatri edetat 0,02 M (TT)* và 20 mg *thủy ngân (II) clorid (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch đệm pH 7,0
Thêm vào 1000 ml dung dịch chứa *dinatri hydrophosphat 1,8 %* và *natri clorid 2,3 %* một lượng vừa đủ (khoảng 280 ml) dung dịch chứa *natri dihydrophosphat 0,78 %* và *natri clorid 2,3 %* để điều chỉnh pH. Hòa tan vào dung dịch thu được một lượng *natri azid (TT)* vừa đủ để được dung dịch có nồng độ 0,02 %.

Dung dịch đệm pH 7,2
Xem đệm phosphat pH 7,2.

Dung dịch đệm pH 7,4
Hòa tan 0,6 g *kali dihydrophosphat (TT)*; 6,4 g *dinatri hydrophosphat (TT)* và 5,85 g *natri clorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml. Điều chỉnh pH nếu cần.

Dung dịch đệm pH 8,0
Xem đệm phosphat pH 8,0.

Dung dịch đệm pH 8,0 (TT_1)
Hòa tan 20 g *dikali hydrophosphat (TT)* trong 900 ml *nước*, điều chỉnh pH bằng *acid phosphoric (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat pH 2,0
Hòa tan 8,95 g *dinatri hydrophosphat khan (TT)* và 3,40 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml. Điều chỉnh pH nếu cần bằng *acid phosphoric (TT)*.

Dung dịch đệm phosphat pH 2,8
Hòa tan 7,8 g *natri dihydrophosphat khan (TT)* trong 900 ml *nước*, điều chỉnh pH tới 2,8 bằng *acid phosphoric (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat pH 3,0
Trộn 0,7 ml *acid phosphoric (TT)* với 900 ml *nước*, điều chỉnh pH tới 3,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat 0,1 M pH 3,0
Hòa tan 12 g *natri dihydrophosphat khan (TT)* trong *nước*, điều chỉnh pH bằng *dung dịch acid phosphoric 2 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat pH 3,0 (TT_1)
Hòa tan 3,4 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 900 ml *nước*. Điều chỉnh pH đến 3,0 bằng *acid phosphoric (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat pH 3,2
Thêm 100 ml *dung dịch acid phosphoric 0,25 %* vào 900 ml *dung dịch natri dihydrophosphat 0,4 %*, điều chỉnh pH nếu cần.

Dung dịch đệm phosphat pH 3,2 (TT_1)
Điều chỉnh pH của *dung dịch dinatri hydrophosphat 3,58 %* tới 3,2 bằng *dung dịch acid phosphoric 2 M (TT)*. Pha loãng 100 ml dung dịch thu được thành 2000 ml với *nước*.

Dung dịch đệm phosphat pH 3,5
Hòa tan 68,0 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml, điều chỉnh pH bằng *acid phosphoric (TT)*.

Dung dịch đệm phosphat 0,05 M pH 4,5
Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*, pH của dung dịch bằng 4,5.

Dung dịch đệm phosphat pH 5,0
Hòa tan 2,72 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 800 ml *nước*. Điều chỉnh pH bằng *dung dịch kali hydroxyd 1 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat pH 5,5
Trộn 96,4 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 1,36 % (TT)* với 3,6 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 3,58 % (TT)*.

Dung dịch đệm phosphat pH 5,6
Trộn 94,4 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,908 % (TT)* với 5,6 ml *dung dịch dikali hydrophosphat 1,16 % (TT)*. Điều chỉnh pH nếu cần bằng một trong hai dung dịch thành phần.

Dung dịch đệm phosphat pH 5,8
Hòa tan 1,19 g *dinatri hydrophosphat dihydrat (TT)* và 8,25 g *kali dihydro phosphat (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat pH 6,0 (TT_1)
Hòa tan 6,8 g *natri dihydrophosphat (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml và điều chỉnh pH bằng *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)*.

Dung dịch đệm phosphat pH 6,0 (TT_2)
Thêm 28,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,2 M (TT)* vào 250 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat 0,1 M pH 6,3
Hòa tan 15,6 g *natri dihydrophosphat (TT)* trong 900 ml *nước*, điều chỉnh pH tới 6,3 bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat pH 6,4
Hòa tan 2,5 g *dinatri hydrophosphat (TT)*; 2,5 g *natri dihydrophosphat (TT)* và 8,2 g *natri clorid (TT)* trong 950 ml *nước*. Điều chỉnh pH nếu cần tới 6,4 bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* hoặc *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat 0,1 M pH 6,5
Hòa tan 13,8 g *natri dihydrophosphat monohydrat (TT)* trong 900 ml *nước*. Điều chỉnh pH bằng *dung dịch natri hydroxyd 40 % (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat pH 6,8
Xem đệm citro-phosphat pH 6,8.

Dung dịch đệm phosphat pH 7,0
Xem đệm citro-phosphat pH 7,0.

Dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT_1)
Xem đệm phosphat pH 7,0 hỗn hợp.

Dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT_2)
Trộn 50 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 13,6 % (TT)* với 29,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, thêm *nước* đến vừa đủ 100 ml. Điều chỉnh pH từ 6,9 đến 7,1.

Dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT_3)
Hòa tan 5 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 11 g *dikali hydrophosphat (TT)* trong 900 ml *nước*. Điều chỉnh pH tới 7,0 bằng *dung dịch acid phosphoric 2 M (TT)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT_4)
Hòa tan 28,4 g *dinatri hydrophosphat khan (TT)* và 18,2 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong *nước* vừa đủ 500 ml.

Dung dịch đệm phosphat pH 7,0 (TT_5)
Hòa tan 28,4 g *dinatri hydrophosphat khan (TT)* trong 800 ml *nước*. Điều chỉnh pH bằng *dung dịch acid phosphoric 30 % (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat 0,025 M pH 7,0
Trộn 1 thể tích *dung dịch đệm phosphat 0,063 M pH 7,0 (TT)* với 1,5 thể tích *nước*.

Dung dịch đệm phosphat 0,03 M pH 7,0
Hòa tan 5,2 g *dikali hydrophosphat (TT)* trong 900 ml *nước*, điều chỉnh pH tới 7,0 ± 0,1 bằng *acid phosphoric (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat 0,05 M pH 7,0
Trộn 34 ml *nước* với 100 ml *đệm phosphat hỗn hợp 0,067 M pH 7,0 (TT)*.

Dung dịch đệm phosphat 0,063 M pH 7,0
Hòa tan 5,18 g *dinatri hydrophosphat khan (TT)* và 3,65 g *natri dihydrophosphat monohydrat (TT)* trong 950 ml *nước*, chỉnh pH bằng *acid phosphoric (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat pH 7,2
Xem đệm citro-phosphat pH 7,2.

Dung dịch đệm phosphat pH 7,4
Thêm 250 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)* vào 393,4 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*.

Dung dịch đệm phosphat 0,33 M pH 7,5
Trộn 85 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 11,93 % (TT)* với 15 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 4,54 % (TT)*. Điều chỉnh pH nếu cần.

Dung dịch đệm phosphat 0,02 M pH 8,0
Trộn 50 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)* với 46,8 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,2 M (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 500 ml.

Dung dịch đệm phosphat 0,1 M pH 8,0
Hòa tan 0,523 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 16,73 g *dikali hydrophosphat (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat 1 M pH 8,0
Hòa tan 136,1 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong *nước*, điều chỉnh pH bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm phosphat pH 9,0
Hòa tan 1,74 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 80 ml *nước*, điều chỉnh pH nếu cần bằng *dung dịch kali hydroxyd 1 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch đệm phosphat-citrat pH 5,5
Trộn 56,85 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat khan 2,84 % (TT)* và 43,15 ml *dung dịch acid citric 2,1 % (TT)*.

Dung dịch đệm phosphat diethylamoni pH 6,0
Pha loãng 68 ml *acid phosphoric (TT)* thành 500 ml với *nước*. Thêm vào 25 ml dung dịch này 450 ml *nước* và 6 ml *diethylamin (TT)*, điều chỉnh pH (nếu cần) trong khoảng 5,95 đến 6,05 bằng *diethylamin (TT)* hoặc *acid phosphoric (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 500 ml.

Dung dịch đệm phosphat octylamin pH 3,0
Pha loãng 3,32 ml *octylamin (TT)* tới 1000 ml, điều chỉnh pH tới 3,0 bằng *acid phosphoric (TT)* và lọc qua màng lọc có kích thước không quá 0,5 µm.

Dung dịch đệm phtalat pH 4,4
Hòa tan 2,042 g *kali hydrophtalat (TT)* trong 50 ml *nước*, thêm 7,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,2 M (CĐ)*, thêm *nước* vừa đủ 200 ml. Ở 20 °C, dung dịch thu được có thể được dùng như dung dịch pH chuẩn.

Dung dịch đệm phtalat 0,5 M pH 6,4
Hòa tan 100 g *kali hydrophtalat (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml. Điều chỉnh pH nếu cần bằng *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)*.

Dung dịch đệm succinat pH 4,6
Hòa tan 11,8 g *acid succinic (TT)* trong hỗn hợp của 600 ml *nước* và 82 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm sulfat pH 2,0
Dung dịch I: Hòa tan 132,1 g *amoni sulfat (TT)* trong *nước* vừa đủ 500 ml.
Dung dịch II: Thêm từ từ 14 ml *acid sulfuric (TT)* vào khoảng 400 ml *nước*, vừa thêm vừa khuấy và làm nguội. Để dung dịch nguội hoàn toàn, thêm *nước* vừa đủ 500 ml. Trộn dung dịch I và II đồng thể tích, điều chỉnh pH nếu cần.

Dung dịch đệm tetrabutylamoni pH 7,0
Hòa tan 6,16 g *amoni acetat (TT)* trong hỗn hợp 15 ml *dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 40 %* và 185 ml *nước*. Điều chỉnh pH bằng *acid nitric (TT)*.

Dung dịch đệm tris-acetat pH 8,5
Hòa tan 0,294 g *calci clorid (TT)* và 12,11 g *tris(hydroxymethyl) methylamin (TT)* trong *nước*. Điều chỉnh pH bằng *dung dịch acid acetic 5 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm tris-EDTA BSA pH 8,4
Hòa tan 6,1 g *tris(hydroxymethyl)methylamin (TT)*, 2,8 g *dinatri edetat (TT)*, 10,2 g *natri clorid (TT)* và 10 g *albumin bò* trong *nước*. Điều chỉnh pH tới 8,4 bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm tris-glycin pH 8,3
Hòa tan 6 g *tris(hydroxymethyl)methylamin (TT)* và 28,8 g *glycin (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml. Pha loãng 1 thể tích của dung dịch thu được thành 10 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch đệm tris-hydroclorid pH 8,3
Hòa tan 9,0 g *tris(hydroxymethyl)aminomethan (TT)* trong 2,9 L *nước*. Điều chỉnh pH bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 3 L.

Dung dịch đệm tris-hydroclorid 1 M pH 6,8
Hòa tan 60,6 g *tris(hydroxymethyl)methylamin (TT)* trong 400 ml *nước*. Điều chỉnh pH bằng *acid hydrocloric (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 500 ml.

Dung dịch đệm tris-hydroclorid pH 8,0
Hòa tan 1,21 g *tris(hydroxymethyl)aminomethan (TT)* và 29,4 mg *calci clorid (TT)* trong *nước*. Điều chỉnh pH bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch đệm tris-hydroclorid 1,5 M pH 8,8
Hòa tan 90,8 g *tris(hydroxymethyl)methylamin (TT)* trong 400 ml *nước*. Điều chỉnh pH bằng *acid hydrocloric (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 500 ml.

Dung dịch đệm tris(hydroxymethyl) aminomethan pH 7,4
Hòa tan 30,3 g *tris(hydroxymethyl)aminomethan (TT)* trong khoảng 200 ml *nước*. Thêm 183 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 500 ml.
Chú ý: pH của dung dịch thu được là 7,7 - 7,8 ở nhiệt độ phòng và 7,4 ở 37 °C. Dung dịch bền trong vài tháng ở nhiệt độ 4 °C.

Dung dịch đệm tris(hydroxymethyl) aminomethan 1 M pH 8,5
Hòa tan 60,6 g *tris(hydroxymethyl)aminomethan (TT)* trong 40 ml *nước*, điều chỉnh pH tới 8,5 bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 N (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 500 ml.

Dung dịch đệm tris(hydroxymethyl) aminomethan-natri clorid pH 7,4
Hòa tan 0,1 g albumin bò trong hỗn hợp gồm 2 ml *dung dịch đệm tris(hydroxymethyl) aminomethan pH 7,4 (TT)* và 50 ml *dung dịch natri clorid 5,84 mg/ml (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch muối đệm pH 7,2
Hòa tan 8 g *natri clorid (TT)*; 0,2 g *kali clorid (TT)*; 0,1 g *calci clorid khan (TT)*; 0,1 g *magnesi clorid (TT)*; 3,18 g *dinatri hydrophosphat (TT)* và 0,2 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch salin đệm phosphat pH 6,4
Hòa tan 1,79 g *dinatri hydrophosphat (TT)*, 1,36 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 7,02 g *natri clorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch salin đệm phosphat pH 6,8
Hòa tan 1,0 g *kali dihydrophosphat (TT)*, 2,0 g *dikali hydrophosphat (TT)* và 8,5 g *natri clorid (TT)* trong 900 ml *nước*, điều chỉnh pH nếu cần và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch salin đệm phosphat - albumin pH 7,2
Hòa tan 10,75 g *dinatri hydrophosphat (TT)*, 7,6 g *natri clorid (TT)* và 10 g *albumin bò* trong *nước* vừa đủ 1000 ml. Ngay trước khi sử dụng, điều chỉnh pH tới 7,2 bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)* hoặc *dung dịch acid phosphoric 10 % (kl/kl) (TT)*.

Dung dịch salin đệm phosphat - albumin pH 7,2 (TT_1)
Hòa tan 10,75 g *dinatri hydrophosphat (TT)*, 7,6 g *natri clorid (TT)* và 1,0 g *albumin bò* trong *nước* vừa đủ 1000 ml. Ngay trước khi sử dụng, điều chỉnh pH tới 7,2 bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)* hoặc *dung dịch acid phosphoric 10 % (kl/kl) (TT)*.

Dung dịch salin đệm phosphat pH 7,4
Hòa tan 2,38 g *dinatri hydrophosphat (TT)*, 0,19 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 8,0 g *natri clorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml, điều chỉnh pH nếu cần.

Đệm acid acetic - amoni acetat (Dung dịch đệm acid acetic - amoni acetat)
Hòa tan 77,1 g *amoni acetat (TT)* trong *nước*, thêm 57 ml *acid acetic băng (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Đệm acetat pH 2,45
Trộn 200 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* với 200 ml *dung dịch natri acetat 1 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml. Điều chỉnh tới pH 2,45 bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* hoặc bằng *dung dịch natri acetat 1 M (TT)* ngay trước khi dùng.

Đệm acetat pH 2,8
Hòa tan 4 g *natri acetat khan (TT)* trong khoảng 840 ml *nước*, điều chỉnh tới pH 2,8 bằng *acid acetic băng (TT)* (dùng khoảng 155 ml), thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Đệm acetat pH 3,4
Trộn 5 thể tích *dung dịch natri acetat 0,1 M (TT)* với 95 thể tích *dung dịch acid acetic 0,1 M (TT)*.

Đệm acetat pH 3,5 (Dung dịch đệm acetat pH 3,5)
Hòa tan 25 g *amoni acetat (TT)* trong 25 ml *nước*, thêm 38 ml *dung dịch acid hydroclorid 7 M (TT)*. Điều chỉnh tới pH 3,5 bằng *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* hoặc bằng *dung dịch amoniac 6 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Đệm acetat pH 3,7
Hòa tan 10 g *natri acetat khan (TT)* trong 300 ml *nước*, điều chỉnh tới pH 3,7 bằng *acid acetic băng (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml. Nếu cần thiết, điều chỉnh lại tới pH 3,7 bằng *acid acetic băng (TT)* hoặc bằng *natri acetat khan (TT)* trước khi dùng.

Đệm acetat pH 4,4 (Dung dịch đệm acetat pH 4,4)
Hòa tan 136 g *natri acetat (TT)* và 77 g *amoni acetat (TT)* trong *nước*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml. Thêm 250 ml *acid acetic băng (TT)*, trộn đều.

Đệm acetat pH 4,6 (Dung dịch đệm acetat pH 4,6)
Hòa tan 5,4 g *natri acetat (TT)* trong 50 ml *nước*, thêm 2,4 g *acid acetic băng (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml. Điều chỉnh pH nếu cần.

Đệm acetat pH 5,0
Hòa tan 13,6 g *natri acetat (TT)* và 6 ml *acid acetic băng (TT)* trong *nước* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Đệm acetat pH 6,0 (Dung dịch đệm acetat pH 6,0)
Hòa tan 100 g *amoni acetat (TT)* trong 300 ml *nước*, thêm 4,1 ml *acid acetic băng (TT)*. Nếu cần, điều chỉnh pH bằng *dung dịch amoniac 10 M (TT)* hay *dung dịch acid acetic 5 M (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 500 ml.

Đệm acid thiobarbituric-citrat
Hòa tan 5,0 g *acid thiobarbituric (TT)* trong 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 4 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 500 ml. Hòa tan 37 g *natri citrat (TT)* trong 32 ml *acid hydrocloric (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 250 ml. Trộn hai dung dịch và điều chỉnh pH tới 2,0.

Đệm amoniac - amoni clorid
Hòa tan 67,5 g *amoni clorid (TT)* trong *nước*, thêm 570 ml *amoniac (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Đệm amoniac pH 10,0 (Dung dịch đệm amoni clorid pH 10,0)
Hòa tan 5,4 g *amoni clorid (TT)* trong 20 ml *nước*, thêm 35 ml *dung dịch amoniac 10 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Đệm amoniac pH 10,9 (Dung dịch đệm pH 10,9)
Hòa tan 67,5 g *amoni clorid (TT)* trong *dung dịch amoniac 10 M (TT)* vừa đủ 1000 ml.

Đệm amoniac pH 10,9 pha loãng
Pha loãng 2 ml *đệm amoniac pH 10,9 (TT)* thành 1000 ml với *nước*.

Đệm barbiton pH 7,4 (Dung dịch đệm barbital pH 7,4)
Trộn 50 ml dung dịch chứa *natri acetat 1,944 %* và *natri barbiton 2,946 %* với 50,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, thêm 20 ml *dung dịch natri clorid 8,5 % (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 250 ml.

Đệm barbiton pH 8,4 (Dung dịch đệm barbital pH 8,4)
Hòa tan 8,25 g *natri barbiton (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Đệm barbiton pH 8,6 (Dung dịch đệm barbital pH 8,6)
Hòa tan 1,38 g *barbiton (TT)*, 8,76g *natri barbiton (TT)* và 0,38 g *calci lactat (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Đệm borat pH 7,5 (Dung dịch đệm borat pH 7,5)
Hòa tan 2,5 g *natri clorid (TT)*, 2,85 g *natri tetraborat (TT)* và 10,5 g *acid boric (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml. Điều chỉnh pH nếu cần. Bảo quản dung dịch từ 2 °C đến 8 °C.

Đệm borat pH 8,0
Thêm 3,97 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,2 M (CĐ)* vào 50 ml dung dịch chứa 0,6189 g *acid boric (TT)* và 0,7456 g *kali clorid (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 200 ml. Ở 20 °C dung dịch này có thể được sử dụng làm dung dịch pH chuẩn.

Đệm borat pH 9,0 (Dung dịch đệm pH 9,0)
Dung dịch A: Hòa tan 6,18 g *acid boric (TT)* trong *dung dịch kali clorid 0,1 M* vừa đủ 1000 ml.
Dung dịch B: Dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT).
Trộn 1000 ml dung dịch A với 420 ml dung dịch B.
Ở 20 °C dung dịch này có thể được sử dụng làm dung dịch pH chuẩn.

Đệm borat pH 9,6
Thêm 36,85 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,2 M (CĐ)* vào 50 ml dung dịch chứa 0,6189 g *acid boric (TT)* và 0,7456 g *kali clorid (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 200 ml. Ở 20 °C dung dịch này có thể được sử dụng làm dung dịch pH chuẩn.

Đệm boric pH 9,0 (Dung dịch đệm pH 9,0)
Hòa tan 6,20 g *acid boric (TT)* trong 500 ml *nước*, điều chỉnh tới pH 9,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* (khoảng 41,5 ml) và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Đệm carbonat pH 9,7
Hòa tan 8,4 g *natri hydrocarbonat (TT)* và 10,6 g *natri carbonat (TT)* trong *nước* vừa đủ 500 ml.

Đệm citro - phosphat pH 4,5
Thêm vào 30 thể tích *dung dịch dinatri hydrophosphat 0,2 M (TT)* một lượng vừa đủ *dung dịch acid citric 0,1 M (TT)* để được pH 4,5 (khoảng 36 thể tích).

Đệm citro - phosphat pH 5,0
Trộn 48,5 ml *dung dịch acid citric 0,1 M (TT)* với lượng vừa đủ *dung dịch dinatri hydrophosphat 0,2 M (TT)* để được 100 ml.

Đệm citro - phosphat pH 6,0 (Dung dịch đệm phosphat pH 6,0)
Trộn 63,2 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 7,15 % (TT)* với 36,8 ml *dung dịch acid citric 2,1 % (TT)*.

Đệm citro - phosphat pH 6,5
Trộn 29,0 ml *dung dịch acid citric 0,1 M (TT)* với lượng vừa đủ *dung dịch dinatri hydrophosphat 0,2 M (TT)* để được 100 ml.

Đệm citro - phosphat pH 6,8 (Dung dịch đệm phosphat pH 6,8)
Trộn 77,3 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 7,15 % (TT)* với 22,7 ml *dung dịch acid citric 2,1 % (TT)*.

Đệm citro - phosphat pH 7,0 (Dung dịch đệm phosphat pH 7,0)
Trộn 82,4 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 7,15 % (TT)* với 17,6 ml *dung dịch acid citric 2,1 % (TT)*.

Đệm citro - phosphat pH 7,2 (Dung dịch đệm phosphat pH 7,2)
Trộn 87 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 7,15 % (TT)* với 13 ml *dung dịch acid citric 2,1 % (TT)*.

Đệm citro - phosphat pH 7,6
Hòa tan 67,1 g *dinatri hydrophosphat (TT)* và 1,33 g *acid citric (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Đệm clorid 0,1 M pH 2,0 (Dung dịch đệm pH 2,0)
Hòa tan 6,57 g *kali clorid (TT)* trong *nước*, thêm 119 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (CĐ)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Đệm glycin pH 2,9
Hòa tan 6,0 g *glycin (TT)* và 4,68 g *natri clorid (TT)* trong 10 L *nước*. Điều chỉnh pH bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* (khoảng 30 ml).

Đệm glycin pH 11,3
Trộn dung dịch chứa *glycin 0,75 %* và *natri clorid 0,58 %* với đồng thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*, điều chỉnh pH nếu cần.

Đệm kali phtalat pH 5,6 (Dung dịch đệm kali biphtalat pH 5,6)
Hòa tan 4,085 g *kali biphtalat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml. Lấy 50 ml dung dịch thu được, thêm 38,8 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,2 N (CĐ)* và thêm *nước* vừa đủ 200 ml.

Đệm hiệu chỉnh lực ion toàn phần
Hòa tan 58,5 g *natri clorid (TT)*, 57 ml *acid acetic băng (TT)*, 61,5 g *natri acetat (TT)* và 5,0 g *acid (cyclohexylendinitril) tetraacetic (TT)* trong *nước* vừa đủ 500 ml. Điều chỉnh tới pH 5,0 đến 5,5 bằng *dung dịch natri hydroxyd 30 % (TT)*, thêm *nước cất* vừa đủ 1000 ml.

Đệm hiệu chỉnh lực ion toàn phần (TT_1)
Dung dịch A: Hòa tan 210 g *acid citric (TT)* trong 400 ml *nước*, chỉnh pH tới 7,0 bằng *amoniac đặc* (TT), thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Dung dịch B: Hòa tan 132 g *amoni phosphat (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.
Dung dịch C: Thêm khoảng 200 ml *amoniac (TT)* vào hỗn dịch của 292 g *acid (ethylendinitril) tetraacetic (TT)* trong khoảng 500 ml *nước* để hòa tan. Điều chỉnh pH tới 6 - 7 bằng *amoniac đậm đặc (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.
Trộn đồng thể tích ba dung dịch A, B và C rồi điều chỉnh pH tới 7,5 bằng *amoniac đậm đặc (TT)*.

Đệm phosphat chuẩn 0,025 M
Hòa tan 3,40 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 3,55 g *dinatri hydrophosphat khan (TT)*, cả hai đã được sấy khô ở 110 °C đến 130 °C trong 2 h, trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Đệm phosphat hỗn hợp pH 4,0
Hòa tan 5,04 g *dinatri hydrophosphat (TT)* và 3,01 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml. Điều chỉnh pH bằng *acid acetic băng (TT)*.

Đệm phosphat hỗn hợp pH 5,4
Hòa tan 1,76 g *dinatri hydrophosphat (TT)* và 13,61 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml. Điều chỉnh pH nếu cần bằng *dung dịch acid phosphoric 0,05 M (TT)*.

Đệm phosphat hỗn hợp pH 6,8
Hòa tan 28,80 g *dinatri hydrophosphat (TT)* và 11,45 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Đệm phosphat hỗn hợp 0,2 M pH 6,8 (Dung dịch đệm phosphat pH 6,8 số 1)
Trộn 51 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 2,72 % (TT)* với 49 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 7,16 % (TT)* và điều chỉnh pH nếu cần. Bảo quản dung dịch ở nhiệt độ từ 2 °C đến 8 °C.

Đệm phosphat hỗn hợp pH 7,0
Hòa tan 0,50 g *dinatri hydrophosphat khan (TT)* và 0,301 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Đệm phosphat hỗn hợp 0,067 M pH 7,0 (Dung dịch đệm phosphat 0,067 M pH 7,0)
Trộn 38.9 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,908 % (TT)* với 61,1 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 2,38 % (TT)* và điều chỉnh pH nếu cần.

Đệm phosphat hỗn hợp 0,1 M pH 7,0 (Dung dịch đệm phosphat 0,1 M pH 7,0)
Hòa tan 1,361 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml. Chỉnh pH bằng *dung dịch dinatri hydrophosphat 3,5 % (TT)*.

Đệm phosphat hỗn hợp pH 10
Thêm 6 ml *dung dịch natri phosphat 0,25 M (TT)* vào 100 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 0,2 M (TT)*.

Đệm phosphat pH 3,0
Hòa tan 34 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 250 ml *nước*. Điều chỉnh pH đến 3,0 bằng *acid phosphoric (TT)*.

Đệm phosphat pH 3,5 (Dung dịch đệm phosphat pH 3,5)
Hòa tan 68 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*. Điều chỉnh pH đến 3,5 bằng *acid phosphoric (TT)*.

Đệm phosphat pH 4,0
Hòa tan 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 700 ml *nước*. Điều chỉnh pH nếu cần bằng *dung dịch acid phosphoric 10 % (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Đệm phosphat pH 4,75
Pha loãng 100 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,5 M (TT)* thành 800 ml với *nước*. Điều chỉnh pH tới 4,75 bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Đệm phosphat pH 4,9
Hòa tan 40 g *natri dihydrophosphat (TT)* và 1,2 g *natri hydroxyd (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml. Điều chỉnh pH nếu cần bằng *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*.

Đệm phosphat pH 6,0 (Dung dịch đệm phosphat hỗn hợp pH 6,0)
Hòa tan 2,0 g *dikali hydrophosphat (TT)* và 8,0 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml. Điều chỉnh pH đến 6,0 bằng *acid phosphoric (TT)* hoặc bằng *dung dịch kali hydroxyd 30 % (TT)*.

Đệm phosphat 0,2 M pH 7,5 (Dung dịch đệm phosphat 0,2 M pH 7,5)
Hòa tan 27,22 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 930 ml *nước*. Chỉnh pH đến 7,5 bằng *dung dịch kali hydroxyd 30 % (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

(Các) Đệm phosphat chuẩn
Các đệm phosphat chuẩn pH từ 5,8 đến 8,0 được pha bằng cách trộn 50 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)* với lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,2 N (CĐ)* như chỉ dẫn trong Bảng 2.3 và thêm *nước* vừa đủ 200 ml.
Ở 20 °C các dung dịch này có thể được sử dụng làm các dung dịch pH chuẩn, nhưng không được dùng để chuẩn hóa máy đo pH.

Bảng 2.3

pH	Số ml dung dịch natri hydroxyd 0,2 N
5,8	3,72
6,0	5,70
6,2	8,60
6,4	12,60
6,6	17,80
6,8	23,65
7,0	29,63
7,2	35,00
7,4	39,50
7,6	42,80
7,8	45,20
8,0	46,80

Đệm phtalat pH 3,6 (Dung dịch đệm pH 3,6)
Thêm 11,94 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,2 N (CĐ)* vào 250 ml *dung dịch kali hydrophtalat 0,2 M (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml. Ở 20 °C, dung dịch thu được có thể được dùng như dung dịch pH chuẩn.

Đệm tris-clorid pH 7,4 [Dung dịch đệm tris(hydroxymethyl)aminomethan - natri clorid pH 7,4]
Hòa tan 8,77 g *natri clorid (TT)* và 6,08 g *tris(hydroxymethyl)methylamin (TT)* trong 500 ml *nước*. Thêm 10 g *albumin bò*. Điều chỉnh pH tới 7,4 bằng *acid hydrocloric (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Đệm tris-clorid pH 7,5 [Dung dịch đệm tris(hydroxymethyl)aminomethan pH 7,5]
Hòa tan 5,27 g *natri clorid (TT)* và 7,27 g *tris(hydroxymethyl)methylamin (TT)* trong *nước*. Điều chỉnh pH nếu cần và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Đệm tris-clorid pH 7,5 số 1 (Dung dịch đệm tris-hydroclorid 0,05 M pH 7,5)
Hòa tan 6,057 g *tris(hydroxymethyl)methylamin (TT)* trong *nước*. Điều chỉnh pH bằng *acid hydrocloric (TT)* nếu cần và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Đệm tris-clorid pH 8,1 [Dung dịch đệm tris(hydroxymethyl)aminomethan pH 8,1]
Hòa tan 0,294 g *calci clorid (TT)* và 0,969 g *tris(hydroxymethyl)methylamin (TT)* trong *nước*. Điều chỉnh pH tới 8,1 bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Đệm tris-clorid pH 8,6
Hòa tan 2,4 g *natri clorid (TT)* và 2,0 g *tris(hydroxymethyl)methylamin (TT)* trong khoảng 100 ml *nước*. Điều chỉnh pH tới 8,6 bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* hoặc *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 200 ml.

Đệm tris-EDTA pH 8,4 [Dung dịch đệm tris(hydroxymethyl)aminomethan EDTA pH 8,4]
Hòa tan 5,12 g *natri clorid (TT)*, 3,03 g *tris(hydroxymethyl)methylamin (TT)* và 1,4 g *dinatri edetat (TT)* trong 250 ml *nước*. Điều chỉnh pH tới 8,4 bằng *acid hydrocloric (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 500 ml.

2.4 CÁC DUNG DỊCH MẪU

Các dung dịch sau đây được sử dụng làm mẫu so sánh trong các phép thử giới hạn tạp chất:

Dung dịch acetaldehyd mẫu 100 phần triệu C_2H_4O trong isopropanol
Hòa tan 1,0 g *acetaldehyd (TT)* trong *isopropanol (TT)* vừa đủ 100 ml. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 500,0 ml bằng *isopropanol (TT)* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch acetaldehyd mẫu 100 phần triệu C_2H_4O trong nước
Hòa tan 1,0 g *acetaldehyd (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml. Pha loãng 5,0 ml dung dịch thu được thành 500,0 ml bằng *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch amoni mẫu 100 phần triệu NH_4
Pha loãng 10,0 ml *dung dịch amoni clorid 0,0741 % (TT)* thành 25,0 ml bằng *nước*.

Dung dịch amoni mẫu 2,5 phần triệu NH_4
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch amoni clorid 0,0741 % (TT)* thành 100 ml bằng *nước*.

Dung dịch amoni mẫu 1 phần triệu NH_4
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch amoni mẫu 2,5 phần triệu NH_4 (TT)* thành 2,5 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch antimony mẫu 100 phần triệu Sb
Hòa tan 0,274 g *kali antimony tartrat (TT)* trong 500 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*. Pha loãng dung dịch thu được thành 1000 ml với *nước*.

Dung dịch antimony mẫu 1 phần triệu Sb
Hòa tan 0,274 g *kali antimony tartrat (TT)* trong 20 ml *dung dịch acid hydrocloric 7 M (TT)*. Pha loãng dung dịch thu được thành 100 ml với *nước*. Thêm vào 10 ml dung dịch này 200 ml *dung dịch acid hydrocloric 7 M (TT)* và pha loãng thành 1000 ml với *nước*. Thêm vào 100 ml dung dịch này 300 ml *dung dịch acid hydrocloric 7 M (TT)* và pha loãng thành 1000 ml với *nước*. Chuẩn bị các dung dịch pha loãng ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch arsen mẫu 1000 phần triệu As
Hòa tan 0,330 g *arsen trioxyd (TT)* trong 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 250 ml.

Dung dịch arsen mẫu 10 phần triệu As
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch arsen mẫu 1000 phần triệu As (TT)* thành 100 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch arsen mẫu 1 phần triệu As
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch arsen mẫu 10 phần triệu As (TT)* thành 10 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch arsen mẫu 0,1 phần triệu As
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch arsen mẫu 1 phần triệu As (TT)* thành 10 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch bari mẫu 1000 phần triệu Ba
Hòa tan 1,778 g *bari clorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch bari mẫu 50 phần triệu Ba
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch bari clorid 0,178 % (TT)* thành 20 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch bạc mẫu 5 phần triệu Ag
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch bạc nitrat 0,079 % (TT)* thành 100 thể tích với *nước*.

Dung dịch bismuth mẫu 100 phần triệu Bi
Hòa tan 0,500 g *bismuth (TT)* tương ứng với 50 ml *acid nitric (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 500 ml. Pha loãng 1 thể tích dung dịch thu được thành 10 thể tích với *dung dịch acid nitric loãng (TT)* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch cadmi mẫu 1000 phần triệu Cd
Hòa tan một lượng *cadmi (TT)* chứa 0,100 g Cd trong một lượng tối thiểu hỗn hợp đồng thể tích của *acid hydrocloric (TT)* với *nước* và thêm *dung dịch acid hydrocloric 1 % (TT)* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch cadmi mẫu 10 phần triệu Cd
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch cadmi mẫu 1000 phần triệu Cd (TT)* thành 100 thể tích với *dung dịch acid hydrocloric 1 % (TT)* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch calci mẫu 1000 phần triệu Ca
Hòa tan 0,624 g *calci carbonat (TT)* đã sấy khô ở 100 °C đến 105 °C đến khối lượng không đổi trong *nước* có chứa 3 ml *dung dịch acid acetic 5 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 250 ml.

Dung dịch calci mẫu 400 phần triệu Ca
Hòa tan 1 g *calci carbonat (TT)* trong 23 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml. Pha loãng 1 thể tích dung dịch thu được thành 10 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch calci mẫu 100 phần triệu Ca trong nước
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch calci mẫu 1000 phần triệu Ca (TT)* thành 10 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch calci mẫu 100 phần triệu Ca trong nước số 1
Pha loãng 1 thể tích dung dịch calci clorid khan chứa 0,2769 % $CaCl_2$ trong *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* thành 10 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch calci mẫu 100 phần triệu Ca trong ethanol 96 %
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch calci mẫu 1000 phần triệu Ca (TT)* thành 10 thể tích với *ethanol 96 % (TT)* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch calci mẫu 10 phần triệu Ca
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch calci mẫu 1000 phần triệu Ca (TT)* thành 100 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch chì mẫu 1000 phần triệu Pb
Hòa tan 0,400 g *chì (II) nitrat (TT)* trong *nước* vừa đủ 250 ml.

Dung dịch chì mẫu 1000 phần triệu Pb trong acid nitric không có chì
Hòa tan 0,400 g *chì (II) nitrat (TT)* trong *dung dịch acid nitric loãng không có chì (TT)* vừa đủ 250 ml.

Dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch chì mẫu 1000 phần triệu Pb (TT)* thành 10 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch chì mẫu 20 phần triệu Pb
Hòa tan 0,80 g *chì (II) nitrat (TT)* trong *nước* có chứa 2 ml *acid nitric (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 250 ml. Pha loãng 1 thể tích dung dịch thu được thành 100 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng

Dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb (TT)* thành 10 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb trong acid nitric không có chì
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch chì mẫu 1000 phần triệu Pb trong acid nitric không có chì (TT)* thành 100 thể tích với *acid nitric không có chì (TT)*. Sử dụng trong vòng một tuần.

Dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb (TT)* thành 50 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb (TT)* thành 100 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch chì mẫu 0,5 phần triệu Pb trong acid nitric không có chì
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb trong acid nitric không có chì (TT)* thành 20 thể tích với *acid nitric không có chì (TT)*. Sử dụng trong vòng một ngày.

Dung dịch chì mẫu 0,1 phần triệu Pb
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* thành 10 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch clorid mẫu 500 phần triệu Cl
Hòa tan 0,0824 g *natri clorid (TT)* đã sấy khô ở 100 °C đến 105 °C đến khối lượng không đổi trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch clorid mẫu 50 phần triệu Cl
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch clorid mẫu 500 phần triệu Cl (TT)* thành 10 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch clorid mẫu 8 phần triệu Cl
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch natri clorid 0,132 % (TT)* thành 100 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch clorid mẫu 5 phần triệu Cl
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch clorid mẫu 500 phần triệu Cl (TT)* thành 100 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch cobalt mẫu 100 phần triệu Co
Hòa tan 0,494 g *cobalt nitrat (TT)* trong 500 ml *dung dịch acid nitric 1 M (TT)* và pha loãng dung dịch trong thu được thành 1000 ml với *nước*.

Dung dịch crom mẫu 1000 phần triệu Cr
Hòa tan 2,82 g *kali cromat (TT)* đã sấy khô đến khối lượng không đổi trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch crom mẫu 100 phần triệu Cr
Hòa tan 0,283 g *kali cromat (TT)* đã sấy khô đến khối lượng không đổi trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch crom mẫu 0,1 phần triệu Cr
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch crom mẫu 100 phần triệu Cr (TT)* thành 1000 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch digitoxin mẫu
Hòa tan 0,1250 g *digitoxin (TT)* trong *acid acetic băng (TT)* vừa đủ 100 ml. Pha loãng 4 ml này thành 100 ml với *acid acetic băng (TT)*. Thêm 3 ml *nước* vào 25 ml dung dịch thu được, lắc đều.

Dung dịch đồng mẫu 1000 phần triệu Cu
Dung dịch đồng chuẩn (0,1 % Cu)
Hòa tan 0,393 g *đồng sulfat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch đồng mẫu 10 phần triệu Cu
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch đồng mẫu 1000 phần triệu Cu (TT)* thành 100 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch đồng mẫu 0,1 phần triệu Cu
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch đồng mẫu 10 phần triệu Cu (TT)* thành 100 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch fluorid mẫu 10 phần triệu F
Hòa tan 0,0442 g *natri fluorid (TT)* đã sấy 12 h ở 300 °C trong *nước* vừa đủ 100 ml. Pha loãng 1 thể tích dung dịch

thu được thành 20 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng. Bảo quản dung dịch đặc trong đồ đựng bằng polyethylen.

Dung dịch fluorid mẫu 1 phần triệu F
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch fluorid mẫu 10 phần triệu F (TT)* thành 10 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch formaldehyd mẫu 5 phần triệu CH_2O
Pha loãng 1 thể tích dung dịch chứa 3 g *formaldehyd (TT)* trong 1000 ml thành 200 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch germani mẫu 100 phần triệu Ge
Hòa tan một lượng *amoni hexafluorogermanat (TT)* tương ứng với 0,307 g $(NH_4)_2GeF_6$ trong *dung dịch acid hydrofluoric 0,01 % (TT)* và pha loãng dung dịch trong thu được thành 1000 ml với *nước*.

Dung dịch glucose mẫu
Hòa tan 0,1 g *glucose (TT)* trong *dung dịch acid benzoic bão hoà trong nước (TT)* vừa đủ 100 ml. Pha loãng 2 ml dung dịch thu được thành 100 ml với *nước*.
Dung dịch glucose mẫu chứa 20 µg glucose trong 1 ml.

Dung dịch glyoxal mẫu 20 phần triệu $C_2H_2O_2$
Pha loãng một lượng *dung dịch glyoxal (TT)* chứa 0,200 g $C_2H_2O_2$ thành 100 ml với *ethanol tuyệt đối (TT)*. Pha loãng 1 thể tích dung dịch thu được thành 100 thể tích với *ethanol tuyệt đối (TT)* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch glyoxal mẫu 2 phần triệu $C_2H_2O_2$
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch glyoxal mẫu 20 phần triệu $C_2H_2O_2$ (TT)* thành 10 thể tích với *ethanol (TT)*.

Dung dịch hydrogen peroxyd mẫu 10 phần triệu H_2O_2
Pha loãng 10 ml *dung dịch hydrogen peroxyd loãng (TT)* thành 300 ml với *nước*. Pha loãng 10 ml dung dịch thu được thành 1000 ml với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch iod mẫu 20 phần triệu I
Hòa tan 0,026 g *kali iodid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml. Pha loãng 10 ml dung dịch thu được thành 100 ml với *nước*.

Dung dịch iod mẫu 10 phần triệu I
Hòa tan 0,131 g *kali iodid (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 100 ml với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch kali mẫu 2000 phần triệu K
Hòa tan 0,446 g *kali sulfat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch kali mẫu 600 phần triệu K
Hòa tan 1,144 g *kali clorid (TT)* đã sấy 3 h ở 100 °C đến 105 °C trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch kali mẫu 100 phần triệu K
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch kali mẫu 2000 phần triệu K (TT)* thành 20 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch kali mẫu 20 phần triệu K
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch kali mẫu 100 phần triệu K (TT)* thành 5 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch kẽm mẫu 5 mg Zn/ml
Hòa tan 3,15 g *kẽm oxyd (TT)* trong 15 ml *acid hydrocloric (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 500 ml.

Dung dịch kẽm mẫu 100 phần triệu Zn
Hòa tan 0,440 g *kẽm sulfat (TT)* trong *nước* có chứa 1 ml *dung dịch acid acetic 5 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml. Pha loãng 1 thể tích dung dịch thu được thành 10 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch kẽm mẫu 25 phần triệu Zn
Pha loãng 25 ml *dung dịch kẽm mẫu 100 phần triệu Zn (TT)* thành 100 ml với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch kẽm mẫu 10 phần triệu Zn
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch kẽm mẫu 100 phần triệu Zn (TT)* thành 10 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch kẽm mẫu 5 phần triệu Zn
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch kẽm mẫu 100 phần triệu Zn (TT)* thành 20 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch lithi mẫu 100 phần triệu Li
Hòa tan 0,6109 g *lithi clorid (TT)* trong *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch magnesi mẫu 1000 phần triệu Mg
Hòa tan 1,010 g *magnesi sulfat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch magnesi mẫu 100 phần triệu Mg
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch magnesi mẫu 100 phần triệu Mg (TT)* thành 10 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch magnesi mẫu 10 phần triệu Mg
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch magnesi mẫu 100 phần triệu Mg (TT)* thành 100 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch mangan mẫu 100 phần triệu Mn
Hòa tan 0,308 g *mangan sulfat (TT)* trong 500 ml *dung dịch acid nitric 1 M (TT)* và pha loãng dung dịch trong thu được thành 1000 ml với *nước*.

Dung dịch natri mẫu 200 phần triệu Na
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch natri clorid 0,509 % (TT)* thành 10 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch natri mẫu 50 phần triệu Na
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch natri mẫu 200 phần triệu Na (TT)* thành 4 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch nhôm mẫu 200 phần triệu Al
Hòa tan 0,352 g *phèn chua (TT)* trong *dung dịch acid sulfuric 0,1 M (TT)* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch nhôm mẫu 100 phần triệu Al
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch nhôm clorid 0,8947 % (TT)* thành 10 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch nhôm mẫu 10 phần triệu Al
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch nhôm nitrat 1,39 % (TT)* thành 100 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch nhôm mẫu 2 phần triệu Al
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch nhôm mẫu 200 phần triệu Al (TT)* thành 100 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch nickel mẫu 1000 phần triệu Ni
Hòa tan 0,478 g *nickel (II) sulfat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch nickel mẫu 10 phần triệu Ni
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch nickel mẫu 1000 phần triệu Ni (TT)* thành 100 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch nickel mẫu 0,2 phần triệu Ni
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch nickel mẫu 10 phần triệu Ni (TT)* thành 50 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch nickel mẫu 0,1 phần triệu Ni
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch nickel mẫu 10 phần triệu Ni (TT)* thành 100 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch nitrat mẫu 1000 phần triệu NO_3
Hòa tan 0,163 g *kali nitrat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch nitrat mẫu 100 phần triệu NO_3
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch nitrat mẫu 1000 phần triệu NO_3 (TT)* thành 10 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch nitrat mẫu 10 phần triệu NO_3
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch nitrat mẫu 100 phần triệu NO_3 (TT)* thành 10 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch nitrat mẫu 2 phần triệu NO_3
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch nitrat mẫu 10 phần triệu NO_3 (TT)* thành 5 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch nitrit mẫu 20 phần triệu NO_2
Hòa tan 0,6 g *natri nitrit (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml và pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 200 ml với *nước*.

Dung dịch paladi mẫu 500 phần triệu Pd
Hòa tan 50 mg *paladi (TT)* trong 9 ml *acid hydrocloric (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch paladi mẫu 20 phần triệu Pd
Hòa tan 0,333 g *paladi clorid (TT)* trong 2 ml *acid hydrocloric (TT)* đã được làm ẩm và thêm hỗn hợp đồng thể tích của *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và *nước* vừa đủ 1000 ml. Pha loãng 1 thể tích dung dịch thu được thành 10 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch paladi mẫu 0,5 phần triệu Pd
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch paladi mẫu 500 phần triệu Pd (TT)* thành 1000 thể tích với hỗn hợp của 0,3 thể tích *acid nitric (TT)* và 99,7 thể tích *nước*.

Dung dịch platin mẫu 30 phần triệu Pt
Ngay trước khi dùng, pha loãng 10 lần dung dịch chứa 80 mg *acid cloroplatinic (IV) (TT)* trong 100 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*

Dung dịch phosphat mẫu 500 phần triệu PO_4
Hòa tan 0,0716 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong *nước* vừa đủ thành 100 ml.

Dung dịch phosphat mẫu 200 phần triệu PO_4
Pha loãng 10 thể tích *dung dịch phosphat mẫu 500 phần triệu PO_4 (TT)* thành 25 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch phosphat mẫu 100 phần triệu PO_4
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch phosphat mẫu 500 phần triệu PO_4 (TT)* thành 5 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch phosphat mẫu 5 phần triệu PO_4
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch phosphat mẫu 500 phần triệu PO_4 (TT)* thành 100 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch sắt mẫu 1000 phần triệu Fe
Hòa tan 0,10 g *sắt (TT)* trong một lượng tối thiểu dung dịch đồng thể tích của *acid hydrocloric (TT)* với *nước* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch sắt mẫu 250 phần triệu Fe
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch sắt (III) clorid hexahydrat 4,84 % (TT)* trong *dung dịch acid hydrocloric 15 % (TT)* thành 40 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch sắt mẫu 200 phần triệu Fe
Hòa tan 0,863 g *sắt (III) amoni sulfat (TT)* trong *nước* có chứa 25 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 500 ml.

Dung dịch sắt mẫu 20 phần triệu Fe
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch sắt mẫu 200 phần triệu Fe (TT)* thành 10 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch sắt mẫu 10 phần triệu Fe
Hòa tan 7,022 g *sắt (II) amoni sulfat (TT)* trong *nước* có chứa 25 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml. Pha loãng 1 thể tích dung dịch thu được thành 100 thể tích với *nước*.

Dung dịch sắt mẫu 8 phần triệu Fe
Pha loãng 1 thể tích dung dịch chứa 80 mg *sắt (TT)* và 50 ml *dung dịch acid hydrocloric 220 g/l (TT)* trong 1000 ml thành 10 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch sắt mẫu 2 phần triệu Fe
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch sắt mẫu 20 phần triệu Fe (TT)* thành 10 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch sắt mẫu 1 phần triệu Fe
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch sắt mẫu 20 phần triệu Fe (TT)* thành 20 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch selen mẫu 100 phần triệu Se
Hòa tan 0,100 g *selen (TT)* trong 2 ml *acid nitric (TT)*, bốc hơi đến khô. Hòa tan cắn trong 2 ml *nước* và bốc hơi đến khô, tiến hành tương tự 3 lần. Hòa tan cắn trong *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch selen mẫu 1 phần triệu Se
Pha loãng 25 ml *dung dịch acid selenious 0,00654 % (kl/tt)* thành 1000 ml với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch stronti mẫu 1 phần trăm Sr
Thấm ướt 1,6849 g *stronti carbonat (TT)* với *nước*, thêm cẩn thận *acid hydrocloric (TT)* cho tới khi chất rắn tan hoàn toàn và không có bọt khí, thêm *nước* tới vừa đủ 100 ml.

Dung dịch sulfat mẫu 1000 phần triệu SO_4
Hòa tan 0,181 g *kali sulfat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch sulfat mẫu 10 phần triệu SO_4
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch sulfat mẫu 1000 phần triệu SO_4 (TT)* thành 100 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch sulfat mẫu 1000 phần triệu SO_4 trong ethanol
Hòa tan 0,181 g *kali sulfat (TT)* trong *ethanol 30 % (TT)* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch sulfat mẫu 10 phần triệu SO_4 trong ethanol
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch sulfat mẫu 1000 phần triệu SO_4 trong ethanol (TT)* thành 100 thể tích với *ethanol 30 % (TT)* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch sulfit mẫu 80 phần triệu SO_2
Hòa tan 3,150 g *natri sulfit khan (TT)* trong *nước* mới cất vừa đủ 100 ml. Pha loãng 0,5 ml dung dịch thu được thành 100 ml với *nước* mới cất.

Dung dịch sulfit mẫu 1,5 phần triệu SO_2
Pha loãng 5 ml *dung dịch natri metabisulfit 0,152 % (TT)* thành 100 ml với *nước*. Thêm 4 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (CĐ)* vào 3 ml dung dịch thu được và thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch thali mẫu 10 phần triệu Tl
Pha loãng 10 ml *dung dịch natri thali (I) sulfat 0,01235 % (TT)* trong *dung dịch natri clorid 0,9 % (TT)* thành 100 ml với cùng dung môi.

Dung dịch thiếc mẫu 5 phần triệu Sn
Hòa tan 0,5 g *thiếc (TT)* trong hỗn hợp của 5 ml *nước* với 25 ml *acid hydrocloric (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 1000 ml. Pha loãng 1 thể tích dung dịch thu được thành 100 thể tích với *dung dịch acid hydrocloric 2,5 % (TT)* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch thiếc mẫu 0,1 phần triệu Sn
Pha loãng 1 thể tích *dung dịch thiếc mẫu 5 phần triệu Sn (TT)* thành 50 thể tích với *nước* ngay trước khi sử dụng.

Dung dịch titan mẫu 100 phần triệu Ti
Hòa tan 0,1 g *titan (TT)* trong 100 ml *acid hydrocloric (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 150 ml, đun nóng nếu cần. Làm nguội rồi thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch vanadi mẫu 1 g/l V
Hòa tan 0,230 g *amoni vanadat (TT)* trong *nước* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch zirconi 1 g/l Zr
Hòa tan 0,293 g *zirconyl nitrat (TT)* trong hỗn hợp của 8 thể tích *nước* với 2 thể tích *acid hydrocloric (TT)* vừa đủ 100 ml.

2.5 CÁC CHẤT ĐỐI CHIẾU (ĐC)

Chất đối chiếu là chất đồng nhất đã được xác định là đúng để dùng trong các phép thử đã được quy định về hóa học, vật lý và sinh học. Trong các phép thử đó các tính chất của chất đối chiếu được so sánh với các tính chất của chất cần thử. Chất đối chiếu phải có độ tinh khiết phù hợp với mục đích sử dụng.
Chất đối chiếu được dùng trong các phép thử sau:
Định tính bằng phương pháp quang phổ hấp thụ hồng ngoại.
Định lượng bằng phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến, quang phổ huỳnh quang.
Các phép thử định tính và định lượng bằng phương pháp sắc ký.
Định lượng bằng phương pháp vi sinh vật.
Các phép chuẩn độ đo thể tích, phân tích khối lượng.
Các phép thử sinh học.
Một số phép thử khác có hướng dẫn trong các chuyên luận riêng.

Cách sử dụng chất đối chiếu
Để đáp ứng mục đích sử dụng, chất đối chiếu phải được bảo quản, theo dõi và sử dụng đúng. Theo qui định thông thường, chất đối chiếu phải được đựng trong bao bì gốc, kín, có nhãn rõ ràng, được thường xuyên bảo quản ở nhiệt độ thấp, tránh ánh sáng và ẩm; nếu cần có điều kiện bảo quản đặc biệt khác thì có hướng dẫn trên nhãn.
Trước khi mở bao gói để dùng, chất đối chiếu cần được để một thời gian để đạt tới nhiệt độ phòng thí nghiệm.
Các phép thử được tiến hành đồng thời trên mẫu thử và mẫu đối chiếu đã được chuẩn bị trong cùng điều kiện ghi trong chuyên luận.
Nếu trên nhãn của chất đối chiếu không có chỉ dẫn phải làm khô và nếu trong phép thử riêng của chuyên luận không chỉ định phải làm khô thì có thể sử dụng ngay chất đối chiếu mà không phải làm khô. Trong trường hợp này

cần hiệu chỉnh lại lượng cân của chất đối chiếu do khối lượng bị giảm khi làm khô hoặc do hàm lượng nước. Mất khối lượng do làm khô hoặc hàm lượng nước được xác định theo hướng dẫn ở chuyên luận của chất thuốc tương ứng. Khi chất đối chiếu có nước kết tinh, có thể có hướng dẫn đặc biệt trong một phép thử riêng.

Nếu không thể thực hiện được việc xác định hàm lượng nước của chất đối chiếu bằng phương pháp chuẩn độ (phương pháp Karl Fischer) và nếu chuyên luận thuốc tương ứng không có phép thử mất khối lượng do làm khô, thì nên làm khô chất đối chiếu trên một chất hút ẩm thích hợp để chuyển lượng cân của chất đối chiếu thành chất khan, trừ khi có hướng dẫn khác.

Khi đọc thấy chữ "chuẩn" xuất hiện sau tên chất được ghi trong các phép thử hay phép định lượng, có nghĩa là phải sử dụng chất đối chiếu.

Bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc này cho phép sử dụng các chất chuẩn Dược điển Việt Nam, các dược liệu chuẩn được thiết lập, bảo quản và phân phối tại Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương (48 Hai Bà Trưng, Quận Hoàn Kiếm, TP. Hà Nội) hoặc Viện Kiểm nghiệm thuốc TP. Hồ Chí Minh (200 Cô Bắc, Quận 1, TP. Hồ Chí Minh) theo sự phân công của Bộ Y tế. Những chất đối chiếu quốc tế, khu vực hay quốc gia khác được sử dụng theo quy định hiện hành.

PHỤ LỤC 3

3.1 CÂN VÀ XÁC ĐỊNH KHỐI LƯỢNG

Xác định khối lượng là bước thường xuyên trong quy trình phân tích. Cân là thiết bị phòng thí nghiệm cần thiết trong hầu hết các phép phân tích. Tuy nhiên, phép cân lại là nguồn phổ biến gây sai số khó phát hiện.

Quy trình mô tả dưới đây áp dụng trực tiếp trên các cân điện tử.

Quy trình xác định khối lượng có thể chia thành ba bước cơ bản: Chuẩn bị cân, kiểm tra cân và cân xác định khối lượng.

Chuẩn bị cân

Bước ban đầu là chọn, trang bị các dụng cụ thí nghiệm thích hợp, như các đồ đựng vật cân (giấy cân, phễu cân...), bình chứa, kẹp gắp, pipet, thìa có kích cỡ phù hợp ...

Sử dụng đồ đựng có kích cỡ không vượt quá tải trọng của cân và phải đảm bảo sạch, khô.

Chuẩn bị các mẫu cân và các hóa chất cần thiết, nếu có yêu cầu, pha các dung dịch, thuốc thử.

Mẫu cân có thể yêu cầu nghiền mịn hoặc sấy khô. Một vài mẫu cân phải được làm nóng hoặc bảo quản trong thiết bị làm lạnh. Trước khi cân, mẫu cân phải đảm bảo được cân bằng nhiệt với nhiệt độ của cân. Để tránh sự ngưng tụ hơi ẩm, các mẫu cân làm lạnh phải được để tới nhiệt độ phòng trước khi mở nắp bình đựng.

Kiểm tra cân

Cân phải được kiểm tra trước khi tiến hành cân để loại các sai số có thể xảy ra. Người sử dụng cân cần kiểm tra môi trường cân, hiệu chuẩn cân và kiểm tra độ không đảm bảo đo của cân.

Môi trường cân

Cân phải được đặt ở vị trí thích hợp có mức rung động đủ thấp, không có luồng khí và có nguồn điện ổn định.

Cân và khu vực làm việc chung quanh phải được giữ gọn gàng và sạch sẽ. Nên dùng bàn chải lông mịn làm sạch đĩa cân trước khi cân.

Khi cân được di chuyển đến nơi khác, cần phải để cân ổn định tới nhiệt độ của môi trường mới và phải hiệu chuẩn lại cân.

Hiệu chuẩn cân

Mở nguồn và để cân ổn định trong ít nhất 1 h trước khi tiến hành hiệu chuẩn (các cân vi phân tích cần để ổn định 24 h để đạt sự cân bằng).

Các cân phân tích điện tử có hệ thống nội chuẩn dựa trên tải trọng xác định.

Sự hiệu chuẩn được tiến hành trong điều kiện nhiệt độ phòng.

Độ không đảm bảo đo của cân

Cách giảm độ trôi

Độ trôi là một trong những sai số thường gặp và cũng là yếu tố có thể làm giảm hoặc loại bỏ dễ dàng nhất.

Kiểm tra mẫu thử, cân phân tích và môi trường phòng thí nghiệm để loại bỏ các nguyên nhân sau đây có thể gây sai số:

Cửa buồng cân mở.

Nhiệt độ của cân và mẫu cân không đồng nhất.

Mẫu cân tăng hoặc giảm khối lượng.

Cân mới được di chuyển nhưng chưa được để cân bằng với môi trường hoặc chưa được hiệu chuẩn lại.

Có các luồng gió trong phòng thí nghiệm.

Nhiệt độ trong phòng thí nghiệm thay đổi.

Cân không đặt thật thăng bằng.

Các hoạt động trong phòng thí nghiệm gây rung động.

Ảnh hưởng của các bộ phận cơ học xảy ra trong suốt quá trình cân.

Hiện tượng trễ cơ học

Hiện tượng trễ của cân là do sự căng quá mức các lò xo, chủ yếu gây bởi việc cân quá tải hoặc bởi đánh rơi vật nào đó lên đĩa cân.

Quy trình đảm bảo chất lượng cho sự đo độ trôi của cân

Sau một khoảng thời gian vận hành cân, độ trôi của cân được kiểm tra bằng việc cân khối lượng quả cân chuẩn đã được nội chuẩn. Việc kiểm tra này nên thực hiện sau khi cân đã được hiệu chuẩn ở nhiệt độ phòng thí nghiệm, trước khi cân mẫu đầu tiên trong ngày hoặc sau một sự cố có thể làm sai lệch cân (mất nguồn điện, di chuyển cân đến vị trí khác...).

Quả cân chuẩn phải có khối lượng hằng định và không vượt quá mức trọng tải của cân. Mỗi cân nên được cung cấp một quả cân chuẩn, đựng trong hộp bảo vệ và đặt cạnh cân.

Cần thực hiện những quy trình sau đây để làm giảm các sai số cân và khả năng sai số do độ trôi:

Đảm bảo nối nguồn điện cho cân, kiểm tra bọt nước thăng bằng của cân.

Hiệu chuẩn cân phân tích hoặc cân vi phân tích.

Hàng ngày, người đầu tiên sử dụng cân phải kiểm tra cân bằng cách cân khối lượng quả cân chuẩn, ghi chép khối lượng này vào sổ theo dõi để so sánh với các lần cân trước.

Nếu sự chênh lệch lớn hơn giới hạn cho phép của cân phân tích và cân vi phân tích, phải báo cáo để sửa chữa.

(Quả cân chuẩn phải được bảo quản, tránh sự tiếp xúc với những chất gây ô nhiễm trong không khí, có thể làm sạch bằng một miếng vải gạc được làm ẩm bằng một lượng nhỏ dung môi thích hợp như ether ethylic).

Cân phân tích

Chọn một quả cân chuẩn có khối lượng phù hợp để kiểm tra cân phân tích. Nếu có thể, cài đặt cân để đọc tới số thập phân thứ 5. Vận hành cân theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Dùng kẹp gắp quả cân chuẩn đặt cẩn thận lên đĩa cân, tránh để rơi xuống đĩa cân. Đặt quả cân vào chính giữa đĩa cân để loại trừ độ lệch góc. Nếu không có sự trôi, khối lượng của quả cân chuẩn sẽ hằng định.

Định kỳ sử dụng quả cân chuẩn cố định sẽ phát hiện được độ trôi của cân (nếu có). Việc kiểm tra độ trôi được thực hiện bằng cách cân ở những vị trí nhạy nhất. Mức dao động khối lượng thu được không được vượt quá ± 0,2 mg. Ví dụ: Với quả cân 20 g, nếu giá trị trung bình đọc được là 19,9984 g, khối lượng dao động từ 19,9982 đến 19,9986 g là chấp nhận được. Vì vậy phải đọc kết quả nhiều lần trước khi thiết lập dung sai.

Cân vi phân tích

Tiến trình như hướng dẫn cho cân phân tích nhưng dùng một quả cân chuẩn thích hợp cho loại cân này.

Ví dụ: Có thể dùng quả cân chuẩn 100 mg cho cân có mức trọng tải là 150 mg hoặc có thể dùng quả cân chuẩn 10 mg cho một cân siêu vi phân tích có mức trọng tải là 15 mg.

(Người sử dụng cân phải biết trọng tải tối đa của cân để chọn quả cân chuẩn thích hợp).

Cân biểu thị khối lượng bằng miligam. Ghi chép khối lượng ngay sau khi kết quả đọc ổn định một vài giây. Sự biến thiên khối lượng phải trong giới hạn phù hợp với tiêu chuẩn kỹ thuật của nhà sản xuất nhưng không được lớn hơn 0,1 % lượng mẫu cân.

Ví dụ: Nếu cân các mẫu 10 mg, sự biến thiên khối lượng của quả cân chuẩn phải không vượt quá 0,01 mg.

Cân xác định khối lượng mẫu

Trong bước cuối này, chọn phần thập phân của kết quả cân theo yêu cầu của quy trình phân tích. Phần lớn các phép phân tích trong dược phẩm sử dụng một lượng nhỏ mẫu thử, nên yêu cầu giá trị đọc trên cân cài đặt tới số thập phân thứ năm để đạt độ đúng cần thiết.

Số thập phân thứ tư thích hợp hơn với các khối lượng mẫu cân gần bằng gam.

Không cân mẫu quá lâu để tránh những thay đổi gây ra bởi sự tương tác với nước trong không khí và khí carbonic.

Giới hạn trọng tải

Chọn cân phù hợp với khối lượng phải cân và độ đúng cần thiết. Mỗi cân có một giới hạn trọng tải, không nên vượt quá. Mỗi nhà sản xuất cân đã xác định trọng tải tối đa của cân và giới hạn này thay đổi với từng loại cân. Người sử dụng nên biết giới hạn trọng tải để tránh làm hỏng cân.

Dụng cụ chứa mẫu

Những dụng cụ chứa mẫu cân thông thường là lọ cân, thuyền cân (phễu cân), giấy cân, bình nón... Dụng cụ chứa mẫu thích hợp phụ thuộc vào khối lượng và trạng thái mẫu cân (lỏng, rắn, bột...). Phải chọn dụng cụ chứa mẫu thích hợp cho từng mẫu cân. Khối lượng dụng cụ chứa cộng khối lượng mẫu cần cân phải không vượt quá trọng tải tối đa của cân. Kích cỡ, hình dáng của dụng cụ chứa phải phù hợp với đĩa cân và không gian buồng cân để không ảnh hưởng đến các thao tác cân. Quan trọng là dụng cụ chứa mẫu phải sạch và khô.

Cần sử dụng găng tay, kẹp gắp và các dụng cụ để lấy các dụng cụ chứa vì mồ hôi từ tay có thể ảnh hưởng tới khối lượng cân.

Thuyền cân thường được sử dụng nhiều nhất vì nó vừa là dụng cụ chứa vừa là phễu giúp chuyển dễ dàng mẫu cân vào bình. Thuyền cân có nhiều cỡ khác nhau, nên chọn cỡ phù hợp cho từng trường hợp.

Giấy cân thường sử dụng để cân chất rắn. Giấy cân được cầm bằng tay, phải cẩn thận để tránh làm rơi, đổ mẫu cân.

Các phương pháp cân

Những phương pháp sau đây thường được sử dụng và cho kết quả phân tích tốt.

Phương pháp 1

Cân trừ bì: Đặt dụng cụ chứa rỗng lên chính giữa đĩa cân và nhấn phím cân trừ bì để khối lượng của dụng cụ chứa không hiển thị nữa (giá trị 0). Cho mẫu cân vào dụng cụ chứa và ghi nhận khối lượng mẫu cân. Chuyển lượng mẫu cân vào bình định mức rồi cân lại dụng cụ chứa ban đầu. (Chú ý không thay đổi sự cài đặt cân trừ bì của cân giữa 2 lần cân này). Khối lượng đọc được ở lần cân thứ 2 chính là lượng mẫu thử không chuyển hết vào bình định mức (còn dính lại trên dụng cụ chứa mẫu cân) và được trừ vào khối lượng mẫu cân đọc được ở lần cân thứ nhất để xác định khối lượng mẫu thử đã được chuyển vào bình.

Phương pháp 2

Cân không trừ bì: Cho mẫu thử vào dụng cụ chứa và đặt lên chính giữa đĩa cân. Ghi nhận khối lượng cân và chuyển mẫu thử vào bình định mức, cân lại dụng cụ chứa ban đầu. Khối lượng đọc được ở lần cân thứ 2 là tổng khối lượng của dụng cụ chứa mẫu và lượng mẫu cân không được chuyển hết vào bình (còn dính lại trên dụng cụ chứa mẫu cân). Hiệu của khối lượng cân ban đầu và khối lượng cân lần 2 là khối lượng mẫu thử đã chuyển vào bình định mức.

Phương pháp 3

Phương pháp này được xem như là phương pháp chuyển toàn lượng. Mẫu cân được cho vào dụng cụ chứa đã cân bì, xác định khối lượng mẫu cân bởi sự chênh lệch giữa khối lượng cân đọc được và khối lượng cân bì. Toàn bộ lượng mẫu thử được chuyển hết vào bình bằng cách dùng một dung môi để hoà tan mẫu và tráng dụng cụ chứa mẫu.

Quy trình xử lý mẫu cân an toàn

Các thao tác an toàn khi cân: Người tiến hành cân cần đọc kỹ các thông báo về mẫu thử, các tài liệu an toàn về hóa chất, nguyên vật liệu... trước khi cân.

Những nguyên liệu, hóa chất nguy hiểm (chất độc, chất ăn mòn, chất dễ cháy, chất nổ, chất gây dị ứng, chất phóng xạ...) phải đặt ở nơi riêng biệt, kín, có hệ thống lọc khí thích hợp.

Sử dụng khẩu trang che mũi và miệng để ngăn ngừa việc hít các bụi hóa chất. Cần dùng găng tay để tránh sự tiếp xúc với da và cũng để ngăn ngừa hơi ẩm, mồ hôi bám trên dụng cụ chứa khi cân mẫu. Trong suốt quá trình cân, người tiến hành cân phải tiếp xúc với các chất liệu nguyên chất ở nồng độ cao, do đó phải luôn luôn quan tâm đến biện pháp bảo đảm an toàn.

Quy trình cân được thực hiện với nhiều loại mẫu thử khác nhau như chất rắn, bột mịn, chất lỏng (nhớt hoặc không nhớt, bay hơi hoặc không bay hơi)..., nên mỗi loại mẫu thử yêu cầu những thao tác riêng biệt.

Cân chất rắn
Chất rắn có 2 dạng: Dạng khối lượng lớn có bột hay không có bột trên bề mặt và dạng bột mịn hay những tinh thể nhỏ.
Khi cân chất rắn có khối lượng lớn và có bột trên bề mặt, dùng giấy cân để bảo vệ cân, còn không có bột trên bề mặt, trơ, có thể đặt trực tiếp lên đĩa cân (ví dụ: viên bao).
Mẫu chất rắn phải lấy bằng kẹp gắp, không lấy bằng tay.
Hiện tượng tích điện:
Dạng bột mịn có xu hướng tích điện, làm các tiểu phân bay xung quanh. Hiện tượng này phải được loại bỏ trước khi cân. Có thể dùng thiết bị chống tích điện để làm giảm đến mức tối thiểu vấn đề này.
Hiện tượng tích điện phụ thuộc vào độ ẩm tương đối của phòng thí nghiệm. Trong điều kiện nào đó, có thể sự tích điện được tạo ra bởi loại quần áo mà người thao tác cân đang mặc. Điện tích này khi phóng điện gây những sai số lớn về khối lượng.
Quy trình cân:
Đặt dụng cụ chứa mẫu lên đĩa cân, đóng cửa buồng cân và cân theo chỉ dẫn "Các phương pháp cân". Cẩn thận thêm mẫu cân dạng bột bằng một thìa xúc vào dụng cụ chứa cho tới khi đạt lượng mong muốn. Thao tác cẩn thận để tránh rơi vãi ra ngoài. Đóng cửa buồng cân và ghi khối lượng mẫu cân ngay khi cân ổn định.
Sự rơi vãi:
Nếu chất rắn bị rơi vãi ra ngoài, lấy dụng cụ chứa ra, loại bỏ hoàn toàn các chất liệu rơi đổ trên cân, làm sạch bên trong, bên ngoài buồng cân, bàn cân, tránh để người sau tiếp xúc với các chất liệu rơi vãi.
(Chú ý: Không cho trở lại lọ chứa mẫu các mẫu cân dư).
Cân chất lỏng
Chất lỏng có thể bay hơi hoặc không bay hơi và nhớt hoặc không nhớt. Mỗi loại có những chú ý riêng biệt.
Cân theo hướng dẫn "Các phương pháp cân", chú ý thêm các phần sau:
Chất lỏng luôn luôn được cân vào đồ đựng (chứa) có nắp để tránh sự bay hơi. Tốt nhất chất lỏng nên được cho vào bình cân ở bên ngoài cân để tránh đổ tràn trên cân.
(Chú ý: Chất lỏng đổ tràn trong buồng cân có thể gây những hư hỏng nghiêm trọng cho cân và khó lau chùi sạch).
Chất lỏng không nhớt có thể được lấy bằng một pipet Pasteur có gắn một quả bóp cao su nhỏ như ống nhỏ giọt. Chất lỏng được rót vào bình, đậy nắp và đặt lên cân.
Một lượng nhỏ chất lỏng nhớt có thể được lấy bằng cách chạm một đũa thủy tinh tới bề mặt chất lỏng rồi cẩn thận chạm que này tới thành bình cân mẫu để một ít chất lỏng được chuyển qua.
Cân các chất liệu ăn mòn
Nhiều hóa chất có tính ăn mòn, như các muối. Các chất liệu có tính ăn mòn không nên để rơi đổ trên đĩa cân hoặc bên trong buồng cân. Cẩn thận khi cân các chất liệu này.

Kết luận
Thực hiện chặt chẽ theo các quy trình chỉ dẫn trên, nhân viên phòng thí nghiệm có thể loại bỏ nhiều sai số trong quá trình tiến hành cân. Tuy nhiên, phải có cán bộ kỹ thuật có chuyên môn bảo trì và hiệu chuẩn cân định kỳ. Phải dùng các quả cân chuẩn đã được liên kết với chuẩn quốc gia. Điều này là rất quan trọng.

3.2 NHIỆT KẾ

Các thiết bị đo nhiệt độ thích hợp cho các thử nghiệm trong Bộ tiêu chuẩn quốc gia về thuốc phải đạt các yêu cầu kỹ thuật trong hệ thống nhiệt kế chuẩn quốc gia.
Các thiết bị đo nhiệt độ có thể là nhiệt kế thủy tinh - chất lỏng, nhiệt kế hiện số hoặc nhiệt kế đồng hồ.
Nhiệt kế hiện số hoặc nhiệt kế đồng hồ gồm một đầu dò nhiệt độ. Đầu dò được gắn với một đồng hồ đo có khả năng chuyển tín hiệu ôm hoặc milivôn sang đại lượng nhiệt độ. Phần đầu dò nhiệt độ được nhúng ngập trong môi trường cần đo được làm bằng chất liệu trơ.
Việc chuẩn hóa nhiệt kế được thực hiện định kỳ theo tần suất xác định nối với thang nhiệt độ chuẩn quốc gia. Cần chú ý điều kiện, thiết bị cụ thể được sử dụng để chọn thiết bị đo nhiệt độ phù hợp.
Các nhiệt kế thủy tinh - chất lỏng được chuẩn hóa theo 3 cách: Nhúng sâu toàn phần, nhúng từng phần hoặc nhúng sâu hoàn toàn. Vì vậy khi sử dụng các nhiệt kế này cần tuân thủ theo điều kiện đã được chuẩn hóa. Việc chuẩn hóa các nhiệt kế được thực hiện định kỳ theo tần suất xác định nối với thang nhiệt độ chuẩn quốc gia.
Việc chuẩn hóa nhiệt kế thủy tinh - chất lỏng loại nhúng sâu toàn phần được thực hiện bằng cách nhúng sâu nhiệt kế vào môi trường đo tới phần trên của cột chất lỏng, phần còn lại của thân nhiệt kế ở nhiệt độ phòng.
Việc chuẩn hóa nhiệt kế thủy tinh - chất lỏng loại nhúng từng phần được thực hiện bằng cách nhúng nhiệt kế ở một độ sâu cố định, phần thân nhiệt kế còn lại ở nhiệt độ phòng. Loại nhiệt kế này được khắc vạch quy định độ sâu được nhúng trong môi trường đo nhiệt độ.
Việc chuẩn hóa nhiệt kế thủy tinh - chất lỏng loại nhúng sâu hoàn toàn được thực hiện bằng cách cho toàn bộ nhiệt kế vào môi trường cần đo nhiệt độ.
Nếu cần sử dụng trong những điều kiện khác với điều kiện chuẩn hóa thì cần phải hiệu chỉnh để có giá trị đo đúng.

3.3 DỤNG CỤ ĐO THỂ TÍCH

Hầu hết các dụng cụ đo thể tích dùng trong phân tích được chuẩn hóa dung tích ở 20 °C, mặc dù nhiệt độ phòng thí nghiệm và nhiệt độ quy định cho các phép thử và định lượng thường là 25 °C. Sự khác nhau này không quan trọng, miễn là nhiệt độ phòng thí nghiệm tương đối hằng định. Khi cần tiến hành thử nghiệm đúng ở 20 °C thì yêu cầu này được ghi trong chuyên luận riêng.
Để giảm thiểu sai số phép đo thể tích, dụng cụ đo thể tích, nguyên vật liệu và dung môi dùng pha chế dung dịch, khu vực pha chế và việc điều chỉnh thể tích cuối cùng phải được duy trì ở cùng một nhiệt độ.

Để đạt được độ chính xác yêu cầu trong nhiều phương pháp định lượng có các phép đo thể tích chính xác, cần lựa chọn và dùng các dụng cụ đo thể tích thích hợp. Chọn kích cỡ của buret phù hợp sao cho thể tích dung dịch chuẩn độ không ít hơn 30 % thể tích danh định của buret. Muốn đo thể tích một dung dịch chuẩn độ dưới 10 ml thì phải dùng buret 10 ml hoặc microburet.

Dung sai thể tích đối với các loại bình định mức, các pipet chính xác có bầu, pipet chia độ và các buret là dung sai đã được Tổ chức Tiêu chuẩn hóa quốc tế (ISO) thừa nhận và được ghi trong các bảng kèm theo dưới đây.

Khi sử dụng các pipet chính xác có bầu và pipet chia độ được chuẩn hóa theo kiểu đổ ra "TD" (to deliver) phải giữ pipet thẳng đứng và đầu pipet phải chạm vào thành bình hứng rồi cho chất lỏng chảy ra.

Các số đọc thể tích trên buret phải được lượng giá tới 0,01 ml đối với buret 25 ml và 50 ml, và tới 0,005 ml đối với buret 5 ml và 10 ml.

Trong các trường hợp đặc biệt như đo thể tích chất lỏng nhớt như sirô, dùng pipet được chuẩn hóa theo kiểu đổ vào "TC" (to contain) hoặc bình định mức. Sau khi đã đổ chất lỏng ra, phải rửa sạch thành trong của dụng cụ và gộp nước rửa vào phần chất lỏng đã lấy.

Bình định mức

Dung tích (ml)	Sai số cho phép (ml)
5	± 0,025
10	± 0,025
25	± 0,04
50	± 0,06
100	± 0,10
200	± 0,15
250	± 0,15
500	± 0,25
1000	± 0,40
2000	± 0,60

Pipet chính xác có bầu (kiểu đổ ra)

Dung tích (ml)	Sai số cho phép (ml)
0,5	± 0,005
1	± 0,007
2	± 0,01
5	± 0,015
10	± 0,02
20	± 0,03
25	± 0,03
50	± 0,05
100	± 0,08
200	± 0,10

Pipet chia độ

Dung tích (ml)	Sai số cho phép (ml)
1	± 0,006
2	± 0,01
5	± 0,03
10	± 0,05
25	± 0,1

Buret

Thể tích xác định (ml)	Phân độ (ml)	Sai số cho phép (ml)
10 (micro buret)	0,02	± 0,02
25	0,10	± 0,03
50	0,10	± 0,05

3.4 PHỄU LỌC THỦY TINH XỐP

Bảng 3.4.1 - Đường kính lỗ xốp của phễu lọc thủy tinh xốp

Đường kính lỗ xốp (µm)	Cách dùng chính
Nhỏ hơn 2,5	Lọc vi khuẩn
4 đến 10	Lọc cực mịn, phân tách các vi sinh vật có đường kính lớn.
10 đến 40	Lọc dùng trong phân tích, lọc thủy ngân rất mịn, phân tán rất nhỏ các khí.
40 đến 100	Lọc mịn, lọc thủy ngân, phân tán nhỏ các khí.
100 đến 160	Lọc các chất thô, phân tán và rửa khí, làm giá lọc cho các vật liệu lọc khác.
160 đến 500	Lọc các chất rất thô, phân tán và rửa khí.

Bảng 3.4.2 - Bảng so sánh độ xốp của các phễu lọc xốp

Số độ xốp	Đường kính tối đa của các lỗ xốp (µm)	Đức	Pháp	Anh
1,6	dưới 1.6	5f	-	-
-	1 đến 2,5	5	-	5
4	1,6 đến 4	-	-	-
-	4 đến 6	-	5	-
10	4 đến 10	4f	-	4
16	10 đến 16	4	4	-
40	16 đến 40	3	3	3
-	40 đến 50	-	-	2
100	40 đến 100	2	2	-
-	100 đến 120	-	-	1
160	100 đến 160	1	1	-
-	150 đến 200	0	0	-
250	160 đến 250	-	-	-
-	200 đến 500	-	00	-

(Những giới hạn chỉ dẫn là gần đúng)

3.5 CỠ BỘT VÀ RÂY

Bột

Các cỡ bột được quy định dựa vào các số của rây. Trừ khi có chỉ dẫn khác, khi quy định dùng một rây để xác định cỡ bột thì không được có dưới 97 % khối lượng thuốc bột qua được cỡ rây đó. Khi quy định dùng hai rây để xác định cỡ bột thì để một rây lên trên rây kia và tiến hành rây; không được có dưới 95 % khối lượng thuốc bột qua rây có số rây cao hơn và không được quá 40% khối lượng thuốc bột qua rây có số rây thấp hơn.

Người ta dùng những ký hiệu sau đây để quy định các cỡ bột:

Bột thô (1400/ 355) là bột mà không ít hơn 95 % phần từ qua được rây số 1400 và không quá 40 % qua được rây số 355.

Bột nửa thô (710/ 250) là bột mà không ít hơn 95 % phần từ qua được rây số 710 và không quá 40 % qua được rây số 250.

Bột nửa mịn (355/ 180) là bột mà không ít hơn 95 % phần từ qua được rây số 355 và không quá 40 % qua được rây số 180.

Bột mịn (180/ 125) là bột mà không ít hơn 95 % phần từ qua được rây số 180 và không quá 40 % qua được rây số 125.

Bột rất mịn (125/ 90) là bột mà không ít hơn 95 % phần từ qua được rây số 125 và không quá 40 % qua được rây số 90.

Rây

Lưới rây có thể dệt bằng sợi kim loại hoặc sợi các vật liệu khác thích hợp và dệt thành những mắt vuông. Lưới của rây dùng để rây bột thuốc được phân loại bằng những con số, chúng biểu thị kích thước lỗ rây quy định tính bằng milimét (Bảng 3.5). Vật liệu để làm lưới rây không được tạo ra một phản ứng nào với những bột đem rây. Khi rây, tránh kéo dài thời gian vì sẽ làm tăng độ mịn của bột. Khi không dùng vào mục đích phân tích, có thể dùng rây có mắt tròn, có đường kính trong bằng 1,25 lần chiều rộng mắt vuông của rây có cỡ tương ứng.

Bảng 3.5 - Cỡ rây (kim loại)

Số rây*	Cỡ mắt rây (mm)	Đường kính sợi dây (mm)
2000	2,000	0,900
1400	1,400	0,710
710	0,710	0,450
500	0,500	0,315
355	0,355	0,224
250	0,250	0,160
180	0,180	0,125
150	0,150	0,100
125	0,125	0,090
90	0,090	0,063
75	0,075	0,050
45	0,045	0,032

Đối với bột thô hoặc nửa thô thì lấy 25 g tới 100 g bột để thử. Cho vào rây thích hợp, lắc rây theo chiều ngang quay tròn ít nhất 20 min và rây tới khi xong. Cân dùng số lượng còn lại ở trên rây và số thu được trong hộp hứng.

Đối với bột nửa mịn, mịn hay rất mịn thì tiến hành như bột thô, nhưng mẫu bột lấy để thử không quá 25 g và lắc rây ít nhất 30 min rồi rây tới khi xong.

Trường hợp phải rây những chất có dầu hay những bột khác có xu hướng bít mắt rây thì trong quá trình rây thỉnh thoảng chải cẩn thận mắt rây, tách rời những đống tụ lại khi rây.

* Số rây biểu thị kích thước đo bằng µm của mắt rây.

Những quy định mắt rây bằng sợi kim loại chủ yếu được lựa chọn trong tiêu chuẩn ISO 565 - 1975.

Ghi chú: Đối với dược liệu có khi cần dùng các cỡ rây to hơn so với bảng cỡ rây trên, trong trường hợp này chỉ cần nêu rõ kích thước của cỡ mắt rây.

3.6 RỬA DỤNG CỤ THUỶ TINH

Độ sạch của dụng cụ thủy tinh đem dùng có ảnh hưởng rất lớn đến kết quả của một phép thử hoặc một phép định lượng. Các dụng cụ thủy tinh như cốc vại có mỏ, buret, pipet, bình nón, bình cầu v.v... đều phải thật sạch, đặc biệt là khi được dùng để định lượng bằng phương pháp vi sinh vật, thử chất gây sốt, hoặc khi dùng để lấy một thể tích nhỏ chất lỏng hay dung dịch.

Một trong những chất làm sạch dụng cụ thủy tinh tốt nhất là acid nitric đun nóng. Hỗn hợp acid cromic cũng là tác nhân làm sạch rất tốt dùng để loại sạch chất hữu cơ khỏi bề mặt thủy tinh mà không phải đun nóng. Hỗn hợp này được pha chế bằng cách hòa tan 200 g *natri dicromat (TT)* hoặc *kali dicromat (TT)* vào khoảng 100 ml *nước*, làm lạnh trong nước đá rồi thêm từ từ 1500 ml *acid sulfuric (TT)*, vừa thêm vừa khuấy. Việc pha chế phải được thực hiện trong cốc vại bằng thủy tinh boro-silicat và cần đeo kính bảo hộ khi thêm acid. Hỗn hợp acid cromic là chất rất ăn mòn và hút nước, vì thế, phải được bảo quản trong những bình thủy tinh có nút mài và để ở nơi an toàn. Khi để yên, tinh thể acid cromic có thể được tạo thành, tách ra khỏi hỗn hợp, khi đó cần gạn để loại đi. Nếu hỗn hợp acid cromic có màu xanh thì không dùng nữa.

Dụng cụ thủy tinh được xử lý bằng hỗn hợp acid cromic cần phải rửa bằng nước rất nhiều lần để tránh acid cromic bị hút bám lên bề mặt. Không dùng hỗn hợp này để làm sạch những bình đựng dùng cho các phép đo quang học.

Mặc dù hỗn hợp acid cromic là chất làm sạch rất tốt, nhưng nó cũng được khuyến cáo không sử dụng ở nhiều phòng thí nghiệm vì acid cromic có trong danh sách chất thải độc hại nguy hiểm của cơ quan bảo vệ môi trường Mỹ (EPA).

Để rửa sạch dụng cụ thủy tinh, người ta còn có thể dùng những dung dịch tẩy rửa tổng hợp hoặc những hóa chất tẩy có tính kiềm như trinatri phosphat; dùng những chất này cũng có yêu cầu phải rửa nhiều lần bằng nước.

Tất cả dụng cụ thủy tinh cuối cùng đều được tráng bằng *nước cất* và làm khô trước khi dùng.

PHỤ LỤC 4

4.1 PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ HẤP THỤ TỬ NGOẠI VÀ KHẢ KIẾN

Phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến còn được gọi là phương pháp quang phổ hấp thụ điện tử, là một trong các phương pháp phân tích dựa trên sự hấp thụ bức xạ điện từ.

Xác định độ hấp thụ

Độ hấp thụ A của một dung dịch là logarit thập phân của nghịch đảo độ truyền quang T khi cho ánh sáng đơn sắc đi qua. Nó được biểu thị bằng phương trình:

$$A = \log_{10}\left(\frac{1}{T}\right) = \log_{10}\left(\frac{I_0}{I}\right)$$

Trong đó:
I là cường độ ánh sáng đơn sắc sau khi đã truyền qua dung dịch;
I_0 là cường độ ánh sáng đơn sắc tới;
T là độ truyền quang.
Ngoại trừ sự có mặt của các yếu tố lý - hóa học khác, độ hấp thụ A tỷ lệ với độ dài quang trình d của ánh sáng truyền qua dung dịch (bề dày lớp dung dịch) và nồng độ c của dung dịch chất khảo sát. Sự phụ thuộc này được biểu thị bằng phương trình:

$$A = \varepsilon \times c \times d$$

Trong đó:
ε là độ hấp thụ mol;
d được biểu thị bằng cm;
c biểu thị bằng mol/lít.
Độ hấp thụ của dung dịch chất tan ở nồng độ 1 % (kl/tt) hay 10 g/l trong một cốc đo có chiều dày 1 cm và đo ở một bước sóng xác định là độ hấp thụ riêng của chất tan và được ký hiệu là A (1 %, 1 cm). Độ hấp thụ riêng của chất tan được tính bằng công thức:

$$A\,(1\%, 1\text{ cm}) = \frac{10 \times \varepsilon}{M}$$

Trong đó:
M là khối lượng phân tử của chất thử.
Độ hấp thụ riêng của một chất trong một dung môi xác định và đo ở một bước sóng xác định là một đặc tính của chất đó. Trừ những chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, người ta đo độ hấp thụ ở độ dài sóng quy định và sử dụng quang trình dài 1 cm ở 19 °C đến 21 °C.
Ngoại trừ các chỉ dẫn trong chuyên luận riêng, các phép đo được tiến hành so sánh với dung môi hoặc với hỗn hợp dung môi đã dùng để chuẩn bị mẫu thử. Độ hấp thụ của dung môi hoặc hỗn hợp dung môi đo đối chiếu với không khí không được vượt quá 0,4 và tốt nhất là dưới 0,2. Khi vẽ phổ hấp thụ, đặt độ hấp thụ hoặc hàm số của độ hấp thụ trên trục tung và đặt độ dài sóng hoặc hàm số của độ dài sóng trên trục hoành.
Khi một chuyên luận riêng đưa ra một trị số riêng lẻ cho vị trí của một cực đại, điều này được hiểu là trị số khảo sát được có thể lệch không quá ± 2 nm.

Thiết bị

Máy quang phổ thích hợp dùng cho việc đo phổ vùng tử ngoại và khả kiến bao gồm một hệ thống quang học có khả năng cung cấp ánh sáng đơn sắc trong dải từ 200 nm đến 800 nm và một thiết bị phù hợp để đo độ hấp thụ. Hai cóng đo dùng cho dung dịch thử và dung dịch đối chiếu cần phải có đặc tính quang học như nhau. Khi đo trên máy tự ghi hai chùm tia, cốc đựng dung dịch đối chiếu được đặt ở bên có chùm tia đối chiếu đi qua.

Kiểm tra độ dài sóng

Kiểm tra thang độ dài sóng bằng cách sử dụng cực đại hấp thụ của dung dịch holmi perclorat. Vạch phổ của đèn nguồn hydro hoặc đèn deuterium và các vạch phổ của đèn hơi thủy ngân được chỉ ra ở dưới đây:
Giới hạn sai lệch cho phép là ± 1 nm ở vùng tử ngoại và ± 3 nm ở vùng khả kiến.

241,15 nm (Ho)	404,66 nm (Hg)
253,70 nm (Hg)	435,83 nm (Hg)
287,15 nm (Ho)	486,00 nm (Dβ)
302,25 nm (Hg)	486,10 nm (Hβ)
313,16 nm (Hg)	536,30 nm (Ho)
334,15 nm (Hg)	546,07 nm (Hg)
361,50 nm (Ho)	576,96 nm (Hg)
365,48 nm (Hg)	579,07 nm (Hg)

Kiểm tra độ hấp thụ

Kiểm tra độ hấp thụ của dung dịch kali dicromat ở các độ dài sóng chỉ ra ở Bảng 4.1. Trong bảng mỗi độ dài sóng có một giá trị chính xác của độ hấp thụ riêng A (1 %, 1 cm) và các giới hạn cho phép. Dung sai độ hấp thụ là 0,01.
Để kiểm tra độ hấp thụ ở bước sóng 235 nm, 257 nm, 313 nm và 350 nm, dùng một dung dịch kali dicromat được chuẩn bị theo cách sau: Hòa tan 57,0 mg đến 63,0 mg kali dicromat đã được sấy ở 130 °C đến khối lượng không đổi trong một lượng *dung dịch acid sulfuric 0,005 M* để tạo thành vừa đủ 1000 ml dung dịch. Để kiểm tra độ hấp thụ ở bước sóng 430 nm, hòa tan 57,0 mg đến 63,0 mg kali dicromat đã được sấy ở 130 °C đến khối lượng không đổi trong một lượng *dung dịch acid sulfuric 0,005 M* để tạo thành vừa đủ 100 ml dung dịch.

Bảng 4.1

Độ dài sóng (nm)	A (1 %, 1 cm)	Giới hạn cho phép
235	124,5	122,9 - 126,2
257	144,5	142,8 - 146,2
313	48,6	47,0 - 50,3
350	107,3	105,6 - 109,0
430	15,9	15,7 - 16,1

Giới hạn ánh sáng lạc
Ánh sáng lạc có thể được phát hiện ở độ dài sóng đã cho bằng kính lọc thích hợp, hoặc dung dịch hóa chất thích hợp, ví dụ độ hấp thụ của *dung dịch kali clorid 1,2 % (TT)* trong một cốc đo có quang trình dài 1 cm phải tăng rõ rệt giữa bước sóng 220 nm và bước sóng 200 nm và phải lớn hơn 2,0 ở độ dài sóng 198 nm khi so sánh với *nước cất*.

Độ phân giải (cho phân tích định tính)
Khi có quy định trong chuyên luận, tiến hành kiểm tra độ phân giải của máy như sau: Ghi phổ của *dung dịch toluen 0,02 % (tt/tt)* trong *hexan (TT)*. Giá trị tối thiểu của tỷ số giữa độ hấp thụ ở cực đại 269 nm và độ hấp thụ ở cực tiểu 266 nm được quy định trong chuyên luận riêng.

Độ rộng khe phổ (cho phân tích định lượng)
Để tránh sai số gây ra bởi độ rộng khe phổ, khi sử dụng một máy có độ rộng khe phổ thay đổi ở độ dài sóng đã chọn thì độ rộng khe phổ phải nhỏ so với nửa độ rộng của băng hấp thụ. Nhưng độ rộng này phải đủ lớn để thu được giá trị cao của cường độ ánh sáng tới I_0 và việc thu hẹp độ rộng khe phổ sau đó phải không làm cho độ hấp thụ đọc được tăng lên.

Cốc đo (cóng đo)
Dung sai về độ dài quang trình của cốc đo là ± 0,005 cm. Khi đã được nạp đầy cùng một dung môi, các cốc đo có ý định sử dụng để chứa dung dịch mẫu thử và để chứa dung dịch mẫu trắng phải có độ truyền quang như nhau. Nếu tiêu chuẩn này không được đáp ứng thì cần có sự hiệu chỉnh thích hợp.
Các cốc đo cần được làm sạch và thao tác thận trọng.

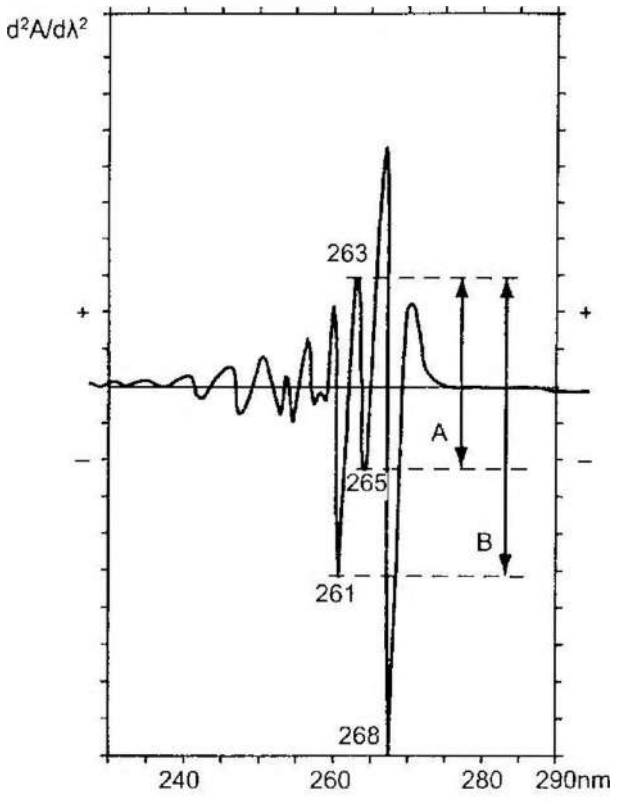
Phương pháp phổ đạo hàm
Phương pháp phổ đạo hàm là sự chuyển dạng của phổ hấp thụ sang phổ đạo hàm bậc một, bậc hai hoặc bậc cao hơn. Phổ đạo hàm bậc một là đồ thị của gradient đường cong hấp thụ (tốc độ của sự thay đổi độ hấp thụ theo độ dài sóng, $dA/d\lambda$) theo độ dài sóng. Phổ đạo hàm bậc hai là đồ thị của độ cong của phổ hấp thụ ($d^2A/d\lambda^2$) theo độ dài sóng. Nếu độ hấp thụ tuân theo định luật Lambert Beer, đạo hàm bậc hai tại bất kỳ độ dài sóng λ nào cũng liên quan tới nồng độ bởi phương trình sau:

$$\frac{d^2A}{d\lambda^2} = \frac{d^2A(1\%,1cm)}{d\lambda^2} \times c \times d$$

Trong đó:
A là độ hấp thụ ở bước sóng;
A (1 %, 1cm) là độ hấp thụ riêng ở bước sóng λ;
c là nồng độ của chất hấp thụ biểu thị dưới dạng % (kl/tt);
d là bề dày của lớp chất hấp thụ tính bằng cm.

Thiết bị
Là một máy quang phổ đáp ứng các yêu cầu về kiểm tra độ dài sóng, kiểm tra độ hấp thụ đã nói ở trên và được ghép nối thêm một modul vi phân trở - tụ cho tín hiệu tương tự, hoặc một vi phân kế kỹ thuật số, hoặc một thiết bị khác thích hợp, tạo ra được phổ đạo hàm bậc hai. Máy được sử dụng theo sự hướng dẫn của hãng sản xuất.
Một vài phương pháp tạo phổ đạo hàm bậc hai đưa đến sự trôi sóng so với vị trí của độ dài sóng ở phổ bậc không, điều này cần được tính đến khi cần thiết. Trừ khi có những chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, độ rộng khe phổ của máy phải được điều chỉnh như chỉ dẫn trong mục độ rộng khe phổ ở trên.
Các cóng đo phải đáp ứng các yêu cầu quy định trong mục Cóng đo.
Nhiệt độ của tất cả các dung dịch dùng trong phép thử không được khác nhau quá 0,5 °C.

Độ phân giải
Khi được quy định trong chuyên luận riêng, ta ghi phổ đạo hàm bậc hai của *dung dịch toluen 0,020 % (tt/tt)* trong *methanol (TT)* trong dải độ dài sóng từ 255 nm đến 275 nm, dùng *methanol (TT)* trong cóng đối chiếu. Phổ phải thấy rõ một cực trị âm nhỏ ở giữa hai cực trị âm lớn trong khoảng 261 nm và 268 nm như Hình 4.1.
Trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, tỷ lệ A/B (xem Hình 4.1) không được nhỏ hơn 0,2.



Hình 4.1

4.2 PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ HỒNG NGOẠI

Máy quang phổ

Máy quang phổ hồng ngoại dùng để ghi phổ trong vùng từ 4000 cm^{-1} đến 650 cm^{-1} (từ 2,5 µm đến 15,4 µm) hoặc trong một vài trường hợp tới 200 cm^{-1} (50 µm). Máy quang phổ chuyển dạng Fourier sử dụng bức xạ đa sắc và tính toán phổ theo dải tần số từ các dữ liệu gốc bằng chuyển dạng Fourier. Các máy quang phổ với hệ thống quang học tạo bức xạ đơn sắc trong vùng đo cũng có thể được sử dụng.

Thông thường phổ được xem là hàm số của độ truyền quang T; T là tỷ số của cường độ bức xạ truyền qua và cường độ bức xạ tới.

Độ hấp thụ ánh sáng (A) là logarit thập phân của nghịch đảo độ truyền quang.

$$A = log_{10}\left(\frac{1}{T}\right) = log_{10}\left(\frac{I_0}{I}\right)$$

Trong đó:

$T = I/I_0$;

I_0 là cường độ ánh sáng tới;

I là cường độ ánh sáng truyền qua.

Chuẩn bị mẫu

Để ghi phổ truyền quang hay phổ hấp thụ, chất thử được chuẩn bị theo một trong các phương pháp sau:

Chất lỏng

Đo phổ của một chất lỏng dưới dạng phim giữa 2 tấm phẳng trong suốt đối với bức xạ hồng ngoại hay trong cốc đo có bề dầy thích hợp và cũng trong suốt đối với bức xạ hồng ngoại.

Các chất lỏng hay chất rắn chuẩn bị dưới dạng dung dịch

Chuẩn bị dung dịch thử với dung môi thích hợp. Chọn nồng độ và bề dày của cốc đo thích hợp để có thể ghi được một phổ tốt. Nói chung, có thể thu được kết quả tốt với nồng độ từ 1,0 % đến 10 % và bề dầy của cốc đo từ 0,5 mm đến 0,1 mm.

Các chất rắn

Đo phổ của chất rắn được phân tán trong một chất lỏng (bột nhão) hay trong một chất rắn thích hợp (đĩa halid). Nếu có quy định trong chuyên luận riêng, làm một phim mỏng từ khối chất rắn nóng chảy giữa hai tấm phẳng trong suốt với bức xạ hồng ngoại.

Bột nhão

Nghiền một lượng nhỏ chất thử với một lượng tối thiểu parafin lỏng hoặc chất lỏng khác phù hợp. Dùng từ 5 mg đến 10 mg chất thử là vừa đủ để tạo một bột nhão phù hợp. Ép bột nhão giữa hai tấm phẳng trong suốt với bức xạ hồng ngoại.

Viên nén (đĩa halid)

Trừ khi có chỉ dẫn khác, nghiền 1 mg đến 2 mg chất thử với 300 mg đến 400 mg bột mịn kali bromid (IR) hoặc kali clorid (IR) đã sấy khô. Lượng này thường đủ để tạo một viên nén có đường kính 10 mm đến 15 mm và cho phổ có cường độ phù hợp. Nghiền hỗn hợp cẩn thận và rải đều nó trong một khuôn thích hợp. Nén khuôn có hỗn hợp chất thử tới áp suất khoảng 800 MPa trong điều kiện chân không. Một vài yếu tố có thể tạo nên viên nén không tốt như: Nghiền không kỹ hay nghiền quá kỹ, độ ẩm, các tạp chất trong môi trường phân tán. Viên nén không đạt yêu cầu nếu kiểm tra bằng mắt thấy viên nén không đồng nhất và không trong suốt hay độ truyền quang ở khoảng 2000 cm^{-1} (5 µm) nhỏ hơn 60 % khi không có băng hấp thụ đặc hiệu ở vùng này và không có bù trừ bên tia đối chiếu, trừ khi có chỉ dẫn khác.

Các chất khí

Ghi phổ các khí trong cốc đo trong suốt với bức xạ hồng ngoại và có quang trình 50 mm đến 100 mm. Đối với các chất khí có hệ số hấp thụ hồng ngoại nhỏ hoặc có ở dạng vết, ta dùng các cốc đo có hệ thống gương, tạo nên sự phản xạ bên trong cốc nhiều lần và do đó có thể đạt quang trình 1 m hoặc thậm chí đến 10 m hoặc hơn nữa.

Tạo chân không trong cốc đo và nạp đầy khí đến áp suất yêu cầu nhờ một nút xoay hoặc một van kim với đường chuyển khí thích hợp nối cốc đo với bình chứa khí cần khảo sát. Nếu cần điều chỉnh áp lực trong cốc đo đến áp suất khí quyển, dùng một khí trong suốt với bức xạ hồng ngoại, ví dụ khí nitrogen hay argon. Để tránh ảnh hưởng sự hấp thụ của hơi nước, carbon dioxyd hoặc những khí khác có mặt trong bầu khí quyển, đặt một cốc đo tương tự như cốc đo đựng khí cần khảo sát bên tia đối chiếu. Cốc đo này đã được hút chân không hoặc được nạp khí trong suốt với bức xạ hồng ngoại.

Ghi phổ bằng phản xạ toàn phần suy giảm

Đặt mẫu thử tiếp xúc trực tiếp với lăng kính phản xạ toàn phần suy giảm.

Ghi phổ bằng phản xạ nhiều lần

Khi có chỉ định trong chuyên luận riêng, chuẩn bị chất thử theo các phương pháp sau:

Dung dịch

Hòa tan chất thử trong dung môi thích hợp theo những điều kiện đã được quy định trong chuyên luận riêng. Làm bay hơi dung dịch trên tấm thali bromo-iodid hoặc tấm phẳng khác phù hợp.

Chất rắn

Đặt chất thử trên tấm thali bromo-iodid hoặc trên tấm phẳng khác phù hợp sao cho có sự tiếp xúc đồng đều.

Định tính

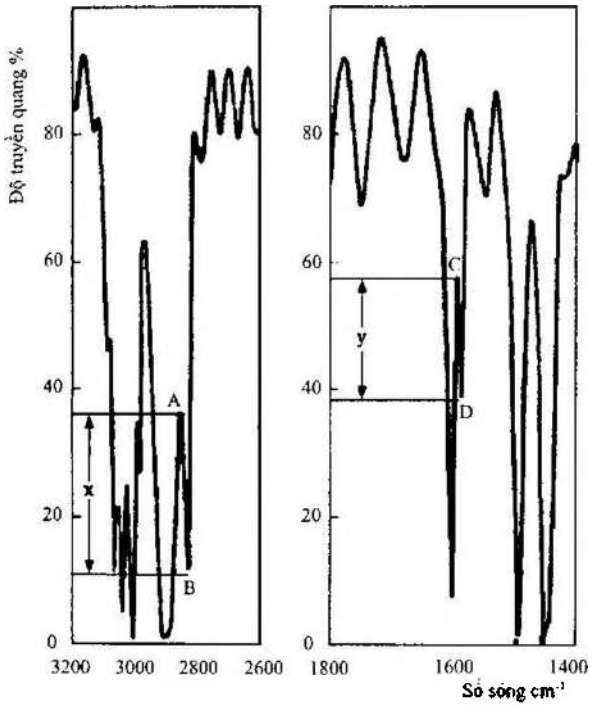
Định tính bằng các chất đối chiếu hóa học

Chuẩn bị chất thử và chất đối chiếu theo cùng một quy trình và ghi phổ từ 4000 cm^{-1} đến 650 cm^{-1} (2,5 µm đến 15,4 µm) trong những điều kiện như nhau. Cực tiểu độ truyền qua (cực đại hấp thụ) trong phổ của chất thử và chất đối chiếu phải tương ứng về vị trí và cường độ. Khi phổ của chất thử và của chất đối chiếu ở dạng rắn có sự khác nhau về vị trí của cực tiểu độ truyền qua (cực đại hấp thụ), phải xử lý chất thử và chất đối chiếu theo cùng một cách sao cho chúng kết tinh hay tạo thành cùng dạng, hay tiến hành như mô tả trong chuyên luận riêng rồi mới ghi phổ.

Định tính bằng phổ đối chiếu

Kiểm tra độ phân giải của máy

Ghi phổ của phim polystyren có bề dày 35 µm. Hiệu số x (Hình 4.2) giữa phần trăm truyền quang tại cực đại truyền qua A ở 2870 cm^{-1} (3,48 µm) và tại cực tiểu truyền qua B ở 2851 cm^{-1} (3,51 µm) phải lớn hơn 18. Hiệu số y giữa phần trăm truyền quang ở cực đại truyền qua C tại 1589 cm^{-1} (6,29 µm) và ở cực tiểu độ truyền qua D tại 1583 cm^{-1} (6,32 µm) phải lớn hơn 10.



Hình 4.2 - Phổ của polystyren dùng để kiểm tra độ phân giải

Kiểm tra thang số sóng

Có thể kiểm tra thang số sóng bằng cách dùng phim polystyren. Phim này có các cực tiểu truyền qua (cực đại hấp thụ) ở các số sóng (tính bằng cm^{-1}) như Bảng 4.2.

Bảng 4.2 - Cực tiểu độ truyền qua của phim polystyren và các giới hạn cho phép

Cực tiểu độ truyền qua (cm^{-1})	Giới hạn cho phép (cm^{-1})
3060,0	± 1,5
2849,5	± 2,0
1942,9	± 1,5
1601,2	± 1,0
1583,0	± 1,0
1154,5	± 1,0
1028,3	± 1,0

Phương pháp

Chuẩn bị chất thử theo chỉ dẫn đi kèm với phổ đối chiếu. Tiến hành trong điều kiện giống như khi kiểm tra độ phân giải, ghi phổ của chất thử và chồng phổ lên các băng của polystyren ở 2849,5 cm^{-1} (3,51 µm), 1601,2 cm^{-1} (6,25 µm) và 1028,3 cm^{-1} (9,72 µm). So sánh phổ chất thử với phổ đối chiếu và với các băng của polystyren như chỉ dẫn trên. Dùng các vị trí của băng polystyren để làm chuẩn, vị trí của các băng có giá trị trong phổ của chất thử và phổ đối chiếu phải tương ứng trong khoảng 0,5 % thang số sóng. Cường độ tương đối của các băng phải phù hợp giữa 2 phổ.

Phương pháp quang phổ cận hồng ngoại

Phương pháp quang phổ cận hồng ngoại là kỹ thuật đặc biệt hữu ích để định tính các chất hữu cơ. Mặc dù các phổ chỉ giới hạn trong các cộng hưởng của C - H, N - H, O - H và S - H, thường chúng cho các thông tin có giá trị. Tuy vậy, các phổ phụ thuộc vào một số thông số như kích thước hạt, tính đa hình, vết dung môi, độ ẩm ... mà những thông số này không thể luôn được kiểm soát. Vì lý do này, không thể so sánh trực tiếp phổ của chất thử với phổ đối chiếu mà cần xử lý dữ liệu bằng phương pháp toán học đã được thẩm định.

4.3 PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ HUỲNH QUANG

Phương pháp quang phổ huỳnh quang là phương pháp phân tích dựa trên phép đo cường độ huỳnh quang phát ra từ một chất hóa học khi nó được kích thích do hấp thụ bức xạ từ ngoại, khả kiến hoặc các bức xạ điện từ khác. Trong phương pháp này, cường độ huỳnh quang của chất thử được so sánh với cường độ huỳnh quang của chất chuẩn đo trong cùng điều kiện.

Máy

Vận hành máy quang phổ huỳnh quang theo chỉ dẫn của hãng sản xuất máy.

Phương pháp tiến hành

Chuẩn bị dung dịch như mô tả trong chuyên luận, chuyển dung dịch vào cốc đo của máy quang phổ huỳnh quang và chiếu vào nó bức xạ kích thích với bước sóng đơn sắc đã được ghi trong chuyên luận. Đo cường độ huỳnh quang của dung dịch ở bước sóng phát huỳnh quang được ghi trong chuyên luận.

Để định lượng, đưa vào máy cốc đựng dung môi hoặc hỗn hợp dung môi dùng để hòa tan mẫu thử và điều chỉnh máy về điểm "0". Đưa dung dịch chuẩn đã được chuẩn bị như mô tả trong chuyên luận vào máy và điều chỉnh độ nhạy của máy để kết quả đọc trên thang đo lớn hơn 50. Nếu thay đổi khe sáng khi điều chỉnh lần thứ hai thì phải đặt lại điểm 0 và cường độ huỳnh quang của chuẩn cũng phải được đo lại. Cuối cùng, đưa mẫu thử vào máy, đo cường độ huỳnh quang và tính nồng độ của dung dịch thử theo công thức sau:

$$C_x = (I_x \times C_s)/I_s$$

Trong đó:
C_s và C_x lần lượt là nồng độ của dung dịch chuẩn và dung dịch thử;
I_s và I_x lần lượt là cường độ huỳnh quang của dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Khi cường độ huỳnh quang không thật sự tỷ lệ thuận với nồng độ, việc định lượng có thể được thực hiện dựa trên đồ thị chuẩn.
Trong một số trường hợp, phép định lượng có thể được so sánh với một mẫu chuẩn đối chiếu có bản chất hóa học khác mẫu thử (Ví dụ: Thủy tinh phát huỳnh quang hoặc dung dịch một chất phát huỳnh quang khác với mẫu thử). Trong trường hợp này, nồng độ của chất thử phải được xác định bằng đồ thị chuẩn đo trong cùng điều kiện với mẫu thử.

4.4 PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ NGUYÊN TỬ PHÁT XẠ VÀ HẤP THỤ

Các phương pháp quang phổ nguyên tử phát xạ và hấp thụ được sử dụng để xác định nồng độ của các nguyên tố bằng phép đo cường độ phát xạ hoặc hấp thụ ánh sáng ở bước sóng đặc trưng bởi hơi nguyên tử của nguyên tố được hóa hơi từ chất cần phân tích, ví dụ, bằng cách đưa một dung dịch của chất phân tích vào ngọn lửa.

Phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử

Phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử là phương pháp xác định nồng độ của một nguyên tố trong một chất bằng cách đo cường độ của một trong các vạch phát xạ của hơi nguyên tử của nguyên tố được hóa hơi từ chất đó. Việc xác định nồng độ nguyên tố được tiến hành ở bước sóng tương ứng với các vạch phát xạ này.

Thiết bị

Máy quang phổ phát xạ nguyên tử bao gồm các bộ phận chủ yếu là bộ phận hóa hơi nguyên tử của các nguyên tố cần xác định (ngọn lửa, plasma, hồ quang điện v.v...), bộ đơn sắc hóa và bộ phận phát hiện. Nếu bộ phận hóa hơi là ngọn lửa, nước là dung môi được lựa chọn để pha dung dịch thử và dung dịch chuẩn. Tuy nhiên, dung môi hữu cơ cũng được sử dụng nếu đảm bảo chắc chắn rằng nó không ảnh hưởng đến độ ổn định của ngọn lửa.

Phương pháp tiến hành

Vận hành máy quang phổ phát xạ nguyên tử theo như chỉ dẫn của hãng sản xuất về cách đặt bước sóng quy định. Đưa dung dịch mẫu trắng vào bộ phận hóa hơi nguyên tử và hiệu chỉnh tín hiệu đọc được về "0". Đưa dung dịch chuẩn đặc nhất vào buồng hóa hơi nguyên tử và hiệu chỉnh độ nhạy của máy để có trị giá đọc thích hợp.
Việc định lượng được thực hiện bằng cách so sánh các dung dịch thử chưa biết nồng độ với các dung dịch chuẩn của nguyên tố cần xác định bằng phương pháp xác định trực tiếp (phương pháp 1) hoặc bằng phương pháp thêm chuẩn (phương pháp 2).
Sử dụng phương pháp 1, trừ khi có chỉ dẫn khác.
Phương pháp 1: Phương pháp xác định trực tiếp
Chuẩn bị dung dịch chất để thử (dung dịch thử) như được mô tả trong chuyên luận riêng sao cho nồng độ của nguyên tố cần xác định nằm trong khoảng nồng độ của các dung dịch chuẩn. Chuẩn bị không ít hơn ba dung dịch chuẩn của nguyên tố cần xác định có nồng độ nằm trong khoảng phụ thuộc tuyến tính giữa nồng độ và cường độ vạch phát xạ của nguyên tố cần phân tích. Bất kỳ thuốc thử nào được dùng trong việc chuẩn bị các dung dịch thử đều phải được thêm vào các dung dịch chuẩn và dung dịch mẫu trắng ở cùng nồng độ. Đưa dung dịch mẫu trắng vào máy, điều chỉnh tín hiệu đọc được về "0". Đưa lần lượt dung dịch thử và từng dung dịch chuẩn vào máy, ít nhất mỗi dung dịch làm ba lần, ghi lại kết quả đọc ổn định. Rửa máy bằng dung dịch mẫu trắng sau mỗi lần đo cho đến khi tín hiệu trở về giá trị đọc ban đầu của mẫu trắng. Từ cường độ vạch phát xạ đọc được của các dung dịch chuẩn, thiết lập đường chuẩn biểu thị sự thay đổi cường độ vạch phát xạ theo nồng độ nguyên tố cần xác định và từ đường chuẩn này xác định nồng độ nguyên tố trong dung dịch thử.
Phương pháp 2: Phương pháp thêm chuẩn
Cho vào ít nhất ba bình định mức có dung tích như nhau, các thể tích bằng nhau của dung dịch chất đem thử (dung dịch thử) được chuẩn bị như chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm vào tất cả các bình, trừ một bình, các thể tích lớn dần của dung dịch chuẩn có nồng độ đã biết của nguyên tố cần xác định sao cho nồng độ của nguyên tố này trong các bình đều nằm trong khoảng tuyến tính giữa nồng độ và cường độ phát xạ. Pha loãng các dung dịch có chứa trong bình đến vừa đủ thể tích bằng dung môi.
Đưa dung dịch mẫu trắng (dung môi) vào máy, điều chỉnh tín hiệu đọc được về "0". Đưa lần lượt từng dung dịch thử và từng dung dịch chuẩn vào máy, ít nhất mỗi dung dịch làm ba lần, ghi lại kết quả đọc ổn định. Rửa máy bằng dung dịch mẫu trắng sau mỗi lần đo cho đến khi tín hiệu trở về giá trị đọc ban đầu của mẫu trắng. Tính phương trình hồi quy của đường chuẩn bằng cách dùng phương pháp bình phương tối thiểu và từ đường thẳng này, xác định nồng độ của nguyên tố cần định lượng trong dung dịch thử. Một cách khác, vẽ đồ thị biểu diễn sự liên quan giữa giá trị đọc được và lượng thêm vào của nguyên tố cần xác định. Nối các điểm trên đồ thị và kéo dài về phía trái cho đến khi nó gặp trục nồng độ. Khoảng cách giữa điểm này và điểm giao nhau của trục tọa độ là nồng độ của nguyên tố cần xác định trong dung dịch thử.

Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử

Phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử là phương pháp xác định nồng độ của nguyên tố trong một chất bằng cách đo độ hấp thụ bức xạ bởi hơi nguyên tử tự do của nguyên tố đó được hóa hơi từ chất thử. Việc định lượng được tiến hành ở bước sóng của một trong những vạch hấp thụ của nguyên tố cần xác định.

Thiết bị

Máy quang phổ hấp thụ nguyên tử chủ yếu bao gồm nguồn bức xạ, bộ phận hóa hơi nguyên tử của nguyên tố cần xác định (ngọn lửa, lò graphit v.v...), bộ đơn sắc hóa và bộ phận phát hiện.

Phương pháp đưa các chất vào để phân tích phụ thuộc vào kỹ thuật nguyên tử hóa mẫu. Nếu nguyên tử hóa bằng ngọn lửa, các chất sẽ được hóa hơi và nước là dung môi được chọn để chuẩn bị các dung dịch chuẩn và thử, tuy nhiên các dung môi hữu cơ cũng có thể được sử dụng nếu đảm bảo chắc chắn là dung môi không ảnh hưởng đến độ ổn định của ngọn lửa. Nếu nguyên tử hóa không ngọn lửa (sử dụng lò graphit), các chất đưa vào có thể được hòa tan trong nước hoặc trong dung môi hữu cơ.

Quá trình hóa hơi nguyên tử cũng có thể được tạo ra bên ngoài máy quang phổ, ví dụ, phương pháp hóa hơi lạnh cho thủy ngân hoặc một số hydrid. Đối với thủy ngân, nguyên tử được hóa hơi bằng sự khử hóa học và hơi nguyên tử được dẫn bằng một dòng khí trơ đến một cốc đo đặt trên trục quang của máy. Các hydrid được dẫn bằng hỗn hợp khí đốt hoặc bằng khí trơ đến một cốc đo đã được đốt nóng, tại đây chúng được nguyên tử hóa.

Phương pháp tiến hành

Vận hành máy quang phổ hấp thụ nguyên tử theo các chỉ dẫn của hãng sản xuất máy về cách đặt bước sóng quy định. Đưa dung dịch mẫu trắng vào buồng hóa hơi nguyên tử và hiệu chỉnh kết quả sao cho độ hấp thụ đọc được trên máy bằng "0". Đưa dung dịch chuẩn có nồng độ lớn nhất vào máy và hiệu chỉnh độ nhạy để đạt được một phép đọc độ hấp thụ thích hợp.

Việc định lượng được thực hiện bằng cách so sánh với các dung dịch chuẩn đã biết nồng độ của nguyên tố cần xác định bằng phương pháp xác định trực tiếp (phương pháp 1) hoặc bằng phương pháp thêm chuẩn (phương pháp 2).

Sử dụng phương pháp 1 trừ khi có chỉ dẫn khác.

Phương pháp 1: Phương pháp xác định trực tiếp

Chuẩn bị dung dịch chất để thử (dung dịch thử) như được mô tả trong chuyên luận riêng sao cho nồng độ của nguyên tố cần xác định nằm trong khoảng nồng độ của các dung dịch chuẩn. Chuẩn bị không ít hơn ba dung dịch chuẩn của nguyên tố cần xác định có nồng độ nằm trong khoảng tuyến tính giữa nồng độ và độ hấp thụ của nguyên tố cần phân tích. Bất kỳ thuốc thử nào được dùng trong việc chuẩn bị các dung dịch thử đều phải được thêm vào các dung dịch chuẩn và dung dịch mẫu trắng ở cùng nồng độ. Đưa dung dịch mẫu trắng vào máy, điều chỉnh tín hiệu đọc được về "0". Đưa lần lượt dung dịch thử và từng dung dịch chuẩn vào máy, ít nhất mỗi dung dịch làm ba lần, ghi lại kết quả đọc ổn định. Rửa máy bằng dung dịch mẫu trắng sau mỗi lần đo cho đến khi tín hiệu trở về giá trị đọc ban đầu của mẫu trắng. Nếu sử dụng kỹ thuật nguyên tử hóa không ngọn lửa, lò graphit phải được đốt lại giữa các lần phân tích. Từ cường độ vạch hấp thụ đọc được của các dung dịch chuẩn, thiết lập đường chuẩn biểu thị sự thay đổi cường độ vạch hấp thụ theo nồng độ nguyên tố cần xác định và từ đường chuẩn này xác định nồng độ nguyên tố trong dung dịch thử.

Phương pháp 2: Phương pháp thêm chuẩn

Cho vào ít nhất ba bình định mức có dung tích như nhau, các thể tích bằng nhau của dung dịch chất đem thử (dung dịch thử) được chuẩn bị như chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm vào tất cả các bình, trừ một bình, các thể tích lớn dần của dung dịch chuẩn có nồng độ đã biết của nguyên tố cần xác định sao cho nồng độ của nguyên tố cần xác định trong các bình đều nằm trong khoảng tuyến tính giữa nồng độ và cường độ hấp thụ. Pha loãng các dung dịch có chứa trong bình đến vừa đủ thể tích bằng dung môi.

Đưa dung dịch mẫu trắng vào máy, điều chỉnh tín hiệu đọc được về "0". Đưa lần lượt dung dịch thử và từng dung dịch chuẩn vào máy, ít nhất mỗi dung dịch ba lần, ghi lại kết quả đọc ổn định. Rửa máy bằng dung dịch mẫu trắng sau mỗi lần đo cho đến khi tín hiệu trở về giá trị đọc ban đầu của mẫu trắng. Nếu sử dụng kỹ thuật nguyên tử hóa không ngọn lửa, lò graphit phải được đốt lại giữa các lần phân tích.

Tính phương trình hồi quy của đường chuẩn bằng cách dùng phương pháp bình phương tối thiểu và từ đường thẳng này, xác định nồng độ của nguyên tố cần định lượng trong dung dịch thử. Một cách khác, vẽ đồ thị biểu diễn sự liên quan giữa giá trị đọc được và lượng thêm vào của nguyên tố cần xác định. Nối các điểm trên đồ thị và kéo dài về phía trái cho đến khi nó gặp trục nồng độ. Khoảng cách giữa điểm này và điểm giao nhau của trục tọa độ là nồng độ của nguyên tố cần xác định trong dung dịch thử.

4.5 PHỔ KHỐI

Nguyên tắc

Chất phân tích được chuyển sang thể khí và ion hoá, tạo thành các ion dương hoặc âm. Phương pháp phổ khối dựa trên việc đo trực tiếp tỷ số m/z, là tỷ số giữa khối lượng m và điện tích z của ion chất phân tích. Tỷ số này được trình bày dưới dạng đơn vị khối lượng nguyên tử (1 a.m.u = 1/12 khối lượng của ^{12}C) hay dalton (1 Da = khối lượng nguyên tử hydro).

Trong máy phổ khối, các ion được tạo thành trong nguồn ion, được gia tốc rồi được tách trong bộ phân tích trước khi đến detector. Tất cả quá trình trên được thực hiện trong một buồng được hút chân không đến khoảng 10^{-3} đến 10^{-6} Pa.

Phổ thu được biểu diễn cường độ tương đối của các ion khác nhau phụ thuộc vào tỷ số m/z của các ion đó. Tín hiệu tương ứng với một ion là một nhóm các pic tương ứng với phân bố thống kê của các đồng vị khác nhau của ion đó. Đó là hình ảnh đồng vị của ion và trong đó pic của đồng vị có cường độ lớn nhất của một nguyên tử được gọi là pic đơn đồng vị.

Từ phổ khối ta có được những thông tin định tính (xác định khối lượng phân tử và thông tin về cấu trúc có được nhờ các mảnh thu được) hay định lượng (dùng chuẩn nội hay chuẩn ngoại) với giới hạn phát hiện trong khoảng từ picomol (10^{-12} mol) đến femtomol (10^{-15} mol).

Nạp mẫu

Cần phải đưa mẫu vào máy sao cho không ảnh hưởng nhiều đến chân không trong máy. Một phương pháp thường dùng là nạp trực tiếp mẫu lỏng; mẫu được đặt lên đầu một thanh hình trụ (trong một chén thạch anh, trên một sợi hay trên một bề mặt kim loại). Thanh này được đưa vào máy phổ khối sau khi đi qua một chốt chân không mà ở đây được duy trì một chân không đầu tiên, có áp suất trung gian giữa áp suất khí quyển và áp suất của chân không thứ hai ở trong máy.

Trong những hệ thống nạp mẫu khác, các thành phần trong hỗn hợp mẫu thử được tách trên một máy khác (như máy sắc ký) trước khi đi vào trong máy khối phổ được ghép nối với máy đó.

Sắc ký khí - khối phổ

Trong sắc ký khí - khối phổ, một đầu của cột sắc ký (mao quản hay bán mao quản) được đưa trực tiếp vào trong nguồn ion của máy khối phổ.

Sắc ký lỏng - khối phổ

Sự kết hợp sắc ký lỏng - khối phổ là kỹ thuật đặc biệt hữu ích trong việc phân tích các hợp chất phân cực, là những chất ít bay hơi hay rất dễ phân hủy bởi nhiệt, không phân tích được bằng sắc ký khí - khối phổ.

Khó khăn trong kỹ thuật sắc ký lỏng - khối phổ là làm thế nào thu được các ion ở thể khí từ pha lỏng, vì vậy cần có những giao diện đặc biệt như:

Nạp trực tiếp: Pha động từ đầu cột sắc ký đi ra, được phun sương và dung môi được bay hơi ở trước nguồn ion của máy khối phổ.

Giao diện chùm hạt: Pha động với lưu lượng tới khoảng 0,6 mL/min được phun sương và loại dung môi trong một buồng nhỏ, chỉ còn lại các hạt chất phân tích trung hòa điện đi tới nguồn ion của máy khối phổ; kỹ thuật này được dùng cho các hợp chất có độ phân cực tương đối thấp và khối lượng phân tử nhỏ hơn 1000 Da.

Giao diện băng chuyền: Pha động với lưu lượng tới khoảng 1 mL/min được đưa lên một băng chuyền; sau khi dung môi bay hơi, các chất phân tích được lần lượt đưa tới nguồn ion và được ion hóa ở đó; kỹ thuật này ít phù hợp cho các chất rất phân cực hay dễ phân hủy nhiệt.

Các kiểu ghép nối khác (phun điện, phun nhiệt, ion hóa hóa học ở áp suất khí quyển) được coi như thực chất là các kỹ thuật ion hóa và sẽ được mô tả trong phần các kiểu ion hóa.

Sắc ký chất lỏng siêu tới hạn - khối phổ

Trong kỹ thuật sắc ký chất lỏng siêu tới hạn - khối phổ, pha động (thường là carbon dioxyd siêu tới hạn) khi đi qua một van chiết nóng nằm giữa cột sắc ký và nguồn ion sẽ chuyển sang thể khí.

Điện di mao quản - khối phổ

Trong kỹ thuật điện di mao quản - khối phổ, dịch rửa giải từ cột mao quản được đưa vào nguồn ion và trong một số trường hợp một dung môi khác được thêm vào để đạt được lưu lượng cỡ vài µl/min. Kỹ thuật này có hạn chế là lượng mẫu nhỏ và cần dùng dung môi bay hơi.

Các kiểu ion hóa

Bắn phá điện tử

Mẫu thử ở trạng thái khí được ion hóa dưới tác động của một chùm electron có năng lượng lớn hơn năng lượng ion hóa của mẫu (thường là 70 eV). Bên cạnh các ion phân tử M^+, sẽ hình thành các mảnh đặc trưng cho cấu trúc của phân tử. Kỹ thuật này bị hạn chế chủ yếu vì phải hóa hơi mẫu. Vì vậy nó không phù hợp cho các chất phân cực, dễ phân hủy nhiệt hay có khối lượng phân tử lượng lớn.

Kiểu ion hóa bằng bắn phá điện tử phù hợp cho kỹ thuật ghép nối khối phổ với sắc ký khí và đôi khi với sắc ký lỏng.

Ion hóa hóa học

Trong kiểu ion hóa này, người ta dùng một thuốc thử ở thể khí như methan, amoniac, nitrogen oxyd, nitrogen dioxyd hay oxygen. Phổ khối thu được sẽ đặc trưng bởi các ion kiểu $(M + H)^+$ hay $(M - H)^-$ hay các ion cộng hợp giữa chất phân tích và khí thuốc thử. Các mảnh hình thành ít hơn so với kiểu bắn phá điện tử. Một biến thể khác của kỹ thuật này được dùng khi chất phân tích dễ bị phân hủy nhiệt; trong trường hợp này, mẫu được đưa lên một sợi dây và bay hơi rất nhanh do hiệu ứng nhiệt Joule-Thomson (ion hóa hóa học giải hấp).

Ion hóa bằng bắn phá nguyên tử nhanh (FAB) hay ion nhanh (khối phổ ion thứ cấp lỏng - LSIMS)

Trong kỹ thuật này, mẫu thử được hòa tan trong một chất nền nhớt như glycerin, rồi cho lên một bề mặt kim loại và được bắn phá bởi một chùm nguyên tử trung hòa như argon hay xenon, hoặc bằng các ion cesi động năng cao.

Kết quả là sẽ xuất hiện các ion kiểu $(M+H)^+$ hay $(M-H)^-$ hay các ion cộng hợp hình thành từ chất nền hay mẫu thử. Kiểu ion hóa này rất thích hợp cho các chất phân cực hay dễ phân hủy nhiệt, cho các chất có phân tử lượng tới 10 000 Da. Kỹ thuật này có thể dùng kết hợp với sắc ký lỏng trong đó pha động được cho thêm 1 % đến 2 % glycerin; tuy vậy lưu lượng pha động phải rất thấp (vài µl/min).

Ion hóa điện trường và khử hấp điện trường

Trong kỹ thuật này, mẫu thử được bay hơi gần một sợi dây wolfram có phủ các vi kim (ion hóa điện trường) hay được đặt lên sợi dây (giải hấp điện trường). Mẫu thử được ion hóa dưới tác động của một điện áp khoảng 10 kV đặt giữa sợi dây và một đối điện cực. Hai kỹ thuật này chủ yếu tạo nên các ion phân tử M^+, các ion $(M+H)^+$ và được dùng cho các chất có độ phân cực thấp và/hay dễ phân hủy nhiệt.

Ion hóa khử hấp bằng laser có nền hỗ trợ (MALDI)

Ở đây, mẫu thử trong một nền thích hợp được đặt lên một giá đỡ kim loại và được ion hóa bởi một chùm xung tia laser có bước sóng trong vùng từ tử ngoại đến hồng ngoại (các xung này rất ngắn, chỉ kéo dài trong một pico giây đến vài nano giây). Kiểu ion hóa này đóng vai trò thiết yếu

trong việc phân tích các chất có khối lượng phân tử rất cao (trên 100 000 Da) nhưng chỉ dùng cho các máy có bộ phân tích thời gian bay (xem thêm ở dưới đây).

Phun điện

Kiểu ion hóa này được thực hiện ở áp suất khí quyển. Các mẫu thử trong dung dịch được đưa vào nguồn ion qua một ống mao quản mà ở đầu ống này có một điện thế cỡ 5 kV. Có thể dùng một khí để phun sương. Lưu lượng khí có thể từ vài µL/min đến 1 mL/min. Kỹ thuật này phù hợp cho các chất phân cực và cho việc nghiên cứu các phân tử sinh học có khối lượng tới 100 000 Da. Có thể dùng trong ghép nối với sắc ký lỏng hay điện di mao quản.

Ion hóa hóa học ở áp suất khí quyển (APCI)

Ion hóa được thực hiện ở áp suất khí quyển nhờ tác động của một điện cực có điện thế nhiều kilo vôn đặt trên đường đi của pha động; pha động được phun sương bằng hiệu ứng nhiệt và một luồng khí nitrogen. Các ion hình thành có một điện tích và là ion kiểu $(M+H)^+$ trong chế độ phân cực dương và kiểu $(M-H)^-$ trong phân cực âm. Kiểu ion hóa này có thể áp dụng cho kết nối với sắc ký lỏng ở lưu lượng pha động cao đến 2 mL/min. Mẫu thử trong pha động có nước, các dung môi hữu cơ và một chất điện ly dễ bay hơi (thường là amoni acetat), sau khi đi qua một mao quản kim loại có nhiệt độ được kiểm soát, được đưa vào nguồn ion dưới dạng phun sương. Lưu lượng thích hợp là trong khoảng 1 - 2 mL/min. Các ion của chất điện ly sẽ ion hóa các chất phân tích. Quá trình ion hóa này có thể được thay thế hay tăng cường bằng sự phóng điện ở khoảng 800 vôn, đặc biệt là khi tất cả là dung môi hữu cơ. Kỹ thuật này phù hợp cho việc ghép nối khối phổ với sắc ký lỏng.

Bộ phân tích khối

Các bộ phân tích khối (hay bộ phân tích) có hiệu năng khác nhau chủ yếu do hai thông số:

– dải khối, tức là dải đo tỷ số m/z;

– độ phân giải, tức là khả năng tách hai ion có cường độ bằng nhau và có tỷ số m/z khác nhau ΔM, và phần xen phủ giữa hai pic được đo bằng chiều cao của hõm tính theo phần trăm; ví dụ, độ phân giải (M/ΔM) là 1000 với hõm 10 % cho ta biết có thể tách hai tỷ số m/z 1000 và 1001 với đáy hõm có cường độ 10 % trên đường nền.

Tuy vậy, trong một số trường hợp (bộ phân tích thời gian bay, tứ cực hay bẫy ion) độ phân giải được định nghĩa là tỷ số giữa khối lượng phân tử và chiều rộng của pic ở nửa chiều cao (ứng với hõm 50 %).

Bộ phân tích từ và phân tích tĩnh điện

Các ion tạo thành trong nguồn ion được gia tốc bởi một điện áp V, được hội tụ về bộ phân tích từ có từ trường B hay bộ phân tích tĩnh điện có điện trường tĩnh điện E, tùy theo cấu hình của máy. Các ion này đi theo một quỹ đạo bán kính r, theo định luật Laplace:

$$\frac{m}{z} = \frac{B^2 r^2}{2V}$$

Có hai kiểu quét để thu nhận và đo các ion khác nhau sinh ra trong nguồn ion: quét B với V cố định và quét V với B cố định. Bộ phân tích từ thường được tiếp nối bởi một ngăn điện có tác dụng như một bộ lọc động năng, làm tăng đáng kể độ phân giải của máy. Độ phân giải tối đa của một máy loại này (loại hai ngăn) nằm trong khoảng 10 000 đến 150 000 nhờ đó, trong hầu hết các trường hợp, cho phép tính toán đủ chính xác các tỷ số m/z để xác định được thành phần nguyên tố của các ion. Với các ion có điện tích bằng 1, dải khối là từ 2 000 Da đến 15 000 Da. Một số ion có thể phân hủy nhanh chóng vì là kết quả của sự chuyển dịch kém bền hoặc do va chạm với một khí trong những vùng vô trường giữa nguồn ion và detector [phân ly do hoạt hóa bởi va chạm (CAD)].

Xem xét những sự phân hủy này là rất có ích cho việc xác định cấu trúc cũng như đặc tính của một chất cụ thể trong hỗn hợp, việc xem xét này cần đến kỹ thuật khối phổ tiếp nối. Có nhiều kỹ thuật như vậy có thể áp dụng, tùy theo sự phân hủy xảy ra ở vùng nào:

– kiểu ion con (xác định các ion phân hủy của ion mẹ): B/E = hằng số, gọi là MIKES (Mass-analysed Ion Kinetic Energy Spectroscopy - Phổ động năng ion phân tích khối);

– kiểu ion mẹ (xác định tất cả các ion mà khi phân hủy cho một ion có tỷ số m/z xác định): B^2/E = hằng số;

– kiểu mất mảnh trung hòa (kiểu mảnh mất, neutral-loss mode, phát hiện tất cả các ion cùng mất một mảnh): $B/E(1-E/E_0)^{1/2}$ = hằng số, trong đó E_0 là điện áp nền của ngăn điện.

Bộ phân tích tứ cực

Bộ phân tích này gồm có bốn thanh kim loại song song hình trụ hay có tiết diện hình hyperbol. Chúng được đặt đối xứng hai bên đường đi của các ion; các cặp đối diện với nhau qua trục đối xứng của các thanh điện cực thì được nối điện với nhau. Điện thế của hai cặp thanh điện cực là đối nhau. Điện thế này là tổ hợp của một thành phần một chiều và một thành phần xoay chiều.

Các ion hình thành trong nguồn ion được truyền đi và tách bằng cách thay đổi thế đặt trên các điện cực sao cho tỷ số giữa thế một chiều và thế xoay chiều là hằng số. Bộ tứ cực thường có dải khối từ 1 a.m.u. đến 2 000 a.m.u., một số có thể tới 4 000 a.m.u.. Mặc dù các bộ tứ cực có độ phân giải thấp hơn các bộ phân tích từ, nhưng chúng cho ta hình ảnh đơn đồng vị của các ion một điện tích trên toàn dải phổ. Có loại dùng bộ phân tích gồm ba tứ cực xếp nối tiếp nhau Q_1, Q_2, Q_3 (gọi là bộ ba tứ cực hay tứ cực chập ba) để ghi phổ. Tứ cực Q_2 là ngăn để cho các ion va chạm, tạo ra các ion mảnh nhỏ hơn, như vậy thực ra Q_2 không có vai trò phân tích; khí dùng cho va chạm thường là khí argon.

Các kiểu quét thông dụng nhất là:

– kiểu ion con: Q_1 tách lấy ion có m/z, ion này được đưa vào Q_2 và được phân mảnh do va chạm, các mảnh tạo thành được phân tích trong Q_3;

– kiểu ion mẹ: Q_1 quét một dải khối xác định, Q_3 chỉ lọc lấy một ion có m/z nhất định. Như vậy chỉ những ion nào phân hủy sinh ra mảnh ion chọn bởi Q_3 là được phát hiện;

- kiểu mảnh mất: Q_1 và Q_3 quét một dải khối nào đó trong khoảng tương ứng với các ion mất một mảnh đặc trưng cho một chất hay một nhóm chất.

Cũng có thể ghi phổ khối dùng phối hợp bộ tứ cực với bộ phân tích từ hay tĩnh điện; đó là các máy khối phổ lai.

Bộ phân tích bẫy ion

Bộ phân tích này về nguyên tắc cũng giống như bộ tứ cực, nhưng sử dụng điện trường ba chiều. Bộ phân tích kiểu này cho phép thu được phổ các ion hình thành qua nhiều thế hệ (MS^n) hay gọi là phổ MS nhiều lần.

Bộ phân tích cộng hưởng cyclotron ion

Ở đây, các ion hình thành trong một ngăn và được đưa vào một từ trường đều, mạnh, chuyển động trên quỹ đạo tròn với tần số có thể tỷ lệ thuận với tỷ số m/z của chúng nhờ áp dụng thuật toán chuyển hóa Fourrier.

Hiện tượng này được gọi là cộng hưởng cyclotron ion. Các bộ phân tích kiểu này gồm có những nam châm siêu dẫn và có độ phân giải cao (tới 1 000 000 và hơn nữa) cũng như cho ta phổ MS^n, nhưng đòi hỏi phải có chân không cao tức là áp suất rất thấp (cỡ 10^{-7} Pa).

Bộ phân tích thời gian bay

Ở đây, các ion hình thành trong nguồn ion được gia tốc ở điện áp 10 kV đến 20 kV. Chúng đi qua một bộ phân tích gồm ống vô trường thường được gọi là ống bay, dài khoảng 25 cm đến 1,5 m. Thời gian t cần cho một ion đi đến detector tỷ lệ thuận với căn bậc hai của tỷ số m/z. Về lý thuyết, dải khối của bộ phân tích này là vô hạn; nhưng trên thực tế nó bị hạn chế bởi sự ion hóa hay phương pháp khử hấp. Bộ phân tích thời gian bay chủ yếu dùng cho các chất có khối lượng phân tử cao (đến vài trăm ngàn dalton). Kỹ thuật này rất nhạy (đến vài picomol). Độ chính xác của phép đo và độ phân giải có thể được cải thiện nếu dùng gương tĩnh điện (reflectron).

Thu nhận tín hiệu

Chủ yếu có ba kiểu thu tín hiệu.

Kiểu toàn phổ

Toàn bộ tín hiệu thu được trên một dải khối được ghi lại. Phổ trình bày sự phụ thuộc của cường độ tương đối của các ion khác nhau vào tỷ số m/z của các ion đó. Kết quả thu được chủ yếu có ý nghĩa định tính. Việc sử dụng thư viện phổ đối chiếu cho phép ta định tính nhanh chóng.

Kiểu đo mảnh (theo dõi ion chọn lọc)

Tín hiệu thu được là của một ion (theo dõi một ion, SIM) hay nhiều ion (theo dõi nhiều ion, MIM) đặc trưng cho chất được phân tích. Giới hạn phát hiện có thể được thu nhỏ đáng kể trong kiểu thu tín hiệu này. Có thể tiến hành các phép thử định lượng hay bán định lượng nhờ dùng các chất chuẩn ngoại hay chuẩn nội (ví dụ, dùng chuẩn deuteri hóa). Không thể tiến hành các phép thử này với các bộ phân tích thời gian bay.

Kiểu đo mảnh phổ khối hai lần (theo dõi nhiều phản ứng, MRM)

Kiểu đo này cho phép theo dõi chọn lọc sự phân hủy đơn phân tử hay đôi phân tử của một tiền ion đã chọn, đặc trưng cho chất phân tích. Độ chọn lọc và tính đặc hiệu của kiểu thu tín hiệu này cho phép đạt đến độ nhạy rất cao, làm cho kiểu đo này trở thành một phép đo thích hợp nhất trong các nghiên cứu định lượng nếu dùng chất chuẩn nội thích hợp (như chuẩn deuteri hóa). Kiểu phân tích này có thể thực hiện trên máy có ba tứ cực ghép nối tiếp, các bộ phân tích bẫy ion hay cộng hưởng cyclotron.

Hiệu chuẩn

Việc hiệu chuẩn cho phép ta gán một giá trị m/z tương ứng với một tín hiệu thu được. Trên nguyên tắc, việc hiệu chuẩn được thực hiện nhờ sử dụng một chất đối chiếu. Nếu dùng chuẩn ngoại, phổ chất đối chiếu được ghi riêng; nếu dùng chuẩn nội thì chất đối chiếu được trộn với chất đem thử. Số ion hay số điểm chuẩn cần thiết (để việc hiệu chuẩn đáng tin cậy) phụ thuộc vào kiểu bộ phân tích và độ chính xác mong muốn, ví dụ như khi dùng bộ phân tích từ thì càng làm nhiều điểm càng tốt vì ở đây tỷ số m/z biến đổi theo hàm số mũ với giá trị từ trường.

Phát hiện tín hiệu và xử lý dữ liệu

Các ion sau khi được tách trong bộ phân tích, được chuyển thành tín hiệu điện trong một hệ thống phát hiện như một nhân quang hay một nhân electron. Các tín hiệu được khuếch đại trước khi được chuyển lại thành tín hiệu số để xử lý dữ liệu cho phép hiệu chuẩn, dựng thành phổ, tự động định lượng, lưu trữ, đưa vào thư viện phổ hay sử dụng thư viện phổ. Máy tính được dùng để kiểm soát các thông số vật lý điều hành hoạt động của cả hệ thống máy.

4.6 PHỔ KHỐI - PLASMA CẢM ỨNG (ICP-MS)

Phổ khối-plasma kết hợp cảm ứng, gọi tắt là Phổ khối-plasma cảm ứng (ICP-MS) là một phương pháp phổ khối với nguồn ion hóa là plasma kết hợp cảm ứng (inductively-coupled plasma-ICP).

Nguyên lý cơ bản của sự hình thành ICP được mô tả dưới đây:

Plasma cảm ứng ICP là một nguồn khí trơ (thường là khí argon) được ion hóa cao độ, có số ion và số electron bằng nhau và được duy trì bằng một trường điện từ tần số radio (RF). Khi mẫu thử tiếp xúc với ICP, nhiệt độ cao của plasma sẽ khử dung môi, hóa hơi, kích thích và ion hóa các nguyên tử trong mẫu. Giới hạn phát hiện của phương pháp ICP-MS đạt tới cỡ nanogam/lít. Plasma được hình thành khi một dòng khí mang chạy qua "ngọn đèn" hay "torch" gồm 3 ống đồng tâm bằng thạch anh. Một cuộn dây kim loại cuốn quanh đầu trên của đèn và được nối với một nguồn phát tần số radio. Cuộn dây này được cấp một công suất thường là 700 - 1500 W, tạo nên một từ trường cảm ứng dao động ứng với tần số của nguồn tần số

radio, thường là 27 MHz, 40 MHz. Plasma hình thành khi khí mang được kích thích bởi một một nguồn phóng điện, sinh ra các ion và electron mầm. Trong từ trường cảm ứng, các phần tử tích điện (ion và electron) bị ép chạy qua con đường hình vành khuyên khép kín. Do cản trở dòng chảy của chúng, quá trình sinh nhiệt xảy ra và tạo thêm ion.

Quá trình hình thành plasma xảy ra hầu như tức thời và plasma đạt được toàn bộ cường độ và kích thước. Sự dao động với tần số radio của công suất đặt trên cuộn dây tạo ra điện trường và từ trường tần số tại khu vực phía trên phần đầu của đèn. Khi tia lửa điện (được tạo ra bởi ống Tesla hay một thiết bị kích thích khác) tác động lên luồng khí mang đi qua đèn, thì một số electron bị bứt khỏi các nguyên tử khí mang. Các electron này bắt gặp từ trường cảm ứng và tăng tốc. Sự tăng năng lượng cho các electron nhờ cuộn dây điện này được gọi là sự kết hợp cảm ứng (inductive coupling). Các electron năng lượng cao này lại va đập với các nguyên tử khí mang khác làm bật ra thêm nhiều electron hơn nữa. Sự ion hóa (do va đập) của khí mang tiếp tục xảy ra theo một phản ứng dây chuyền, làm cho khí mang biến thành một thực thể plasma bao gồm các nguyên tử, các electron, và các ion khí mang. Plasma được duy trì trong phạm vi đèn và cuộn dây nhờ năng lượng có tần số radio được liên tục truyền cho plasma qua quá trình kết hợp cảm ứng. ICP được thấy như một plasma hình lông chim mạnh mẽ và sáng chói. Phần đáy của plasma có hình vòng xuyến, được gọi là vùng cảm ứng, là vùng ở đó có quá trình truyền năng lượng cảm ứng từ cuộn dây cho plasma. Mẫu thử được đưa qua vùng cảm ứng này vào trung tâm của plasma.

Trong ICP-MS, plasma sẽ ion hóa các nguyên tố có trong mẫu. Các ion này được đưa vào máy phổ khối và được tách theo tỷ số khối/điện tích (m/z). Hầu hết các máy phổ khối có một hệ tứ cực hoặc một nam châm. Các ion đi từ plasma qua bộ phận giao diện [gồm một côn lấy mẫu (sampler cone) và một côn gạn lọc (skimmer cone)] tới bộ quang học ion. Bộ quang học ion này gồm có một thấu kính tĩnh điện, thấu kính này đưa các ion từ một vùng có áp suất khí quyển sang bộ phận lọc khối có chân không được duy trì ở mức bằng 10^{-8} Pa hoặc nhỏ hơn, nhờ một bơm turbo phân tử. Sau khi được lọc, các ion có tỷ số khối/điện tích được chọn đi tới detector (là một nhân quang, một cốc Faraday hay các dynod), tại đây các dòng ion được chuyển thành tín hiệu điện. Nguyên tố được định lượng dựa trên số ion đi tới detector và tạo ra các xung điện trong một đơn vị thời gian.

Trong máy phổ ICP-MS còn có một hệ thống nạp mẫu và bộ xử lý dữ liệu như trong máy phổ ICP-AES.

Thiết bị

Một máy ICP-MS bao gồm các thành phần chủ yếu sau:

Bộ nạp mẫu gồm một bơm nhu động để bơm dung dịch đến bộ phận phun sương với tốc độ dòng không đổi;

Bộ sinh tần số radio;

Bộ đèn plasma (plasma torch);

Giao diện có hai côn để chuyển các ion đến bộ quang học ion;

Máy phổ khối;

Detector;

Bộ thu nhận dữ liệu.

Yếu tố ảnh hưởng

Vấn đề chính là nhiễu khối lượng, đặc biệt là trong khoảng giữa của dải khối (ví dụ 40 - 80 đơn vị a.m.u), các phân tử có cùng khối lượng che phủ đáng kể tín hiệu khối của ion phân tích. Tổ hợp các ion nguyên tử cũng dẫn đến các nhiễu đa nguyên tử hay nhiễu phân tử (như ảnh hưởng của $^{40}Ar^{16}O$ lên ^{56}Fe hay của $^{40}Ar^{40}Ar$ lên ^{80}Se). Nền mẫu cũng có thể ảnh hưởng lên một số chất phân tích. Một số nền mẫu có tác động lên sự hình thành giọt sương hay lên nhiệt độ ion hóa trong plasma. Những hiện tượng này có thể làm mất các tín hiệu của chất phân tích. Có thể tránh ảnh hưởng vật lý bằng cách sử dụng phương pháp chuẩn nội hay thêm chuẩn. Nguyên tố dùng làm chuẩn nội tùy thuộc vào nguyên tố cần đo: ví dụ có thể dùng ^{59}Co và ^{115}In làm chuẩn nội.

Đặc tính hàng đầu của một thiết bị ICP-MS là độ phân giải, tức là hiệu lực tách hai khối gần nhau. Về mặt này, các máy dùng tứ cực kém hơn các máy dùng nam châm.

Tiến hành

Chuẩn bị mẫu và nạp mẫu

Việc chuẩn bị mẫu thường có bước phá hủy nền mẫu bằng một phương pháp phù hợp như dùng lò vi sóng. Ngoài ra cần đảm bảo nồng độ chất phân tích nằm trong khoảng làm việc của máy (bằng cách pha loãng hay làm đậm đặc dung dịch mẫu) và đảm bảo dung dịch mẫu có thể được phun sương ổn định.

Nhiều hệ thống nạp mẫu cho phép sử dụng các acid đậm đặc, nhưng acid sulfuric và acid phosphoric có thể ảnh hưởng đến đường nền. Vì thế nên dùng acid nitric và acid hydrocloric.

Nếu có bộ nạp mẫu và đèn plasma làm bằng vật liệu chịu acid hydrofluoric (như polymer perfluoroalkoxy) thì có thể dùng acid hydrofluoric. Khi lựa chọn phương pháp nạp mẫu, cần tính đến yêu cầu về độ nhạy, độ ổn định, tốc độ, cỡ mẫu, khả năng chống ăn mòn và chống bị tắc. Một bộ phun sương phun ngang kết hợp với một buồng phun và đèn plasma có thể đáp ứng với hầu hết các yêu cầu. Dung dịch mẫu thường được bơm bằng bơm nhu động với tốc độ khoảng 20 - 1000 µl/min.

Khi có sử dụng dung môi hữu cơ thì khi đưa oxygen vào phải tránh lớp dung môi hữu cơ.

Chọn điều kiện làm việc

Cần tuân theo các điều kiện thao tác chuẩn do nhà sản xuất thiết bị đưa ra. Thông thường, có các nhóm điều kiện thao tác khác nhau cho các dung dịch trong nước và dung dịch trong dung môi hữu cơ. Cần lựa chọn đúng các thông số làm việc:

Lựa chọn các côn bằng vật liệu thích hợp (côn lấy mẫu và côn gạn lọc);

Lựa chọn tốc độ dòng khí mang (các ống ngoài, giữa và trong của đèn);

Lựa chọn công suất của dòng tần số radio (RF);
Lựa chọn tốc độ bơm;
Lựa chọn một hay nhiều đồng vị của nguyên tố cần đo.

Lựa chọn đồng vị
Có nhiều tiêu chí để lựa chọn chất đồng vị. Để đạt được độ nhạy tối đa, chọn đồng vị có mật độ cao nhất. Ngoài ra, nên chọn một đồng vị ít chịu ảnh hưởng bởi các phần tử khác trong nền mẫu và của khí mang. Trong phần mềm của nhà sản xuất thiết bị ICP-MS thường có sẵn thông tin về ảnh hưởng của các phần tử có cùng khối lượng và các ion đa nguyên tử thuộc nhiều loại khác nhau như các hydrid, các oxyd, các clorid, v.v.

Kiểm tra hiệu năng của máy

Tính phù hợp của hệ thống
Trước khi chạy mẫu, phải chỉnh máy để có thể theo dõi và điều chỉnh các phép đo. Kiểm tra độ đúng của khối, dùng một dung dịch chứa nhiều đồng vị phủ kín thang khối, ví dụ dung dịch có chứa ^{9}Be, ^{59}Co, ^{89}Y, ^{115}In, ^{140}Ce và ^{209}Bi.
Ghi lại độ nhạy, độ ổn định ngắn hạn và dài hạn. Tối ưu hóa các thông số máy (điều kiện plasma, các thấu kính ion, thông số tứ cực) để thu được số lần đếm cao nhất có thể.
Chỉnh độ phân giải và trục khối (sử dụng một dung dịch Li, Y và Tl) để đạt được một đáp ứng chấp nhận được trên một dải khối rộng.
Phải đánh giá hiệu lực phân hủy các oxyd của plasma để giảm thiểu ảnh hưởng của oxyd. Tỷ số Ce/CeO và/hay Ba/BaO là một chỉ thị tốt và chỉ số này cần nhỏ hơn khoảng 3 %.
Giảm thiểu sự hình thành các ion hai điện tích với Ba và Ce. Tỷ số tín hiệu của các ion hai điện tích trên nguyên tố phân tích phải nhỏ hơn 2 %.
Kiểm tra độ ổn định dài hạn bằng cách chạy một dung dịch chuẩn trước và sau khi chạy một chuỗi dung dịch mẫu và kiểm tra xem muối đọng trên các côn có làm giảm tín hiệu đo trong quá trình chạy hay không.

Thẩm định phương pháp
Các phương pháp được mô tả trong các chuyên luận phải có hiệu năng đạt yêu cầu trong các kiểm tra định kỳ với khoảng cách thời gian thích hợp.

Độ tuyến tính
Chuẩn bị và chạy ít nhất 4 dung dịch chuẩn nằm trong khoảng hiệu chuẩn và một mẫu trắng. Với mỗi dung dịch làm lặp lại ít nhất 5 lần.
Đường chuẩn được tính toán bằng phương pháp hồi quy bình phương tối thiểu, dựa trên tất cả các dữ liệu thu được. Đường hồi quy, các trị giá trung bình, các dữ liệu đo, và khoảng tin cậy phải được ghi lại. Phương pháp có giá trị sử dụng khi:
- Hệ số hồi quy đạt tối thiểu là 0,99;
- Các điểm thực nghiệm thu được tại mỗi nồng độ chuẩn phải phân bố ngẫu nhiên hai bên đường chuẩn.

Tính các trị giá trung bình và độ lệch chuẩn tương đối tại mức nồng độ chuẩn thấp nhất và cao nhất.
Nếu tỷ số giữa hai độ lệch chuẩn tính được nhỏ hơn 0,5 hay lớn hơn 2,0 thì có thể tính lại theo phương pháp hồi quy tuyến tính hữu trọng (hay hồi quy tuyến tính có trọng số - weighted linear regression) để có được đường chuẩn chính xác hơn. Áp dụng cả hai hàm hữu trọng bậc 1 và bậc 2 để biết được dùng hàm nào là thích hợp nhất.
Nếu các trị giá trung bình so với đường chuẩn cho thấy có độ lệch khỏi sự tuyến tính thì phải dùng phép hồi quy tuyến tính hai chiều.

Độ đúng
Nên kiểm tra độ đúng bằng cách sử dụng chất đối chiếu có chứng chỉ (CRM). Nếu không thể làm việc đó thì tiến hành thử độ thu hồi.

Độ thu hồi
Với phép thử định lượng, cần đạt độ thu hồi 90 % đến 110 %. Khi xác định một lượng vết nguyên tố, phải đạt độ thu hồi từ 80 % đến 120 % trị giá lý thuyết. Có thể xác định độ thu hồi trên một dung dịch đối chiếu (dung dịch trong nền mẫu) có cho thêm một lượng đã biết của chất phân tích (khoảng nồng độ có phải phù hợp với mẫu đem phân tích).

Độ lặp lại
Độ lặp lại (độ lệch chuẩn tương đối) không được lớn hơn 3 % trong các phép định lượng và 5 % trong phép thử xác định tạp chất.

Giới hạn định lượng
Kiểm tra để đảm bảo rằng giới hạn định lượng nhỏ hơn giá trị cần đo (ví dụ dùng phương pháp 10 σ).

4.7 PHỔ HUỲNH QUANG TIA X

Khi nguyên tử của một nguyên tố nhận được năng lượng của một chùm tia X chiếu vào (tia X sơ cấp), nguyên tử đó có thể mất đi một electron lớp trong của nó (ví dụ lớp K) và bị ion hóa, để lại một chỗ khuyết (trong lớp K). Trong một khoảng thời gian rất ngắn sau đó, một electron lớp ngoài (có năng lượng cao hơn) có thể rơi vào chỗ khuyết ở lớp trong và phát ra một tia X khác, đó là tia X huỳnh quang.
Phổ huỳnh quang tia X là một kỹ thuật phân tích dựa trên việc đo cường độ bức xạ huỳnh quang phát ra bởi một nguyên tố có nguyên tử số từ 11 đến 92 được kích thích bởi một bức xạ tia X sơ cấp liên tục.
Cường độ huỳnh quang của một nguyên tố không chỉ phụ thuộc vào nồng độ nguyên tố đó có trong mẫu mà còn phụ thuộc vào sự hấp thụ bức xạ tới và bức xạ huỳnh quang bởi nền mẫu.
Ở mức nồng độ vết, khi đường chuẩn tuyến tính, cường độ bức xạ huỳnh quang phát ra bởi một nguyên tố trong một nền mẫu xác định, ở một bước sóng xác định, sẽ tỷ lệ thuận với nồng độ của nguyên tố đó và tỷ lệ nghịch với hệ số hấp thụ khối (*mass absorption coefficient*) của nền mẫu tại bước sóng đó.

Tiến hành

Chuẩn bị và sử dụng thiết bị theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Các mẫu lỏng được đặt trực tiếp vào máy; mẫu rắn phải được ép thành viên trước, đôi khi mẫu rắn còn phải trộn thêm với một chất kết dính trước khi ép viên.

Để xác định được nồng độ của một nguyên tố có trong mẫu, cần đo tốc độ xung thật (net impulse rate) tạo nên bởi một hay nhiều mẫu chuẩn có hàm lượng đã biết của nguyên tố đó trong các nền mẫu xác định và tính hoặc đo hệ số hấp thụ khối của nền mẫu cần phân tích.

Hiệu chuẩn

Từ một dung dịch hay một dãy các dung dịch hiệu chuẩn của nguyên tố phân tích trong các nền mẫu khác nhau, ta có thể tính được độ dốc b_0 của đường chuẩn theo phương trình sau:

$$b_0 \frac{1}{\mu_M} = \frac{I_C^N}{C}$$

Trong đó:

μ_M là hệ số hấp thụ của nền mẫu M, đã được tính hay đo;

I_C^N là tốc độ xung thật;

C là nồng độ của nguyên tố cần định lượng trong dung dịch chuẩn.

Hệ số hấp thụ khối của nền mẫu

Nếu biết công thức phân tử của mẫu phân tích, có thể tính hệ số hấp thụ khối dựa trên thành phần nguyên tố và bảng hệ số hấp thụ khối của nguyên tố.

Nếu không biết thành phần nguyên tố, có thể đo cường độ I_U của tia X tán xạ (tán xạ Compton) và tính hệ số hấp thụ khối của nền mẫu theo μ_{MP} phương trình:

$$\frac{1}{\mu_{MP}} = a + bI_U$$

Trong đó:

μ_{MP} là hệ số hấp thụ khối của nền mẫu,

I_U là cường độ tia X tán xạ.

Xác định tốc độ xung thật của nguyên tố phân tích trong mẫu

Tính tốc độ xung thật I_{EP}^N của nguyên tố phân tích dựa trên cường độ của vạch huỳnh quang và cường độ của vạch (hay các vạch) nền do các tạp nhiễm có trong bất kỳ ống nào.

Tính hàm lượng vết của nguyên tố

Nếu nồng độ của nguyên tố nằm trong phần tuyến tính của đường chuẩn thì ta có thể tính được nồng độ C của nguyên tố đó theo công thức sau:

$$C = \frac{I_{EP}^N}{b_0 \frac{1}{\mu_{MP}}} \times f$$

Trong đó:

f là hệ số pha loãng.

4.8 PHỔ RAMAN

Phổ Raman là phổ dao động nên có liên quan đến phổ hồng ngoại (IR) và cận hồng ngoại hay hồng ngoại gần (NIR). Hiệu ứng Raman là kết quả của một sự thay đổi độ phân cực của các liên kết phân tử trong một kiểu dao động xác định và được đo dưới dạng tia tán xạ không đàn hồi.

Ta có thể thu được một phổ Raman khi kích thích mẫu phân tích lên đến một trạng thái ảo bằng một nguồn sáng đơn sắc, đặc biệt là nguồn laser. Tia tán xạ đàn hồi (không có thay đổi bước sóng) được gọi là tán xạ Rayleigh và không được quan tâm trong phổ Raman, trừ việc nó được dùng để đánh dấu bước sóng tia laser.

Tuy vậy, nếu mẫu từ trạng thái kích thích rơi về một mức năng lượng dao động khác với ban đầu thì tia tán xạ sẽ có chuyển dịch về năng lượng (có thay đổi về bước sóng). Sự chuyển dịch này trùng với hiệu năng lượng giữa các trạng thái năng lượng dao động đầu và cuối. Đây là tia "tán xạ không đàn hồi" và được gọi là tán xạ Raman. Chỉ có khoảng 1 trong số 10^6 - 10^8 các photon đi tới là cho tán xạ Raman. Vì thế, các tia laser được sử dụng trong các phổ kế Raman. Nếu photon tán xạ Raman có năng lượng thấp thì nó được gọi là tán xạ Stokes. Nếu nó có năng lượng cao thì được gọi là tán xạ đối Stokes. Trên thực tế, hầu như tất cả các phép đo có ý nghĩa về mặt phân tích đều sử dụng sự tán xạ Raman chuyển dịch Stokes.

Một phổ Raman trông rất giống như một phổ hồng ngoại tuyến tính về độ hấp thụ. Cường độ tia Raman (số photon Raman đếm được), được vẽ đối chiếu với độ chuyển dịch năng lượng. Trục hoành thường được ghi là "Chuyển dịch Raman/cm^{-1}" hay "Số sóng/cm^{-1}". Độ chuyển dịch Raman thường được biểu thị theo số sóng và bằng giá trị tuyệt đối của hiệu giữa số sóng của pic và số sóng của tia laser. Phổ Raman được biện giải theo cách như với phổ hồng ngoại giữa tương ứng. Các vị trí của các số sóng (chuyển dịch Raman) cho một kiểu dao động xác định là đúng với các số sóng của các dải tương ứng của một phổ hấp thụ hồng ngoại. Tuy nhiên, các pic mạnh trong phổ Raman lại ứng với các pic yếu trong phổ hồng ngoại, và ngược lại. Vì thế, hai kỹ thuật phổ Raman và hồng ngoại thường được cho là hai kỹ thuật bổ sung cho nhau.

Kỹ thuật phổ Raman có ưu điểm là thường cho kết quả đo đúng và nhanh mà không cần phải phá hủy mẫu và không cần chuẩn bị mẫu hoặc chỉ cần chuẩn bị tối thiểu; mẫu có thể là chất rắn, nửa rắn, lỏng và đôi khi là chất khí. Phổ Raman cung cấp thông tin về các kiểu dao động cơ bản của phân tử trong mẫu thử mà nhờ đó ta có thể hiểu thêm cả về mẫu thử lẫn quá trình chế biến. Tín hiệu chủ yếu nằm trong vùng khả kiến và cận hồng ngoại, nên có thể ghép nối có hiệu quả với sợi quang học. Điều này cũng có nghĩa là có thể thu nhận tín hiệu từ bất kỳ một môi trường nào trong suốt đối với tia laser, như thủy tinh, chất dẻo, hay các mẫu trong môi trường nước. Hơn nữa, vì trong phổ Raman thường dùng các tia khả kiến hay cận hồng ngoại để kích thích, nên các bộ phận quang học có thể làm bằng

thạch anh hoặc thủy tinh thường. Về mặt thiết bị, các hệ thống máy hiện đại dễ sử dụng và cho kết quả phân tích đáng tin cậy và nhanh, trong thời gian tính bằng giây đến phút. Tuy thế, cần chú ý là tia laser năng lượng cao, nhất là trong vùng cận hồng ngoại, rất nguy hiểm, không được nhìn vào. Các đầu dò bằng sợi quang cần được sử dụng thận trọng, và tuân thủ các qui định hiện hành về tia laser và các loại laser.

Bên cạnh phổ Raman "thường", còn có nhiều kỹ thuật Raman chuyên biệt khác như Raman cộng hưởng (RR), phổ Raman nhạy bề mặt (SERS), phổ Raman quang hoạt (ROA) và nhiều kỹ thuật khác. Các kỹ thuật này ít được dùng trong ngành dược nên sẽ không được đề cập đến ở đây.

CÁC PHÉP ĐO RAMAN ĐỊNH TÍNH VÀ ĐỊNH LƯỢNG

Có hai nhóm phép đo thường được thực hiện bằng kỹ thuật phổ Raman là định tính và định lượng.

Định tính bằng phổ Raman

Phổ Raman cho các thông tin về các nhóm chức hóa học có trong mẫu. Vì phổ Raman là đặc trưng cho một hợp chất nhất định nên phép đo Raman định tính có thể được dùng như một phép thử định tính một chất cũng như dùng để suy đoán cấu trúc phân tử của chất đó.

Định lượng bằng phổ Raman

Sử dụng một thiết bị có detector đo công suất quang (như máy quang phổ Raman chuyển dạng Fourier, FT-Raman), có thể định lượng bằng phổ Raman dựa trên mối quan hệ giữa tín hiệu S_ν tại một số sóng đã cho ν, và nồng độ chất phân tích C:

$$S_\nu = K\sigma_\nu(\nu_L - \nu_\beta)^4 P_0 C$$

Trong đó:

K là một hằng số phụ thuộc vào đường kính của chùm tia laser, hệ thu quang, thể tích mẫu và nhiệt độ;

σ_ν là mặt cắt ngang Raman của một kiểu dao động nhất định;

ν_L là số sóng của tia laser;

ν_β là số sóng của kiểu dao động;

P_0 là công suất của tia laser.

Mặt cắt ngang σ_ν đặc trưng cho bản chất của kiểu dao động nhất định đó. Thể tích mẫu được xác định bởi kích thước tiêu điểm của chùm tia laser trên mẫu, phần quang học dùng để hội tụ, và tính chất quang học của bản thân mẫu. Kích thước của điểm chiếu laser trên mẫu có thể thay đổi từ dưới 1 μm cho một vi đầu dò đến 6 mm cho một hệ mẫu diện tích lớn. Với các phổ kế Raman có thể đo số photon trên một giây (như các phổ kế Raman có bộ ghép-thay đổi (change-coupled device [CCD]-Raman spectrometers) thì dùng phương trình sau:

$$S_\nu = K\sigma_\nu\nu_L(\nu_L - \nu_\beta)^3 P_0 C$$

Từ các phương trình nêu trên, ta thấy tín hiệu của pic tỷ lệ thuận với nồng độ. Mối quan hệ tuyến tính này là cơ sở cho đa số các áp dụng định lượng của phổ Raman.

CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN VIỆC ĐỊNH LƯỢNG

Các yếu tố do mẫu

Các yếu tố thuộc về mẫu quan trọng nhất có thể gây ảnh hưởng nghiêm trọng đến việc định lượng bằng phổ Raman là sự huỳnh quang, sự làm nóng mẫu, sự hấp thụ bởi nền mẫu hay bản thân mẫu và ảnh hưởng bởi sự phân cực. Nếu nền mẫu có chất huỳnh quang thì tín hiệu đo được thường có phần đóng góp của sự huỳnh quang đó. Chỉ có thể quan sát được sự huỳnh quang nếu bước sóng của tia laser kích thích xen phủ lên một dải hấp thụ của chất huỳnh quang. Huỳnh quang có thể được quan sát thấy như là một nền rộng và dốc nằm dưới đường cong phổ Raman. Sự huỳnh quang làm cho đường nền bị chênh và làm giảm tỷ số tín hiệu trên nhiễu. Khoảng bước sóng và cường độ huỳnh quang phụ thuộc vào thành phần hóa học của vật liệu huỳnh quang. Vì huỳnh quang thường có hiệu suất mạnh hơn so với tán xạ Raman, nên chỉ một chút tạp huỳnh quang cũng có thể làm cho tín hiệu Raman suy giảm đáng kể. Có thể làm giảm ảnh hưởng của huỳnh quang bằng cách sử dụng nguồn kích thích có bước sóng dài hơn như 785 nm hoặc 1064 nm (bước sóng dài hơn thì số sóng nhỏ hơn). Tuy nhiên, nên nhớ rằng cường độ của tín hiệu Raman là tỷ lệ với $(\nu_L - \nu_\beta)^4$ vì thế ưu điểm của việc sử dụng tia laser kích thích có bước sóng dài để làm giảm thiểu huỳnh quang đã bù trừ phần nào cho sự làm yếu tín hiệu Raman của bước sóng dài. Tỷ số tín hiệu trên nhiễu lớn nhất có thể đạt được bằng cách cân bằng các yếu tố như sự loại bỏ huỳnh quang, cường độ tín hiệu và đáp ứng của detector.

Huỳnh quang ở chất rắn đôi khi có thể được làm yếu đi bằng cách phơi mẫu dưới bức xạ laser trong một khoảng thời gian trước khi đo. Sự giảm huỳnh quang này là không rõ rệt khi lượng chất huỳnh quang không phải ở dạng vết hoặc khi mẫu là chất lỏng.

Sự làm nóng mẫu bởi tia laser có thể tạo ra một số hiệu ứng khác nhau như sự nóng chảy, thay đổi trạng thái thù hình, cháy mẫu. Mẫu dễ bị nóng nhất khi điểm chiếu trên mẫu có kích thước nhỏ tức là khi dùng vi đầu dò. Nóng mẫu thường là một vấn đề đối với các vật liệu có màu, có tính hấp thụ mạnh hay các hạt rất nhỏ có khả năng truyền nhiệt thấp. Ảnh hưởng do làm nóng mẫu thường quan sát được dưới dạng sự thay đổi phổ Raman theo thời gian, hoặc khi kiểm tra mẫu bằng mắt. Để giảm thiểu sự nóng mẫu do tia laser, bên cạnh việc làm giảm luồng laser, có thể sử dụng nhiều phương pháp khác như di chuyển mẫu hay di chuyển tia laser trong khi đo hay cải thiện sự truyền nhiệt từ mẫu bằng cách nhúng vào chất lỏng.

Tín hiệu Raman có thể được hấp thụ bởi nền mẫu hoặc bản thân mẫu. Điều này xảy ra nhiều hơn với các hệ máy FT-Raman bước sóng dài. Ở đây, tín hiệu Raman có thể xen phủ với một dải hấp thụ hòa cao (overtone) trong NIR. Hiệu ứng này phụ thuộc vào bộ quang của hệ thống cũng như cách trình bày mẫu, sự khác nhau của kích thước hạt trong chất rắn. Dù sao, những hiệu ứng này là không nghiêm trọng như trong phổ NIR.

Cuối cùng, nên biết rằng bức xạ laser là phân cực và các phổ Raman của các chất kết tinh và các mẫu định hướng

khác có thể khác nhau đáng kể, phụ thuộc vào cách mẫu được định vị. Nếu máy phổ Raman có thể cho bức xạ phân cực phẳng trên mẫu thì nên dùng một bộ trộn (scrambler) phân cực trong việc phân tích mẫu hàng ngày.

Các yếu tố đo lấy mẫu

Thuật ngữ lấy mẫu ở đây có thể được hiểu là phương cách lấy thông tin từ mẫu.

Kỹ thuật phổ Raman là một kỹ thuật nền bằng không, nghĩa là khi không có mẫu thì tín hiệu tại detector bằng không. Trong phổ hấp thụ thì ngược lại, khi không có mẫu thì tín hiệu tại detector lại là cực đại (T = 100 %). Các kỹ thuật nền bằng không vốn rất nhạy, chỉ một thay đổi nhỏ về nồng độ chất trong mẫu cũng sẽ có một thay đổi cường độ tín hiệu theo tỷ lệ tương ứng. Các nguồn sáng khác (như tia lạc) cũng có thể làm thay đổi tín hiệu đo được. Ngoài ra, một tín hiệu nền lớn do huỳnh quang tạo ra sẽ làm tăng mức nhiễu. Vì thế, việc dùng tín hiệu Raman tuyệt đối để xác định trực tiếp một chất phân tích có thể sẽ rất khó khăn. Các yếu tố khác là sự thay đổi độ đục và độ không đồng nhất trong mẫu, sự thay đổi công suất laser chiếu lên mẫu và sự thay đổi vị trí của mẫu. Có thể giảm thiểu những ảnh hưởng này bằng cách lấy mẫu một cách ổn định, có tính đại diện. Thiết kế cẩn thận thiết bị cũng có thể giảm bớt nhưng không thể loại bỏ được hoàn toàn những ảnh hưởng đó.

Có nhiều cách để hạn chế sự dao động của kết quả đo thăng giáng cường độ tuyệt đối gây nên. Cách thông dụng và hiệu quả nhất là thêm chất chuẩn nội và sử dụng các pic được tách khỏi chất chuẩn đó; cũng có thể dùng một dải hình thành do một phần của phân tử như một vòng thơm mà mặt cắt ngang Raman của nó không thay đổi theo cách chuẩn bị mẫu. Với phổ của một dung dịch, có thể sử dụng một pic dung môi tách biệt vì dung môi tương đối ít thay đổi từ mẫu này sang mẫu khác. Cũng vậy, với một chế phẩm, có thể dùng pic của một tá dược nếu pic đó là đáng kể so với pic chất phân tích. Với giả thiết là những thay đổi định hướng của tia laser hay của mẫu có ảnh hưởng đồng đều lên toàn phổ, thì toàn bộ một phổ cũng có thể sử dụng như một phổ đối chiếu.

Một yếu tố quan trọng thứ hai do lấy mẫu cần được xem xét là tạp nhiễm phổ. Tán xạ Raman là một hiệu ứng yếu, có thể bị che lấp bởi một số yếu tố bên ngoài. Các nguồn tạp nhiễm thông thường là những dị biệt của giá mẫu (như bình chứa hay giá thể/cơ chất) và ánh sáng môi trường xung quanh. Những vấn đề này có thể được xác định và giải quyết qua các thực nghiệm thận trọng.

THIẾT BỊ

Các bộ phận

Tất cả các thiết bị phổ Raman hiện đại đều có quá trình đo bao gồm việc chiếu một chùm tia laser lên mẫu, thu nhận các tia tán xạ, loại bỏ các tia tán xạ Rayleigh, tách các tia Raman theo bước sóng, và cho kết quả là một phổ Raman. Để có thể thực hiện các công việc trên, tất cả các máy phổ Raman trên thị trường đều có các bộ phận chính sau đây:

- Nguồn laser kích thích
- Bộ phận lấy mẫu
- Bộ phận lọc/loại bỏ tán xạ tại bước sóng laser
- Bộ xử lý bước sóng
- Detector và mảng điện tử

Nguồn laser kích thích

Bảng 4.8 chỉ ra nhiều nguồn laser thông dụng trong ngành Dược hoặc trong phổ Raman. Các laser UV cũng được dùng cho các ứng dụng chuyên biệt khác, nhưng chúng có những điểm bất lợi cho các phép đo phân tích. Vì ngày càng có nhiều áp dụng mới của laser UV được đưa ra, có khả năng là chúng cũng sẽ được dùng trong kỹ thuật phổ Raman.

Bảng 4.8 - Các nguồn laser được ứng dụng trong ngành Dược

Laser λ, nm (số nguyên gần nhất)	Loại	Công suất tại nguồn laser	Dải bước sóng (Vùng Stokes, độ dịch chuyển 100 cm^{-1} đến 3000 cm^{-1})	Chú thích
Laser cận hồng ngoại (NIR)				
1064	Hộp trọn bộ (Nd:YAG)	Cho đến 3 W	1075 – 1563	Thường được dùng trong các máy chuyển dạng Fourier
830	Diod	Cho đến 300 mW	827 – 980	Điển hình là có giới hạn đến 2000 cm^{-1}; chuyển dịch Raman do đáp ứng phổ CCD; ít phổ biến hơn các laser khác
785	Diod	Cho đến 500 mW	791 – 1027	Nguồn laser tán sắc được sử dụng rộng rãi nhất
Laser khả kiến				
632,8	He – Ne	Cho đến 500 mW	637 – 781	Nguy cơ huỳnh quang tương đối thấp
532	Bộ đôi (Nd:YAG)	Cho đến 1 W	535 – 632,8	Nguy cơ huỳnh quang cao
514,5	Ar+	Cho đến 1 W	517 – 608	Nguy cơ huỳnh quang cao
488 – 632,8	Ar+	Cho đến 1 W	490 – 572	Nguy cơ huỳnh quang cao

Bộ phận lấy mẫu

Có nhiều thiết kế khác nhau, trong đó có giao diện quang học trực tiếp, kính hiển vi, đầu dò sợi quang (loại không tiếp xúc hoặc loại quang học nhúng) và khoang chứa mẫu (bao gồm giá đỡ mẫu chuyên dụng và bộ phận thay đổi mẫu tự động). Đầu quang học lấy mẫu cũng có thể được thiết kế để có thể thu được một phổ Raman phụ thuộc vào sự phân cực và như vậy thường có thêm thông tin. Việc lựa chọn thiết bị lấy mẫu thường tùy thuộc vào chất phân tích và mẫu. Tuy nhiên cũng cần xem xét đến những vấn đề như thể tích mẫu lấy, tốc độ đo, an toàn laser, sự đồng nhất của mẫu để chọn bộ lấy mẫu tối ưu cho một ứng dụng cụ thể.

Bộ phận lọc

Tán xạ Rayleigh tại bước sóng của tia laser có cường độ lớn hơn nhiều bậc so với tín hiệu Raman và cần phải được loại bỏ trước khi đến detector. Lọc Notch được dùng phổ biến và vừa có kích thước nhỏ, vừa cho phép loại bỏ hết tán xạ Rayleigh. Phương pháp lọc truyền thống dùng các bộ đơn sắc nhiều cấp tuy vẫn còn nhưng ít được sử dụng. Ngoài ra, tùy theo bố trí hình học để thu góp tín hiệu của máy, có thể cần dùng nhiều bộ lọc hay lá chắn để che chắn mẫu khỏi các bức xạ bên ngoài (như ánh sáng trong phòng, các vạch plasma laser).

Bộ xử lý bước sóng

Thang bước sóng có thể được mã hóa hoặc bởi một bộ đơn sắc quét, một bộ đa sắc cách tử (trong các phổ kế Raman-CCD) hay một giao thoa kế hai chùm tia (trong các phổ kế FT-Raman). Thiết bị phù hợp để sử dụng phải có thể dùng cho các phép đo định tính. Nhưng để đo định lượng, cần lựa chọn máy cẩn thận vì sự tuyến tính của độ tán sắc và của đáp ứng có thể không đồng đều trên toàn thang phổ.

Detector

Chuỗi CCD trên nền silic là detector phổ biến nhất cho các máy tán sắc. Chuỗi CCD được làm mát cho phép đo trên thang phổ với độ chuyển dịch Raman từ 4500 - 100 cm^{-1} với nhiễu thấp khi sử dụng hầu hết các nguồn laser khả kiến như Nd:YAG, 532 nm (frequency-doubled neodymium-doped yttrium-aluminum-garnet) hay heli-neon, 632,8 nm. Với diod laser 785 nm, dải sóng giảm xuống còn khoảng 3100 - 100 cm^{-1}. Với các CCD dùng phổ biến nhất, độ đáp ứng bước sóng đạt đỉnh khi dùng nguồn laser thông dụng 632,8 nm của laser khí He-Ne hay 785 nm của laser diod. Các máy FT thường sử dụng các detector một kênh germani hay indi-gali-arsenid (InGaAs) có đáp ứng trong vùng cận hồng ngoại để hợp với bước sóng kích thích 1064 nm của laser Nd:YAG.

Hiệu chuẩn

Ghi chú: Các phương pháp hiệu chuẩn thiết bị dưới đây nhằm cung cấp thông tin tham khảo.

Việc hiệu chuẩn máy Raman bao gồm ba phần: bước sóng sơ cấp (trục x), bước sóng tia laser và cường độ (trục y).

Hiệu chuẩn bước sóng sơ cấp (trục x)

Trong trường hợp các máy Raman FT, việc hiệu chuẩn bước sóng sơ cấp được thực hiện ít nhất đến mức gần đúng đầu tiên, với nguồn laser He-Ne nội tại. Hầu hết các thiết bị tán sắc đều sử dụng đèn phát xạ nguyên tử để hiệu chuẩn bước sóng sơ cấp. Với các máy phù hợp cho phép đo phân tích Raman, nhà cung cấp sẽ đưa ra một quy trình hiệu chuẩn trục x mà người sử dụng có thể thực hiện được. Với các máy tán sắc Raman, phương pháp hiệu chuẩn dựa trên nhiều vạch phát xạ nguyên tử được dùng nhiều hơn. Giá trị của cách hiệu chuẩn này có thể kiểm tra qua hiệu chuẩn bước sóng laser tiếp theo bằng cách sử dụng một chuẩn độ chuyển dịch Raman thích hợp. Với các thiết bị tán sắc quét, có thể cần hiệu chuẩn thường xuyên hơn và cần kiểm tra độ chính xác (precision) trong cả hai phương thức vận hành tĩnh tại và vận hành quét.

Hiệu chuẩn bước sóng tia laser

Bước sóng laser dao động có thể tác động lên cả độ chính xác của bước sóng lẫn độ chính xác của tín hiệu quang của máy. Ngay cả những nguồn laser ổn định nhất vẫn có thể cho các tia có bước sóng khác nhau đôi chút. Vì vậy cần khẳng định bước sóng để đảm bảo độ đúng của vị trí độ chuyển dịch Raman cho các máy Raman FT hay Raman tán sắc. Để làm được việc này, có thể dùng một vật liệu chuẩn của độ chuyển dịch Raman như mô tả trong ASTM E1840-96 (2002)[1] hay một vật liệu được kiểm tra thích hợp.

Ghi chú:

Các giá trị chuẩn đáng tin cậy của độ chuyển dịch Raman cho các thuốc thử thường dùng, dạng lỏng hay rắn cần cho việc hiệu chuẩn số sóng cho các phổ kế Raman được cung cấp trong ASTM E1840-96 (2002) đã nêu. Các giá trị này có thể được dùng cùng với các vạch phát xạ có độ đúng và độ chính xác cao của đèn hồ quang áp suất thấp, các vạch này có sẵn để dùng trong hiệu chuẩn máy Raman.

Các vật liệu tinh khiết phổ có thể mua tại các nhà cung cấp phù hợp. Một số máy có thể dùng một chuẩn Raman có sẵn bên cạnh quang trình ban đầu. Thiết bị chuẩn ngoại tái lập đúng quang trình của tia tán xạ (Khi sử dụng các chuẩn hóa học, cần chú ý tránh làm nhiễm tạp và khẳng định tính ổn định của chuẩn).

Trừ khi máy dùng là loại có hiệu chuẩn liên tục, ngay trước khi đo bước sóng laser, nên hiệu chuẩn trục bước sóng sơ cấp theo quy trình của nhà cung cấp máy. Trong hiệu chuẩn ngoại, nên đặt chuẩn độ chuyển dịch ở nơi đặt mẫu và tiến hành đo, sử dụng các thông số thu nhận tín hiệu thích hợp. Nên đánh giá trung tâm của pic trên một dải mạnh, phân giải tốt trong vùng phổ cần quan tâm. Có thể xác định vị trí pic bằng phương pháp thủ công hoặc dùng một thuật toán xác định pic đáng tin cậy. Phần mềm do người bán máy cung cấp có thể cho phép đo bước sóng laser và hiệu chỉnh bước sóng laser một cách thích hợp sao cho pic này nằm đúng vị trí. Nếu người bán máy không cung cấp phần mềm có chức năng này thì phải điều chỉnh bước sóng laser bằng tay. Tùy theo loại laser, bước sóng laser có thể thay đổi theo nhiệt độ, dòng, và thế. Dung sai bước sóng có thể thay đổi tùy theo áp dụng cụ thể.

Hiệu chuẩn cường độ (trục y)

Việc hiệu chỉnh trục đo cường độ tín hiệu có thể quyết định sự định lượng thành công, nhờ có một số phương pháp phân tích {như đo lường hóa học (chemometrics)} và chuyển phương pháp giữa các máy. Cả hai loại phổ kế Raman FT và Raman tán xạ nên được hiệu chuẩn theo các quy trình tương tự. Dung sai chấp nhận được của độ chính xác cường độ tín hiệu (photometric precision) cho một phép đo cụ thể cần được đánh giá trong giai đoạn xây dựng phương pháp. Để hiệu chuẩn đáp ứng quang của một máy Raman, nên dùng một nguồn phát xạ băng rộng. Có hai phương pháp được chấp nhận là: Phương pháp A sử dụng một đèn wolfram phát ánh sáng trắng đã được hiệu chuẩn. Nhiều nhà cung cấp máy cũng cung cấp các chuẩn hiệu chuẩn độ bức xạ được nối chuẩn đến các phòng thí nghiệm đo lường quốc gia. Phương pháp này được áp dụng cho tất cả các bước sóng laser kích thích thông thường được nêu trong Bảng 1. Phương pháp B sử dụng các vật liệu chuẩn (SRM) do các phòng thí nghiệm đo lường quốc gia cung cấp. Một số chuẩn huỳnh quang bằng thủy tinh kích thích (doped-glass) có sẵn trên thị trường.

Phương pháp A:

Nguồn được đặt vào vị trí của mẫu, với tia laser tắt và đo đáp ứng detector (sử dụng các thông số thích hợp cho máy). Đầu ra của nguồn được sử dụng để hiệu chuẩn phải được biết. Phải xác định tỷ số giữa đáp ứng đo được và đáp ứng thực và lập ra một hồ sơ hiệu chỉnh. Việc hiệu chỉnh phải được áp dụng cho tất cả các phổ thu được từ máy đó. Hầu hết các nhà cung cấp sẽ cung cấp cả nguồn hiệu chuẩn và phần mềm thích hợp. Nếu nhà sản xuất không cung cấp quy trình hay phương pháp thì người sử dụng có thể dùng một nguồn được hiệu chuẩn và một phần mềm thích hợp. Nếu dùng một phương pháp của nhà sản xuất thì cần chú ý đến tính giá trị hợp lệ của nguồn và quy trình hiệu chuẩn. Người dùng phải có được tài liệu thích hợp từ nhà sản xuất để đảm bảo là cách làm đã được thẩm định đánh giá.

Phương pháp B:

Đặt chuẩn huỳnh quang vào chỗ đặt mẫu. Với nguồn laser bật, ghi phổ của vật liệu chuẩn SRM (có các thông số thích hợp cho máy). Đầu ra của nguồn được sử dụng để hiệu chuẩn phải được biết. Phải xác định tỷ số giữa đáp ứng đo được và đáp ứng thực, và lập ra một hồ sơ hiệu chỉnh. Việc hiệu chỉnh phải được áp dụng cho tất cả các phổ thu được từ máy đó. Hầu hết các nhà cung cấp sẽ cung cấp cả nguồn hiệu chuẩn và phần mềm thích hợp. Nếu nhà sản xuất không cung cấp quy trình hay phương pháp thì người sử dụng có thể dùng một vật liệu chuẩn và một phần mềm thích hợp. Nếu dùng một phương pháp của nhà sản xuất thì cần chú ý đến tính giá trị hợp lệ của vật liệu chuẩn và quy trình hiệu chuẩn. Người dùng phải có được tài liệu thích hợp từ nhà sản xuất để đảm bảo là cách làm đã được thẩm định đánh giá.

Hiệu chuẩn ngoại

Nên sử dụng chuẩn ngoại để hiệu chuẩn đầy đủ chức năng của máy, nhằm chứng minh tính phù hợp của các máy trong phòng thí nghiệm, ngay cả khi máy có phương pháp hiệu chuẩn nội bộ. Việc sử dụng chuẩn ngoại không loại bỏ yêu cầu phải có các quy trình kiểm tra nội bộ; mà là để có tư liệu về sự phù hợp của thiết bị cho mục đích hoặc phép phân tích cụ thể. Với các thiết bị được lắp đặt tại một dây chuyền hay trong một lò phản ứng, là nơi không thể thường xuyên đặt một chuẩn ngoại và ngay cả với các máy có hiệu chuẩn nội bộ thì việc so sánh hiệu năng của phương pháp hiệu chuẩn nội và ngoại cũng phải được định kỳ kiểm tra. Mục đích của việc này là để kiểm tra những thay đổi trong các thành phần mà có thể không có được trong phương pháp hiệu chuẩn nội (thấu kính quá trình, đầu dò sợi quang, v.v.), ví dụ như việc hiệu chuẩn quang của hệ quang.

ĐÁNH GIÁ VÀ KIỂM TRA CÁC PHỔ KẾ RAMAN

Có thể đánh giá phổ kế Raman thông qua: Tính phù hợp của hệ thống, đánh giá vận hành và kiểm tra hiệu năng (xem mục Định nghĩa các thuật ngữ và ký hiệu). Mục đích của việc đánh giá tính phù hợp là để đảm bảo rằng công nghệ của thiết bị là phù hợp cho phương pháp định áp dụng. Mục đích của việc đánh giá vận hành là để đảm bảo rằng máy phù hợp cho mục đích sử dụng và qua đánh giá lại định kỳ, máy sẽ tiếp tục hoạt động tốt trong thời gian dài. Cần thường xuyên kiểm tra hiệu năng của máy khi máy được dùng cho một phép đo định tính hay định lượng cụ thể.

Vì có nhiều cách đo phổ Raman khác nhau, nên trong việc đánh giá vận hành và kiểm tra hiệu năng có thể dùng những chuẩn ngoại mà có thể dùng cho một máy bất kỳ. Như với bất kỳ một phổ kế nào, phổ kế Raman cần được đánh giá về cả độ chính xác số sóng (cho trục x và độ chuyển dịch từ nguồn kích thích) cũng như độ chính xác đo quang (trục tín hiệu y).

Trong kiểm tra hiệu năng, có thể sử dụng sự đánh giá mức độ phù hợp (quality-of-fit) với phổ quét ban đầu hay một nhóm phổ quét (thường được tập hợp trong các máy không quét). Trong một phép phân tích như thế, có thể cho rằng các phổ chuẩn thu được trên một máy mới hay máy mới được sửa chữa và được vận hành đúng cách là đại diện cho các phổ tốt nhất có thể có được. Việc so sánh các phổ thu được qua thời gian với các chuẩn tương đồng (hoặc là chuẩn gốc hay các chuẩn mới cùng loại, khi có quan ngại về độ ổn định của chuẩn) là cơ sở để đánh giá độ ổn định lâu dài của hệ đo phổ Raman.

Tần số thử nghiệm

Việc đánh giá thiết bị được tiến hành theo từng khoảng thời gian xác định hay sau khi sửa chữa, thay đổi cấu hình quang học như thay nguồn laser, thay detector hay thay các lọc. Việc đánh giá lại toàn bộ thiết bị có thể không cần thiết khi thay đổi các phụ tùng như vi đầu dò, buồng chứa mẫu, đầu dò sợi quang cố định. Trong những trường hợp này có thể chỉ cần tiến hành đánh giá hiệu năng là đủ; và nên làm theo chỉ dẫn cụ thể của nhà cung cấp về các yêu cầu đánh giá cho một loại máy xác định. Các phép thử bao gồm thử độ chính xác bước sóng (của trục x và độ chuyển dịch từ nguồn kích thích), và độ chính xác đo quang (của trục tín

hiệu y). Các phép thử đánh giá thiết bị đòi hỏi phải đạt yêu cầu về dung sai cho ứng dụng phân tích cụ thể.
Việc kiểm tra hiệu năng được thực hiện trên thiết bị được cấu hình cho các phép đo phân tích và được thực hiện thường xuyên hơn đánh giá thiết bị. Kiểm tra hiệu năng bao gồm việc đo độ không đảm bảo của bước sóng và độ chính xác của thang cường độ. Trước khi thu thập dữ liệu cho một ngày cần tiến hành các phép thử độ chính xác bước sóng và độ chính xác thang cường độ là cần thiết. Hiệu năng được kiểm tra bằng cách so các phổ thu được với các phổ thu được trong lần đánh giá thiết bị trước.

Đánh giá vận hành thiết bị (thẩm định vận hành)
Trong *đánh giá vận hành* cũng như *đánh giá hiệu năng*, điều quan trọng cần lưu ý là các tiêu chuẩn cần đạt được nên chỉ là các yêu cầu chung. Các tiêu chuẩn cụ thể cho các máy và các áp dụng cụ thể có thể thay đổi theo phương pháp phân tích được sử dụng và độ đúng mong muốn của kết quả cuối cùng. Các vật liệu chuẩn ASTM được chỉ định với quy ước là trong một số trường hợp (đặc biệt là các áp dụng trực tuyến ở xa) việc sử dụng một trong số các vật liệu chuẩn này là không thực tế và có thể dùng các vật liệu khác đã được kiểm tra thích hợp. Trong trường hợp này, điều quan trọng là cần lưu ý các thông số cụ thể như nhiễu của phổ kế, các giới hạn phát hiện (LOD), giới hạn định lượng (LOQ) và độ rộng chấp nhận được của dải phổ cho một áp dụng đã cho sẽ phải được xác định trong quá trình xây dựng phương pháp phân tích. Các giá trị cụ thể cho phép thử như độ lớn của nhiễu và độ rộng của chùm tia của phổ kế sẽ phụ thuộc vào thiết bị sử dụng và mục đích được đưa ra. Vì vậy, những phép thử thiết bị cụ thể cho các thông số nói trên sẽ không được trình bày trong chương này.

Độ đúng bước sóng (trục x)
Điều quan trọng là đảm bảo độ đúng của trục bước sóng thông qua hiệu chuẩn để duy trì tính toàn vẹn của vị trí các pic Raman. Việc hiệu chuẩn bước sóng của phổ kế Raman gồm có hai phần: Hiệu chuẩn trục bước sóng sơ cấp và hiệu chuẩn bước sóng laser. Sau khi hiệu chuẩn trục bước sóng sơ cấp và bước sóng laser có thể xác định độ không đảm bảo do bước sóng của thiết bị. Để hoàn thiện có thể sử dụng một chuẩn của độ dịch chuyển Raman, ví dụ như chuẩn ASTM hay một vật liệu đã được kiểm tra phù hợp khác. Nên chọn một chuẩn với các dải có mặt trên toàn thang phổ Raman để có thể đánh giá độ không đảm bảo bước sóng của thiết bị tại nhiều vị trí trên phổ. Dung sai của độ chính xác bước sóng cho một thiết bị nên được đánh giá trong giai đoạn xây dựng phương pháp.
Ghi chú: Với các thiết bị tán sắc quét, việc hiệu chuẩn có thể cần thực hiện thường xuyên hơn và có thể cần kiểm tra độ chính xác trong cả hai kiểu vận hành tĩnh và vận hành quét.

Độ chính xác đo quang
Độ dao động của laser, tính theo tổng photon phát ra, xảy ra giữa hai lần đo có thể gây nên sự thay đổi độ chính xác đo quang của thiết bị. Điều không may là rất khó tách được những thay đổi của đáp ứng đo quang (gắn với dao động của tổng photon phát ra) khỏi các biến động do cảm ứng bởi mẫu và lấy mẫu. Đây là một lý do vì sao không nên thực hiện các phép đo Raman tuyệt đối và vì sao những yêu cầu về độ chính xác đo quang được quy định tương đối lỏng lẻo. Nên đánh giá dung sai độ chính xác đo quang của một thiết bị ngay trong giai đoạn xây dựng phương pháp.

Đánh giá hiệu năng (thẩm định hiệu năng)
Mục tiêu của việc đánh giá hiệu năng là để đảm bảo rằng thiết bị đang hoạt động đúng trong giới hạn đã chỉ ra về độ chính xác bước sóng, độ chính xác đo quang và độ nhạy. Trong một số trường hợp, thiết bị đã được thiết kế để dùng cho một phép đo cụ thể (ví dụ, để đặt trong trong dây chuyền một lò phản ứng), thì không thể hoặc không cần đo bước sóng và tín hiệu đo quang, sử dụng các chuẩn đánh giá đã nêu. Nếu như việc đánh giá vận hành đã chứng minh rằng máy là phù hợp cho mục đích sử dụng, thì có thể dùng một chuẩn bên ngoài duy nhất để thường xuyên kiểm tra lại chức năng của máy (ví dụ, sau khi làm sạch lò phản ứng, kiểm tra tín hiệu của dung môi xử lý cả về độ chính xác bước sóng và độ chính xác đo quang). Chuẩn kiểm tra hiệu năng phải phù hợp với khuôn hình của mẫu đang phân tích càng nhiều càng tốt và phải dùng các thông số thu nhận phổ giống nhau. Các phép đo định lượng của một phổ chuẩn kiểm tra hiệu năng sẽ kiểm tra cả độ chính xác bước sóng (trục x và bước sóng laser) và độ chính xác tín hiệu đo quang. Nếu việc so sánh một chuỗi các phổ là tốt thì điều đó chứng minh rằng thiết bị đang tiếp tục hoạt động tốt.

Độ chính xác bước sóng
Độ chính xác bước sóng được xác định bằng cách thu thập dữ liệu của một phổ của một vật liệu chuẩn độ dịch chuyển Raman đã chọn, trong một khoảng thời gian bằng với thời gian dùng để thử độ ổn định đo quang. Nếu thuận tiện thì các mẫu đã nghiền bột nên được đóng gói lại (repack) giữa hai loạt đo. Vị trí các pic trên toàn bộ vùng phổ đáng quan tâm được dùng để tính độ chính xác. Hiệu năng được kiểm tra bằng cách đối chiếu vị trí các pic với vị trí thu được trong lần đánh giá thiết bị trước và không được sai khác quá ± 0,3 cm^{-1} so với độ lệch chuẩn, mặc dù tiêu chuẩn này có thể điều chỉnh theo độ đúng yêu cầu cho phép đo.

Độ chính xác đo quang
Độ chính xác đo quang phải được đo bằng cách thu thập các dữ liệu phổ của một vật liệu chuẩn kiểm tra thích hợp, trong một thời gian đã định. Sau khi hiệu chỉnh đường nền, phải dùng một thuật toán thích hợp để tính diện tích một số các dải trên vùng phổ quan tâm. Diện tích của dải mạnh nhất được cho là 1 và các dải (envelopes) khác được chuẩn hóa theo dải này. Hiệu năng được kiểm tra bằng cách so sánh diện tích các dải hiện đo được với các diện tích tương ứng đã thu được trong lần đánh giá thiết bị trước đó. Sự sai khác không được vượt quá 10 % mặc dù chỉ tiêu này có thể được điều chỉnh theo yêu cầu về độ đúng của phép đo.

Độ chính xác và độ đúng của công suất laser đầu ra

Phép thử này chỉ được áp dụng cho các thiết bị Raman có máy đo công suất laser nội tại và tự động. Thiết bị không có máy này thì phải sử dụng một máy đo công suất laser đã được hiệu chuẩn của một nhà cung cấp có uy tín. Đầu ra của laser phải được thiết lập sao cho có tính đại diện và đáp ứng được các yêu cầu của phép đo phân tích và của công suất laser được đo. Đầu ra phải được đo và kiểm tra đối chiếu với đầu ra đo được khi đánh giá thiết bị. Công suất (tính theo miliwatt hay watt) phải không sai khác quá 25 % so với mức khi đánh giá. Nếu sai khác lớn hơn thì thiết bị cần được bảo dưỡng (vì sự sai khác này có thể chỉ ra rằng, bên cạnh những điều khác, có sự lệch lạc lớn của hệ thống hoặc nảy sinh hư hỏng của nguồn laser).

Với các thiết bị có máy đo công suất laser bên trong, độ đúng của các giá trị do máy đo công suất laser bên trong cho ra phải được so sánh với một máy đo công suất bên ngoài đã hiệu chuẩn trong khoảng thời gian không quá 12 tháng. Giá trị tính được của máy bên trong phải được so với giá trị của máy bên ngoài. Hiệu năng được kiểm tra bằng cách so sánh giá trị hiện có với giá trị thu được trong lần đánh giá thiết bị trước đây. Nhà sản xuất thiết bị có thể cung cấp một phần mềm để việc phân tích này được dễ dàng. Nếu thiết kế của thiết bị không cho phép sử dụng một máy đo công suất bên ngoài thì khi đó nhà cung cấp phải đưa ra tài liệu đảm bảo chất lượng của thiết bị và cung cấp một quy trình được khuyến cáo để có thể thực hiện được việc phân tích nói trên cùng với kỳ bảo dưỡng đã định.

THẨM ĐỊNH PHƯƠNG PHÁP

Việc thẩm định các phương pháp phổ Raman được làm theo các qui định chung đối với các tiêu chí về độ đúng, độ chính xác v.v. Tuy nhiên, nhiều tiêu chí trong đó bị ảnh hưởng bởi các biến đặc trưng của phổ Raman. Huỳnh quang có thể là biến đầu tiên có thể ảnh hưởng đến tính phù hợp của một phương pháp. Sự có mặt của các tạp huỳnh quang trong mẫu có thể rất khác nhau và có ít ảnh hưởng đến tính chấp nhận được của vật liệu. Phương pháp phải đủ linh hoạt để chấp nhận được các chế độ lấy mẫu cần áp dụng để giảm thiểu ảnh hưởng của các tạp này. Độ tuyến tính của detector phải được khẳng định trên thang các mức tín hiệu có thể có. Huỳnh quang có thể đẩy cao cả đường nền lẫn nhiễu so với khi thẩm định; trong trường hợp này, phải làm giảm huỳnh quang hoặc phải sửa đổi phương pháp cho phù hợp với mức huỳnh quang cao.

Khi nhiễu đường nền tăng cao sẽ có tác động tiêu cực đến độ chính xác, giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng của phương pháp.Vì huỳnh quang có thể ảnh hưởng đến kết quả định lượng do chuyển dịch đường nền, nên phải khẳng định việc định lượng là có thể chấp nhận được ở các mức khử quang (photobleaching) khác nhau.

Tác động của laser lên mẫu phải được xác định. Với các phép đo dùng các công suất laser và thời gian tiếp xúc với tia khác nhau, việc kiểm tra mẫu bằng mắt và kiểm tra định tính của phổ Raman sẽ khẳng định được là mẫu không bị biến đổi (không tính đến sự khử quang). Để khẳng định trong phổ Raman, các biến đặc trưng là sự chuyển dịch vị trí của pic, những thay đổi chiều cao pic và độ rộng dải và những thay đổi không mong đợi của cường độ nền.

Độ chính xác của phương pháp cũng phải tính đến vị trí của mẫu. Cách trình bày mẫu là một yếu tố trọng yếu cho cả chất lỏng lẫn chất rắn và phải được kiểm soát chặt chẽ hoặc phải tính đến trong mô hình hiệu chuẩn. Độ nhạy cảm của vị trí mẫu thường có thể được hạn chế bằng cách chuẩn bị mẫu thích hợp hoặc bằng hình học của giá đỡ mẫu, nhưng nó còn thay đổi từ máy này sang máy khác tùy theo cấu hình quang học của bộ thu nhận và kích thích.

ĐỊNH NGHĨA CÁC THUẬT NGỮ VÀ KÝ HIỆU

Mô hình hiệu chuẩn (calibration model) là một biểu thức toán học của sự liên hệ giữa đáp ứng của một máy phân tích và các tính chất của mẫu.

Độ rộng dải phổ (intrument bandpass) hay *Độ phân giải* (resolution) là thước đo khả năng tách các bức xạ có bước sóng gần nhau của một phổ kế.

Đánh giá vận hành (operational qualification) là quá trình làm việc và ghi chép để chứng minh rằng máy hoạt động theo đúng các chỉ tiêu kỹ thuật của máy và có thể đáp ứng được mục đích sử dụng. Cần thực hiện việc này sau khi có bất kỳ sự thay đổi có ý nghĩa nào như lắp đặt, đổi chỗ, sửa chữa quan trọng, v.v.

Đánh giá hiệu năng (performance qualification) là quá trình sử dụng một hay nhiều vật liệu đối chiếu ổn định và có các đặc tính xác định rõ để kiểm chứng hiệu năng làm việc ổn định của máy. Trong việc đánh giá này có thể sử dụng các chuẩn khác nhau cho các đặc tính hiệu năng khác nhau.

Phổ Raman (Raman spectra)[2] là đồ thị chỉ trên trục tung năng lượng bức xạ, hay số photon, tán xạ bởi mẫu khi có tương tác giữa dao động phân tử trong mẫu và một bức xạ đơn sắc có tần số cao hơn nhiều so với tần số dao động. Trục hoành thường là hiệu số sóng giữa ánh sáng tới và ánh sáng tán xạ.

Tán xạ Raman (thường) (Nomal Raman scattering)[2] là sự tán xạ không đàn hồi của ánh sáng xảy ra khi có thay đổi độ phân cực của các liên kết liên quan trong một dao động phân tử. Phổ Raman (thường) xuất hiện khi mẫu được kích thích bởi một bức xạ không cộng hưởng với sự chuyển dịch điện tử trong mẫu.

Độ chuyển dịch số sóng Raman (Raman wavenumber shift)[2]:

$$\beta\Delta\tilde{\nu}$$

Trong đó:

β là mặt cắt ngang Raman vi phân, có giá trị dương với tán xạ Stokes và âm với tán xạ đối Stokes.

$\Delta\tilde{\nu}$ là hiệu của số sóng của vạch kích thích và số sóng của tia tán xạ, với đơn vị SI là m^{-1}. Đơn vị thường dùng là $cm^{-1} = 100\ m^{-1}$.

Ghi chú:

[1] ASTM E1840-96 (2002) *Hướng dẫn về các chuẩn độ dịch chuyển dùng cho hiệu chuẩn phổ kế. Standard Guide for Raman Shift Standards for Spectrometer Calibration.*

[2] Chalmers, J., Griffiths, P., Eds. *Sổ tay phổ dao động (Handbook of Vibrational Spectroscopy)*, 2002.

PHỤ LỤC 5

CÁC KỸ THUẬT TÁCH SẮC KÝ

Các kỹ thuật tách sắc ký là những phương pháp tách trong đó các thành phần của mẫu được phân bố vào hai pha: một pha tĩnh và một pha động. Pha tĩnh có thể là một chất rắn, cũng có thể là một chất lỏng được giữ trên một chất rắn hay một gel. Pha tĩnh có thể được nhồi vào cột, hoặc trải thành một lớp, hay phân tán thành một lớp phim v.v... Pha động có thể là chất khí, chất lỏng hay chất lưu siêu tới hạn (còn được gọi là chất lỏng siêu tới hạn). Sự tách sắc ký có thể dựa trên các cơ chế khác nhau như hấp phụ, phân bố khối lượng (hay phân chia), trao đổi ion, hoặc dựa trên sự khác nhau về tính chất lý hóa của các phân tử như kích thước, khối lượng, thể tích v.v...

Phụ lục này chỉ đề cập đến các định nghĩa và phép tính các thông số thông thường trong kỹ thuật sắc ký, các yêu cầu thường được áp dụng cho sự phù hợp của hệ thống sắc ký. Nguyên lý, thiết bị và phương pháp tách được trình bày trong các phép thử chung sau đây:

- Phương pháp sắc ký giấy (Phụ lục 5.1)
- Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2)
- Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)
- Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
- Phương pháp sắc ký rây phân tử (Phụ lục 5.5)

Định nghĩa

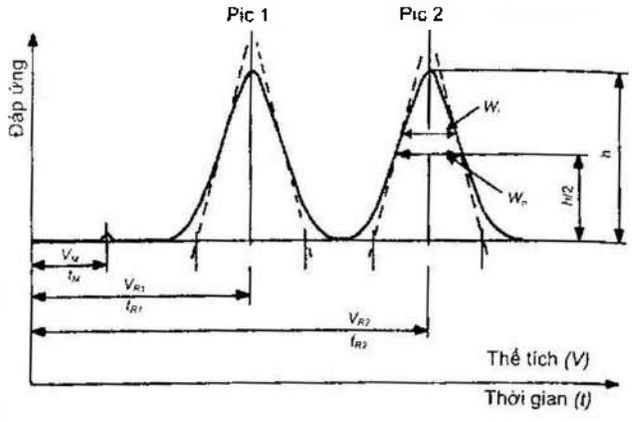
Các định nghĩa sau đây được dùng trong các chuyên luận để tính toán các thông số về tính phù hợp của hệ thống và các tiêu chuẩn chấp nhận. Một số thiết bị có phần mềm của nhà sản xuất dùng để tính toán một vài thông số như tỷ số tín hiệu trên nhiễu và độ phân giải có thể được sử dụng. Trong trường hợp này, người sử dụng có trách nhiệm đảm bảo rằng các phương pháp dùng trong phần mềm đó phù hợp với yêu cầu của bộ tiêu chuẩn này; nếu không, phải điều chỉnh cho phù hợp.

Sắc ký đồ

Sắc ký đồ là một đồ thị hay một cách trình bày khác mô tả sự thay đổi đáp ứng của detector (hay nồng độ của chất hay một đại lượng khác làm thước đo nồng độ của chất) theo thời gian, thể tích hay khoảng cách. Một sắc ký đồ lý tưởng có dạng một chuỗi các pic kiểu Gauss trên một đường nền (Hình 5.1).

Thời gian lưu (t_R)

Là thời gian cần thiết để rửa giải một chất (Hình 5.1, đường nền biểu thị bằng phút).



Hình 5.1

Pic

Pic, hay còn gọi là đỉnh, là phần sắc ký đồ ghi lại đáp ứng của detector khi một chất (hoặc 2 hay nhiều chất không tách ra khỏi nhau) được rửa giải khỏi cột.

Pic có thể được xác định bằng diện tích pic, hoặc chiều cao pic (h) và chiều rộng pic ở nửa chiều cao (w_h), hoặc chiều cao pic (h) và chiều rộng pic giữa các điểm uốn (w_i). Ở các pic có dạng hình Gauss (Hình 5.1), có mối quan hệ biểu thị bằng phương trình sau:

$$w_h = 1{,}18 \times w_i$$

Thể tích lưu (V_R)

Là thể tích pha động cần thiết để rửa giải một chất. Thể tích lưu có thể tính được từ thời gian lưu và tốc độ dòng (ml/min) theo công thức:

$$V_R = t_R \times F$$

Trong đó:

F là lưu lượng dòng (hay tốc độ dòng) của pha động (ml/min).

Thời gian chết (t_M) (hold-up time)

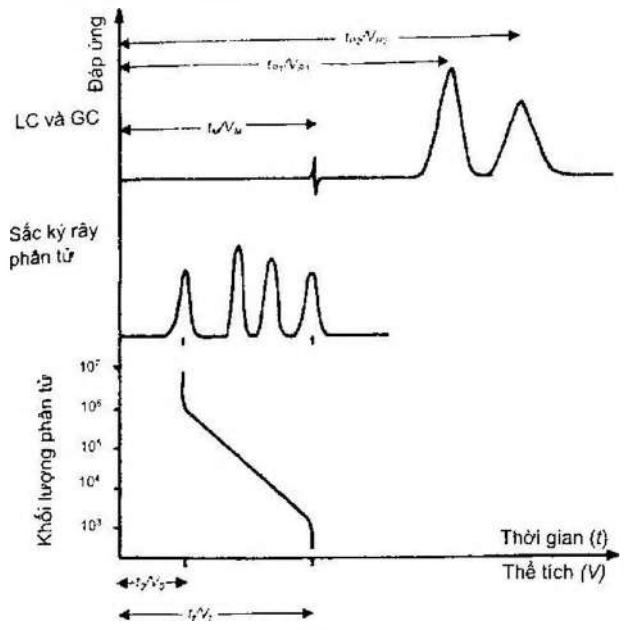
Là thời gian cần thiết để rửa giải một chất không bị lưu giữ (Hình 5.1, đường nền biểu thị bằng phút). Trong phương pháp Sắc ký rây phân tử (xem Hình 5.2), thời gian chết được ký hiệu là t_0.

Thể tích chết (V_M) (hold-up volume)

Là thể tích pha động cần thiết để rửa giải một chất không bị lưu giữ. Nó có thể được tính từ thời gian chết (t_M) và tốc độ dòng F (số ml pha động trong 1 min) theo công thức sau:

$$V_M = t_M \times F$$

Trong phương pháp Sắc ký rây phân tử (xem Hình 5.2), thể tích chết được ký hiệu là V_0.



Hình 5.2

Hệ số phân bố khối lượng

Hệ số phân bố khối lượng (D_m) hay còn gọi là thừa số dung lượng (k'), hoặc thừa số lưu giữ (k), được định nghĩa và tính theo công thức sau:

$$D_m = k' = k = \frac{m_s}{m_M} = K_C \frac{V_s}{V_M}$$

Trong đó:

K_C là hằng số phân bố hay còn gọi là hệ số phân bố cân bằng;

V_S là thể tích pha tĩnh;

V_M là thể tích pha động;

m_s là lượng chất trong pha tĩnh;

m_M là lượng chất trong pha động.

Thừa số lưu giữ k của một chất có thể được xác định trên sắc ký đồ theo công thức:

$$k = \frac{t_R - t_M}{t_M}$$

Thời gian toàn bộ của pha động (t_t)

Trong phương pháp Sắc ký rây phân tử, thời gian toàn bộ của pha động là thời gian lưu của một chất mà kích thước phân tử nhỏ hơn kích thước các lỗ nhỏ nhất của gel (Hình 5.2).

Thể tích toàn bộ của pha động (V_t)

Trong phương pháp Sắc ký rây phân tử, thể tích toàn bộ của pha động là thể tích lưu của một chất mà kích thước phân tử nhỏ hơn kích thước các lỗ nhỏ nhất của gel. Nó có thể được tính từ thời gian toàn bộ của pha động (t_t) và tốc độ dòng F (ml/min) theo công thức sau:

$$V_t = t_t \times F$$

Thời gian lưu của chất không bị lưu giữ (t_0)

Trong phương pháp Sắc ký rây phân tử, thời gian lưu của chất không bị lưu giữ là thời gian lưu của một chất mà kích thước phân tử lớn hơn kích thước các lỗ lớn nhất của gel (Hình 5.2).

Thể tích lưu của chất không bị lưu giữ (V_0)

Trong phương pháp Sắc ký rây phân tử, thể tích lưu của chất không bị lưu giữ là thể tích lưu của một chất mà kích thước phân tử lớn hơn kích thước các lỗ lớn nhất của gel. Có thể tính thể tích lưu của chất không bị lưu giữ từ thời gian lưu của chất không bị lưu giữ (t_0) và tốc độ dòng F (ml/min) theo công thức sau:

$$V_0 = t_0 \times F$$

Hằng số phân bố (K_0)

Trong phương pháp Sắc ký rây phân tử, đặc tính rửa giải của một chất có thể được biểu thị dưới dạng hằng số phân bố (còn gọi là hệ số phân bố) K_0 và được tính theo công thức:

$$K_0 = \frac{t_R - t_0}{t_t - t_0}$$

Thừa số chậm (R_F)

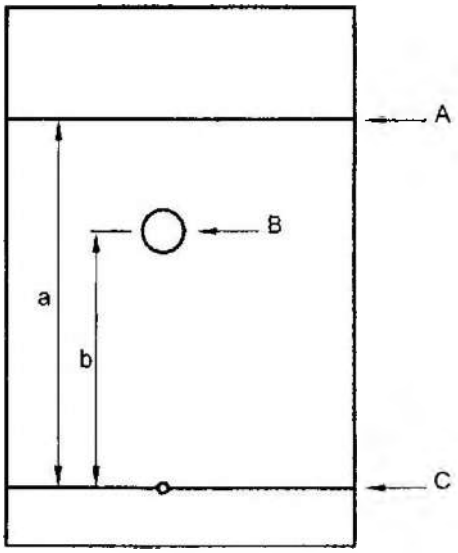
Thừa số chậm R_f, hay còn gọi là hệ số di chuyển R_f, được dùng trong sắc ký trên mặt phẳng (sắc ký lớp mỏng, sắc ký giấy) là tỷ số giữa khoảng cách từ điểm chấm mẫu đến tâm của vết sắc ký và khoảng cách di chuyển của dung môi tính từ điểm chấm mẫu (Hình 5.3).

$$R_F = \frac{b}{a}$$

Trong đó:

b là quãng đường di chuyển của chất phân tích;

a là quãng đường di chuyển của tuyến dung môi.



A. Vạch dung môi B. Vết mẫu C. Vạch xuất phát

Hình 5.3

Số đĩa lý thuyết (N)

Tùy thuộc vào kỹ thuật sử dụng, hiệu năng của cột (hay hiệu lực biểu kiến của cột) biểu thị dưới dạng số đĩa lý thuyết, có thể tính được từ những dữ liệu thu được dưới điều kiện đẳng nhiệt, đẳng dòng hoặc đẳng mật độ (isodense), theo công thức sau, trong đó các giá trị t_R và w_h có cùng đơn vị đo:

$$N = 5,54 \times \left(\frac{t_R}{w_h} \right)^2$$

Trong đó:

t_R là thời gian lưu của pic tương ứng với chất phân tích;

w_h là chiều rộng pic ở nửa chiều cao pic.

Số đĩa lý thuyết thay đổi theo chất, theo cột, nhiệt độ cột, pha động và thời gian lưu.

Thể tích lưu trú (D) (Dwell volume)

Thể tích lưu trú (còn gọi là thể tích trễ gradient) là thể tích giữa điểm mà các chất rửa giải của pha động gặp nhau và đỉnh của cột. Nó có thể được xác định bằng cách sau:

Cột: Thay cột sắc ký bằng một ống mao quản thích hợp (ví dụ ống 1 m × 0,12 mm).

Pha động: Pha động A: Nước cất;

Pha động B: Dung dịch aceton 0,1 % (tt/tt).

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 20	100 → 0	0 → 100
20 - 30	0	100

Tốc độ dòng: Đặt tốc độ dòng sao cho có áp suất ngược thích hợp (back-pressure) (ví dụ 2 ml/min).

Phát hiện: Quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng ở 265 nm. Xác định thời điểm ($t_{0,5}$) tính bằng phút khi độ hấp thụ tăng lên đạt 50 % (Hình 5.4).

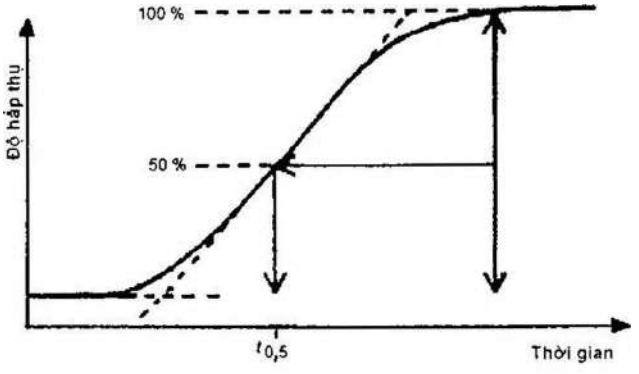
$$D = t_D \times F$$

Trong đó:

$t_D = t_{0,5} - 0,5t_G$ (tính bằng phút);

t_G là thời gian gradient đã xác định trước (= 20 min);

F là tốc độ dòng (tính bằng ml/min).



Hình 5.4

Hệ số đối xứng (A_S)

Hệ số đối xứng của một pic (Hình 5.5) được tính theo công thức sau:

$$A_S = \frac{w_{0,05}}{2 \times d}$$

Trong đó:

$w_{0,05}$ là chiều rộng của pic ở 1/20 chiều cao của pic;

d là khoảng cách tính từ đường thẳng đứng đi qua đỉnh pic đến cạnh phía trước của pic ở 1/20 chiều cao của pic.

Khi A_S = 1,0 thì pic hoàn toàn đối xứng. Khi A_S > 1,0 thì pic bị kéo đuôi. Khi A_S < 1,0 thì pic bị doãng về phía trước.

Độ phân giải (R_S)

Độ phân giải (R_S) giữa hai pic của hai chất (Hình 5.5) được tính theo công thức sau:

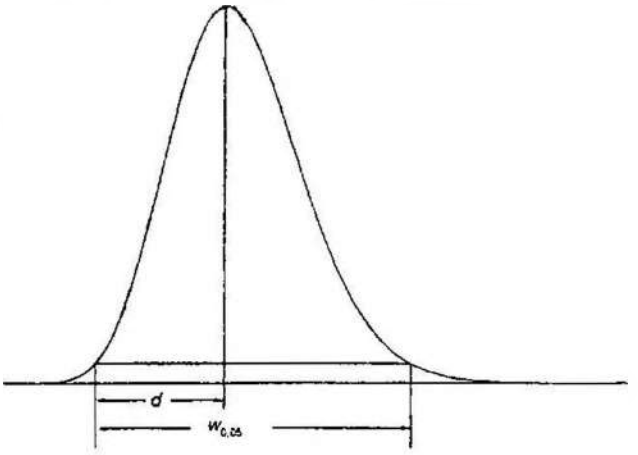
$$R_s = \frac{1,18 \times (t_{R2} - t_{R1})}{w_{h1} + w_{h2}}$$

Trong đó:

$t_{R2} > t_{R1}$

t_{R1}, t_{R2} là thời gian lưu của các pic tương ứng;

w_{h1}, w_{h2} là chiều rộng pic ở nửa chiều cao pic.



Hình 5.5

Trong phương pháp định lượng bằng sắc ký trên mặt phẳng dùng phép đo mật độ, khoảng cách di chuyển được dùng thay cho thời gian lưu và độ phân giải giữa các pic của 2 chất có thể được tính theo công thức sau:

$$R_s = \frac{1,18 \times a \times (R_{F2} - R_{F1})}{w_{h1} + w_{h2}}$$

Trong đó:

R_{F1}, R_{F2} là thừa số chậm của các pic tương ứng;

w_{h1}, w_{h2} là chiều rộng pic ở nửa chiều cao pic;

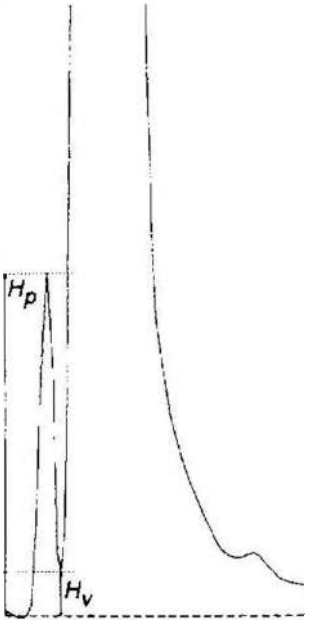
a là khoảng cách di chuyển của tuyến dung môi.

Tỷ số đỉnh - hõm (p/v)

Tỷ số đỉnh - hõm (p/v) có thể được dùng như một thông số về tính phù hợp của hệ thống trong phép thử các tạp chất liên quan khi hai pic không được tách đến đường nền (Hình 5.6).

$$p/v = \frac{H_p}{H_v}$$

Trong đó:
H_p là chiều cao của đỉnh pic nhỏ so với đường nền ngoại suy;
H_v là chiều cao của đáy hõm tách hai pic lớn và nhỏ so với đường nền ngoại suy.



Hình 5.6

Độ lưu giữ tỷ đối (r)
Độ lưu giữ tỷ đối (r) có thể ước lượng theo công thức sau:

$$r = \frac{t_{Ri} - t_M}{t_{Rst} - t_M}$$

Trong đó:
t_{Ri} là thời gian lưu của pic chất được quan tâm;
t_{Rst} là thời gian lưu của pic chất đối chiếu (thường là pic tương ứng với chất cần thử);
t_M là thời gian chết.
Độ lưu giữ tỷ đối chưa hiệu chỉnh (r_G) được tính theo công thức:

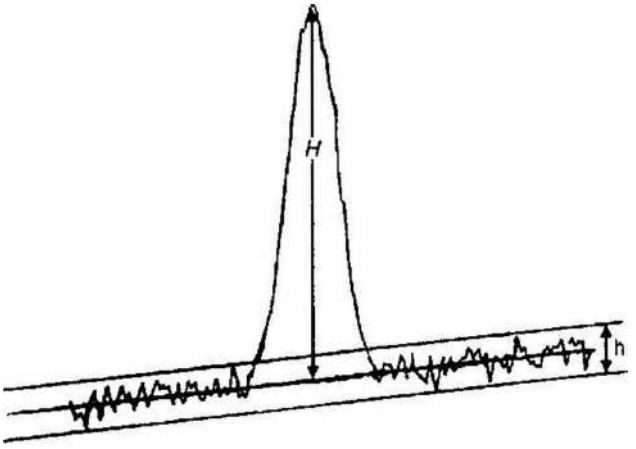
$$r_G = \frac{t_{Ri}}{t_{Rst}}$$

Trừ khi có hướng dẫn khác, các giá trị độ lưu giữ tỷ đối cho trong các chuyên luận là độ lưu giữ tỷ đối chưa hiệu chỉnh. Trong sắc ký trên mặt phẳng, các thừa số chậm R_{Fst} và R_{Fi} được dùng thay cho các thời gian lưu t_{Rst} và t_{Ri}.

Tỷ số tín hiệu trên nhiễu (S/N)
Nhiễu có ảnh hưởng đến độ chụm của phép định lượng. Tỷ số tín hiệu trên nhiễu được tính theo công thức:

$$S/N = \frac{2H}{h}$$

Trong đó:
H là chiều cao pic (Hình 5.7) tương ứng với chất được khảo sát trên sắc đồ thu được với dung dịch chất đối chiếu đã định; chiều cao này đo từ đỉnh pic đến đường nền ngoại suy được xác định trên một khoảng bằng ít nhất 5 lần chiều rộng của pic ở nửa chiều cao pic;
h là khoảng dao động của nhiễu đường nền trên sắc đồ thu được sau khi tiêm một mẫu trắng: khoảng dao động này được xác định trên một quãng đường bằng ít nhất 5 lần chiều rộng của pic ở nửa chiều cao pic trên sắc đồ thu được khi tiêm dung dịch chất đối chiếu đã định và nếu có thể thì quãng đường này phân bố đều hai bên vị trí của pic của chất khảo sát.



Hình 5.7

Độ lặp lại
Độ lặp lại của đáp ứng được biểu thị dưới dạng phần trăm độ lệch chuẩn tương đối (RSD %) của một dãy kết quả của ít nhất 3 lần tiêm hoặc nạp liên tiếp dung dịch chất đối chiếu và được tính theo công thức:

$$RSD(\%) = \frac{100}{\bar{y}} \times \sqrt{\frac{\sum (y_i - \bar{y})^2}{n - 1}}$$

Trong đó:
y_i là các giá trị cá thể dưới dạng diện tích pic, hay chiều cao pic, hoặc tỷ số các diện tích trong phương pháp nội chuẩn;
$\bar{y}$ là trung bình của các giá trị cá thể;
n là số các giá trị cá thể.

Tính phù hợp của hệ thống
Các bộ phận khác nhau của thiết bị sắc ký cần phải được kiểm tra hiệu chỉnh để có thể đạt được hiệu năng theo yêu cầu khi tiến hành phép thử hay định lượng.
Các phép thử tính phù hợp của hệ thống là phần không thể thiếu của một phương pháp và được dùng để đảm bảo hệ thống sắc ký có hiệu năng phù hợp. Hiệu lực biểu kiến, thừa số lưu giữ (hệ số phân bố khối lượng), độ phân giải, độ lưu giữ tỷ đối và hệ số đối xứng là những thông số thường được dùng để đánh giá hiệu năng của cột. Các yếu tố có thể ảnh hưởng đến đặc tính sắc ký bao gồm:
Thành phần, nồng độ ion, nhiệt độ và pH biểu kiến của pha động;

Tốc độ dòng, kích thước cột, nhiệt độ cột và áp suất;
Các đặc tính của pha tĩnh bao gồm loại chất mang, độ xốp (cỡ lỗ), cỡ hạt, kiểu các hạt, diện tích bề mặt riêng;
Pha đảo và các pha tĩnh có biến đổi bề mặt khác như biến đổi hoá học (được biểu thị bởi end-capping, carbon loading v.v...).
Các yêu cầu sau đây và các yêu cầu bổ sung trong chuyên luận cụ thể phải được đáp ứng, trừ khi có chỉ dẫn khác:
Trong phép thử các tạp chất liên quan hay định lượng, hệ số đối xứng của pic chính trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu phải trong khoảng từ 0,8 đến 1,5, trừ khi có chỉ dẫn khác;
Trong phép định lượng hoạt chất mà giá trị xác định là 100 % chất tinh khiết, độ lệch chuẩn tối đa được phép [$RSD(\%)_{max}$] cho các lần tiêm lặp lại của dung dịch đối chiếu được tính theo công thức sau:

$$RSD(\%)_{max} = \frac{K \times B \times \sqrt{n}}{t_{90\%,n-1}}$$

Trong đó:
K là một hằng số (= 0,349) thu được từ biểu thức

$$K = \frac{0,6}{\sqrt{2}} \times \frac{t_{90\%,5}}{\sqrt{6}}$$

mà $\frac{0,6}{\sqrt{2}}$ biểu thị độ lệch chuẩn tương đối yêu cầu cho 6 lần tiêm với B = 1,0;
B là giới hạn trên được cho trong chuyên luận riêng trừ đi 100 %;
n là số lần tiêm lặp lại dung dịch đối chiếu ($3 \leq n \leq 6$);
$t_{90\%,n-1}$ là giá trị t-Student ở mức xác xuất 90 % (hai phía) với bậc tự do n - 1.
Nếu không có chỉ dẫn gì khác, độ lệch chuẩn tương đối được phép tối đa không được vượt quá giá trị tương ứng ghi trong Bảng 5.1. Yêu cầu này không áp dụng cho phép thử các tạp chất liên quan.

Bảng 5.1 - Yêu cầu về độ lặp lại

	Số lần tiêm lặp lại			
	3	4	5	6
B (%)	Độ lệch chuẩn tương đối được phép tối đa			
2,0	0,41	0,59	0,73	0,85
2,5	0,52	0,74	0,92	1,06
3,0	0,62	0,89	1,10	1,27

Trong phép thử các tạp chất liên quan, giới hạn định lượng (tương ứng với tỷ số tín hiệu trên nhiễu bằng 10) phải bằng hoặc nhỏ hơn giới hạn được bỏ qua.
Yêu cầu về tính phù hợp của hệ thống là đòi hỏi cho quá trình tiến hành sắc ký. Tùy thuộc vào các yếu tố khác nhau như tần suất sử dụng và kinh nghiệm với hệ thống sắc ký, người phân tích sẽ lựa chọn một quy trình kiểm chứng thích hợp về tính phù hợp này.

Điều chỉnh các điều kiện sắc ký
Mức độ điều chỉnh các thông số khác nhau để thỏa mãn tính phù hợp của hệ thống sắc ký mà không làm thay đổi căn bản phương pháp được liệt kê dưới đây. Việc điều chỉnh các điều kiện rửa giải gradient thì khắt khe hơn so với rửa giải đẳng dòng vì nó có thể dẫn tới sự chuyển dịch các pic đến một bước khác của quá trình gradient. Điều này dẫn đến việc xác định không đúng vị trí các pic, làm che lấp pic hoặc làm chuyển dịch pic tới mức chất phân tích được rửa giải ra sau thời gian đã định. Những thay đổi khác với những điểm đã được qui định đòi hỏi phải thẩm định lại phương pháp. Những điều kiện sắc ký được mô tả đều đã được thẩm định khi biên soạn xây dựng chuyên luận.
Các phép thử tính thích hợp của hệ thống được đưa vào để đảm bảo yêu cầu chia tách cho phép thử hay phép định lượng đạt chất lượng mong muốn. Tuy nhiên, vì pha tĩnh chỉ được mô tả một cách chung chung và trên thị trường lại có nhiều loại pha tĩnh có những đặc tính sắc ký khác nhau, nên có thể cần điều chỉnh một số điều kiện sắc ký để đạt yêu cầu của tính phù hợp hệ thống. Đặc biệt trong phương pháp sắc ký pha đảo, việc thay đổi các thông số sắc ký không phải lúc nào cũng cho kết quả thỏa đáng. Trong trường hợp này, có thể phải thay cột khác cùng loại, ví dụ cột silica gel gắn với nhóm octadecylsilyl (C_{18}) khác mà có thể cho kết quả mong muốn. Với các thông số quan trọng, việc điều chỉnh được xác định rõ ràng trong chuyên luận để đảm bảo tính phù hợp của hệ thống.

Sắc ký lớp mỏng và sắc ký giấy
Thành phần của pha động: Lượng thành phần dung môi nhỏ có thể điều chỉnh ± 30 % nồng độ tương đối hay ± 2 % nồng độ tuyệt đối tùy theo khoảng giá trị nào lớn hơn. Ví dụ với dung môi thành phần nhỏ là 10 % của pha động thì thay đổi 30 % tương đối nghĩa là nồng độ trong khoảng 7 % đến 13 % trong khi thay đổi 2 % nồng độ tuyệt đối nghĩa là nồng độ trong khoảng 8 % đến 12 %; như vậy, khoảng theo nồng độ tương đối lớn hơn; nếu thành phần dung môi nhỏ là 5 % thì thay đổi 30 % tương đối nghĩa là trong khoảng 3,5 % đến 6,5 % và thay đổi 2 % nồng độ tuyệt đối nghĩa là trong khoảng 3 % đến 7 %, trong trường hợp này khoảng theo nồng độ tuyệt đối lớn hơn. Không thành phần dung môi nào được thay đổi lớn hơn 10 % nồng độ tuyệt đối.
pH của thành phần nước trong pha động được thay đổi ± 0,2 đơn vị pH trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận, hoặc thay đổi = 1,0 đơn vị pH khi nghiên cứu các chất không ion hóa.
Nồng độ muối trong thành phần đệm của pha động được thay đổi ± 10 %.
Thể tích mẫu chấm sắc ký điều chỉnh trong khoảng 10 % đến 20 % của thể tích quy định nếu sử dụng bản mỏng cỡ hạt nhỏ (2 µm đến 10 µm).
Khoảng dịch chuyển của tuyến dung môi không được dưới 50 mm và với bản mỏng hiệu năng cao thì không được dưới 30 mm.

Sắc ký lỏng rửa giải đẳng dòng

Thành phần pha động: Lượng thành phần dung môi nhỏ có thể điều chỉnh ± 30 % nồng độ tương đối hay ± 2 % nồng độ tuyệt đối tùy theo khoảng giá trị nào lớn hơn (xem ví dụ ở trên). Không thành phần dung môi nào được thay đổi lớn hơn 10 % nồng độ tuyệt đối.

pH của thành phần nước trong pha động: Chỉ điều chỉnh thay đổi ± 0,2 đơn vị pH trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận, hoặc thay đổi ± 1,0 đơn vị pH khi nghiên cứu các chất không ion hóa.

Nồng độ muối trong *thành phần đệm của pha động* được thay đổi ± 10 %.

Tốc độ dòng: ± 50 %; có thể chấp nhận một sự điều chỉnh lớn hơn khi thay đổi kích thước cột (xem công thức ở dưới).

Các thông số cột:

Pha tĩnh:

Không thay đổi bản chất của nhóm thế trong pha tĩnh (ví dụ không thay C_{18} bằng C_8);

Kích thước hạt: Cho phép giảm tối đa 50 %; không được phép tăng.

Kích thước cột:

Chiều dài: ± 70 %;

Đường kính trong: ± 25 %.

Khi kích thước cột thay đổi, tốc độ dòng có thể phải điều chỉnh theo công thức sau:

$$F_2 = F_1 \times \frac{l_2 d_2^2}{l_1 d_1^2}$$

Trong đó:

F_1 là tốc độ dòng được chỉ ra trong chuyên luận, tính theo ml/min;

F_2 là tốc độ dòng hiệu chỉnh, tính theo ml/min;

l_1 là chiều dài cột ghi trong chuyên luận, tính bằng mm;

l_2 là chiều dài cột được sử dụng, tính bằng mm;

d_1 là đường kính trong của cột ghi trong chuyên luận, tính bằng mm;

d_2 là đường kính trong của cột được sử dụng, tính bằng mm.

Nhiệt độ: Được điều chỉnh ± 10 °C khi có quy định nhiệt độ tiến hành sắc ký, trừ khi có chỉ dẫn khác.

Bước sóng của detector phát hiện: Không được điều chỉnh.

Thể tích tiêm: Có thể giảm đi miễn là khả năng phát hiện và độ lặp lại của pic cần xác định thỏa mãn yêu cầu; không cho phép tăng thể tích tiêm.

Sắc ký lỏng rửa giải gradient

Việc điều chỉnh các điều kiện cho hệ thống sắc ký rửa giải gradient đòi hỏi cần cẩn thận hơn so với hệ thống sắc ký đẳng dòng.

Thành phần của pha động dùng rửa giải gradient: Những điều chỉnh nhỏ về thành phần của pha động và chương trình dung môi có thể được chấp nhận, miễn là:

Các yêu cầu về tính phù hợp của hệ thống được thỏa mãn;

Các pic chính được rửa giải trong vòng ± 15 % của thời gian lưu quy định;

Thành phần cuối cùng của pha động không yếu hơn về lực rửa giải so với thành phần quy định.

Khi không thể đạt được thỏa mãn các yêu cầu về tính phù hợp của hệ thống thì nên xem xét về thể tích lưu trú (dwell volume) hoặc thay đổi cột tách.

Thể tích lưu trú (Dwell volume): Cấu hình của thiết bị dùng có thể làm thay đổi đáng kể độ phân giải, thời gian lưu và thời gian lưu tỷ đối được quy định; đó là do thể tích lưu trú quá lớn. Các chuyên luận thường đưa vào một giai đoạn đẳng dòng trước khi bắt đầu chương trình gradient để làm thích ứng với các thời điểm gradient; điều này giúp xem xét sự khác nhau giữa thể tích lưu trú của hệ thống thiết bị được sử dụng để phát triển phương pháp và hệ thống đang được sử dụng. Người sử dụng có trách nhiệm điều chỉnh khoảng thời gian của giai đoạn đẳng dòng cho phù hợp với thiết bị được sử dụng. Nếu thể tích lưu trú được dùng khi xây dựng chuyên luận được chỉ ra trong chuyên luận, các thời điểm (t min) ghi trong bảng chương trình dung môi có thể được thay thế bằng các thời điểm điều chỉnh (t_c min) và được tính bằng công thức sau:

$$t_c = t - \frac{(D - D_0)}{F}$$

Trong đó:

D là thể tích lưu trú, tính bằng ml;

D_0 là thể tích lưu trú khi phát triển phương pháp, tính bằng ml;

F là tốc độ dòng tính bằng ml/min.

Giai đoạn đẳng dòng bổ sung cho mục đích trên đây có thể bỏ qua nếu các số liệu thẩm định để áp dụng phương pháp không có giai đoạn này.

pH của thành phần nước trong pha động không được phép điều chỉnh.

Nồng độ muối trong thành phần đệm của pha động cũng không được phép điều chỉnh.

Tốc độ dòng: Có thể điều chỉnh tốc độ dòng khi kích thước cột tách thay đổi (xem công thức ở dưới).

Các thông số về cột:

Pha tĩnh:

Không thay đổi bản chất của nhóm thế trong pha tĩnh (ví dụ không thay C_{18} bằng C_8);

Kích thước tiểu phân không được thay đổi.

Kích thước cột:

Chiều dài: ± 70 %;

Đường kính trong: ± 25 %.

Khi kích thước cột tách thay đổi, tốc độ dòng có thể phải điều chỉnh dựa theo công thức sau:

$$F_2 = F_1 \times \frac{l_2 d_2^2}{l_1 d_1^2}$$

Trong đó:

F_1 là tốc độ dòng ghi trong chuyên luận, tính bằng ml/min;

F_2 là tốc độ dòng được điều chỉnh, tính bằng ml/min;

l_1 là chiều dài cột ghi trong chuyên luận, tính bằng mm;

l_2 là chiều dài cột được sử dụng, tính bằng mm;

d_1 là đường kính trong của cột ghi trong chuyên luận, tính bằng mm;

d_2 là đường kính trong của cột được sử dụng, tính bằng mm.

Nhiệt độ: Được điều chỉnh ± 5 °C khi nhiệt độ vận hành sắc ký được quy định trong chuyên luận, trừ khi có chỉ dẫn khác.
Bước sóng phát hiện của detector: Không được điều chỉnh.
Thể tích tiêm: Có thể giảm đi miễn là khả năng phát hiện và độ lặp lại của pic cần xác định thỏa mãn yêu cầu; không cho phép tăng thể tích tiêm.

Sắc ký khí

Các thông số về cột:
Pha tĩnh:
Kích thước tiểu phân: Có thể giảm tối đa 50 %; không được phép tăng lên (cột nhồi);
Bề dày lớp phim: Cho phép thay đổi từ -50 % đến +100 % (cột mao quản).
Kích thước cột:
Chiều dài: ± 70 %;
Đường kính trong: ± 50 %.
Tốc độ dòng: ± 50 %.
Nhiệt độ: ± 10 %.
Thể tích tiêm và thể tích chia dòng: Có thể được điều chỉnh, miễn là khả năng phát hiện và độ lặp lại là thỏa mãn yêu cầu.

Sắc ký lỏng siêu tới hạn

Thành phần pha động: Đối với cột nhồi, lượng hợp phần dung môi nhỏ có thể được điều chỉnh ± 30 % tương đối hay ± 2 % tuyệt đối, tùy theo khoảng giá trị nào lớn hơn; không cho phép thay đổi đối với hệ thống cột mao quản.
Bước sóng phát hiện của detector không được thay đổi.
Các thông số về cột:
Pha tĩnh: Kích thước tiểu phân: Có thể giảm tối đa 50 %; không được phép tăng lên (cột nhồi).
Kích thước cột:
Chiều dài: ± 70 %;
Đường kính trong: ± 25 % cho cột nhồi và ± 50 % cho cột mao quản.
Tốc độ dòng: ± 50 %.
Nhiệt độ: Cho phép ± 5 °C khi nhiệt độ vận hành sắc ký được quy định trong chuyên luận.
Thể tích tiêm: Có thể được điều chỉnh, miễn là khả năng phát hiện và độ lặp lại là thỏa mãn yêu cầu, không được phép tăng lên.

Định lượng

Các pic của dung môi và thuốc thử hoặc xuất hiện từ pha động hay nền mẫu thì bỏ qua trong quá trình định lượng.
Độ nhạy của detector: Độ nhạy của detector là tín hiệu đầu ra tính trên một đơn vị nồng độ hay một đơn vị khối lượng chất có trong pha động đi vào detector. Hệ số đáp ứng tương đối của detetor, thường được gọi là hệ số đáp ứng, biểu thị độ nhạy của một detector đối với một chất chuẩn. Hệ số hiệu chỉnh là nghịch đảo của hệ số đáp ứng.
Phương pháp chuẩn ngoại: Nồng độ các thành phần cần phân tích được xác định bằng cách so sánh (các) đáp ứng pic của dung dịch thử đối với đáp ứng pic của dung dịch chất đối chiếu.
Phương pháp chuẩn nội: Chất chuẩn nội phải là một chất có thể tách khỏi chất khảo sát. Thêm cùng lượng chuẩn nội vào dung dịch thử và dung dịch chất đối chiếu. Chất chuẩn nội không được có phản ứng với chất khảo sát, phải bền và không chứa tạp có thời gian lưu tương tự thời gian lưu chất khảo sát. Nồng độ chất khảo sát được xác định dựa vào việc so sánh tỷ số diện tích pic (hay chiều cao pic) giữa chất khảo sát và chuẩn nội trong dung dịch thử với tỷ số diện tích pic (hay chiều cao pic) giữa chất khảo sát và chuẩn nội trong dung dịch chất đối chiếu.
Phương pháp chuẩn hóa: Còn gọi là quy trình chuẩn hóa. Hàm lượng phần trăm của một hay nhiều thành phần trong mẫu thử được tính bằng cách xác định diện tích một pic hay nhiều pic dưới dạng phần trăm của tổng diện tích tất cả các pic trừ các pic của dung môi hay thuốc thử và các pic ở mức hay dưới mức có thể bỏ qua.
Phương pháp đường chuẩn: Còn gọi là quy trình hiệu chuẩn. Xác định mối quan hệ giữa tín hiệu đo được hay đánh giá được (y) và lượng (nồng độ, khối lượng, v.v...) của chất (x) rồi tính hàm hiệu chuẩn (phương trình đường chuẩn). Tính kết quả phân tích từ tín hiệu của chất phân tích (được đo hay được đánh giá) theo phương pháp hàm số ngược.
Trong các phép thử tạp chất liên quan, người ta dùng hoặc phương pháp chuẩn ngoại với một dung dịch thử được pha loãng để so sánh, hoặc dùng phương pháp chuẩn hóa, khi hệ số đáp ứng nằm ngoài khoảng 0,8 đến 1,2, thì phải áp dụng những hệ số hiệu chỉnh được chỉ ra trong chuyên luận. Khi trong chuyên luận có quy định phép thử các tạp chất liên quan là tổng các tạp chất hay khi phải định lượng một tạp chất thì điều quan trọng là phải chọn một ngưỡng thích hợp và các điều kiện thích hợp cho việc lấy tích phân các diện tích pic. Trong các phép thử như vậy thì ngưỡng bỏ qua (nghĩa là các diện tích pic bằng hoặc dưới ngưỡng này không phải tính đến) thường là 0,05 %. Như vậy, ngưỡng đặt cho hệ thống thu thập dữ liệu ít nhất phải là nửa ngưỡng bỏ qua. Việc lấy tích phân các diện tích pic của các tạp không được tách hoàn toàn khỏi pic chính nên được thực hiện theo phương pháp ngoại suy từ hõm tới hõm (vạch tiếp tuyến).

5.1 PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ GIẤY

Phương pháp sắc ký giấy, cũng như phương pháp sắc ký lớp mỏng, được áp dụng trong kiểm nghiệm chất lượng thuốc để định tính, thử tinh khiết và đôi khi để bán định lượng và định lượng.
Sự tách các chất bằng phương pháp sắc ký giấy dựa chủ yếu trên sự khác nhau về hệ số phân bố của chúng giữa hai pha lỏng: Một pha tĩnh và một pha động. Pha tĩnh ở đây là nước có sẵn trong sợi cellulose của giấy, hoặc thành phần thân nước từ hỗn hợp dung môi của pha động được hút chọn lọc vào giấy. Pha động là một hệ dung môi thích hợp cho sự tách đã được quy định trong các chuyên luận.

Mức độ di chuyển của một chất được đặc trưng bởi hệ số di chuyển (R_f) và tính bằng tỷ lệ giữa khoảng cách di chuyển của chất đó và khoảng cách di chuyển của dung môi:

$$R_f = a/b$$

Trong đó:
a là khoảng cách di chuyển của chất phân tích;
b là khoảng cách di chuyển của dung môi tính từ điểm chấm mẫu.
Giá trị R_f bao giờ cũng nhỏ hơn 1.
Trong trường hợp sắc ký liên tục không còn xác định được giới tuyến của dung môi, người ta dùng hệ số di chuyển Rr. Rr là tỷ số giữa khoảng cách di chuyển của chất phân tích và khoảng cách di chuyển của chất dùng làm chuẩn so sánh. Giá trị Rr có thể nhỏ hơn hay lớn hơn 1.

Cách tiến hành

Chuẩn bị bình sắc ký: Bình sắc ký là những bình thủy tinh hình trụ hoặc hình hộp dẹt, có kích thước thích hợp, có nắp đậy kín. Nắp có lỗ ở giữa để lắp bình gạn có khóa đựng dung môi. Trong bình có các giá để máng đựng dung môi và treo giấy sắc ký được thiết kế thích hợp cho kiểu sắc ký đi lên hay sắc ký đi xuống.
Chuẩn bị dung môi: Thành phần và tỷ lệ các dung môi được quy định trong các chuyên luận. Việc trộn các thành phần được tiến hành trong bình gạn, sau khi lắc đều, để yên. Nếu có tách lớp thì gạn lấy lớp pha thân nước, thường là lớp dưới, làm dung môi pha tĩnh để bão hòa giấy sắc ký sau khi đã chấm các chất phân tích, còn lớp trên dùng làm dung môi pha động. Nếu dung môi không tách lớp thì dùng chính dung môi đó để bão hòa giấy sắc ký.
Chuẩn bị giấy: Giấy sắc ký là loại giấy đặc biệt dành riêng cho sắc ký, có bề dày thích hợp. Tùy theo kích thước của bình và số lượng các vết cần chấm mà cắt những khổ giấy hình chữ nhật thích hợp, chiều dài dọc theo thớ giấy. Chiều rộng phải nhỏ hơn chiều dài của máng dung môi nhưng không được nhỏ hơn 2,5 cm. Bề dài phải tính sao cho khi treo giấy vào bình không được để đầu dưới chạm vào máng dung môi trong khi bão hòa dung môi. Trường hợp bình sắc ký có hình chuông úp thì giấy phải cuộn tròn và cố định bằng móc thủy tinh hoặc khâu bằng chỉ. Đường kính của cuộn giấy phải nhỏ hơn đường kính của đĩa để giấy nhằm tránh giấy chạm vào thành đĩa.
Chấm sắc ký: Kẻ một đường chì mảnh song song với mép giấy (đường vạch để chấm sắc ký) theo chiều rộng và cách mép giấy 3 cm đối với sắc ký đi lên để sao cho các vết chấm không bị ngập vào dung môi, 6 cm đối với sắc ký đi xuống để vạch chấm không trùng với đũa thủy tinh đỡ giấy mà thấp hơn 2 cm khi đặt giấy treo vào máng ở phần trên của bình.
Dùng micropipet chia độ tới 0,001 ml đến 0,002 ml hoặc mao quản có dung tích xác định (2 µl; 5 µl; 10 µl) để chấm các dung dịch chất cần sắc ký thành vết có đường kính không quá 8 mm. Muốn giữ đường kính của vết chấm nhỏ, phải chấm nhanh nhiều lần, đợi giọt trước khô mới chấm tiếp.
Lượng chấm và nồng độ dung dịch chất thử được quy định trong chuyên luận.
Khi chấm nhiều vết trên một dải giấy thì vết chấm [illegible] hải cách vết chấm kia ít nhất là 30 mm.

Triển khai sắc ký

Phương pháp sắc ký đi lên: Rót dung môi làm pha động vào máng dung môi để được một lớp dung môi cao 2,5 cm, và trong trường hợp pha tĩnh được chỉ định (là phần tách lớp phía dưới khi trộn hỗn hợp dung môi) thì rót pha tĩnh vào khe giữa máng dung môi và thành bình sắc ký. Đậy kín nắp bình, để yên trong 24 h ở nhiệt độ 20 °C đến 25 °C và duy trì ở nhiệt độ này trong quá trình tiếp theo. Sau đó treo giấy đã chuẩn bị vào bình, đậy nắp, để yên tiếp 90 min. Tiếp theo dùng tay vặn ở ngoài bình để hạ từ giấy sắc ký vào máng dung môi sao cho vạch chấm không ngập vào dung môi. Triển khai sắc ký đến một thời gian hoặc một khoảng cách quy định trong chuyên luận. Lấy giấy ra, đánh dấu ngay giới tuyến dung môi và để khô ngoài không khí hoặc làm khô bằng không khí nóng của máy quạt sấy. Phải chú ý tránh ánh sáng trong suốt quá trình triển khai. Làm hiện vết bằng cách phun thuốc thử màu thích hợp, hoặc soi dưới đèn tử ngoại theo quy định của chuyên luận. Tính giá trị R_f và đánh giá kết quả.
Phương pháp sắc ký đi xuống: Cũng tiến hành tương tự như sắc ký đi lên, chỉ khác các điểm sau đây:
Rót dung môi làm pha tĩnh vào đáy bình, tạo một lớp cao khoảng 2 cm; đặt giấy vào máng dung môi ở phần trên bình, dùng một đũa thủy tinh để chèn giấy, gác đầu giấy treo qua đũa thủy tinh để không cho giấy chạm vào mép máng và chạm vào thành bình. Sau thời gian để bão hòa bình và giấy theo quy định như trên, rót pha động vào máng đựng dung môi ở phía trên. Thường sắc ký đi xuống được áp dụng cho các hỗn hợp khó tách và phải chạy sắc ký liên tục nên phải tính kết quả theo Rr.

5.2 PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ KHÍ

Sắc ký khí là một phương pháp tách dựa trên sự phân bố khác nhau của các chất giữa hai pha không trộn lẫn vào nhau, trong đó pha động là chất khí (khí mang) đi qua pha tĩnh chứa trong cột. Sắc ký khí được áp dụng để tách những chất hoặc dẫn xuất của chúng mà có thể hóa hơi ở nhiệt độ phân tích. Phương pháp sắc ký khí dựa trên cơ chế hấp phụ, phân bố hoặc loại theo kích thước (dùng rây phân tử).

Thiết bị

Thiết bị gồm nguồn cung cấp khí, bộ phận tiêm mẫu, cột sắc ký chứa trong buồng ổn nhiệt, hệ thống phát hiện và ghi sắc đồ. Khí mang đi qua cột với tốc độ và áp suất có kiểm soát và đi qua detector. Nhiệt độ của cột hoặc được giữ ở một giá trị không đổi hoặc thay đổi theo một chương trình quy định trong chuyên luận riêng.
Sự đặc thù về thiết kế của máy sắc ký khí có thể yêu cầu phải thay đổi điều kiện sắc ký đã ghi trong chuyên luận riêng. Trong những trường hợp có thay đổi như thế, phải cho những kết quả tương tự. Nếu cần, điều chỉnh tốc độ

dòng khí mang để cải thiện chất lượng sắc ký đồ hoặc để thay đổi thời gian lưu của các pic quan tâm.

Bộ phận tiêm mẫu

Tiêm mẫu trực tiếp: Là kiểu tiêm mẫu thường dùng trừ khi có chỉ dẫn khác. Có thể tiêm mẫu trực tiếp vào đầu cột bằng bơm tiêm (syringe) hoặc dùng van tiêm mẫu hoặc đưa vào buồng hóa hơi có thể có gắn thêm bộ chia dòng.

Tiêm pha hơi: Có thể thực hiện bằng hệ thống tiêm mẫu head-space tĩnh hay động.

Hệ thống tiêm mẫu head-space động (kỹ thuật bẫy và làm sạch): Bao gồm thiết bị nhúng chìm vào dung dịch cho các chất bay hơi bám vào cột hấp phụ ở nhiệt độ thấp. Các chất lưu giữ được giải hấp phụ vào pha động bằng cách làm nóng nhanh cột hấp phụ.

Hệ thống tiêm mẫu head-space tĩnh: Bao gồm buồng ổn nhiệt mẫu có kiểm soát nhiệt độ trong đó đặt lọ đựng mẫu chứa mẫu rắn hoặc lỏng trong thời gian cố định để cho các thành phần bay hơi đạt được trạng thái cân bằng giữa pha hơi và pha lỏng hoặc rắn. Sau khi đạt được trạng thái cân bằng, một lượng mẫu khí xác định trước được đưa vào máy sắc ký khí.

Pha tĩnh

Pha tĩnh chứa trong cột có thể là:

Cột mao quản làm bằng silica nung chảy, pha tĩnh phủ trên thành cột.

Cột nhồi chứa hạt chất mang, trơ tẩm pha tĩnh lỏng.

Cột nhồi chứa pha tĩnh rắn.

Cột mao quản có đường kính trong từ 0,1 mm đến 0,53 mm và dài từ 5 m đến 60 m. Pha tĩnh là một lớp phim bề dày từ 0,1 µm đến 5,0 µm có thể gắn kết về hóa học vào bề mặt bên trong.

Cột nhồi làm bằng thủy tinh hay kim loại, thông thường dài từ 1 m đến 3 m, đường kính trong từ 2 mm đến 4 mm. Pha tĩnh thường là chất polymer xốp hoặc chất mang rắn phủ pha tĩnh lỏng.

Trong phân tích các hợp chất phân cực ở cột nhồi với pha tĩnh có dung lượng thấp, tính phân cực thấp, chất mang phải trơ để tránh làm cho pic không đối xứng. Hoạt tính chất mang có thể được giảm đi bằng cách silan hóa trước khi phủ pha tĩnh lên. Thường dùng diatomit nung, rửa với acid. Các chất mang thường có các kích thước hạt khác nhau, thường sử dụng nhất các hạt từ 150 µm đến 180 µm và 125 µm đến 150 µm.

Pha động

Thời gian lưu và hiệu lực cột phụ thuộc vào tốc độ dòng khí mang: Thời gian lưu tỉ lệ thuận với chiều dài cột và độ phân giải tỉ lệ thuận với căn bậc hai chiều dài cột. Đối với cột nhồi, lưu lượng khí mang tính bằng ml/min ở áp suất khí quyển và nhiệt độ phòng. Lưu lượng đo ở đầu ra của detector bằng dụng cụ đo cơ học có chia độ hoặc ống đo tốc độ dòng dùng bọt xà phòng ở nhiệt độ cột đang phân tích. Tốc độ dài của dòng khí mang đi qua cột nhồi tỉ lệ nghịch với căn bậc hai đường kính trong của cột ở một thể tích dòng xác định. Lưu lượng 60 ml/min trong cột đường kính trong 4 mm và lưu lượng 15 ml/min trong cột đường kính trong 2 mm cùng cho tốc độ dòng như nhau, do đó thời gian lưu tương đương nhau.

Thường dùng heli và nitrogen làm khí mang cho cột nhồi và nitrogen, heli và hydrogen cho cột mao quản.

Detector

Thường dùng detector ion hóa ngọn lửa, ngoài ra còn dùng detector dẫn nhiệt, nitrogen-phosphor (electron nhiệt hay nhiệt điện tử), cộng kết điện tử, phổ khối, phổ hồng ngoại FTIR và các loại detector khác tùy theo mục đích phân tích.

Các đại lượng đặc trưng cho quá trình sắc ký

Xem Phụ lục 5. Các kỹ thuật tách sắc ký.

Phương pháp tiến hành

Ổn định cột, buồng tiêm và detector ở nhiệt độ và tốc độ dòng khí mang quy định trong chuyên luận cho đến khi đường nền ổn định.

Chuẩn bị các dung dịch thử và đối chiếu theo quy định của chuyên luận. Các dung dịch phải không được có các tiểu phân rắn. Dùng dung dịch chuẩn để xác định các điều kiện đo phù hợp đặt trên thiết bị và thể tích dung dịch mẫu tiêm cần dùng để tạo ra một đáp ứng phù hợp. Tiến hành các lần tiêm lặp lại để kiểm tra độ lặp lại của đáp ứng và kiểm tra số đĩa lý thuyết, nếu có yêu cầu.

Tiêm các dung dịch thử và ghi lại sắc ký đồ thu được. Tiến hành tiêm lại nhiều lần để kiểm tra độ lặp lại của đáp ứng. Xác định diện tích pic của các thành phần cần quan tâm khi không có chỉ dẫn khác. Cũng có thể xác định chiều cao của pic tương ứng với các thành phần chất cần quan tâm khi hệ số đối xứng từ 0,80 đến 1,20. Từ những giá trị thu được tính ra hàm lượng của một thành phần hay nhiều thành phần có trong mẫu đem thử.

Khi dùng một chất làm chuẩn nội, pic của chất này không được che phủ pic của mẫu thử. Nếu có pic bị ảnh hưởng cần phải có sự bổ chính thích hợp. Trong những áp dụng có yêu cầu chương trình nhiệt độ, phải tính kết quả theo diện tích pic.

Trừ những chỉ dẫn khác quy định trong chuyên luận riêng, dùng nitrogen làm khí mang và detector ion hóa ngọn lửa. Thỉnh thoảng cần tiến hành xác định bằng kỹ thuật tiêm on-column, trong đó mẫu được tiêm trực tiếp vào chất nhồi cột không sử dụng bộ phận nạp mẫu gia nhiệt. Khi mẫu thử là chất không bay hơi được tiêm vào cột, nên dùng tiền cột phù hợp, loại có thể thay đổi được.

Thuốc thử

Các thuốc thử và các dung môi sử dụng trong việc chuẩn bị các dung dịch khảo sát cần có chất lượng phù hợp cho phân tích trên sắc ký khí. Có rất nhiều chất hóa học được dùng làm pha tĩnh như các polyethylen glycol, các ester và các amid có phân tử lượng cao, các hydrocarbon, các silicon dạng gôm hay dạng lỏng (polysiloxan đã được thế bằng nhóm methyl, phenyl, nitril, vinyl hoặc fluoroalkyl, hoặc hỗn hợp của chúng) và các vi hạt rỗng cấu tạo đa nhân thơm liên kết chéo. Pha tĩnh phù hợp khi nồng độ

của nó, bản chất và bậc của chất mang rắn theo đúng quy định của chuyên luận riêng. Cột phải luyện theo chỉ dẫn của nhà sản xuất. Trong đa số các trường hợp, tên thương mại của cột ghi trong chuyên luận là phù hợp cho mục đích phân tích nhưng có thể dùng cột có tên thương mại khác tương đương.

Chuẩn nội
Các thuốc thử được dùng làm chuẩn nội không được chứa bất kỳ tạp chất nào gây ra các pic có ảnh hưởng tới việc xác định các thành phần của mẫu thử đã mô tả trong chuyên luận riêng.

Chuẩn hóa
Trong một số trường hợp, cần tiến hành xác định bằng phương pháp quy về 100 % để đánh giá một hoặc nhiều thành phần hoặc các tạp chất liên quan. Trong những trường hợp này, tổng diện tích của một pic hay các pic của các thành phần hoặc các tạp chất liên quan được biểu thị dưới dạng tỷ lệ phần trăm so với tổng diện tích của tất cả các pic thu được từ mẫu đem thử. Trong quá trình xác định, cần sử dụng bộ khuếch đại để mở rộng thang đo và bộ tính tích phân tự động.

Thể tích tiêm
Khi thể tích tiêm không qui định trong chuyên luận riêng, nên chọn một thể tích phù hợp để áp dụng. Chọn thể tích tiêm phụ thuộc vào đáp ứng của phép phân tích, detector sử dụng, hiệu lực cột và toàn bộ hiệu năng của hệ thống sắc ký. Khi không có chỉ dẫn, thường dùng thể tích tiêm là 1 µl, tuy nhiên cần kiểm tra sự thích hợp trong điều kiện cụ thể.

Pic phụ (pic thứ cấp)
Có thể cần chất đối chiếu để xác định pic phụ. Pic phụ là một pic có trên sắc ký đồ nhưng không phải là pic chính hay pic chuẩn nội hoặc pic của dung môi và các thuốc thử tạo dẫn xuất.

Sắc ký khí head-space
Sắc ký khí head-space là phương pháp đặc biệt thích hợp để tách và xác định các chất bay hơi hiện diện trong mẫu rắn hay lỏng. Phương pháp dựa trên sự phân tích pha hơi sau khi đạt được trạng thái cân bằng với pha rắn hoặc pha lỏng.

Thiết bị
Máy sắc ký khí kết nối với bộ phận nạp mẫu tự động có thiết bị kiểm soát nhiệt độ và áp suất. Trong trường hợp cần thiết, có thể gắn thêm bộ phận đuổi dung môi.
Đưa mẫu vào lọ đựng mẫu có nắp đậy gắn với hệ thống van có thể cho phép khí mang đi qua. Đặt lọ đựng mẫu trong buồng ổn nhiệt ở nhiệt độ tùy theo bản chất của mẫu và duy trì nhiệt độ này trong thời gian sao cho đạt được trạng thái cân bằng giữa pha rắn hoặc lỏng và pha hơi.
Đưa khí mang vào lọ đựng mẫu và sau thời gian quy định, mở van tương ứng để khí khuếch tán vào cột sắc ký mang theo các chất bay hơi cần phân tích.
Nếu không có bộ phận nạp mẫu tự động, có thể dùng bơm tiêm (syringe) mẫu khí đưa mẫu trực tiếp vào cột sau khi đạt được trạng thái cân bằng trong buồng ổn nhiệt đặt riêng. Cần lưu ý tránh những yếu tố làm thay đổi trạng thái cân bằng.

Phương pháp tiến hành
Dùng các dung dịch đối chiếu để xác định tính thích hợp của cài đặt thiết bị để cho đáp ứng đạt yêu cầu.
Định lượng trực tiếp
Lần lượt cho mẫu thử và mẫu đối chiếu vào các lọ đựng mẫu đồng nhất như quy định trong chuyên luận riêng, tránh tiếp xúc giữa mẫu thử và thiết bị lấy mẫu. Đậy kín lọ và đặt trong buồng ổn nhiệt đã đặt nhiệt độ và áp suất như trong chuyên luận riêng. Sau khi đạt được trạng thái cân bằng, tiến hành sắc ký theo điều kiện quy định trong chuyên luận riêng.
Phương pháp thêm chuẩn
Lần lượt cho cùng một thể tích mẫu thử vào các lọ đựng mẫu đồng nhất. Thêm vào mỗi lọ một lượng thích hợp dung dịch đối chiếu của chất cần xác định có hàm lượng đã biết trước để có một dãy dung dịch có nồng độ tăng dần một cách đều đặn.
Đậy kín lọ và đặt trong buồng ổn nhiệt đã đặt nhiệt độ và áp suất như trong chuyên luận riêng. Sau khi đạt được trạng thái cân bằng, tiến hành sắc ký theo điều kiện quy định trong chuyên luận riêng.
Lập phương trình tuyến tính của đồ thị bằng phương pháp bình phương tối thiểu và tìm được từ đó nồng độ của chất cần xác định trong dung dịch. Theo một cách khác, vẽ đồ thị trung bình các nồng độ xác định được theo lượng dung dịch đối chiếu thêm vào. Kéo dài đường nối các điểm trên đồ thị cho đến khi gặp trục nồng độ. Khoảng cách giữa điểm này và giao điểm của các trục thể hiện nồng độ chất cần xác định trong dung dịch.
Phương pháp rút ra liên tục
Nếu được quy định, phương pháp rút ra liên tục được mô tả đầy đủ trong chuyên luận riêng.

5.3 PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG

Sắc ký lỏng là phương pháp tách sắc ký các chất dựa trên sự phân bố khác nhau của chúng giữa hai pha không trộn lẫn, trong đó pha động là một chất lỏng chảy qua pha tĩnh chứa trong cột.
Sắc ký lỏng được tiến hành chủ yếu dựa trên cơ chế hấp phụ, phân bố khối lượng, trao đổi ion, loại trừ theo kích thước hoặc tương tác hóa học lập thể.

Thiết bị
Thiết bị bao gồm một hệ thống bơm, bộ phận tiêm mẫu, cột sắc ký (bộ phận điều khiển nhiệt độ có thể được sử dụng nếu cần thiết), detector và một hệ thống thu dữ liệu (hay một máy tích phân hoặc một máy ghi đồ thị). Pha động được cung cấp từ một hoặc vài bình chứa và chảy qua cột, thông thường với tốc độ không đổi và sau đó chảy qua detector.

Hệ thống bơm

Hệ thống bơm trong sắc ký lỏng phải giữ cho pha động luôn chảy với một lưu lượng không đổi. Những biến đổi áp suất sẽ được giảm thiểu, ví dụ cho dung môi chạy qua một thiết bị giảm xung. Ống dẫn và hệ thống nối phải là loại chịu được áp suất sinh ra do hệ thống bơm. Các bơm có thể được lắp với thiết bị loại bỏ bọt khí.

Hệ thống điều khiển bằng bộ vi xử lý có khả năng cung cấp pha động hoặc hằng định (rửa giải đẳng dòng) hoặc thay đổi tỷ lệ thành phần (rửa giải gradient) theo một chương trình xác định. Trong trường hợp rửa giải gradient, hệ thống bơm lấy các dung môi từ một vài bình chứa và các dung môi có thể được trộn lẫn ở áp suất thấp hoặc áp suất cao.

Bộ phận tiêm mẫu

Dung dịch mẫu thử được đưa vào dòng pha động hoặc vào vị trí gần đầu hoặc đầu cột nhờ một bộ phận tiêm mẫu có khả năng hoạt động ở áp suất cao. Có thể dùng vòng chứa mẫu thử, có thể tích cố định hoặc thiết bị có thể tích thay đổi, có thể vận hành bằng tay hoặc tự động. Khi tiêm mẫu bằng tay có thể gây ra sai số do thể tích tiêm vào vòng chứa mẫu không đủ.

Pha tĩnh

Có nhiều loại pha tĩnh có thể được sử dụng trong sắc ký lỏng, bao gồm:

– Silica (silic dioxyd), nhôm oxyd hoặc than graphit xốp thường được dùng trong sắc ký pha thuận mà quá trình phân tách dựa trên sự khác nhau về khả năng hấp phụ hoặc (và) phân bố khối lượng;

– Nhựa hoặc polymer có chứa các nhóm chức acid hoặc base, sử dụng trong sắc ký trao đổi ion mà trong đó sự chia tách được thực hiện dựa trên sự cạnh tranh giữa các ion cần tách và các ion trong pha động;

– Silica xốp hoặc polymer, sử dụng trong sắc ký rây phân tử, ở đó sự chia tách dựa trên sự khác nhau về kích thước phân tử, tương ứng với sự loại trừ không gian;

– Rất nhiều chất mang biến đổi hóa học được chế tạo từ polymer, silica gel hoặc than graphit xốp được dùng trong sắc ký lỏng pha đảo mà ở đó sự chia tách về nguyên tắc cơ bản dựa trên sự phân bố phân tử các chất giữa pha động và pha tĩnh;

– Pha tĩnh loại biến đổi hóa học đặc biệt, ví dụ dẫn xuất của celulose hoặc amylose, protein hoặc peptid, cyclodextrin v.v... dùng để tách các đồng phân đối quang (sắc ký đối quang).

Phần lớn sự chia tách dựa trên cơ chế phân bố, sử dụng silica biến đổi hóa học làm pha tĩnh và các dung môi phân cực làm pha động. Bề mặt của chất mang, ví dụ như các nhóm silanol của silica được phản ứng với các thuốc thử silan khác nhau tạo thành các dẫn xuất silyl có liên kết cộng hóa trị, che phủ một số lượng khác nhau các vị trí hoạt động trên bề mặt chất mang. Bản chất của các pha liên kết là tham số quan trọng để xác định các tính chất tách của hệ sắc ký.

Các pha liên kết dùng phổ biến là:

Octyl	$= Si–(CH2)_7–CH_3$	C_8
Octadecyl	$= Si–(CH2)_{17}–CH_3$	C_{18}
Phenyl	$= Si-(CH_2)_n-(C_6H_5)$	C_6H_5
Cyanopropyl	$= Si–(CH_2)_3–CN$	CN
Aminopropyl	$= Si–(CH_2)_3–NH_2$	NH_2
Diol	$= Si-(CH_2)_3-OCH(OH)-CH_2-OH$	

Trừ khi có tiêu chuẩn riêng của nhà sản xuất, thông thường các cột sắc ký pha đảo dựa trên silica được coi là ổn định đối với pha động có pH từ 2,0 tới 8,0. Cột chứa than graphit xốp hoặc các hạt vật liệu polymer như styren - divinylbenzen copolymer ổn định ở một khoảng pH rộng hơn.

Phân tích sử dụng sắc ký pha thuận với pha tĩnh là silica không bị biến đổi, than graphit xốp hoặc silica biến đổi hóa học làm cho phân cực (ví dụ cyanopropyl hoặc diol) và pha động không phân cực được sử dụng trong một số trường hợp.

Đối với sự tách nhằm mục đích phân tích, kích thước hạt của pha tĩnh phổ biến nhất từ 3 µm đến 10 µm. Các hạt có thể hình cầu hoặc không có hình dạng nhất định, có độ xốp khác nhau và diện tích bề mặt đặc hiệu. Những tham số này cấu thành biểu hiện sắc ký của từng pha tĩnh cụ thể.

Trong trường hợp pha đảo, các yếu tố bổ sung như bản chất của pha tĩnh, mức độ liên kết, ví dụ như độ dài mạch carbon liên kết, hoặc các nhóm hoạt động bề mặt của pha tĩnh có được che phủ hết hay không. Sự kéo đuôi pic, đặc biệt của các chất base, có thể xảy ra khi có mặt các nhóm silanol bề mặt của silica.

Cột được làm bằng thép không gỉ trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, có chiều dài và đường kính trong (∅) khác nhau được sử dụng cho phân tích sắc ký. Cột với đường kính trong nhỏ hơn 2 mm thường được coi là vi cột. Nhiệt độ của pha động và cột phải được giữ ổn định trong suốt thời gian phân tích. Phần lớn quá trình tách được thực hiện ở nhiệt độ phòng, nhưng cột có thể được làm nóng nhằm thu được hiệu quả cao hơn. Tuy nhiên, nhiệt độ cột cũng không được phép vượt quá 60 °C vì khả năng phân hủy của pha tĩnh hoặc sự thay đổi thành phần của pha động có thể xảy ra.

Pha động

Đối với sắc ký pha thuận, thường sử dụng dung môi ít phân cực. Sự có mặt của nước trong pha động phải được hạn chế và kiểm tra chặt chẽ nhằm thu được kết quả tái lặp lại. Đối với sắc ký lỏng pha đảo, sử dụng pha động chứa nước, có hoặc không có dung môi hữu cơ.

Các thành phần của pha động thường được lọc nhằm loại bỏ các tiểu phân lớn hơn 0,45 µm. Pha động chứa nhiều thành phần được chuẩn bị bằng cách đong các thể tích qui định (trừ khi có chỉ định về khối lượng) của các thành phần riêng lẻ rồi sau đó trộn lẫn với nhau. Ngoài ra, dung môi cũng có thể được cấp qua các bơm riêng lẻ, điều khiển bằng các van chia tỷ lệ, để có thể trộn lẫn theo các tỷ lệ mong muốn. Dung môi thường được loại khí trước khi bơm bằng cách sục khí heli, lắc siêu âm hoặc sử dụng hệ thống lọc màng lọc/chân không trực tuyến nhằm tránh sự tạo bọt khí trong cốc đo của detector.

Dung môi dùng để chuẩn bị pha động thường không được chứa các chất làm ổn định và phải trong suốt (không hấp thụ quang) ở vùng bước sóng phát hiện, nếu như sử dụng detector tử ngoại. Dung môi và những thành phần khác được dùng phải có chất lượng phù hợp. Khi cần điều chỉnh pH chỉ thực hiện với thành phần nước của pha động mà không điều chỉnh với hỗn hợp. Nếu sử dụng dung dịch đệm, cần phải rửa hệ thống bằng hỗn hợp nước và dung môi hữu cơ (5 % tt/tt) nhằm ngăn chặn sự kết tinh muối sau khi kết thúc quá trình sắc ký.
Pha động có thể chứa những thành phần khác, ví dụ một ion trái dấu trong sắc ký tạo cặp ion hoặc một chất chọn lọc đối quang trong trường hợp sắc ký sử dụng pha tĩnh không chọn lọc đối quang.

Detector
Detector hấp thụ tử ngoại/khả kiến gồm cả detector chuỗi diod là được sử dụng phổ biến nhất. Detector huỳnh quang, detector khúc xạ vi sai, detector điện hóa, detector khối phổ, detector tán xạ ánh sáng bay hơi, detector phóng xạ hoặc các loại detector đặc biệt khác cũng có thể được sử dụng.

Các đại lượng đặc trưng cho quá trình sắc ký
Xem phần chung Phụ lục 5. Các kỹ thuật tách sắc ký.

Phương pháp tiến hành
Làm cân bằng cột với pha động và tốc độ dòng theo qui định, ở nhiệt độ phòng hoặc nhiệt độ qui định trong chuyên luận riêng, cho đến khi đường nền ổn định. Chuẩn bị các dung dịch chuẩn và dung dịch thử theo yêu cầu. Các dung dịch phải không được có các tiểu phân rắn.

Hiệu năng
Qui định về tính phù hợp của hệ thống được mô tả trong Phụ lục 5. Các kỹ thuật tách sắc ký. Xác định và điều chỉnh các thông số của hệ thống sắc ký có thể được thực hiện nhằm đáp ứng các yêu cầu về tính phù hợp của hệ thống cũng được trình bày trong Phụ lục này.
Thành phần và tốc độ dòng của pha động được qui định trong chuyên luận riêng. Pha động là hỗn hợp dung môi được đuổi khí bằng bơm chân không hoặc bằng một thiết bị đuổi khí khác phù hợp nhưng không ảnh hưởng đến thành phần của hỗn hợp.
Trong quá trình định lượng, khi trong chuyên luận riêng không qui định dùng chuẩn nội, nên sử dụng bộ phận tiêm mẫu có thể tích cố định. Trong một số trường hợp ngoại lệ, khi trong chuyên luận chỉ dẫn tính theo chiều cao pic thì không cần quan tâm đến hệ số đối xứng.
Cột sắc ký thường được làm bằng thép không gỉ có kích thước (chiều dài × đường kính trong) được qui định trong chuyên luận riêng. Trong chuyên luận riêng, khi pha tĩnh được ký hiệu bằng một chữ cái thì tra cứu ở phần Nguyên vật liệu nếu ở dưới đây. Đường kính danh nghĩa của hạt pha tĩnh được để trong ngoặc đơn ngay sau ký hiệu chữ cái cụ thể. Nếu không có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, quá trình sắc ký được tiến hành ở điều kiện nhiệt độ không đổi trong môi trường phòng thí nghiệm. Khi sử dụng các pha động có pH cao với cột có bản chất là silica nên sử dụng một tiền cột ở trước cột phân tích.
Trừ khi có các chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, hệ thống detector gồm một detector đo quang gắn với một cốc đo có thể tích nhỏ (khoảng 10 µl là phù hợp). Phải đặt bước sóng theo chỉ dẫn trong chuyên luận riêng.
Khi dùng một máy sắc ký có thiết kế riêng biệt có thể phải thay đổi các điều kiện sắc ký đã ghi trong chuyên luận riêng. Trong trường hợp này, người phân tích cần đảm bảo rằng những thay đổi đó cho kết quả tương đương.

Thể tích tiêm
Khi thể tích tiêm không qui định trong chuyên luận riêng, nên chọn một thể tích tiêm phù hợp để áp dụng. Chọn thể tích tiêm phụ thuộc vào đáp ứng của phép phân tích, detector sử dụng, hiệu lực cột và toàn bộ hiệu năng của hệ thống sắc ký. Khi không có chỉ dẫn, thường dùng thể tích tiêm là 20 µl, tuy nhiên cần kiểm tra sự thích hợp trong điều kiện cụ thể.

Pic phụ (Pic thứ cấp)
Có thể cần chất đối chiếu để xác định pic phụ. Pic phụ là một pic có trên sắc ký đồ nhưng không phải là pic chính hay pic của chuẩn nội hoặc pic của dung môi hay của các thuốc thử tạo dẫn xuất.

Nguyên vật liệu
Các dung môi và thuốc thử dùng để pha các dung dịch sử dụng trong phân tích phải có chất lượng thích hợp cho sắc ký lỏng.
Khi chuyên luận riêng quy định pha tĩnh được gán với một chữ cái (A hoặc B hoặc C) là muốn nói tới các pha tĩnh như mô tả dưới đây:
Pha tĩnh A, hạt silica;
Pha tĩnh B, hạt silica được biến đổi hóa học, gắn với nhóm octylsilyl (C_8);
Pha tĩnh C, hạt silica được biến đổi hóa học, gắn với nhóm octadecylsilyl (C_{18}).

5.4 PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỚP MỎNG

Phương pháp sắc ký lớp mỏng được dùng để định tính, thử tinh khiết và đôi khi để bán định lượng hoặc định lượng hoạt chất thuốc.
Sắc ký lớp mỏng là một kỹ thuật tách các chất được tiến hành khi cho pha động di chuyển qua pha tĩnh trên đó đã chấm hỗn hợp các chất cần tách. Pha tĩnh là chất hấp phụ được chọn phù hợp theo từng yêu cầu phân tích, được trải thành lớp mỏng đồng nhất và được cố định trên các phiến kính hoặc phiến kim loại. Pha động là một hệ dung môi đơn hoặc đa thành phần được trộn với nhau theo tỷ lệ quy định trong từng chuyên luận. Trong quá trình di chuyển qua lớp hấp phụ, các cấu tử trong hỗn hợp mẫu thử được di chuyển trên lớp mỏng, theo hướng pha động, với những tốc độ khác nhau. Kết quả thu được là một sắc ký đồ trên lớp mỏng. Cơ chế của sự tách có thể là cơ chế hấp phụ,

phân bố, trao đổi ion, sàng lọc phân tử hay sự phối hợp đồng thời của nhiều cơ chế tùy thuộc vào tính chất của chất làm pha tĩnh và dung môi làm pha động.

Đại lượng đặc trưng cho mức độ di chuyển của chất phân tích là hệ số di chuyển R_f được tính bằng tỷ lệ giữa khoảng dịch chuyển của chất thử và khoảng dịch chuyển của dung môi:

$$R_f = \frac{a}{b}$$

Trong đó:

a là khoảng cách di chuyển của chất phân tích;

b là khoảng cách di chuyển của dung môi tính từ điểm chấm mẫu.

R_f: Chỉ có giá trị từ 0 đến 1.

Ngoài ra, khi sắc ký liên tục không xác định được tuyến dung môi, vị trí vết chất thử trên sắc đồ có thể xác định bằng hệ số dịch chuyển tương đối R_r. Hệ số dịch chuyển tương đối R_r được xác định bằng tỷ số giữa khoảng cách dịch chuyển của vết chất thử và khoảng cách dịch chuyển của vết chất chuẩn đối chiếu được sắc ký trong cùng điều kiện và trên cùng bản mỏng với mẫu thử:

$$R_r = \frac{a}{c}$$

Trong đó:

a là khoảng cách từ điểm xuất phát đến tâm của vết mẫu thử;

c là khoảng cách từ điểm xuất phát đến tâm của vết chất chuẩn.

Giá trị R_r có thể lớn hay nhỏ hơn 1.

Cách tiến hành

Dụng cụ

Bình triển khai, thường bằng thủy tinh trong suốt có kích thước phù hợp với các phiến kính cần dùng và có nắp đậy kín.

Đèn tử ngoại, phát các bức xạ có bước sóng ngắn 254 nm và bước sóng dài 365 nm.

Dụng cụ để phun thuốc thử.

Tủ sấy điều nhiệt để hoạt hóa và sấy bản mỏng và sắc ký đồ, hoặc để sấy nóng đối với một số phản ứng phát hiện.

Tủ hút hơi độc.

Máy sấy dùng để sấy khô sắc ký đồ và cho phép chấm nhanh nhiều lần những dung dịch pha loãng chất cần phân tích.

Một máy ảnh tốt có thể chụp lưu giữ sắc ký đồ ở ánh sáng ban ngày với khoảng cách 30 cm đến 50 cm.

Tủ lạnh để bảo quản những thuốc thử dễ hỏng.

Micropipet nhiều cỡ từ 1 µl, 2 µl, 5 µl, 10 µl đến 20 µl, các ống mao quản hoặc dụng cụ thích hợp.

Bản mỏng tráng sẵn chất hấp phụ có chất phát quang thích hợp.

Trường hợp phòng thí nghiệm không có điều kiện trang bị các loại bản mỏng tráng sẵn thì tự chuẩn bị lấy bản mỏng với các dụng cụ sau đây:

Các tấm kính phẳng có kích thước phù hợp đã được xử lý trước bằng hóa chất rồi rửa sạch bằng nước và sấy khô.

Thiết bị trải chất hấp phụ lên tấm kính thành một lớp mỏng đồng đều, có chiều dày thích hợp.

Giá để xếp các tấm kính đã trải.

Chuẩn bị bản mỏng

Sắp xếp các bản mỏng và chuẩn bị thiết bị: Các phiến kính phải được lau chùi cẩn thận và tẩy sạch hoàn toàn các chất béo bằng cách ngâm trong dung dịch sulfocromic. Sau đó, rửa dưới tia nước máy rồi tráng nước cất và làm khô trên giá ở nhiệt độ thường hay trong tủ sấy. Đặt lên khung trải 5 phiến kính 20 cm × 20 cm (hay phiến kính 10 cm × 20 cm) dày bằng nhau. Điều chỉnh độ dày của lớp hấp phụ bằng các thông số trên thiết bị trải.

Điều chế vữa của chất hấp phụ: Chất hấp phụ được chọn lọc sao cho phù hợp với yêu cầu phân tích như: Silica gel G, kieselguhr, celulose, nhôm oxyd, trong số đó silica gel G được dùng thông dụng nhất. Trộn 25 g silica gel G với 50 ml *nước cất* và nhào trong cối hoặc lắc mạnh trong bình nón có dung tích 200 ml đến 250 ml, nút kín, trong 30 s đến 45 s. Dịch treo tạo được ở dạng lỏng và đồng nhất. Rót ngay vào thiết bị trải đã điều chỉnh độ dày cho bản mỏng khoảng 0,25 mm (nếu không có chỉ dẫn trong chuyên luận riêng). Sau khi rót dịch treo vào thiết bị trải, lật tay đòn 180° về phía trái và chờ cho đến khi dịch treo chảy ra thì bắt đầu trải. Khi đã trải đến phiến cuối cùng lật tay đòn về phía phải để giữ cho dịch treo không chảy xuống.

Để nguyên các phiến kính tại chỗ khoảng 10 min tới khi mặt trên hết bóng, hoặc để khô tự nhiên tại nhiệt độ phòng.

Hoạt hóa: Cho các bản mỏng đã khô mặt vào tủ sấy và sấy ở 105 °C đến 110 °C trong 30 min (nếu không có chỉ dẫn ở chuyên luận riêng). Để nguội rồi bảo quản trong bình hút ẩm. Khi dùng, nếu cần thì hoạt hóa lại bằng cách sấy ở 105 °C đến 110 °C trong 1 h rồi cạo bỏ một dải chất hấp phụ dọc hai bên cạnh của tấm kính.

Chuẩn bị bình khai triển: Các bình khai triển thường là bình thủy tinh, hình hộp hay hình trụ, có nắp đậy kín, kích thước thay đổi tùy theo yêu cầu của các bản mỏng sử dụng. Bão hòa hơi dung môi vào khí quyển trong bình bằng cách lót giấy lọc xung quanh thành trong của bình, rồi rót một lượng vừa đủ dung môi vào bình, lắc rồi để giấy lọc thấm đều dung môi. Lượng dung môi sử dụng sao cho sau khi thấm đều giấy lọc còn lại một lớp dày khoảng 5 mm đến 10 mm ở đáy bình. Đậy kín nắp bình và để yên 1 h ở nhiệt độ 20 °C đến 25 °C. Muốn thu được những kết quả lặp lại, ta chỉ nên dùng những dung môi thật tinh khiết, loại dùng cho sắc ký. Những dung môi dễ bị biến đổi về hóa học chỉ nên pha trước khi dùng. Nếu sử dụng những hệ pha động phức tạp phải chú ý đến những thành phần dễ bay hơi làm thay đổi thành phần của hệ pha động dẫn đến hiện tượng không lặp lại của trị số R_f.

Chấm chất phân tích lên bản mỏng: Lượng chất hoặc hỗn hợp chất đưa lên bản mỏng có ý nghĩa quan trọng đối với hiệu quả tách sắc ký, đặc biệt ảnh hưởng rất lớn đến trị số R_f. Lượng chất quá lớn làm cho vết sắc ký lớn và kéo dài, khi đó, vết của các chất có trị số R_f gần nhau sẽ bị chồng lấp. Lượng chất nhỏ quá có thể không phát hiện được do độ nhạy của thuốc thử không đủ (thông thường độ nhạy của các thuốc thử trên 0,005 µg). Lượng mẫu thông thường cần đưa lên bản mỏng là 0,1 µg đến 50 µg ở dạng

dung dịch trong dung môi thích hợp. Thể tích dung dịch từ 0,001 ml đến 0,005 ml đối với trường hợp đưa mẫu lên bản mỏng dưới dạng điểm và từ 0,1 ml đến 0,2 ml khi đưa mẫu lên bản mỏng dưới dạng vạch như trong trường hợp sắc ký điều chế. Đối với các dung dịch có nồng độ rất loãng thì có thể làm giàu trực tiếp trên bản mỏng bằng cách chấm nhiều lần ở cùng một vị trí và sấy khô sau mỗi lần chấm.

Đường xuất phát phải cách mép dưới của bản mỏng 1,5 cm đến 2 cm và cách bề mặt dung môi từ 0,8 cm đến 1 cm. Các vết chấm phải nhỏ, có đường kính 2 mm đến 6 mm và cách nhau 15 mm. Các vết ở bìa phải cách bờ bên của bản mỏng ít nhất 1 cm để tránh hiệu ứng bờ. Khi làm sắc ký lớp mỏng bán định lượng, độ chính xác của kết quả phân tích phụ thuộc rất nhiều vào độ chính xác của lượng chất thử đưa lên bản mỏng, tức là thể tích dung dịch chấm lên bản mỏng. Do đó, với những trường hợp phân tích bán định lượng phải dùng các mao quản định mức chính xác. Khi không cần định lượng dùng micropipet hoặc ống mao quản thường.

Triển khai sắc ký: Đặt bản mỏng vào bình triển khai. Chú ý lượng dung môi dùng sao cho đề các vết chấm phải ở trên bề mặt của lớp dung môi. Đậy kín bình và để triển khai ở nhiệt độ từ 20 °C đến 25 °C và tránh ánh mặt trời. Nếu không có qui định trong chuyên luận riêng, triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 3/4 bản mỏng, lấy bản mỏng ra khỏi bình, đánh dấu mức dung môi, làm bay hơi dung môi còn đọng lại trên bản mỏng rồi hiện vết theo chỉ dẫn trong chuyên luận riêng. Quan sát các vết xuất hiện, tính giá trị R_f hoặc R_r và tiến hành định tính, phát hiện tạp chất hoặc định lượng như quy định trong chuyên luận riêng.

CHÚ Ý:

Khi phân tích bằng sắc ký lớp mỏng luôn phải chấm chất đối chiếu bên cạnh vết chất thử với lượng tương tự như dự đoán có trong vết chất thử để so sánh kết quả về màu sắc, kích thước và giá trị R_f hoặc Rr trong cùng điều kiện.

Hiệu năng của bản mỏng được kiểm tra như sau: Chấm một thể tích thích hợp (10 µl) cho lớp mỏng thông thường và 1 µl đến 2 µl cho loại bản mỏng có kích thước hạt mịn dung dịch thử hiệu năng lớp mỏng gồm lục bromocresol, da cam methyl, đỏ methyl và sudan G đỏ (thuốc thử). Tiến hành sắc ký với hệ dung môi *methanol - toluen* (20 : 80). Kết quả trên sắc ký đồ phải có 4 vết tách rõ ràng có R_f như sau: Lục bromocresol: < 0,15; da cam methyl: 0,1 đến 0,25, đỏ methyl: 0,35 đến 0,55 và sudan G đỏ: 0,75 đến 0,98.

5.5 PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ RÂY PHÂN TỬ

Sắc ký rây phân tử là phương pháp chia tách các phân tử trong dung dịch dựa trên kích thước của chúng. Trong trường hợp pha động là một dung môi hữu cơ, kỹ thuật được gọi là sắc ký thẩm qua gel, còn trường hợp pha động là nước thì kỹ thuật được gọi là sắc ký lọc trên gel. Mẫu được đưa vào cột chứa đầy gel hoặc một loại vật liệu xốp, và được pha động dẫn chạy qua cột. Sự chia tách theo kích thước được thực hiện nhờ sự trao đổi lặp đi lặp lại các phân tử chất tan giữa dung môi pha động và cùng dung môi đó được pha tĩnh giữ ở trong các lỗ xốp của gel. Khoảng kích thước lỗ của vật liệu nhồi trong cột sẽ xác định khoảng kích thước phân tử được chia tách qua quá trình sắc ký.

Những phân tử có kích thước đủ nhỏ để có thể đi vào trong tất cả khoảng không gian của lỗ xốp được rửa giải trong thể tích thẩm tổng V_t. Các phân tử có kích thước lớn hơn kích thước lỗ xốp lớn nhất chỉ đi chuyển được dọc theo cột qua các khoảng trống giữa các hạt vật liệu nhồi mà không bị giữ lại, được rửa giải trong thể tích loại trừ V_o (thể tích trống). Sự chia tách theo kích thước phân tử xảy ra giữa thể tích trống và tổng thể tích thẩm, chia tách hiệu quả thường được thực hiện ở hai phần ba đầu tiên của khoảng này.

Thiết bị

Thiết bị bao gồm một cột sắc ký có kích thước phù hợp, nếu cần thiết phải khống chế nhiệt độ, được nhồi đầy vật liệu chia tách có thể phân loại theo các khoảng kích thước phân tử phù hợp. Kích thước của cột (chiều cao × đường kính trong) được quy định ở chuyên luận riêng. Pha động chạy qua cột ở tốc độ không đổi dưới tác dụng của trọng lực hoặc nhờ một bơm. Một đầu của cột được nối với một thiết bị phù hợp để cấp mẫu theo kiểu bộ phận điều chỉnh lưu lượng dòng, một bơm tiêm đi qua vách hoặc một van tiêm và có thể được nối với một bơm điều khiển lưu lượng dòng dung dịch rửa giải. Một cách khác là mẫu có thể được tiêm vào trực tiếp trên bề mặt lớp gel hoặc dưới dung dịch rửa giải nếu như mẫu có tỷ trọng lớn hơn dung dịch rửa giải.

Đường ra của cột được nối với một detector có gắn với một máy ghi tự động để theo dõi nồng độ tương đối của các thành phần trong mẫu. Detector thường được thiết kế dựa trên các tính chất hấp thụ quang, khúc xạ ánh sáng hay phát quang. Bộ phận thu hứng phân đoạn tự động có thể được lắp trong trường hợp cần thiết. Vật liệu trong cột có thể là một chất mang mềm như gel nở hay một chất mang cứng cấu tạo từ thủy tinh, silic hoặc một hợp chất cao phân tử liên kết chéo tương thích dung môi. Chất mang cứng thường đòi hỏi hệ thống điều áp để tăng tốc độ phân tách. Pha động thường được chọn theo loại mẫu, môi trường phân tách và phương pháp phát hiện.

Vật liệu nhồi cần được xử lý và được nạp vào cột như mô tả trong chuyên luận hoặc theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Hiệu năng

Hệ thống sắc ký phải thỏa mãn qui định về tính phù hợp của hệ thống được mô tả trong phần Các kỹ thuật tách sắc ký (Phụ lục 5). Việc điều chỉnh các thông số của hệ sắc ký có thể được thực hiện nhằm đáp ứng các yêu cầu về sự phù hợp của hệ thống cũng được trình bày trong phụ lục này.

Xác định tỷ lệ thành phần tương đối

Tiến hành phương pháp theo các điều kiện ghi trong chuyên luận riêng. Nếu có thể, theo dõi quá trình rửa giải một cách liên tục và ghi lại diện tích của các pic tương

ứng. Nếu mẫu được xác định dựa vào tính chất hóa lý mà tất cả các thành phần của mẫu đều cho một đáp ứng tương đương (ví dụ cùng có một hệ số hấp thụ riêng), thì lượng tương đối của mỗi thành phần có thể được xác định bằng cách tính tỷ lệ diện tích mỗi pic thu được trên tổng diện tích pic của những thành phần quan tâm. Nếu sự đáp ứng khác nhau, tính tỷ lệ thành phần tương đối bằng cách dựa vào đường chuẩn của các dung dịch chuẩn được ghi trong chuyên luận riêng hoặc bằng phương pháp khác được ghi trong chuyên luận riêng.

Xác định khối lượng phân tử

Thực hiện phương pháp với dung dịch thử và các dung dịch chuẩn theo quy trình ghi trong chuyên luận riêng. Xây dựng một đồ thị biểu thị sự phụ thuộc giữa thể tích lưu của các chất chuẩn dùng cho hiệu chuẩn và hàm logarit của khối lượng phân tử của chúng. Đường chuẩn thường xấp xỉ với một đường thẳng nằm giữa giới hạn loại trừ và giới hạn thẩm tổng thể. Khối lượng phân tử của thành phần quan tâm có thể được ước lượng từ đường chuẩn. Việc xây dựng đường chuẩn chỉ có giá trị đối với một hệ cụ thể trong những điều kiện thí nghiệm xác định.

Sự phân bố polymer theo kích thước phân tử

Sắc ký rây phân tử có thể được sử dụng để xác định sự phân bố các polymer theo kích thước phân tử. Tuy nhiên, việc so sánh mẫu sẽ chỉ có ý nghĩa nếu kết quả thu được là cùng một điều kiện thí nghiệm. Nguyên liệu sử dụng để xây dựng đường chuẩn và phương pháp xác định sự phân bố dựa theo kích thước phân tử của các polymer được ghi trong chuyên luận riêng.

Phân bố khối lượng phân tử trong dextran

Kiểm tra bằng phương pháp sắc ký rây phân tử.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,200 g mẫu thử vào pha động và pha loãng tới 10 ml bằng pha động.

Dung dịch đánh dấu: Hòa tan 5 mg dextrose chuẩn và 2 mg chất đối chiếu hóa học dextran V_o trong 1 ml pha động.

Dung dịch hiệu chuẩn: Hòa tan riêng rẽ 15 mg các chất đối chiếu hóa học dextran 4, dextran 10 dùng cho hiệu chuẩn và 20 mg các chất đối chiếu hóa học dextran 40, dextran 70, dextran 250 dùng cho hiệu chuẩn trong 1 ml pha động.

Dung dịch kiểm tra tính phù hợp của hệ thống:

Hòa tan 20 mg chất đối chiếu dextran 40 dùng cho chuẩn hiệu năng (đối với dextran 40) hoặc 20 mg dextran 60/70 dùng cho chuẩn hiệu năng (đối với dextran 60 và dextran 70) vào 1 ml pha động.

Điều kiện sắc ký:

Cột (0,3 m × 10 mm) nhồi agarose loại liên kết chéo dùng trong sắc ký hoặc một dãy các cột (0,3 m × 10 mm) nhồi gel polyether hydroxyl hóa dùng trong sắc ký.

Pha động: Dung dịch chứa 7 g natri sulfat khan và 1 g clorobutanol trong 1 lít nước.

Tốc độ dòng: 0,5 ml/min đến 1 ml/min, giữ ổn định với sai số ± 1 %/h.

Detector khúc xạ ánh sáng vi sai.

Buồng tiêm mẫu dung tích 100 µl đến 200 µl.

Duy trì hệ thống hoạt động ở nhiệt độ ổn định (± 0,1°C).

Chuẩn hóa hệ thống sắc ký

Tiến hành tiêm lặp lại vài lần một thể tích nhất định dung dịch đánh dấu. Trên sắc ký đồ sẽ xuất hiện 2 pic, pic đầu tương ứng chất đối chiếu dextran V_o và pic thứ 2 là của dextrose. Từ thể tích rửa giải của pic tương ứng với dextran V_o, tính thể tích trống V_o và từ pic tương ứng với dextrose, tính được thể tích thẩm tổng V_t.

Tiêm một thể tích nhất định các dung dịch chuẩn. Vẽ cẩn thận đường nền của mỗi sắc ký đồ. Phân chia mỗi sắc ký đồ thành p phần (ít nhất là 60) bằng những đường gạch thẳng dọc bằng nhau (tương ứng với những thể tích rửa giải).

Trong mỗi phần, i tương ứng với một thể tích rửa giải V_i, đo chiều cao (y_i) của đường sắc ký đồ phía trên đường nền và tính hệ số phân bố K_i theo công thức:

$$\frac{(V_i - V_o)}{(V_t - V_o)} \qquad (1)$$

Trong đó:

V_o là thể tích trống của cột, được xác định bởi pic tương ứng với chất đối chiếu hóa học dextran V_o trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đánh dấu;

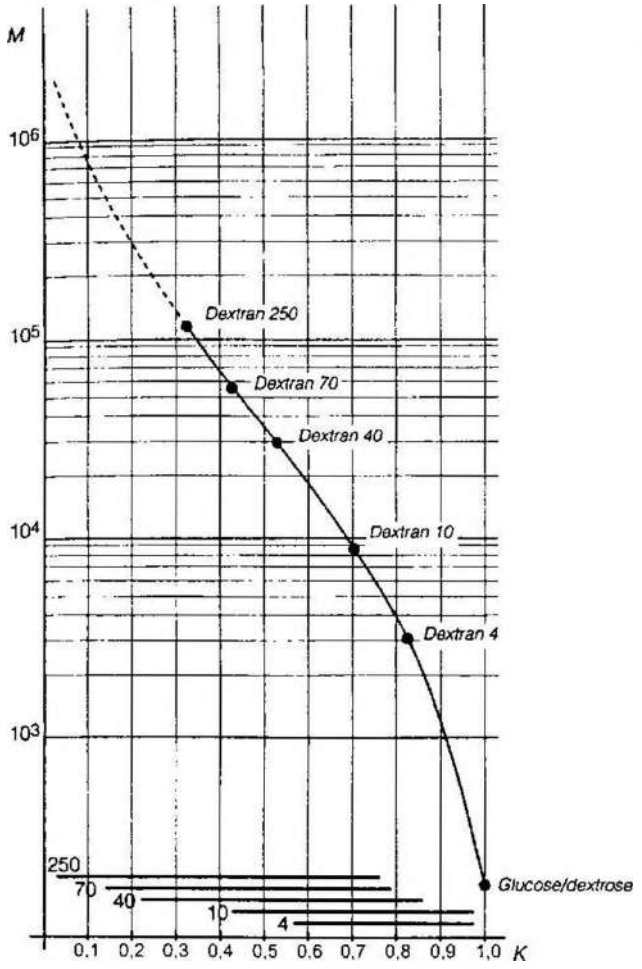
V_t là thể tích thẩm tổng của cột, được xác định bởi pic tương ứng với dextrose trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch đánh dấu;

V_i là thể tích rửa giải của phần i trong sắc ký đồ thu được với mỗi dung dịch chuẩn.

Tiến hành hiệu chuẩn sử dụng một trong những phương pháp dưới đây:

Vẽ đường cong chuẩn

Với mỗi chất đối chiếu hóa học dextran dùng cho hiệu chuẩn, tính hệ số phân bố K_{max} tương ứng với chiều cao cực đại của đường sắc ký, sử dụng công thức (1). Trên giấy kẻ ô bán logarit đặt các giá trị của K_{max} (trục x) tương ứng với khối lượng phân tử ghi trên nhãn của mỗi chất dextran hiệu chuẩn và của dextrose; những giá trị này được lấy tại điểm cao nhất của đường sắc ký (M_{max}). Vẽ đường cong chuẩn đầu tiên qua những điểm thu được, ngoại suy từ điểm K_{max} thu được với chất đối chiếu hóa học dextran 250 dùng cho hiệu chuẩn tới giá trị K thấp nhất thu được từ chất đối chiếu hóa học này (xem Hình 5.5.1). Sử dụng đường cong chuẩn đầu tiên này, chuyển tất cả các giá trị K_i ở mỗi sắc ký đồ sang khối lượng phân tử tương ứng M_i để thu được sự phân bố khối lượng phân tử. Tính khối lượng phân tử trung bình M_n cho mỗi loại dextran đối chiếu hóa học sử dụng phương trình (3) dưới đây. Nếu giá trị thu được đối với M_n không khác hơn 5 % so với giá trị công bố của mỗi dextran và mức khác biệt trung bình là ± 3 %, đường cong chuẩn được chấp nhận. Nếu không đạt yêu cầu đó, chuyển dịch đường cong chuẩn dọc theo trục y và lặp lại tiến trình này cho tới khi các giá trị M_n thu được và giá trị công bố không khác nhau lớn hơn 5 %.



Hình 5.5.1- Ví dụ về đường cong chuẩn. Đường chấm chấm tương ứng với phần đường cong ngoại suy. Đường nằm ngang ở dưới cùng của đồ thị thể hiện độ rộng và vị trí của đường sắc ký thu được tương ứng với mỗi dextran chuẩn.

Tính qua đường cong chuẩn

Tính từ phương trình (2) và (3) dưới đây, sử dụng phương pháp thích hợp[1], các giá trị b_1, b_2, b_3, b_4 và b_5 cho phép thu được giá trị M_w nằm trong khoảng 5 % của tất cả những giá trị công bố từ mỗi dextran chuẩn và khối lượng phân tử của dextrose nằm trong khoảng 180 ± 2.

$$M_i = b_5 + e^{(b_4 + b_1 K_i - b_2 K_i^2 + b_3 K_i^3)} \qquad (2)$$

$$M_w = \frac{\sum_{i=1}^{p} (y_i M_i)}{\sum_{i=1}^{p} y_i} \qquad (3)$$

Trong đó:

p là số phân đoạn chia trong sắc ký đồ;

y_i là chiều cao của đường sắc ký phía trên đường nền trong phân đoạn i;

M_i là khối lượng phân tử trong phân đoạn i.

Tính phù hợp của hệ thống

Tiêm một thể tích nhất định dung dịch thử tính phù hợp hệ thống thích hợp.

Khối lượng phân tử trung bình của chất đối chiếu hóa học dextran dùng cho thử hiệu năng

Tính khối lượng phân tử trung bình M_w như đã trình bày trong phần hiệu chuẩn hệ sắc ký, sử dụng đường cong chuẩn hoặc các giá trị thu được ở trên đối với b_1, b_2, b_3, b_4, b_5. Phép thử chỉ có giá trị khi M_w nằm trong khoảng 41 000 đến 47 000 (chất đối chiếu hóa học dextran 40 dùng cho chuẩn hiệu năng) và 67 000 đến 75 000 (chất đối chiếu hóa học dextran 60/70 dùng cho chuẩn hiệu năng).

Khối lượng phân tử trung bình của dextran phân đoạn cao 10 %

Tính M_w đối với dextran phân đoạn cao 10 % được rửa giải qua phần thứ n sử dụng công thức:

$$M_w = \frac{\sum_{i=1}^{n} (y_i M_i)}{\sum_{i=1}^{n} y_i} \qquad (4)$$

Với n được xác định như sau:

$$\sum_{i=1}^{n} y_i \le 0{,}1 \left(\sum_{i=1}^{p} y_i \right) \qquad (5)$$

$$\sum_{i=1}^{n+1} y_i > 0{,}1 \left(\sum_{i=1}^{p} y_i \right) \qquad (6)$$

Trong đó:

p là số phần chia trong sắc ký đồ;

y_i là chiều cao đường sắc ký phía trên đường nền trong phần i;

M_i là khối lượng phân tử của phần i.

Phép thử chỉ có giá trị khi M_w của dextran phân đoạn cao nằm trong khoảng: 110 000 đến 130 000 (chất đối chiếu hóa học dextran 40 dùng cho hiệu chuẩn) và 190 000 đến 230 000 (chất đối chiếu hóa học dextran 60/70 dùng cho hiệu chuẩn).

Khối lượng phân tử trung bình của dextran phân đoạn thấp 10 %

Tính M_w đối với dextran phân đoạn thấp 10 % rửa giải trong và sau phần thứ m theo công thức sau:

$$M_w = \frac{\sum_{i=m}^{p} (y_i M_i)}{\sum_{i=m}^{p} y_i} \qquad (7)$$

Trong đó:

m được xác định như sau:

$$\sum_{i=m}^{p} y_i \le 0{,}1 \left(\sum_{i=1}^{p} y_i \right) \qquad (8)$$

$$\sum_{i=m-1}^{p} y_i > 0{,}1\left(\sum_{i=1}^{p} y_i\right) \qquad (9)$$

p là số phần chia trong sắc ký đồ;
y_i là chiều cao đường sắc ký phía trên đường nền trong phần i;
M_i là khối lượng phân tử của phần i.
Phép thử chỉ có giá trị khi M_n của dextran phân đoạn thấp 10 % là: 6 000 đến 8 500 (chất đối chiếu hóa học dextran 40 dùng cho chuẩn hiệu năng) và 7 000 đến 11 000 (chất đối chiếu hóa học dextran 60/70 dùng cho chuẩn hiệu năng).

Sự phân bố khối lượng phân tử của dextran được phân tích

Tiêm một thể tích nhất định dung dịch (1) và tính M_w của phân bố tổng khối lượng phân tử, M_w của dextran phân đoạn cao 10 % và M_n của dextran phân đoạn thấp 10 % như chỉ dẫn trong phần thử tính phù hợp của hệ thống.

[1] Phương pháp lặp như phương pháp Gauss – Newton cải tiến bởi Hartley là phù hợp [Xem O Hartley, *Technometrics*, 3 (1961) and G Nilsson and K Nilsson, *J.Chromat.* 101, 137 (1974)]. Một chương trình đường cong thích hợp xử lý tương quan hồi quy không tuyến tính chạy trên máy tính điện tử có thể được sử dụng.

5.6 PHƯƠNG PHÁP ĐIỆN DI

Điện di là hiện tượng liên quan đến sự di chuyển của các protein, các colloid, các phân tử, hay các tiểu phân tích điện hòa tan hoặc phân tán trong dung dịch điện giải khi có dòng điện đi qua.
Điện di được chia thành hai loại tùy theo thiết bị sử dụng: Điện di dung dịch tự do hay điện di với sự chuyển dịch của các lớp biên và điện di vùng.
Trong phương pháp điện di dung dịch tự do, dung dịch đệm của các protein trong một ống hình chữ U dưới tác dụng của dòng điện sẽ hình thành nên các lớp protein có linh độ giảm dần. Chỉ phần di chuyển nhanh nhất của protein sẽ tách rõ rệt khỏi các protein khác, kiểm tra sự dịch chuyển của các lớp biên bằng hệ thống quang học sẽ cung cấp các dữ liệu để tính toán linh độ điện di và các thông tin về mặt định tính và định lượng của thành phần hỗn hợp protein.
Trong điện di vùng, mẫu được đưa vào dưới dạng một dải hẹp hay điểm trong cột, trên tấm phẳng, hay trên một lớp phim chứa đệm. Sự di chuyển của các thành phần trong các dải hẹp cho phép tách hoàn toàn chúng. Có thể tránh sự chồng lấn giữa các dải hẹp do sự đối lưu nhiệt bằng cách đưa chất điện giải vào các nền (matrix) xốp như chất rắn dạng bột, hay nguyên liệu dạng sợi như giấy, hay gel như tinh bột, agar hoặc polyacrylamid.
Các phương pháp điện di vùng có ứng dụng rộng rãi. Điện di gel, đặc biệt là điện di đĩa được sử dụng để tách protein do khả năng cho độ phân giải cao.
Sự di chuyển điện di của các tiểu phân của một chất nhất định phụ thuộc vào tính chất của tiểu phân mà chủ yếu là điện tích, kích thước hay khối lượng phân tử và hình dạng của các tiểu phân cũng như các tính chất và các thông số thực nghiệm của hệ thống. Những thông số này bao gồm: pH, nồng độ ion, độ nhớt và nhiệt độ của chất điện giải, mật độ hoặc độ liên kết chéo của các matrix nền như gel và điện thế áp đặt.

Ảnh hưởng của điện tích, kích thước tiểu phân, độ nhớt của chất điện giải và biến thiên điện thế

Các tiểu phân tích điện sẽ di chuyển về phía điện cực ngược dấu với chúng, sự di chuyển của các phân tử tích cả điện dương và điện âm phụ thuộc vào điện tích mạng. Tốc độ di chuyển tỷ lệ thuận với độ lớn của điện tích mạng trên tiểu phân và tỷ lệ nghịch với kích thước tiểu phân, mà kích thước tiểu phân lại có liên quan trực tiếp với phân tử lượng. Những tiểu phân hình cầu lớn, khi định luật Stoke có giá trị, linh độ điện di μ_0 sẽ tỷ lệ nghịch với bán kính của tiểu phân theo phương trình:

$$\mu_0 = \frac{v}{E} = \frac{Q}{6\pi r\eta}$$

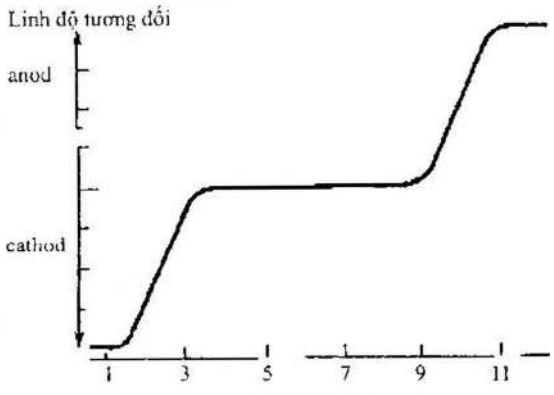
Trong đó v là vận tốc của tiểu phân, E là thế đặt lên chất điện giải, Q là điện tích của tiểu phân, r là bán kính tiểu phân và η là độ nhớt của dung dịch chất điện giải.
Phương trình này chỉ có giá trị giới hạn ở độ pha loãng nhất định và không có sự hiện diện của các nền như giấy hoặc gel. Các ion và peptid có trọng lượng phân tử lớn hơn 5000, đặc biệt khi có mặt môi trường nền, không tuân theo định luật Stoke và linh độ điện di của chúng được biểu thị bằng phương trình:

$$\mu_0 = \frac{Q}{A\pi r^2\eta}$$

Trong đó A là thừa số hình dạng, thay đổi trong khoảng từ 4 - 6, biểu thị sự phụ thuộc tỷ lệ nghịch của linh độ điện di đối với bình phương bán kính tiểu phân. Về mặt khối lượng phân tử, linh độ điện di sẽ tỷ lệ nghịch với căn bậc ba của bình phương khối lượng phân tử.

Ảnh hưởng của pH

Hướng và tốc độ di chuyển của phân tử có nhiều nhóm chức có thể bị ion hóa như acid amin và protein sẽ phụ thuộc vào pH của dung dịch chất điện giải. Ví dụ: Linh độ điện di của acid amin đơn giản như glycin sẽ thay đổi theo giá trị pH gần đúng như trong Hình 5.6.1.



Hình 5.6.1

Giá trị pK_a bằng 2,2 và 9,9 trùng với điểm uốn trên biểu đồ. Do nhóm chức bị ion hóa 50 % ở giá trị pH = pKa, nên linh độ điện di ở những điểm này sẽ bằng 1/2 giá trị quan sát được khi cation và anion bị ion hóa hoàn toàn lần lượt ở pH rất thấp và pH rất cao. Ion lưỡng cực tồn tại ở khoảng pH trung gian là những chất trung hòa về điện và có linh độ điện di bằng 0.

Ảnh hưởng của lực ion và nhiệt độ

Linh độ điện di sẽ giảm khi tăng lực ion của chất điện giải nền. Hoạt độ ion μ được xác định theo phương trình:

$$\mu = 0{,}5\sum C_i Z_i^2$$

Trong đó C_i là nồng độ ion (mol/l), Z_i là hóa trị và tổng được tính với tất cả các ion trong dung dịch. Đối với dung dịch đệm có cả anion và cation hóa trị 1 thì lực ion được xác định bằng nồng độ mol.

Lực ion của chất điện giải dùng trong điện di nói chung nằm trong dãy từ khoảng 0,01 đến 0,10. Hoạt độ ion thích hợp phụ thuộc một phần vào thành phần của mẫu thử, do đó dung lượng đệm phải đủ lớn để duy trì pH hằng định trên điện tích của các dải hợp phần. Các dải hợp phần trở nên sắc nét hơn và hẹp hơn khi lực ion tăng.

Nhiệt độ ảnh hưởng gián tiếp lên linh độ, vì độ nhớt η của chất điện giải nền phụ thuộc vào nhiệt độ. Độ nhớt của nước sẽ giảm theo tỷ lệ khoảng 3 %/ °C trong vùng từ 0 °C đến 5 °C và tỷ lệ giảm này sẽ thấp hơn khi ở nhiệt độ phòng. Bởi vậy, linh độ điện di sẽ tăng cùng với sự tăng nhiệt độ của chất điện giải.

Nhiệt giải phóng là đáng kể khi dòng điện chạy qua chất điện giải. Nhiệt này tăng cùng với sự tăng thế đặt và lực ion tăng. Ở các thiết bị lớn, cho dù có bộ phận làm lạnh, nhiệt giải phóng vẫn tạo nên sự biến thiên về nhiệt độ ở bể điện di, dẫn đến làm biến dạng các dải phân cách. Bởi vậy, cần quan tâm thiết kế các dụng cụ đặc biệt tính đến lực ion và thế đặt.

Ảnh hưởng của môi trường nền, dòng điện thẩm

Khi dòng điện chạy qua chất điện giải chứa trong ống thủy tinh hoặc chứa giữa các bản thủy tinh hoặc bản plastic thì xuất hiện dòng chất điện giải hướng về phía đầu một điện cực, gọi là dòng điện thẩm. Dòng điện thẩm được hình thành do điện tích trên bề mặt của thành dụng cụ phát sinh do quá trình ion hóa các nhóm chức trong vật liệu hay do các ion hấp phụ trên thành buồng điện di chứa các chất điện giải. Hiệu ứng này thường tăng khi buồng điện di chứa các chất xốp như gel, được sử dụng để làm ổn định cho chất điện giải nền và để phòng hiện tượng xáo trộn các dải phân tách do sự đối lưu nhiệt và hiện tượng khuếch tán. Dung dịch ngay sát trên bề mặt sẽ hình thành điện tích bằng nhưng ngược dấu với điện tích trên bề mặt và điện trường đi qua buồng điện di sẽ tạo nên sự chuyển động của dung dịch về phía điện cực ngược dấu.

Các chất thường được sử dụng làm môi trường nền trong điện di vùng sẽ tạo điện tích âm trên bề mặt, dòng điện thẩm của chất điện giải sẽ di chuyển về phía cathod. Vì vậy tất cả các vùng, bao gồm cả các chất trung tính sẽ di chuyển về phía cathod trong quá trình điện di.

Mức độ thẩm thấu sẽ thay đổi khi các chất nền thay đổi. Độ thẩm thấu thay đổi đáng kể đối với gel agar và thay đổi không đáng kể đối với gel polyacrylamid.

Sự rây phân tử

Khi không có sự hiện diện của môi trường nền hay trong trường hợp môi trường rất xốp thì sự tách điện di của các phân tử là do sự khác nhau về tỷ lệ của điện tích với kích thước phân tử. Nếu có sự hiện diện của chất nền, sự khác nhau về khả năng hấp phụ hay ái lực của phân tử đối với môi trường tạo nên hiệu ứng sắc ký có thể làm tăng hiệu quả tách.

Hiệu ứng rây phân tử sẽ xuất hiện nếu môi trường nền là các loại gel có sự phân nhánh nhiều đến mức tạo thành các lỗ xốp để tách các phân tử theo kích thước. Hiệu ứng này tương đương hiệu ứng thu được trong quá trình tách thẩm thấu gel hay sắc ký rây phân tử, nhưng trong điện di gel hiệu ứng này chồng lên quá trình tách điện di. Có thể nhận thấy sự rây phân tử do cản trở không gian đối với sự di chuyển của các phân tử lớn. Các phân tử nhỏ di chuyển qua các lỗ xốp có kích thước lớn, nên sự điện di qua gel không bị cản trở. Khi kích thước phân tử tăng, một số ít hơn các lỗ xốp cho phép các phân tử đi qua, làm chậm sự di chuyển của các phân tử có trọng lượng phân tử lớn.

Điện di gel

Quá trình sử dụng một gel như agar (thạch), tinh bột hay polyacrylamid làm môi trường nền được hiểu theo nghĩa rộng là điện di gel. Phương pháp này đặc biệt thuận lợi cho sự tách các protein. Sự tách này đạt được tùy thuộc vào tỷ lệ điện tích đối với kích thước phân tử đi đôi với hiệu ứng rây phân tử phụ thuộc chủ yếu vào khối lượng phân tử.

Gel polyacrylamid được sử dụng nhiều do có một số thuận lợi. Nó có đặc tính ít hấp phụ và tạo nên hiệu ứng dòng điện thẩm không đáng kể. Các gel với dải rộng các lỗ xốp có kích thước khác nhau có thể được điều chế bằng cách thay đổi nồng độ gel tổng cộng (dựa trên monomer kết hợp với các yếu tố tạo mạch nhánh) và phần trăm của chất tạo mạch nhánh dùng để tạo gel. Lượng các chất được biểu thị bằng phương trình sau:

$$T(\%) = \frac{a+b}{V}100$$

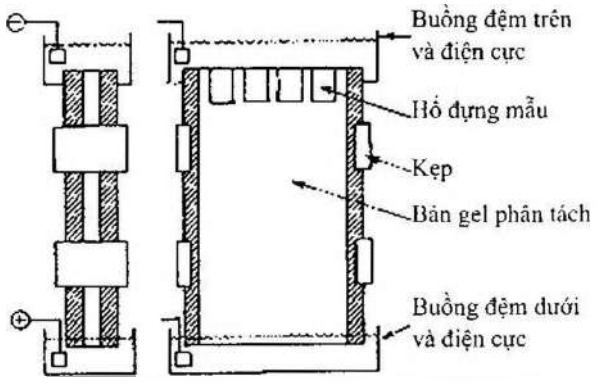
$$C(\%) = \frac{b}{a+b}100$$

Trong đó T là nồng độ gel tổng cộng (%), C là phần trăm tác nhân tạo mạch nhánh dùng để tạo gel, V là thể tích (mL) của đệm dùng điều chế gel, a và b là khối lượng (g) của monomer (acrylamid) và tác nhân tạo mạch nhánh (thường dùng N,N'-methylenbisacrylamid) dùng điều chế gel. Các gel thích hợp có nồng độ trong khoảng 3 % - 30 %. Tổng tác nhân tạo mạch nhánh thường chiếm khoảng 1/10

đến 1/20 lượng monomer (C = từ 10 % đến 5 %), tỷ lệ phần trăm nhỏ hơn được dùng cho giá trị cao hơn của T.
Trong quá trình điều chế gel, bể của dụng cụ điện di chứa dung dịch nước của monomer và tác nhân tạo mạch nhánh, thường được cân bằng bằng dung dịch đệm đến pH mong muốn trong những lần chạy cuối và được polymer hóa tại chỗ bằng quá trình gốc tự do. Quá trình polymer hóa được kích hoạt bởi quá trình hóa học, thông thường sử dụng amoni persulfat kết hợp với N,N,N',N'-tetramethylendiamin hay quang hóa hỗn hợp riboflavin và N,N,N',N'-tetramethylendiamin. Quá trình polymer hóa bị cản trở bởi các phân tử oxy và môi trường acid. Lựa chọn thành phần của gel và điều kiện polymer hóa phải bảo đảm chất lượng của gel.

Thiết bị cho điện di gel

Nói chung bể hay môi trường để thực hiện quá trình điện di có thể được đặt theo phương thẳng đứng hay nằm ngang tùy theo thiết kế của thiết bị. Để so sánh sự tách có thể thực hiện trong một số ống riêng biệt hay đưa các mẫu khác nhau vào các hố kề bên nhau vào khuôn hay cắt vào phiến của gel. Phiến gel thẳng đứng như mô tả trong Hình 5.6.2 thuận lợi cho sự so sánh trực tiếp một số mẫu.



Hình 5.6.2 - Thiết bị điện di gel phiến thẳng đứng

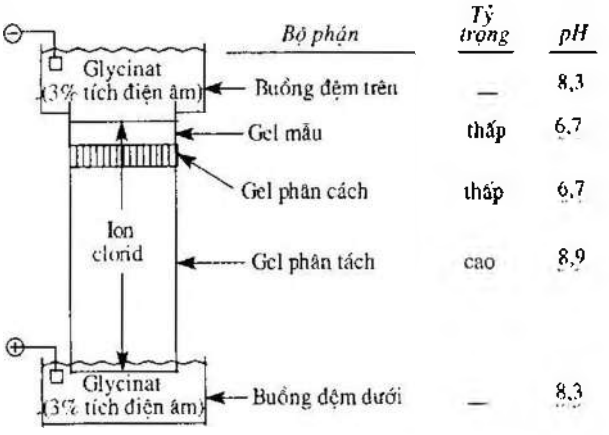
Tốt nhất là sự so sánh các mẫu trong cùng một bản gel, như vậy sẽ đồng nhất hơn về mặt thành phần so với các khuôn gel trong nhiều bể điện di.
Đặc tính của nhiều loại thiết bị là phải hàn kín buồng đệm phía dưới với chân đế của bể điện di, cho phép mức đệm trong buồng đệm phía dưới bằng mức đệm trong buồng đệm phía trên để loại trừ áp suất thủy tĩnh trên gel. Ngoài ra có một vài bộ phận tuần hoàn làm lạnh cả hai mặt bể điện di gel.
Để điều chế gel, buồng gel được đậy bằng nắp thích hợp có chứa dung dịch monomer, tác nhân tạo mạch nhánh và chất xúc tác. Một cái lược có răng với kích thước thích hợp được đặt lên phía trên và cho phép quá trình polymer hóa xảy ra hoàn toàn. Sau khi lấy lược ra sẽ tạo thành các hố trên bản gel được polymer hóa.
Trong điện di gel đơn giản, chỉ sử dụng một dung dịch đệm cho vào buồng đệm phía trên và phía dưới giống nhau. Sau khi cho dung dịch đệm vào buồng đệm, mẫu được hòa tan trong nước đường hay dung dịch đặc và hơi nhớt khác để để phòng sự khuếch tán. Sau đó mẫu được đưa vào đáy các hố dựng mẫu bằng bơm tiêm hay micropipet và bắt đầu thực hiện quá trình điện di.

Điện di đĩa

Điện di gel polyacrylamid sử dụng một dãy không liên tục các đệm và cũng thường sử dụng nhiều lớp gel không liên tục, được gọi là điện di đĩa. Tên của phương pháp xuất phát từ dạng hình dạng đĩa của các dải hẹp được tạo thành. Do tạo thành các dải hẹp, nên kỹ thuật này có độ phân giải đặc biệt cao và thường được sử dụng trong phân tích đặc tính của hỗn hợp protein và phát hiện tạp chất mà có thể có linh độ gần thành phần chính.
Cơ sở của điện di đĩa được trình bày trong phần sau có liên quan đến các hệ anion thích hợp cho việc phân tách protein mang điện tích âm. Để hiểu được điện di đĩa cần phải có kiến thức chung về điện di và dụng cụ đã được mô tả.

Cơ sở của điện di đĩa

Độ phân giải cao thu được trong điện di đĩa phụ thuộc vào việc sử dụng hệ đệm không liên tục về pH và thành phần. Thường phối hợp hai hoặc ba gel khác nhau về tỷ trọng.
Hệ thống điển hình được mô tả trong Hình 5.6.3.



Hình 5.6.3 - Thuật ngữ, pH đệm và thành phần đệm cho điện di đĩa acrylamid

Gel phân tách có chiều cao vài cm với tỷ trọng cao (T = 10 % - 30 %) được polymer hóa trong đệm tris-clorid trong bể của thiết bị. Trong quá trình polymer hóa đệm được phủ lên một lớp nước mỏng để để phòng hiện tượng tạo thành mặt khum trên bề mặt của gel. Lớp nước phủ lên sau đó được loại đi, lớp gel mỏng tỷ trọng thấp (T = 3 %), có bề dày 3 mm đến 10 mm được gọi là khoảng trống hay gel phân cách, được polymer hóa trong đệm tris-clorid trên mặt của gel phân tách. Lớp nước phủ phía trên lại tiếp tục được sử dụng để tạo mặt phẳng. Mẫu được trộn với một lượng nhỏ dung dịch monomer dùng để tạo gel phân cách, đổ lên mặt của gel phân cách và được polymer hóa. pH của gel phân tách thường là 8,9, trong khi

đó pH của gel phân cách và gel chứa mẫu là 6,7. Tất cả ba loại gel này được điều chế dùng clorid làm anion.
Dung dịch đệm chứa trong buồng chứa đệm phía trên và phía dưới có pH là 8,3 và được điều chế từ tris và glycin. Ở pH này khoảng 3 % phân tử glycin mang điện tích âm.
Khi đặt điện thế lên hệ thống, lớp tiếp giáp glycinat-clorid sẽ di chuyển theo hướng đi xuống và về phía anod. Lớp tiếp giáp bắt đầu ở vị trí lớp tiếp xúc của buồng chứa đệm phía trên và đỉnh của lớp gel chứa mẫu. Tại đây ion clorid do có kích thước nhỏ nên sẽ di chuyển nhanh hơn bất kỳ protein nào hiện diện trong mẫu. pH của lớp gel mẫu và lớp gel phân cách được chọn phải thấp hơn giá trị pKa cao của glycin khoảng 3 đơn vị. Do vậy, khi băng qua các lớp gel này, chỉ có khoảng 0,1 % phân tử glycin tích điện âm. Cho nên, glycin sẽ di chuyển chậm hơn clorid. Khuynh hướng dịch chuyển nhanh hơn của clorid khỏi glycinat làm giảm nồng độ nơi tiếp giáp, tạo nên sự giảm thế nhiều hơn ở lớp tiếp giáp, điều này làm cho glycinat bắt kịp ion clorid. Trong điều kiện này, lớp tiếp giáp rất hẹp được duy trì, và khi đó nó di chuyển qua lớp gel mẫu thử và lớp gel phân cách, các protein trong mẫu thử ở lớp tiếp giáp sắp xếp thành lớp rất mỏng theo thứ tự về linh độ. Quá trình này là nguồn gốc của việc các đĩa được phân tách.
Các protein được sắp xếp theo trình tự khi tiếp xúc với gel phân tách tỷ trọng cao, chúng sẽ di chuyển chậm lại do quá trình rây phân tử. pH cao hơn trong gel phân tách làm cho glycinat di chuyển nhanh hơn, đến mức độ làm cho lớp tiếp xúc của các đệm không liên tục sẽ vượt qua các protein và cuối cùng sẽ tiếp xúc với đáy của gel phân tách. Trong chu trình này, các đĩa protein tiếp tục phân tách bằng quá trình điện di và quá trình rây phân tử trong gel phân tách. Kết thúc quá trình tách, pH của gel phân tách sẽ tăng từ giá trị ban đầu là 8,9 lên khoảng pH 9,5.

Linh độ tương đối

Bromophenol xanh thường được sử dụng như là một chuẩn để tính toán linh độ tương đối của các dải phân tách và để quan sát các quá trình tách. Nó có thể được thêm vào trong hố đựng mẫu hoặc trộn lẫn với mẫu, hoặc đơn giản được thêm vào dung dịch đệm ở buồng chứa đệm phía trên.
Linh độ tương đối M_B được tính toán như sau:

$$M_B = \frac{a}{b}$$

Trong đó:
a là khoảng cách từ mốc xuất phát đến vùng mẫu và b là khoảng cách từ mốc xuất phát đến vùng bromophenol xanh.

Quan sát các vùng phân tách

Do polyacrylamid trong suốt, nên các dải protein có thể được quan sát bằng đo mật độ quang với ánh sáng UV. Các vùng có thể cố định bằng cách nhúng vào các dung dịch làm tủa protein như acid phosphotungstic hoặc acid tricloracetic 10 %. Các thuốc thử hiện màu được sử dụng bao gồm naphthalen đen (amido đen) và Coomassie lam sáng R250. Những vùng được cố định hay có màu có thể được quan sát một cách thuận lợi và được chụp ảnh với ánh sáng truyền qua từ nguồn phát tia X.

Những điều an toàn cần chú ý

Thế sử dụng trong điện di có thể gây sốc chết người. Nguy cơ này sẽ tăng do sử dụng dung dịch đệm nước và điều kiện môi trường làm việc ẩm ướt.
Bộ phận cung cấp nguồn của thiết bị cần được bao lại trong các lồng kim loại có dây nối đất hoặc cần được chế tạo bằng các vật liệu cách điện, các lồng kim loại này cần có chốt tự cắt nguồn khi mở nắp thiết bị.
Vì sự nguy hiểm của thế cao áp, nhân viên phòng thí nghiệm cần làm quen với thiết bị trước khi sử dụng chúng.

5.7 PHƯƠNG PHÁP ĐIỆN DI MAO QUẢN

Điện di là hiện tượng di chuyển của tiểu phân tích điện hòa tan hay phân tán trong chất điện giải khi có dòng điện đi qua. Cation di chuyển về phía cực âm (cathod), anion di chuyển về phía cực dương (anod). Các phân tử không tích điện không bị hút về phía hai điện cực.
Trong phương pháp điện di mao quản (CE) việc sử dụng mao quản để làm kênh di chuyển cho phép thực hiện quá trình tách điện di trên một thiết bị có thể so sánh với thiết bị của sắc ký lỏng hiệu năng cao. Tuy nhiên, vẫn còn những khác biệt rõ rệt về cách vận hành, những điểm thuận lợi và không thuận lợi so với sắc ký lỏng hiệu năng cao. Quá trình vận hành của CE điển hình với mao quản mà mặt trong thành mao quản không có lớp bao và mao quản chứa dung dịch "đệm làm việc", thì nhóm silanol hiện diện trên thành phía trong của mao quản thủy tinh sẽ giải phóng ion hydrogen vào dung dịch đệm và bề mặt thành mao quản sẽ tích điện âm ngay cả ở pH rất thấp. Cation hay các chất hòa tan tích điện dương một phần trong môi trường bị hút tĩnh điện vào thành mao quản tích điện âm tạo nên một lớp điện tích kép. Quá trình điện di bắt đầu bằng cách đặt thế trên chiều dài cột mao quản làm cho phần dung dịch của lớp điện tích kép di chuyển về phía đầu cathod của mao quản kéo theo khối dung dịch. Sự chuyển động của khối dung dịch dưới tác dụng của lực điện trường được gọi là dòng điện thẩm (electroosmotic flow - EOF). Mức độ ion hóa của nhóm silanol trên thành mao quản phụ thuộc chủ yếu vào pH của dung dịch đệm làm việc và các chất điều chỉnh được thêm vào chất điện giải. Ở pH thấp, nhóm silanol nói chung có độ ion hóa thấp và dòng EOF nhỏ. Ở pH cao hơn, nhóm silanol bị ion hóa nhiều hơn và dòng EOF tăng. Trong một số trường hợp, các dung môi hữu cơ như methanol hay acetonitril được cho thêm vào dung dịch đệm để làm tăng độ tan của các chất hòa tan và các chất phụ gia hay để ảnh hưởng đến mức độ ion hóa của mẫu. Nói chung, việc thêm các chất điều chỉnh hữu cơ sẽ làm giảm dòng EOF. Detector được đặt về phía đầu cathod của mao quản. Dòng EOF thường lớn hơn linh độ điện di. Do vậy, ngay cả anion cũng bị đẩy về phía cathod và detector. Khi sử dụng đệm phosphat pH 7,0 ở mao quản không có lớp bao, thông thường trình tự xuất hiện các chất tan trong điện di đồ là các cation, các chất trung tính và các anion.

Hiện nay, có 5 loại chủ yếu của điện di mao quản:
Điện di mao quản vùng (capillary zone electrophoresis - CZE) còn gọi là điện di dung dịch tự do hay điện di mao quản dòng tự do.
Sắc ký mixen điện động, còn gọi là sắc ký điện động mixen (micellar electrokinetic chromatography - MEKC).
Điện di mao quản gel (capillary gel electrophoresis - CGE).
Điện di mao quản hội tụ đẳng điện (capillary isoelectric focusing - CIEF)
Điện di mao quản đẳng tốc (capillary isotachophoresis - CITP).
Trong **điện di mao quản vùng**, quá trình tách được kiểm soát bằng sự khác nhau về linh độ tương đối của từng thành phần trong mẫu thử hoặc dung dịch thử. Linh độ là hàm số của điện tích chất phân tích và kích thước trong điều kiện nhất định của phương pháp. Chúng được tối ưu hóa bằng cách kiểm soát các thành phần của đệm, pH và lực ion.
Trong **sắc ký mixen điện động**, các chất hoạt động bề mặt được thêm vào dung dịch đệm làm việc ở nồng độ lớn hơn nồng độ mixen tới hạn. Các chất phân tích có thể phân bố trong pha tĩnh giả do mixen tạo thành. Kỹ thuật này thường được ứng dụng để tách các chất trung tính và các ion.
Trong **điện di mao quản gel**, tương tự như lọc gel, sử dụng các mao quản chứa gel để tách các phân tử, dựa trên cơ sở sự khác nhau tương đối về khối lượng phân tử hay kích thước phân tử. Nó được dùng chủ yếu để tách các protein, peptid và các oligomer. Các gel có ưu điểm là làm giảm dòng EOF và đồng thời làm giảm một cách đáng kể sự hấp phụ protein trên thành phía trong của mao quản, do đó làm giảm đáng kể hiệu ứng bất đối của pic.
Trong **điện di mao quản hội tụ đẳng điện**, các chất được tách trên cơ sở sự khác nhau tương đối về điểm đẳng điện. Nó được thực hiện bằng cách biến đổi pH đệm để thu được các vùng mẫu thử ở trạng thái bền (pH thấp ở anod và pH cao ở cathod). Quá trình biến đổi được xác lập bằng cách đặt thế vào mao quản chứa hỗn hợp thành phần của các chất mang bao gồm các chất lưỡng cực có giá trị pI khác nhau.
Trong **điện di mao quản đẳng tốc** sử dụng hai đệm bao quanh các vùng chất phân tích. Cả anion và cation có thể tách thành những vùng rõ rệt. Ngoài ra, nồng độ chất phân tích như nhau trong mỗi vùng. Như vậy, chiều dài của mỗi vùng sẽ tỷ lệ thuận với lượng chất phân tích.
Hai kỹ thuật điện di mao quản thường được sử dụng nhiều nhất là điện di mao quản vùng và sắc ký mixen điện động. Chúng được đề cập một cách tóm tắt trong các phần sau.

Nguyên lý của điện di mao quản vùng

Điện di mao quản vùng sử dụng nguyên lý của điện di và điện thẩm để tách các tiểu phân tích điện.
Linh độ điện di của ion (μ_{EP}), được biểu diễn bằng phương trình:

$$\mu_{EP} = q/(6\pi\eta r)$$

Trong đó q là điện tích của ion, η là độ nhớt dung dịch và r là bán kính của ion hydrat hóa. Từ mối liên hệ này suy ra, chất phân tích kích thước nhỏ, điện tích lớn có linh độ lớn. Chất phân tích kích thước lớn, điện tích nhỏ có linh độ thấp.
Tốc độ di chuyển (v_{EP}), tính bằng cm/s, được biểu thị bằng phương trình:

$$v_{EP} = \mu_{EP}(V / L)$$

Trong đó μ_{EP} là linh độ điện di, V là điện thế đặt và L là chiều dài (cm) tổng cộng của mao quản.
Tốc độ của EOF (v_{EO}), tính bằng cm/s, được biểu diễn bằng phương trình:

$$v_{EO} = \mu_{EO}(V / L)$$

Trong đó μ_{EO} là linh độ của EOF (hệ số của dòng EOF) và các ký hiệu khác được định nghĩa như trên.
Thời gian (t), tính bằng giây, cần thiết cho chất tan di chuyển trên toàn bộ chiều dài hiệu dụng (*l*) của mao quản (từ đầu vào đến detector), *t* được biểu thị bằng hệ thức sau:

$$t = l/[E(\mu_{EP} + \mu_{EO})] = lL/[V(\mu_{EP} + \mu_{EO})]$$

Trong đó E là cường độ điện trường và các ký hiệu khác được định nghĩa như ở trên.
Hiệu lực của hệ thống điện di có thể liên quan đến linh độ, dòng EOF và được biểu thị bằng số đĩa lý thuyết (N), được tính bằng phương trình:

$$N = (\mu_{EP} + \mu_{EO})V / (2D)$$

Trong đó D là hệ số khuếch tán của chất hòa tan và các ký hiệu khác được định nghĩa như trên.
Độ phân giải (R) của hai chất hòa tan được rửa giải kế tiếp nhau, có thể xác định bằng phương trình:

$$R = 0{,}18(\mu_{EP1} - \mu_{EP2})[V / D(\bar{\mu}_{EP} + \mu_{EO})]^{\frac{1}{2}}$$

Trong đó: μ_{EP1} và μ_{EP2} là linh độ của hai chất hòa tan; $\bar{\mu}_{EP}$ là linh độ trung bình của hai chất tan và các ký hiệu khác được định nghĩa như trên.

Nguyên lý của sắc ký mixen điện động

Trong MEKC, môi trường chất điện giải nền có chứa chất hoạt động bề mặt ở nồng độ cao hơn nồng độ mixen tới hạn (CMC). Trong môi trường nước, các chất hoạt động bề mặt tự ngưng kết và hình thành mixen gồm nhóm có đầu thân nước tạo nên một lớp áo bên ngoài và nhóm có đuôi không thân nước tạo nhân không phân cực ở bên trong mixen để cho các chất tan có thể phân bố. Nói chung, các mixen có những anion trên bề mặt ngoài, dưới tác dụng của điện thế áp đặt chúng di chuyển theo hướng ngược lại so với dòng EOF. Kiểu phân bố này tương tự với phân bố trong chiết xuất với dung môi hay trong sắc ký lỏng hiệu năng cao pha đảo. Sự phân bố khác nhau của các phân tử trung tính vào pha động nước và pha "tĩnh giả" mixen là cơ sở duy nhất cho quá trình tách. Dung dịch đệm và các mixen tạo thành hệ thống hai pha, chất tan có thể phân bố giữa hai pha này.
Hệ thống mixen thích hợp cho MEKC phải đáp ứng các tiêu chuẩn sau: Chất hoạt động bề mặt tan tốt trong đệm và dung dịch mixen đồng nhất và trong suốt đối với detector UV. Chất hoạt động bề mặt phổ biến nhất cho MEKC là natri dodecyl sulfat (chất hoạt động bề mặt anion). Những chất hoạt động khác bao gồm cetyltrimethylamoni bromid

(chất hoạt động bề mặt cation) và các muối mật (chất hoạt động bề mặt chiral). Độ chọn lọc của hệ thống MEKC chủ yếu tùy thuộc vào bản chất của chất hoạt động bề mặt. Dung môi hữu cơ thường thêm vào trong đệm MEKC để điều chỉnh hệ số dung lượng, tương tự như trong tách bằng sắc ký lỏng pha đảo. MEKC có thể sử dụng để tách các đồng phân đối quang. Để tách các đồng phân, trong dung dịch đệm được thêm vào các chất phụ gia chiral hoặc chất hoạt động bề mặt chiral như muối mật.

Kiến thức chung về sắc ký cột cổ điển sẽ hỗ trợ cho sự hiểu biết nguyên lý MEKC. Tuy vậy, trong MEKC, các mixen không thuần túy là pha tĩnh. Bởi vậy, lý thuyết sắc ký cột cần thiết phải được điều chỉnh. Sự điều chỉnh cơ bản đối với nguyên lí của MEKC là bản chất xác định của cửa sổ tách đối với các phân tử trung tính.

Thời gian lưu (t_R) đối với các chất trung tính được biểu diễn bằng phương trình sau:

$$t_R = (1 + k')t_0 / [1 + (t_0 / t_{MC})]$$

Trong đó, t_0 là thời gian yêu cầu đối với chất không lưu giữ đi qua chiều dài hiệu dụng của cột mao quản, t_{MC} là thời gian cần để mixen đi qua mao quản, k' là hệ số dung lượng và t_R luôn luôn ở giữa giá trị t_0 và t_{MC}.

Hệ số dung lượng (k') đối với các chất trung tính được tính theo phương trình:

$$k' = (t_R / t_0 - 1)/(1 - t_R / t_{MC})$$

Trong đó các ký hiệu được định nghĩa như trên.

Để áp dụng cho mục đích thực tiễn, k' được tính bằng phương trình:

$$k' = t_R / t_0 - 1$$

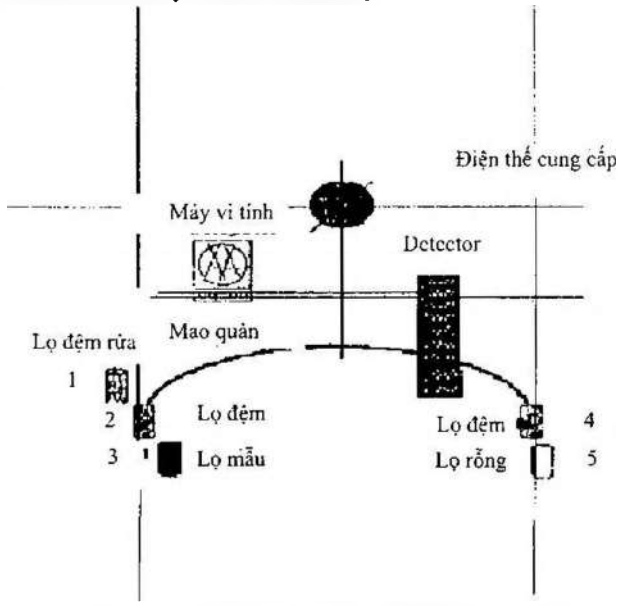
Trong đó t_R là thời gian được đo từ thời điểm đặt thế (hoặc điểm bắt đầu tiêm mẫu) đến thời điểm ứng với đỉnh pic tối đa, t_0 được đo từ điểm đặt thế (hoặc điểm bắt đầu tiêm mẫu) đến điểm biên phía trước của pic dung môi hay đến tín hiệu của chất không lưu giữ. k' trong MEKC có ý nghĩa nhất định và là đặc trưng của một chất tan nhất định trong hệ MEKC. Những bàn luận khác của k' được trình bày trong phần tính phù hợp hệ thống trong mục các thông số làm việc.

Độ phân giải (R_s) đối với các chất trung tính được tính bằng phương trình:

$$R_s = [(\sqrt{N})/4][(\alpha - 1)/\alpha][k'_2/(1 + k'_2)][(1 - (t_0 / t_{MC}))/(1 + (t_0 / t_{MC})k'_1)]$$

Trong đó α là độ chọn lọc, bằng tỷ số của k'_2 đối với k'_1 trong điều kiện cụ thể cho việc tách hai chất tan. Nếu hai chất tan rửa giải gần nhau ($\alpha \leq 1,1$), có thể dùng một trong hai trị giá k'. Phương trình chứng tỏ rằng, cũng như với sắc ký kinh điển, độ phân giải trong MEKC có thể được cải thiện qua việc kiểm soát hiệu lực của hệ thống, độ chọn lọc, sự lưu giữ và bản chất hóa học của các chất hoạt động bề mặt. Hạng tử cuối cùng của phương trình chính là khoảng rửa giải giới hạn. Mặc dầu MEKC đặc biệt hữu hiệu trong tách các chất trung tính, kỹ thuật này cũng có thể được áp dụng cho việc tách các chất tan tích điện. Quá trình sau đây liên quan đến sự phối hợp cơ chế tách giữa sắc ký và điện di. Tương tác giữa chất tan tích điện và mixen có thể được sử dụng để tối ưu hóa sự tách. Cặp ion có thể hình thành nếu như điện tích trên chất hoạt động bề mặt và chất tan là trái dấu nhau. Trong trường hợp ngược lại, chất hoạt động bề mặt và chất tan đẩy nhau. Sự khác biệt này có thể ảnh hưởng có ý nghĩa đến sự tách của các phân tử tích điện.

Các điều chú ý đối với thiết bị



Hình 5.7 - Cấu hình thiết bị CE điển hình

Hệ thống CE điển hình (Hình 5.7) bao gồm một mao quản bằng silica nung chảy có đường kính trong từ 50 µm đến 100 µm và chiều dài từ 20 cm đến 100 cm. Các đầu mao quản được nhúng vào các bình điện giải riêng biệt. Nguồn cung cấp điện một chiều có khả năng tạo điện áp cao từ 0 kV đến 30 kV. Thêm vào đó một detector, bộ phận tiêm mẫu tự động và thiết bị ghi dữ liệu là đủ một hệ thiết bị CE. Hệ thống cung cấp dung dịch đệm tự động và hệ thống kiểm soát bằng máy vi tính, ghi nhận dữ liệu hay kiểm soát nhiệt độ cho cả mao quản và bộ phận tiêm mẫu tự động có thể thấy ở các thiết bị có mặt trên thị trường.

Những điều cần quan tâm đầu tiên đối với thiết bị là kiểu mao quản, cấu hình, cách tiêm mẫu, nguồn cung cấp điện và kiểu detector.

Các loại mao quản và cấu hình thiết bị

Mao quản dùng trong CZE thường được làm bằng silica nung chảy và không có lớp bao mặt trong mao quản. Một vài thiết bị có cấu hình với cột mao quản để tự do, nghĩa là mao quản không đưa vào bên trong hộp chứa. Trong hầu hết các thiết bị trên thị trường, mao quản được đặt vào trong một hộp chứa. Cả hai cấu hình đều có những ưu và nhược điểm riêng. Điều quan trọng là khả năng của thiết bị có thể tương thích được các loại mao quản khác nhau với chiều dài và đường kính mao quản khác nhau. Mao quản

với chất bao mặt trong khác nhau hiện nay cũng có mặt trên thị trường. Bởi vậy, khả năng tương thích với các loại cột khác nhau rất quan trọng. Các chất bao mặt trong mao quản có thể được sử dụng để thay đổi cường độ hay hướng của dòng EOF hay làm giảm sự hấp phụ của mẫu. Nếu sử dụng mao quản có chất bao mặt trong, phải có ghi các chi tiết về chất bao và nhà cung cấp trong phương pháp. Mao quản từ nhà cung cấp khác cũng có thể được sử dụng nếu chúng thích hợp.

Kỹ thuật đưa mẫu và tiêm mẫu

Cách đưa mẫu vào trong mao quản bao gồm tiêm kiểu di chuyển điện (kiểu điện động) và tiêm áp suất âm và tiêm áp suất dương (kiểu thủy tĩnh).

Để tiêm kiểu di chuyển điện, dung dịch mẫu được đưa vào mao quản bằng cách nhúng mao quản và điện cực vào trong lọ mẫu và đặt lên đó một điện thế cao trong thời gian ngắn. Mẫu đi vào mao quản bằng sự phối hợp của điện di và dòng EOF. Bởi vậy, các chất phân tích có linh độ khác nhau đi vào trong mao quản ở mức độ khác nhau. Độ dẫn của mẫu thử và chất chuẩn cũng ảnh hưởng đến dòng EOF và thể tích tiêm.

Tiêm áp suất âm là đặt áp suất âm ở đầu mao quản có detector và hút dung dịch mẫu vào đầu tiêm của mao quản. Tiêm áp suất dương là tạo áp suất lên lọ chứa mẫu, đẩy mẫu vào trong mao quản. Tiêm áp suất có thể đưa tất cả các thành phần của mẫu vào trong mao quản ở cùng một mức độ, nói chung là cho độ tái lặp tốt nhất và là cách tiêm thường được áp dụng nhất. Thể tích mẫu phụ thuộc vào chiều dài và đường kính trong của mao quản và điện thế hay áp suất áp đặt. Thể tích mẫu đặc trưng được tiêm vào trong mao quản khoảng từ 1 nl đến 20 nl.

Mỗi một phương pháp tiêm mẫu có những ưu và nhược điểm riêng, tùy thuộc vào thành phần của mẫu, kiểu tách và áp dụng phương pháp. Không có kiểu tiêm mẫu nào nói trên có độ tái lặp như bộ tiêm mẫu của máy sắc ký lỏng hiệu năng cao hiện đang có mặt trên thị trường. Tùy theo hoàn cảnh cụ thể, cần thiết phải sử dụng chất chuẩn nội cho các phương pháp cụ thể khi cần sự tiêm mẫu chính xác.

Cung cấp nguồn điện

Hầu hết các thiết bị CE có mặt trên thị trường có nguồn điện một chiều, nó có khả năng tạo nguồn điện thay đổi từ từ hay từng nấc đảm bảo duy trì được điện thế mong muốn một cách ổn định. Điều này sẽ đảm bảo có được đường nền tương đối phẳng.

Một đặc điểm thiết yếu khác của nguồn điện là khả năng sử dụng nguồn này để đưa mẫu vào đầu cathod hay anod của mao quản. Bởi vì trên thực tế không thể thay đổi vị trí detector từ đầu này đến đầu kia của thiết bị, mà chỉ có thể ấn định đầu tiêm mẫu ở phía cathod hay anod.

Các kiểu detector

Nói chung hệ thống CE thường ghép với các detector UV-VIS và detector huỳnh quang cảm ứng laser. Detector quét phổ UV hay detector dãy diod có thể thấy ở nhiều thiết bị CE hiện có mặt trên thị trường.

Sự ghép nối CE với phổ khối cho phép thu được thông tin về cấu trúc kết hợp các dữ liệu điện di.

Phát hiện bằng detector huỳnh quang sẽ làm tăng độ nhạy phát hiện đối với mẫu chứa một lượng rất nhỏ chất cần phân tích có khả năng hấp thụ UV. Việc ghép một nhóm huỳnh quang với những chất không hấp thụ UV có thể là có ích. Các chất không hấp thụ UV hoặc không phát quang có thể được phát hiện bằng cách thêm trực tiếp vào dung dịch đệm các chất mang màu hay chất có huỳnh quang: Các chất không hấp thụ được phát hiện nhờ sự mất tín hiệu so với chất nền hấp thụ hay huỳnh quang. Detector đo độ dẫn và đo amper có thể được sử dụng, nhưng nói chung chúng không thông dụng ở các thiết bị có mặt trên thị trường.

Những điểm cần chú ý khi phân tích mẫu

Một vài thông số như kích thước mao quản, điện thế, lực ion và pH được tối ưu hóa để đạt độ phân giải và sự tách phù hợp. Cần tránh sự thay đổi nhiệt độ vì sẽ ảnh hưởng đến độ nhớt của dung dịch đệm và ảnh hưởng cả đến dòng EOF và linh độ của chất tan.

Kích thước mao quản

Những thay đổi về đường kính và chiều dài mao quản có thể ảnh hưởng đến độ phân giải điện di. Chiều dài mao quản tăng sẽ kéo dài thời gian di chuyển, thông thường sẽ tăng độ phân giải và làm giảm dòng điện. Đường kính mao quản tăng thường làm tăng dòng điện và tạo ra gradient nhiệt độ bên trong cột, dẫn đến làm giảm độ phân giải. Ngược lại, giảm đường kính trong của mao quản sẽ làm giảm sinh nhiệt và cho độ phân giải tốt hơn. Tuy nhiên, ở mao quản có đường kính lớn hơn sẽ có thuận lợi là tiêm được lượng mẫu nhiều hơn và cải thiện được tỷ lệ tín hiệu trên nhiễu.

Ảnh hưởng điện thế

Khi đặt một điện thế cao hơn, xảy ra sự tăng sinh nhiệt của dung dịch đệm làm việc bên trong mao quản vì có dòng điện đi qua dung dịch đệm. Hiệu ứng nhiệt này còn gọi là nhiệt Jun cần phải được kiểm soát vì trở kháng, hằng số điện môi và độ nhớt phụ thuộc vào nhiệt độ và làm thay đổi tốc độ dòng EOF và linh độ của chất tan.

Nói chung, sự tăng điện thế sẽ làm tăng hiệu lực tách và độ phân giải đến điểm mà nhiệt Jun không phát tán được. Độ phân giải tối đa có thể đạt được bằng cách duy trì điện thế ở dưới mức xảy ra sự phát nhiệt Jun và sự khuếch tán trở thành yếu tố giới hạn.

Ảnh hưởng của lực ion

Kiểm soát lực ion cho phép điều chỉnh độ phân giải, hiệu lực tách và độ nhạy. Tăng lực ion nói chung sẽ cải thiện độ phân giải, hiệu lực tách và hình dạng pic. Độ nhạy có thể được cải thiện do có sự tụ hợp tốt hơn. Tuy nhiên, bởi vì dòng điện sinh ra tỷ lệ thuận với nồng độ đệm, nhiệt sinh ra nhiều hơn khi lực ion của đệm tăng, do đó cần hạn chế tăng lực ion.

Ảnh hưởng của pH

Độ phân giải, độ nhạy và hình dạng pic có thể thay đổi một cách rõ rệt khi có sự thay đổi pH vì thông số này ảnh hưởng đến mức ion hóa của chất tan và dòng EOF. Dòng EOF cao ở pH cao và thấp ở pH thấp đối với cột mao quản bằng silica nung chảy không có lớp bao mặt trong.

Các thông số vận hành

Các bước cơ bản trong quá trình vận hành hệ thống CE là thiết lập hệ thống, quy trình rửa cột mao quản, chuẩn bị mẫu, thử tính phù hợp hệ thống, phân tích mẫu, xử lý dữ liệu và tắt hệ thống.

Thiết lập hệ thống

Cần quan tâm đến khả năng tách, độ phân giải, lực ion của dung dịch đệm và ảnh hưởng pH để chọn cột có kích thước và lớp bao bề mặt cho phù hợp. Điều chế dung dịch đệm có thành phần, lực ion và pH thích hợp, loại khí nếu cần thiết và lọc qua lọc thích hợp.

Tất cả dung môi, bao gồm cả nước cần dùng loại tinh khiết dùng cho sắc ký lỏng hay CE.

Quy trình rửa mao quản

Sự ổn định về thời gian di chuyển và độ phân giải có thể thu được nếu tuân theo quy trình rửa cột mao quản nhất định. Quy trình rửa và cân bằng mao quản phải phù hợp với các chất phân tích, các nền mẫu (matrix) và phương pháp phân tích. Bởi vậy, những qui trình này được xây dựng như là một phần của phương pháp và được quy định trong từng chuyên luận riêng. Rửa cột có thể dùng *dung dịch acid phosphoric 0,1 M*, *nước* và *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M*. Trước khi bắt đầu quá trình phân tích mẫu, cột mao quản có thể được rửa với năm lần thể tích cột bằng dung dịch đệm làm việc dùng cho quá trình phân tích. Khi thay đổi thành phần đệm, nên rửa cột mao quản với năm lần thể tích cột bằng dung dịch đệm làm việc mới để làm sạch đệm của lần phân tích trước. Khi sử dụng cột mao quản mới bằng silica nung chảy không có lớp bao, thông thường yêu cầu phải hoạt hóa các nhóm silanol trên bề mặt mao quản. Quá trình này bao gồm việc tráng rửa kỹ với *dung dịch natri hydroxyd*. Đối với các loại mao quản có lớp bao bên trong, quy trình rửa cột cần theo sự hướng dẫn của nhà sản xuất vì rửa cột không đúng cách có thể làm phá hủy lớp bao bên trong cột. Cột có thể được chỉ định chuyên dùng cho những loại đệm hay cho những phương pháp phân tích cụ thể để đề phòng nhiễm chéo.

Tiến hành phân tích mẫu

Để có được độ phân giải, độ nhạy và sự tách tốt với pic có hình dạng đẹp cần phải lựa chọn cột mao quản, chất điện giải và qui trình tiêm mẫu phù hợp. Khi cần thì sử dụng nội chuẩn để có được độ chính xác khi tiêm mẫu. Khi lựa chọn nội chuẩn cần quan tâm đến khả năng tách khỏi chất cần phân tích. Sự hoàn hảo của hệ thống có thể được cải thiện bằng cách rửa mao quản giữa các lần tiêm và cung cấp đệm mới cho hai lọ đệm dùng áp đặt thế trong quá trình tách (lọ 3 và 4 trong Hình 5.7). Có thể tiêm lặp lại từ cùng lọ mẫu thử miễn là tránh được sự nhiễm chéo. Nếu có sự nhiễm chéo xảy ra, nên rửa đầu mao quản nơi tiêm mẫu bằng cách nhúng nhanh nó vào trong một lọ có chứa đệm trước khi nhúng vào trong lọ chứa mẫu hay lọ chứa chất điện giải.

Các thông số vận hành được quy định cụ thể trong từng chuyên luận nhằm làm giảm ảnh hưởng của điện thế, lực ion và pH. Thiết bị được lắp đặt để phân tích mẫu với cột mao quản và điều kiện tiêm mẫu phù hợp nằm trong khoảng tuyến tính động học của detector. Sự chính xác về độ di chuyển có thể đạt được bằng cách chọn chất pha loãng mẫu, chất điện giải và điều kiện xử lý cột mao quản phù hợp. Khi tiến hành phân tích chú ý tránh hiện tượng đưa lượng mẫu quá tải vào cột vì điều này sẽ làm giảm hiệu lực và độ tái lặp.

Tính phù hợp của hệ thống

Các thông số được đo đạc có thể bao gồm độ lặp của bộ phận tiêm mẫu, độ chọn lọc và hiệu lực của hệ thống, và sự đối xứng của pic. Độ phân giải giữa các chất phân tích và các chất khác có thể được xác định bằng cách sử dụng các chất chuẩn hỗn hợp.

Các thông số tiêu biểu dùng để xác định tính phù hợp hệ thống bao gồm độ lệch chuẩn tương đối (RSD), hệ số dung lượng (k'), số đĩa lý thuyết (N), độ nhạy (giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng), số đĩa lý thuyết tính trên 1 mét (n), hệ số đối xứng (T) và độ phân giải (R).

Hình dạng pic được kiểm tra chặt chẽ, pic lý tưởng phải đối xứng, không có vai và không kéo đuôi. Nếu những điều kiện này không đạt, cần phải tiến hành điều chỉnh trước khi tiến hành phân tích. Việc tích phân pic cũng phải được kiểm tra chặt chẽ để đảm bảo tín hiệu đáp ứng của pic được định lượng chính xác.

Tiêm lặp lại dung dịch chuẩn với nồng độ biết trước để xác định độ tái lặp của hệ thống CE. Dữ liệu tiêm lặp lại từ 5 lần hoặc nhiều hơn được sử dụng để tính toán RSD. Trừ khi có qui định trong chuyên luận riêng, độ lệch chuẩn tương đối cho sự tiêm lặp lại không được quá 3,0 %. Giá trị của độ chính xác nhỏ nhất có thể được qui định riêng trong phương pháp CE, đặc biệt khi xác định các thành phần dạng vết. Việc tính toán các thông số điện di trong MEKC, cũng như các phương pháp khác của CE có thể cần đến sự kết hợp các mối quan hệ giữa sắc ký và điện di. Vì vậy, hệ số dung lượng (k') cho sự di chuyển của chất trung tính trong MEKC có thể tính bằng phương trình:

$$k' = \frac{t_R - t_o}{t_o \times (1 - \frac{t_R}{t_{MC}})}$$

Trong đó t_R, t_0, và t_{MC} lần lượt là thời gian di chuyển của chất cần phân tích, của dung dịch (EOF) và của mixen.

Số đĩa lý thuyết (N), là thước đo hiệu lực của hệ thống và được tính bằng phương trình:

$$N = 16(t_R/W)^2 \text{ hay } N = 5{,}54(t_R/W_{1/2})^2$$

Trong đó W là độ rộng pic của chất cần phân tích đo được ở đường nền, $W_{1/2}$ là độ rộng pic của chất cần phân tích đo được ở phần nửa chiều cao của pic và t_R là thời gian di chuyển của chất phân tích.

Số đĩa lý thuyết tính trên mét (n) là thước đo hiệu lực của cột mao quản được xem như là hàm số về độ rộng pic ở đường nền và có thể tính toán bằng công thức:

$$n = 1600(t_R/W)^2/L$$

Trong đó L tính bằng cm là chiều dài tổng cộng của mao quản, các ký kiệu khác được định nghĩa như trên. Hệ số đối xứng pic (T) của chất cần phân tích là thước đo sự đối xứng của pic, nó thể hiện độ lệch của pic so với pic đối xứng lý tưởng. Hệ số này được tính bằng phương trình:

$$T = W_{0,05}/2f$$

Trong đó $W_{0,05}$ là chiều rộng pic đo ở 5 % chiều cao của pic tính từ đường nền, f là chiều rộng nửa bên trái của pic đo ở 5 % chiều cao pic tính từ đường nền. Hệ số 1,0 chỉ rằng pic là đối xứng. Nếu các hiệu ứng phân tán điện di xảy ra, thì chúng có thể tạo ra pic không đối xứng. Điều này có thể xảy ra khi dùng nồng độ mẫu thử cao như trong phân tích tạp chất. Trường hợp pic bất đối xứng cũng có thể chấp nhận được miễn là đạt được độ lặp và chúng không ảnh hưởng đến độ chọn lọc về tách.

Hệ số phân giải (R) đo khả năng của hệ thống CE tách các chất cần phân tích di chuyển kế tiếp nhau. Độ phân giải được xác định cho tất cả các chất cần phân tích, với pH của đệm được điều chỉnh nếu cần thiết để đáp ứng các yêu cầu về tính phù hợp hệ thống. Nó có thể được tính bằng phương trình:

$$R = 2(t_2 - t_1)/(W_1 + W_2)$$

Trong đó t_2 và t_1 lần lượt là thời gian di chuyển (đo được ở cực đại của pic) của pic đi sau và pic trước. W_2 và W_1 lần lượt là chiều rộng của hai pic đo được ở đường nền.

Phân tích mẫu

Sau khi xác định tính phù hợp hệ thống, có thể tiêm dung dịch mẫu thử và mẫu chuẩn. Mẫu chuẩn có thể tiêm trước hay sau mẫu thử và tiêm xen kẽ trong suốt quá trình phân tích.

Xử lý dữ liệu

Diện tích pic được chuẩn hóa theo thời gian thường được sử dụng trong định lượng. Các dữ liệu được xác định bằng cách chia diện tích pic đã tích phân được cho thời gian di chuyển của chất phân tích. Điều này làm giảm sai số do trong CE, không giống như trong sắc ký lỏng, mỗi chất cần phân tích di chuyển qua detector với một tốc độ khác nhau. Trừ khi sự chuẩn hóa này được thực hiện, những chất di chuyển chậm hơn sẽ có diện tích lớn bất thường so với diện tích của những thành phần di chuyển nhanh.

Tắt hệ thống

Sau khi phân tích, cột mao quản được rửa theo sự hướng dẫn được quy định riêng trong từng chuyên luận hay theo khuyến cáo của nhà sản xuất. Ví dụ: Cột mao quản có thể được rửa bằng nước cất để loại các thành phần đệm và sau đó được nạp không khí hoặc khí nitrogen lấy từ lọ rỗng. Thông thường, lọ đích và lọ nguồn (lọ 4 và lọ 2 trong Hình 5.7) là các lọ được bỏ dung dịch đệm đi và được tráng kỹ bằng nước khử khoáng.

PHỤ LỤC 6

6.1 XÁC ĐỊNH CHỈ SỐ KHÚC XẠ

Chỉ số khúc xạ (n) của một chất so với không khí là tỷ lệ giữa sin của góc tới và sin của góc khúc xạ của chùm tia sáng truyền từ không khí vào chất đó.

Chỉ số khúc xạ thay đổi theo bước sóng ánh sáng được dùng để đo và nhiệt độ. Chỉ số khúc xạ có giá trị để định tính và đánh giá sơ bộ mức độ tinh khiết của mẫu đo.

Nếu không có chỉ dẫn gì khác, chỉ số khúc xạ được đo ở 20 °C ± 0,5 °C với tia sáng có bước sóng tương ứng với vạch D của natri (589,3 nm), ký hiệu n_D^{20}.

Máy

Khúc xạ kế dùng để xác định góc tới hạn của môi trường. Phần chủ yếu của khúc xạ kế là một lăng kính có chỉ số khúc xạ biết trước đặt tiếp xúc với môi trường được khảo sát.

Hầu hết khúc xạ kế được thiết kế để sử dụng nguồn sáng trắng, khi sử dụng nguồn sáng trắng, khúc xạ kế được trang bị hệ thống bù chính và được hiệu chuẩn lại để cho kết quả đọc tương ứng với vạch D của đèn natri.

Thang đo chỉ số khúc xạ phải đọc được các giá trị với ít nhất 3 số lẻ thập phân.

Nhiệt kế chia độ tới 0,5 °C hoặc nhỏ hơn.

Để đạt được độ chính xác, cần thiết phải hiệu chuẩn lại máy với các chất chuẩn do nhà sản xuất cung cấp hay bằng cách xác định chỉ số khúc xạ của *nước cất* tại 25 °C là 1,3325 và tại 20 °C là 1,3330.

6.2 XÁC ĐỊNH CHỈ SỐ pH

pH là một số biểu thị quy ước nồng độ ion hydrogen của dung dịch nước. Trong thực hành, định nghĩa trên là một định nghĩa thực nghiệm. pH của một dung dịch liên quan với pH của một dung dịch đối chiếu theo biểu thức sau:

$$pH = pH_s - \left[\frac{(E - E_s)}{k}\right]$$

Trong đó:

E là điện thế, tính bằng von, của pin chứa dung dịch được khảo sát;

E_s là điện thế, tính bằng von, của pin chứa dung dịch đã biết pH (dung dịch đối chiếu);

pH_s là pH của dung dịch đối chiếu;

k là hệ số có giá trị thay đổi theo nhiệt độ ghi ở Bảng 6.2.1.

Bảng 6.2.1 - Giá trị của k ở các nhiệt độ khác nhau

Nhiệt độ (°C)	k (V)
15	0,0572
20	0,0582
25	0,0592
30	0,0601
35	0,0611

Máy

Trị số pH của một dung dịch được xác định bằng cách đo thế hiệu giữa điện cực chỉ thị nhạy cảm với ion hydrogen (thường là điện cực thủy tinh) và một điện cực so sánh (ví dụ điện cực calomel bão hòa).

Máy đo là một điện thế kế có trở kháng đầu vào gấp ít nhất 100 lần trở kháng của các điện cực sử dụng. Nó thường được phân độ theo đơn vị pH và có độ nhạy đủ để phát hiện được những thay đổi cỡ 0,05 đơn vị pH hoặc ít nhất 0,003 V. Các điện cực thủy tinh phù hợp và các kiểu máy đo pH kể cả máy đo pH hiện số đều phải đáp ứng yêu cầu trên.

Vận hành máy đo pH và hệ thống điện cực theo sự chỉ dẫn của hãng sản xuất.

Tất cả các phép đo đều cần phải tiến hành trong cùng một điều kiện nhiệt độ khoảng từ 20 °C đến 25 °C, trừ những trường hợp có quy định khác trong chuyên luận riêng.

Hiệu chuẩn máy: Dùng dung dịch đệm chuẩn D ghi trong Bảng 6.2.2 là chuẩn thứ nhất, đo và chỉnh máy để đọc được trị số pH của chuẩn ghi ở bảng tương ứng với nhiệt độ của dung dịch.

Dùng một dung dịch đệm chuẩn thứ hai (chọn một trong các dung dịch quy định ghi ở Bảng 6.2.2) để chỉnh thang đo.

Trị số pH đo được của dung dịch đệm chuẩn thứ ba, dung dịch có trị số pH nằm giữa trị số pH của đệm chuẩn thứ nhất và thứ hai, phải không được sai khác nhiều hơn 0,05 đơn vị pH so với trị số pH tương ứng ghi trong Bảng 6.2.2.

Phương pháp đo

Nhúng các điện cực vào trong dung dịch cần khảo sát và đo trị số pH ở cùng nhiệt độ đo của các dung dịch đệm chuẩn khi hiệu chuẩn máy.

Khi máy được dùng thường xuyên, việc kiểm tra thang đo pH phải được thực hiện định kỳ. Nếu máy không thường xuyên dùng, việc kiểm tra cần thực hiện trước mỗi phép đo.

Tất cả các dung dịch và dịch treo của chế phẩm khảo sát và các dung dịch đệm chuẩn phải được pha chế với *nước không có carbon dioxyd (TT).*

Khi đo các dung dịch có pH trên 10,0 phải đảm bảo rằng điện cực thủy tinh đang dùng là phù hợp, chịu được các điều kiện kiềm và cần áp dụng hệ số điều chỉnh trong phép đo.

Sau cùng đo lại trị số pH của dung dịch đệm chuẩn dùng để hiệu chuẩn máy và điện cực. Nếu sự khác nhau giữa lần đọc này và trị số gốc của dung dịch đệm chuẩn ấy lớn hơn 0,05 thì các phép đo phải làm lại.

Bảng 6.2.2 - pH của dung dịch đệm chuẩn ở nhiệt độ khác nhau

Nhiệt độ	Dung dịch đệm								
t°	A	B	C	D	E	F	G	H	I
15°	1,67	-	3,80	4,00	6,90	7,45	9,28	10,12	12,81
20°	1,68	-	3,79	4,00	6,88	7,43	9,23	10,06	12,63
25°	1,68	3,56	3,78	4,01	6,87	7,41	9,18	10,01	12,45
30°	1,68	3,55	3,77	4,02	6,85	7,40	9,14	9,97	12,29
35°	1,69	3,55	3,76	4,02	6,84	7,39	9,10	9,93	12,13
ΔpH/Δt	+ 0,001	- 0,0014	- 0,0022	+ 0,0012	- 0,0028	- 0,0028	- 0,0082	- 0,0096	0,034

ΔpH/Δt là độ lệch pH trên 1 °C.

Các dung dịch đệm chuẩn

Dung dịch đệm A: Hòa tan 12,61 g *kali tetraoxalat (TT)* trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* vừa đủ để có 1000 ml dung dịch (0,05 M).

Dung dịch đệm B: Lắc kỹ một lượng thừa *kali hydro (+)-tartrat (TT)* với *nước không có carbon dioxyd (TT)* ở 25 °C. Lọc hoặc để lắng gạn. Pha ngay trước khi dùng.

Dung dịch đệm C: Hòa tan 11,41 g *kali dihydrocitrat (TT)* trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* vừa đủ để có 1000 ml dung dịch (0,05 M). Pha ngay trước khi dùng.

Dung dịch đệm D: Hòa tan 10,13 g *kali hydrophtalat (TT)* (đã sấy khô trước ở 110 °C ± 2 °C trong 1 h) trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* vừa đủ để có 1000 ml dung dịch (0,05 M).

Dung dịch đệm E: Hòa tan 3,39 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 3,53 g *dinatri hydrophosphat khan (TT)* (cả hai đã được sấy khô trước ở 120 °C ± 2 °C trong 2 h) trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* vừa đủ để có 1000 ml dung dịch (0,025 M cho mỗi muối).

Dung dịch đệm F: Hòa tan 1,18 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 4,30 g *dinatri hydrophosphat khan (TT)* (cả hai đã được sấy khô trước ở 120 °C ± 2 °C trong 2 h) trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* vừa đủ để có 1000 ml dung dịch (0,0087 M và 0,0303 M cho mỗi muối theo thứ tự kể trên).

Dung dịch đệm G: Hòa tan 3,80 g *natri tetraborat (TT)* trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* vừa đủ để có 1000 ml dung dịch (0,01 M). Bảo quản tránh carbon dioxyd của không khí.

Dung dịch đệm H: Hòa tan 2,64 g *natri carbonat khan (TT)* và 2,09 g *natri hydrocarbonat (TT)* trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* vừa đủ để có 1000 ml dung dịch (0,025 M cho mỗi muối).

Dung dịch I: Lắc kỹ một lượng dư *calci hydroxyd (TT)* trong *nước không có carbon dioxyd (TT)* và để yên ở 25 °C, gạn lấy phần dịch trong. Bảo quản tránh carbon dioxyd.

6.3 XÁC ĐỊNH ĐỘ NHỚT CỦA CHẤT LỎNG

Độ nhớt của chất lỏng là một đặc tính của chất lỏng liên quan chặt chẽ đến lực ma sát nội tại cản lại sự di động tương đối của các lớp phân tử trong lòng chất lỏng đó.

Độ nhớt động lực hay độ nhớt tuyệt đối, ký hiệu là η, là lực tiếp tuyến trên một đơn vị diện tích bề mặt, được biết như một ứng suất trượt τ (biểu thị bằng pascal), cần thiết để di chuyển một lớp chất lỏng 1 m^2 song song với mặt phẳng trượt ở tốc độ (v) là 1 m/s so với lớp chất lỏng song song ở một khoảng cách (x) là 1 m.

Tỷ lệ dv/dx là gradient vận tốc cho tốc độ trượt D, biểu thị là nghịch đảo của giây (s^{-1}) và $\eta = \tau/D$.

Đơn vị của độ nhớt động lực là pascal giây (Pa·s) hoặc newton giây trên mét vuông ($N \cdot s/m^2$) và ước số hay dùng là milipascal giây (mPa·s). Ngoài ra người ta còn dùng đơn vị độ nhớt cơ bản là poise (P) và ước số hay dùng là centipoise (cP).

1 Pa·s = 1000 mPa·s = 1 $N \cdot s/m^2$

1 P = 0,1 Pa·s = 100 cP = 100 mPa·s

Độ nhớt động lực của nước cất ở 20 °C xấp xỉ bằng 1 centipoise.

Độ nhớt động học (v) là tỷ số giữa độ nhớt động lực và khối lượng riêng (ρ) của chất lỏng (biểu thị bằng kg/m^3), cả hai đều được xác định ở cùng nhiệt độ t.

$$v = \frac{\eta}{\rho}$$

Đơn vị độ nhớt động học là m^2/s, ước số là mm^2/s. Ngoài ra người ta còn dùng đơn vị độ nhớt động học là stocker (St) và ước số hay dùng là centistocker (cSt).

1 St = 10^{-4} m^2/s

1 cSt = $10^{-6} m^2/s$ = 1 mm^2/s

Độ nhớt động học của nước cất ở 20 °C xấp xỉ bằng 1 cSt.

Khi tính độ nhớt động học của một chất lỏng theo stocker hay centistocker, đi từ độ nhớt động lực tính theo poise hay centipoise thì khối lượng riêng của chất lỏng đó phải tính theo g/cm^3.

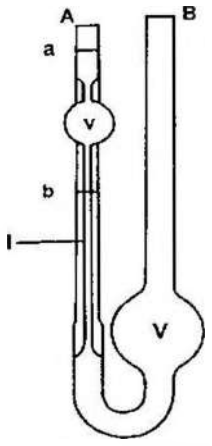
Độ nhớt thay đổi rõ rệt khi nhiệt độ thay đổi. Nhiệt độ tăng thì độ nhớt giảm và ngược lại. Vì vậy, phải xác định độ nhớt của chất lỏng ở nhiệt độ ổn định, dao động không quá ± 0,1 °C.

Phương pháp xác định độ nhớt của chất lỏng

Phương pháp I: *Phương pháp đo thời gian chảy của chất lỏng qua ống mao quản*

Nhiều nhớt kế mao quản với những kích thước khác nhau, thích hợp cho việc xác định độ nhớt của các chất lỏng khác

nhau. Mỗi loại có một hằng số dụng cụ (k) riêng. Trong số những nhớt kế mao quản, nhớt kế Ostwald thường hay được sử dụng nhất (Hình 6.3.1).



v : Bầu đong chất thử;
V : Bầu chứa chất thử;
l : Mao quản;
a,b : Vạch chuẩn.

Hình 6.3.1 - Nhớt kế Ostwald.

Cách xác định độ nhớt bằng nhớt kế Ostwald

Dùng pipet dài để chuyển qua miệng ống B chất lỏng cần xác định độ nhớt đã được ổn định nhiệt độ ở 20 °C ± 0,1 °C (trừ khi có chỉ dẫn khác) vào bầu chứa V, sao cho không dính hoặc chỉ dính rất ít chất lỏng đem thử vào thành ống B ở phía trên bầu V. Đặt nhớt kế thẳng đứng và chìm hết bầu V trong môi trường điều nhiệt ở nhiệt độ 20 °C ± 0,1 °C (trừ khi có chỉ dẫn khác) trong 30 min. Sau đó dùng quả bóp cao su (phụ kiện của dụng cụ đo độ nhớt) thổi từ miệng ống B để chất lỏng dâng lên quá ngấn chuẩn a thì ngừng bơm, bỏ quả bóp cao su khỏi miệng ống B để chất lỏng đem thử chảy tự do về bầu V. Ghi thời gian cần thiết để vòng khum dưới của chất lỏng đem thử chuyển dịch từ ngấn a đến ngấn b. Làm như vậy 5 lần, lấy trung bình cộng của các kết quả đo được làm thời gian t cần xác định. Sai số các kết quả đo không vượt quá 0,5 %. Để đỡ mắc sai số lớn, cần chọn nhớt kế thích hợp sao cho thời gian t không được dưới 200 s.

Tính độ nhớt lực học η hoặc độ nhớt động học ν lần lượt theo công thức sau:

$$\eta = k \times \rho \times t \qquad (1)$$

$$\nu = k \times t \qquad (2)$$

Trong đó:

η là độ nhớt động lực (mPa·s hoặc cP);
ν là độ nhớt động học (mm^2/s hoặc cSt);
k là hằng số dụng cụ đo;
ρ là khối lượng riêng của chất lỏng đem thử (g/cm^3);
t là thời gian chảy (s).

Khi không có giá trị k, có thể tự xác định hằng số k bằng cách dùng một chất lỏng đã biết trước độ nhớt η hoặc ν và tính k theo công thức (1) hoặc (2). Nhớt kế đã bị sửa chữa thì khi sử dụng lại, phải được chuẩn lại. Nếu dùng nhớt kế mao quản với máy đo tự động thì vận hành máy theo quy trình hướng dẫn của hãng sản xuất máy. Thời gian cần thiết để chất lỏng đem thử chuyển dịch từ ngấn a đến ngấn b sẽ được tự động ghi lại.

Phương pháp II: *Phương pháp đo thời gian rơi của trái cầu*

Phương pháp này thích hợp cho các chất lỏng trong suốt và có độ nhớt cao (từ 8 poise đến 1000 poise).

Dụng cụ: (Hình 6.3.2) Gồm 1 ống thử a, dài 30 cm, đường kính trong là 2 cm ± 0,05 cm. Trên thành ống có khắc 5 ngấn vòng quanh, mỗi ngấn cách nhau 5 cm. Ống thử a được đặt trong bình điều nhiệt b có chứa nước, phía trên có nắp đậy. Trên nắp có các lỗ để đặt nhiệt kế chia độ đến 0,1 °C, que khuấy c và phễu g. Trái cầu là những viên bi bằng thép có đường kính 0,15 cm. Viên bi sẽ được thả vào ống thử a qua một ống nhỏ d có đường kính trong là 0,3 cm. Ống d có một lỗ ngang cao hơn mực chất thử trong ống a, đầu dưới của ống d ở ngang ngấn trên cùng của ống a và thấp hơn mặt chất thử 3 cm.

Khi không có dụng cụ như trên có thể dùng các nhớt kế khác có tính năng tương tự, đảm bảo cung cấp giá trị độ nhớt với độ chính xác và độ đúng như những nhớt kế đã mô tả ở trên (ví dụ: Nhớt kế Hoppler).

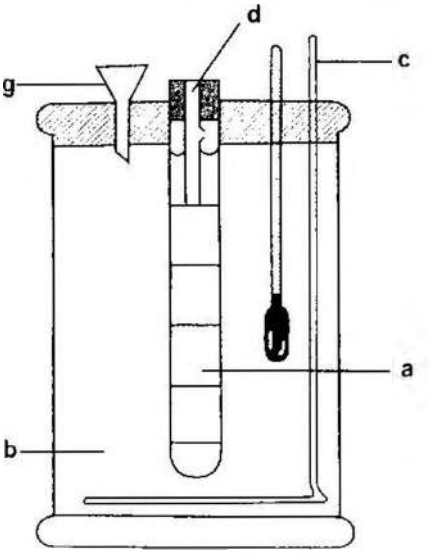
Phương pháp đo: Đổ chất lỏng cần xác định độ nhớt vào ống thử a sao cho mực chất lỏng cao hơn đầu dưới của ống d 3 cm. Đặt các viên bi vào một ống thử nghiệm nhỏ lồng qua lỗ đặt phễu g. Giữ chất lỏng cần thử và các viên bi trong môi trường điều nhiệt có nhiệt độ ở 20 °C ± 0,1°C trong 30 min (trừ khi có chỉ dẫn khác). Sau đó thả từng viên bi vào trong chất lỏng đem thử qua ống d. Ghi thời gian rơi của 5 viên bi từ ngấn thứ hai đến ngấn thứ năm (15 cm). Lấy trung bình cộng của 5 lần đo này làm thời gian t cần xác định.

Tính độ nhớt động lực η của chất lỏng đem thử theo công thức:

$$\eta = k \times t\,(\rho_k - \rho)$$

Trong đó:

η là độ nhớt động lực (mPa·s hoặc cP);
k là hằng số của viên bi;
ρ_k là khối lượng riêng của viên bi (g/cm^3);
ρ là khối lượng riêng của chất lỏng đem thử (g/cm^3);
T là thời gian rơi của viên bi (s).



Hình 6.3.2 - Dụng cụ đo độ nhớt bằng cách đo thời gian rơi của trái cầu

Phương pháp III

Thiết bị thường dùng là loại nhớt kế quay, dựa trên việc đo lực trượt trong môi trường lỏng được đặt giữa hai ống hình trụ đồng trục, một ống được quay nhờ môtơ, còn ống kia quay được do sự quay của ống thứ nhất tác động vào. Dưới những điều kiện như vậy, độ nhớt (hay độ nhớt biểu kiến) trở thành phép đo (M) độ lệch của góc đối với ống hình trụ thứ 2, tương ứng với momen lực, biểu thị bằng N·m. Đối với lớp chất lỏng rất mỏng, độ nhớt động lực η, biểu thị bằng Pa·s được tính theo công thức:

$$\eta = \frac{1}{\omega}\left(\frac{M}{4\pi h}\right)\left(\frac{1}{R_A^2} - \frac{1}{R_B^2}\right)$$

Trong đó:

h là độ cao tính bằng m của ống hình trụ thứ 2 được nhúng trong chất lỏng;

R_A và R_B là đường kính tính bằng m của hai ống hình trụ (R_A nhỏ hơn R_B);

ω là vận tốc góc tính bằng rad/s.

Hằng số k của máy được tính ở các tốc độ quay khác nhau bằng cách sử dụng các chất lỏng có độ nhớt chuẩn.

Các máy luôn được cung cấp một bảng có các hằng số liên quan đến diện tích bề mặt của các ống trụ được dùng và tốc độ quay của chúng. Độ nhớt được tính theo công thức:

$$\eta = k(M/\omega)$$

Cách đo: Đo độ nhớt theo sự chỉ dẫn cách vận hành nhớt kế quay. Nhiệt độ đo được chỉ dẫn trong chuyên luận. Nếu không thể đặt được tốc độ trượt chính xác như chỉ dẫn thì đặt tốc độ trượt cao hơn một chút và thấp hơn một chút sau đó dùng phương pháp nội suy để tính độ nhớt.

6.4 XÁC ĐỊNH GÓC QUAY CỰC VÀ GÓC QUAY CỰC RIÊNG

Góc quay cực của một chất là góc của mặt phẳng phân cực bị quay đi khi ánh sáng phân cực đi qua chất đó nếu là chất lỏng, hoặc qua dung dịch chất đó nếu là chất rắn.

Chất làm quay mặt phẳng phân cực theo cùng chiều kim đồng hồ được gọi là chất hữu tuyền, ký hiệu là (+). Chất làm quay mặt phẳng phân cực ngược chiều kim đồng hồ được gọi là chất tả tuyền, ký hiệu là (-).

Nếu không có hướng dẫn riêng, góc quay cực α được xác định ở nhiệt độ 20 °C và với chùm tia đơn sắc có bước sóng ứng với vạch D (589,3 nm) của đèn natri qua lớp chất lỏng hay dung dịch có bề dày 1 dm.

Góc quay cực riêng $[\alpha]_D^{20}$ của một chất lỏng là góc quay cực đo được khi chùm ánh sáng D truyền qua lớp chất lỏng đó có bề dày là 1 dm ở 20 °C chia cho tỷ trọng tương đối của chất ở cùng nhiệt độ.

Góc quay cực riêng $[\alpha]_D^{20}$ của một chất rắn là góc quay cực đo được khi chùm ánh sáng D truyền qua lớp dung dịch có bề dày là 1 dm và có nồng độ là 1 g/ml, ở 20 °C. Góc quay cực riêng của chất rắn luôn được biểu thị cùng với dung môi và nồng độ dung dịch đo.

Phân cực kế

Các phân cực kế thường dùng nguồn sáng là đèn hơi natri hay hơi thủy ngân. Trong một số trường hợp cần thiết phải sử dụng phân cực kế quang điện cho phép đo ở các bước sóng riêng biệt. Phân cực kế phải cho phép đọc chính xác tới gần 0,01°. Thang đo phải thường xuyên được kiểm định bằng các bàn thạch anh chuẩn. Độ tuyến tính của thang đo phải được kiểm tra bằng các dung dịch sucrose.

Cách tiến hành

Xác định góc quay cực của chất thử ở nhiệt độ 19,5 °C đến 20,5 °C, nếu không có chỉ dẫn gì khác trong chuyên luận riêng dùng tia D của ánh sáng đèn natri phân cực. Có thể đo ở nhiệt độ khác nếu chuyên luận riêng chỉ ra cách hiệu chỉnh nhiệt độ cho góc quay cực đo được. Tiến hành đo ít nhất 5 lần và lấy giá trị trung bình. Xác định điểm "0" của phân cực kế với ống đo rỗng khi đo chất lỏng và với ống đo chứa đầy dung môi khi đo dung dịch chất rắn.

Tính góc quay cực riêng theo các biểu thức sau:

Cho chất lỏng:

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha}{l \times d}$$

Cho chất rắn:

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha}{l \times c} \times 1000$$

Trong đó:

α là góc quay cực đo được;

l là chiều dài ống đo của phân cực kế, tính bằng dm;

d là tỷ trọng tương đối của chất lỏng;

c là nồng độ của chất thử (rắn) trong dung dịch (g/l).

Căn cứ vào góc quay cực đo được, có thể tính nồng độ g/l của chất thử trong dung dịch theo biểu thức:

$$c\ (g/l) = \frac{\alpha}{l \times [\alpha]_D^{20}} \times 1000$$

hoặc nồng độ % (kl/kl) của chất thử trong dung dịch theo biểu thức:

$$c\ (\%\ kl/kl) = \frac{\alpha}{l \times \rho_{20} \times [\alpha]_D^{20}} \times 100$$

Trong đó:

ρ_{20} là khối lượng riêng (g/cm³) của dung dịch ở 20 °C.

6.5 XÁC ĐỊNH KHỐI LƯỢNG RIÊNG VÀ TỶ TRỌNG

Khối lượng riêng

Khối lượng riêng của một chất ở nhiệt độ t (ρ_t) là khối lượng một đơn vị thể tích của chất đó, xác định ở nhiệt độ t:

$$\rho_t = \frac{M}{V}$$

Trong đó:

M là khối lượng của chất, xác định ở nhiệt độ t;

V là thể tích chất, xác định ở nhiệt độ t, được tính từ khối lượng nước cất trong không khí ở nhiệt độ t.

Khối lượng của 1 lít nước, có tính đến ảnh hưởng của sức đẩy của không khí, ở nhiệt độ xác định được đưa ra trong bảng sau.

Nhiệt độ (°C)	Khối lượng của một lít nước (g)
20	997,18
25	996,02
30	994,62

Trong hệ đơn vị quốc tế SI, đơn vị của khối lượng riêng là kg/m^3. Trong ngành dược thường xác định khối lượng riêng ở nhiệt độ 20 °C (ρ_{20}) có tính đến ảnh hưởng của sức đẩy của không khí (tức là quy về giá trị xác định trong chân không) và dùng đơn vị kg/l hoặc g/ml.

Tỷ trọng tương đối

Tỷ trọng tương đối d_{20}^{20} của một chất là tỷ số giữa khối lượng của một thể tích cho trước của chất đó, và khối lượng của cùng thể tích nước cất, tất cả đều cân ở 20 °C.

Tỷ trọng biểu kiến

Đại lượng "tỷ trọng biểu kiến" được dùng trong các chuyên luận ethanol, ethanol 96 % và loãng hơn..., là khối lượng cân trong không khí của một đơn vị thể tích chất lỏng. Tỷ trọng biểu kiến được biểu thị bằng đơn vị kg/m^3 và được tính toán theo biểu thức sau đây:

$$\text{Tỷ trọng biểu kiến} = 997{,}2 \times d_{20}^{20}$$

Trong đó:

d_{20}^{20} là tỷ trọng tương đối của chất thử.

997,2 là khối lượng cân trong không khí của 1 m^3 nước, tính bằng kg.

Xác định tỷ trọng tương đối d_{20}^{20} của một chất lỏng

Xác định tỷ trọng của một chất lỏng theo phương pháp được chỉ rõ trong chuyên luận. Nếu chuyên luận không chỉ rõ dùng phương pháp nào để xác định tỷ trọng một chất lỏng, có thể dùng một trong các phương pháp sau đây:

Phương pháp dùng picnomet: Cân chính xác picnomet rỗng, khô và sạch. Đổ vào picnomet mẫu thử đã điều chỉnh nhiệt độ thấp hơn 20 °C, chú ý không để có bọt khí. Giữ picnomet ở nhiệt độ 20 °C trong khoảng 30 min. Dùng một băng giấy lọc để thấm hết chất lỏng thừa trên vạch mức, làm khô mặt ngoài của picnomet, cân rồi tính khối lượng chất lỏng chứa trong picnomet. Tiếp đó đổ mẫu thử đi, rửa sạch picnomet, làm khô bằng cách tráng ethanol rồi tráng aceton, thổi không khí nén hoặc không khí nóng đuổi hết hơi aceton, sau đó xác định khối lượng nước cất chứa trong picnomet ở nhiệt độ 20 °C như làm với mẫu thử. Tỷ số giữa khối lượng mẫu thử và khối lượng nước cất thu được là tỷ trọng d_{20}^{20} cần xác định.

Phương pháp này cho kết quả với 4 chữ số lẻ thập phân.

Phương pháp dùng cân thủy tĩnh Mohr-Westphal: Đặt cân trên mặt phẳng nằm ngang. Mắc phao vào đòn cân, đặt phao chìm trong nước cất ở nhiệt độ 20 °C và chỉnh thăng bằng bằng các con mã đặt ở các vị trí thích hợp, thu được giá trị M. Lấy phao ra, thấm khô rồi đặt lại phao chìm trong chất lỏng cần xác định tỷ trọng, ở cùng nhiệt độ 20 °C, chú ý sao cho phần dây treo chìm trong chất lỏng một đoạn bằng đoạn đã chìm trong nước cất. Chỉnh lại thăng bằng bằng các con mã đặt ở vị trí thích hợp, thu được giá trị M_1. Tỷ số M_1/M là tỷ trọng d_{20}^{20} cần xác định.

Phương pháp này cho kết quả với 3 chữ số lẻ thập phân.

Phương pháp dùng tỷ trọng kế: Lau sạch tỷ trọng kế bằng ethanol hoặc ether. Dùng đũa thủy tinh trộn đều chất lỏng cần xác định tỷ trọng. Đặt nhẹ nhàng tỷ trọng kế vào chất lỏng đó sao cho tỷ trọng kế không chạm vào thành và đáy của dụng cụ đựng chất thử. Chỉnh nhiệt độ tới 20 °C và khi tỷ trọng kế ổn định, đọc kết quả theo vòng khum dưới của mức chất lỏng. Đối với chất lỏng không trong suốt, đọc theo vòng khum trên.

Phương pháp này cho kết quả với 2 hoặc 3 chữ số lẻ thập phân.

Xác định tỷ trọng d_{20}^{20} của mỡ, sáp, nhựa, nhựa thơm

Dùng picnomet: Đầu tiên cân chính xác picnomet rỗng (M_1) rồi cân picnomet đổ đầy nước cất ở 20 °C (M_4). Sau đó đổ nước đi, làm khô picnomet, dùng ống hút hoặc phễu cuống nhỏ, cho vào trong picnomet mẫu thử đã được đun chảy khoảng 1/3 đến 1/2 thể tích của picnomet. Để 1 h trong nước nóng, không đậy nút. Làm nguội đến 20 °C, đậy nút. Lau khô mặt ngoài picnomet rồi lại cân (M_2). Cuối cùng thêm nước cất đến vạch, lau khô mặt ngoài picnomet rồi lại cân (M_3). Chú ý không được để bọt khí còn lại giữa lớp nước và mẫu thử.

Tính kết quả theo công thức:

$$d_{20}^{20} = \frac{M_2 - M_1}{(M_4 + M_2) - (M_1 + M_3)}$$

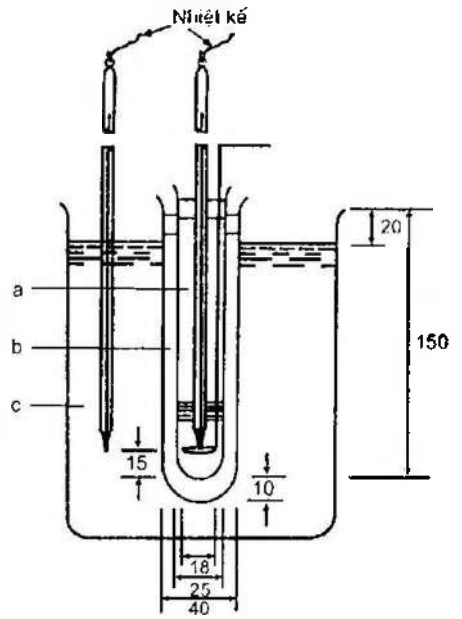
6.6 XÁC ĐỊNH NHIỆT ĐỘ ĐÔNG ĐẶC

Nhiệt độ đông đặc là nhiệt độ cao nhất giữ nguyên không đổi trong quá trình chuyển từ trạng thái lỏng sang trạng thái rắn.

Dụng cụ (Hình 6.6)

Một ống nghiệm (a) 150 mm × 25 mm đặt vào bên trong một ống nghiệm lớn (b) khoảng 160 mm × 40 mm. Hai ống nghiệm không chạm vào nhau và cách nhau một lớp không khí. Ống nghiệm bên trong được đậy bằng một nút có mang một que khuấy và một nhiệt kế (dài khoảng 175 mm, chia độ tới 0,2 °C), được cố định sao cho bầu nhiệt kế cách đáy ống khoảng 15 mm. Que khuấy được làm bằng một đũa thủy tinh hoặc bằng thép, đầu dưới uốn thành một vòng tròn có đường kính khoảng 18 mm, vuông góc với que khuấy.

Ống nghiệm (a) và ống bọc nó (b) được giữ ở giữa một cốc hình vại (c) có dung tích 1 L, chứa một chất lỏng làm lạnh thích hợp. Mức chất lỏng làm lạnh cách miệng ống khoảng 20 mm. Một nhiệt kế bổ trợ được giữ trong chất lỏng làm lạnh.



Hình 6.6 - Dụng cụ xác định nhiệt độ đông đặc (*kích thước tính bằng mm*)

Cách tiến hành

Lấy một lượng chế phẩm (đã được làm nóng chảy nếu cần thiết), cho vào ống nghiệm (a) của dụng cụ sao cho bầu thủy ngân của nhiệt kế ngập trong lớp chế phẩm và xác định sơ bộ khoảng nhiệt độ đông đặc bằng cách làm lạnh nhanh. Đặt ống nghiệm (a) đã chứa chế phẩm vào trong một bể cách thủy có nhiệt độ trên nhiệt độ đông đặc dự kiến khoảng 5 °C cho đến khi các tinh thể chế phẩm chảy hoàn toàn. Làm đầy cốc (c) bằng nước hoặc dung dịch bão hòa natri clorid ở nhiệt độ thấp hơn nhiệt độ đông đặc dự kiến khoảng 5 °C. Lồng ống nghiệm (a) vào ống nghiệm (b) và đặt vào cốc (c). Khuấy liên tục, nhẹ nhàng và cứ 30 s lại đọc nhiệt độ trên nhiệt kế một lần. Lúc đầu nhiệt độ hạ thấp dần, rồi giữ nguyên một thời gian hoặc tăng một chút, rồi giữ nguyên không đổi trong suốt thời gian đông. Để tránh hiện tượng chậm đông, khi gần đến điểm đông, có thể cho vào ống nghiệm một tinh thể nhỏ chế phẩm đã có sẵn, hoặc cọ nhẹ thành trong của ống nghiệm.

6.7 XÁC ĐỊNH NHIỆT ĐỘ NÓNG CHẢY, KHOẢNG NÓNG CHẢY VÀ ĐIỂM NHỎ GIỌT

Khoảng nóng chảy (gọi tắt là khoảng chảy) của một chất là khoảng nhiệt độ đã hiệu chỉnh, kể từ khi chất rắn bắt đầu nóng chảy và xuất hiện những giọt chất lỏng đầu tiên, đến khi chất rắn chuyển hoàn toàn sang trạng thái lỏng.

Nhiệt độ nóng chảy (gọi tắt là điểm chảy) của một chất là nhiệt độ đã hiệu chỉnh, tại đó hạt chất rắn cuối cùng của chất thử nghiệm chuyển thành trạng thái lỏng, bắt đầu biến màu, hoá than hoặc sùi bọt.

Khi phải xác định khoảng chảy, nếu nhiệt độ bắt đầu hoặc nhiệt độ kết thúc nóng chảy không xác định rõ ràng, ta có thể chỉ xác định nhiệt độ kết thúc, hoặc nhiệt độ bắt đầu nóng chảy. Nhiệt độ này phải nằm trong giới hạn quy định trong chuyên luận riêng của chế phẩm.

Để xác định khoảng chảy và điểm chảy, tùy theo tính chất lý học của từng chất, áp dụng một trong các phương pháp 1, 2 hay 3, còn để xác định điểm nhỏ giọt thì sử dụng phương pháp 4.

Phương pháp 1

(Áp dụng cho các chất rắn dễ nghiền nhỏ).

Dụng cụ

Một bình thủy tinh chịu nhiệt, trong bình chứa một chất lỏng thích hợp, thường dùng là dầu parafin, hoặc để xác định ở nhiệt độ cao dùng dầu silicon, lượng chất lỏng đủ để nhúng chìm được nhiệt kế và mẫu thử sao cho bầu thủy ngân cách đáy bình 2 cm.

Một dụng cụ khuấy có khả năng duy trì sự đồng nhất về nhiệt độ trong chất lỏng.

Một nhiệt kế đã được hiệu chuẩn và chia độ đến 0,5 °C, có khoảng nhiệt độ đo từ thấp nhất đến cao nhất không được quá 100 °C.

Ống mao quản, hàn kín một đầu, dài 6 cm đến 8 cm, đường kính trong 1,0 mm ± 0,1 mm, thành ống dày khoảng 0,10 mm đến 0,15 mm.

Nguồn nhiệt, có thể điều chỉnh được.

Dụng cụ có thể được hiệu chuẩn với các chất chuẩn có điểm chảy được chứng nhận của Tổ chức Y tế thế giới hay những chất thích hợp khác.

Cách xác định

Nghiền thành bột mịn chất thử đã làm khô 24 h ở áp suất 1,5 kPa đến 2,5 kPa trong bình với chất hút ẩm thích hợp, hoặc sấy khô 2 h ở 100 °C đến 105 °C, trừ trường hợp có chỉ dẫn trong chuyên luận riêng.

Cho bột vào ống mao quản, lèn bột bằng cách gõ nhẹ ống mao quản xuống mặt phẳng cứng để có một lớp chế phẩm cao 4 mm đến 6 mm.

Đun nóng bình đựng chất lỏng đến khi nhiệt độ thấp hơn điểm chảy dự kiến của chất thử khoảng 10 °C, điều chỉnh nhiệt độ sao cho nhiệt độ tăng 1 °C trong 1 min (trừ trường hợp có chỉ dẫn trong chuyên luận riêng), hoặc cho nhiệt độ tăng 3 °C trong 1 min khi thử các chất không bền vì nhiệt. Khi nhiệt độ đạt thấp hơn điểm chảy dự kiến khoảng 5 °C, lấy nhiệt kế ra, nhanh chóng buộc ống mao quản có chế phẩm vào nhiệt kế, sao cho lớp chế phẩm ngang với phần giữa bầu thủy ngân của nhiệt kế. Đặt lại nhiệt kế vào bình. Nhiệt độ mà tại đó nhìn thấy cột chất thử xẹp xuống, so sánh với một điểm nào đó trên thành ống, được xác định là điểm bắt đầu nóng chảy và nhiệt độ mà tại đó chất thử trở thành chất lỏng hoàn toàn, được xác định là điểm cuối của sự chảy hay điểm chảy.

Hiệu chỉnh nhiệt độ quan sát được nếu nhiệt kế đo có sai số với nhiệt kế chuẩn và sự khác biệt nếu có giữa nhiệt độ của

đoạn cột thủy ngân ở ngoài chất lỏng trong điều kiện thí nghiệm và của đoạn cột thủy ngân ngoài chất lỏng trong điều kiện hiệu chuẩn. Nhiệt độ của đoạn cột thủy ngân ở ngoài chất lỏng được xác định bằng cách đặt bầu thủy ngân của nhiệt kế phụ ở điểm giữa của phần cột thủy ngân lộ ra ngoài chất lỏng của nhiệt kế chính.
Tính nhiệt độ đã hiệu chỉnh theo công thức sau:

$$T \text{ hiệu chỉnh} = T + 0{,}00016N\,(T_S - t)$$

Trong đó:
T là nhiệt độ đọc trên nhiệt kế chính;
T_S là nhiệt độ trung bình của đoạn cột thủy ngân ở ngoài chất lỏng của nhiệt kế chính trong điều kiện chuẩn hoá;
t là nhiệt độ của đoạn cột thủy ngân ở ngoài chất lỏng đọc trên nhiệt kế phụ tại điểm chảy;
N là số khoảng chia độ (°C) của đoạn cột thủy ngân của nhiệt kế chính ở ngoài chất lỏng.

Phương pháp 2
(Áp dụng cho các chất không nghiền thành bột được như mỡ, sáp, acid béo, parafin rắn, lanolin và chất tương tự, không tan trong nước).

Dụng cụ
Dùng dụng cụ như phương pháp 1, riêng ống mao quản hở hai đầu, dài 80 mm đến 100 mm, đường kính trong 0,8 mm đến 1,2 mm, thành dày 0,1 mm đến 0,3 mm.

Cách xác định
Cẩn thận làm chảy chất thử ở nhiệt độ thấp tối thiểu. Cắm ống mao quản vào chất thử sao cho lấy được một cột chất thử cao 10 mm không có bọt. Dùng khăn sạch lau sạch phía ngoài mao quản, để nguội ở 10 °C hay thấp hơn trong 24 h, hoặc để tiếp xúc với nước đá ít nhất 2 h.
Đổ nước cất vào cốc thủy tinh đến chiều cao 6 cm. Treo nhiệt kế vào giá và nhúng vào chính giữa cốc nước. Đun nóng cốc nước đến nhiệt độ thấp hơn điểm chảy dự kiến 10 °C, lấy nhiệt kế ra, nhanh chóng buộc mao quản vào nhiệt kế bằng phương tiện thích hợp sao cho cột chất thử ngang với phần giữa bầu thủy ngân của nhiệt kế, điều chỉnh nhiệt kế để đầu dưới của ống mao quản cách đáy cốc 1 cm. Điều chỉnh tốc độ gia nhiệt không quá 1 °C trong một phút. Trong lúc đó luôn khuấy nước nhẹ nhàng và quan sát cột chất thử, khi cột chất thử bắt đầu dâng lên trong ống mao quản thì đọc nhiệt độ. Kết quả đọc giữa 2 lần đo liên tiếp không được chênh lệch nhau quá 0,5 °C. Lấy kết quả trung bình. Nhiệt độ này được coi là điểm chảy và phải nằm trong khoảng nóng chảy quy định của chuyên luận.

Phương pháp 3
(Áp dụng cho chất rắn dễ nghiền nhỏ, giống như phương pháp 1).

Dụng cụ
Một khối kim loại (như đồng) không bị ăn mòn bởi chất thử nghiệm, khả năng truyền nhiệt tốt, bề mặt trên được đánh bóng cẩn thận. Khối kim loại này được đun nóng toàn khối và đồng đều bằng một dụng cụ như đèn ga nhỏ điều chỉnh được hay dụng cụ đun nóng bằng điện có thể điều chỉnh chính xác. Khối kim loại có một khoang hình ống nằm song song, bên dưới và cách bề mặt đánh bóng khoảng 3 mm, có kích thước thích hợp để chứa được một nhiệt kế thủy ngân, đặt ở vị trí giống vị trí khi hiệu chuẩn. Dụng cụ được hiệu chuẩn bằng một chất chuẩn thích hợp đã ghi trong phương pháp 1.

Cách xác định
Đun nóng khối kim loại với một tốc độ thích hợp tới nhiệt độ dưới điểm nóng chảy dự kiến khoảng 10 °C thì điều chỉnh nhiệt độ tăng 1 °C/min, tại những khoảng thời gian đều nhau, thả một vài hạt chất thử đã được làm khô bằng phương pháp thích hợp hay theo sự chỉ dẫn trong chuyên luận và nghiền thành bột mịn lên bề mặt khối kim loại gần vị trí của bầu thủy ngân của nhiệt kế, lau sạch bề mặt sau mỗi lần thử nghiệm. Ghi lại nhiệt độ mà tại đó chất thử tan chảy lần đầu tiên ngay khi nó chạm tới bề mặt kim loại (t_1) và ngừng đun ngay. Trong khi để nguội dần, lại thả một vài hạt chất thử trong khoảng thời gian đều đặn, lau sạch bề mặt sau mỗi lần thử. Ghi lại nhiệt độ mà tại đó chất thử ngừng tan chảy ngay khi tiếp xúc với bề mặt tấm kim loại (t_2). Điểm chảy tức thời được tính theo công thức:

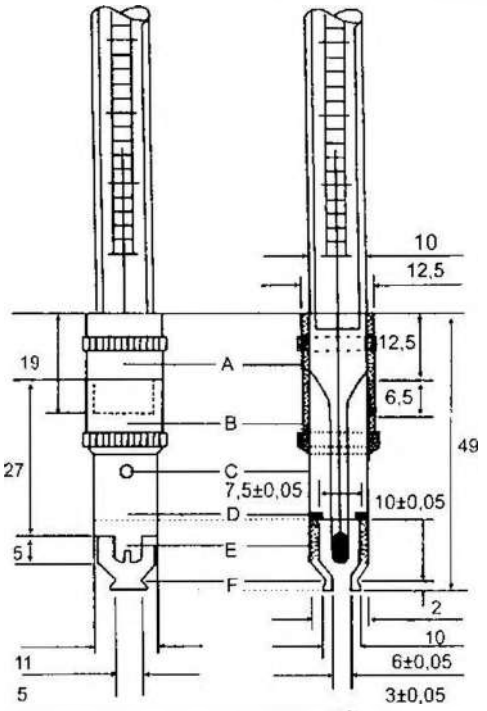
$$(t_1 + t_2)/2$$

Phương pháp 4
Xác định điểm nhỏ giọt (áp dụng cho vaselin và những chất tương tự).
Điểm nhỏ giọt là nhiệt độ mà tại đó giọt đầu tiên của chất thử nóng chảy rơi xuống từ một cái chén nhỏ trong điều kiện xác định dưới đây:

Dụng cụ (Hình 6.7)
Một ống kim loại (A) bao bọc nhiệt kế thủy ngân và được vặn vào một ống kim loại thứ hai (B), một chén nhỏ bằng kim loại (F) được gắn cố định vào phần dưới của ống (B) bằng hai cái đai xiết chặt (E), vị trí chính xác của chén được xác định bằng hai giá đỡ (D) dài 2 mm và cũng dùng để giữ cho nhiệt kế ở chính giữa. Có một lỗ (C) xuyên qua thành của ống kim loại thứ 2 (B), được dùng để cân bằng áp suất.
Bề mặt lỗ thoát ở đáy chén phải phẳng và vuông góc với thành trong của nó. Nhiệt kế có đường kính trong của bầu thủy ngân từ 3,3 mm đến 3,7 mm, dài 5,7 mm đến 6,3 mm, được chuẩn hoá từ 0 °C đến 110 °C chia vạch 1 mm tương ứng 1 °C. Dụng cụ được đặt theo chiều dọc của một ống có kích thước khoảng 20 cm × 4 cm, được cố định bằng một cái nút và nhiệt kế xuyên qua nút theo một đường rãnh. Miệng lỗ thoát của chén cách đáy của ống khoảng 15 mm. Ống được nhúng vào một cái cốc vại có dung tích 1 L, chứa nước sao cho đáy của ống cách đáy của cốc khoảng 25 mm, mặt thoáng của nước bằng với đầu trên của ống kim loại thứ nhất (A). Một dụng cụ khuấy được dùng để giữ cho nhiệt độ của nước đồng nhất.

Cách xác định

Nếu không có chỉ dẫn gì khác trong chuyên luận, đổ chất thử tới miệng chén mà không làm nóng chảy nó, dùng thìa xúc hóa chất để loại bỏ những phần dư ở miệng và đáy chén. Ấn chén vào vị trí của nó trong lớp vỏ kim loại (B) cho tới khi chạm tới giá đỡ, dùng thìa xúc bớt chất thử do nhiệt kế đẩy ra. Đun nóng cốc nước, khi nhiệt độ đạt tới thấp hơn nhiệt độ nóng chảy hay nhỏ giọt khoảng 10 °C thì điều chỉnh tốc độ tăng nhiệt độ khoảng 1 °C/min và ghi nhiệt độ giọt chất lỏng đầu tiên rơi xuống. Tiến hành ít nhất 3 lần, mỗi lần thử với mẫu thử mới. Sự khác biệt giữa các lần đọc không quá 3 °C. Nhiệt độ trung bình của 3 lần xác định là điểm chảy hay điểm nhỏ giọt của mẫu thử.



Hình 6.7- Dụng cụ xác định điểm nhỏ giọt
(*kích thước tính bằng mm*)

6.8 XÁC ĐỊNH NHIỆT ĐỘ SÔI VÀ KHOẢNG CHƯNG CẤT

Nhiệt độ sôi của một chất lỏng là nhiệt độ đã hiệu chỉnh, tại đó áp suất hơi của chất lỏng đạt tới 101,3 kPa.

Xác định nhiệt độ sôi

Dụng cụ (Hình 6.8)

Bình chưng cất: Bình chưng cất đáy tròn, bằng thủy tinh chịu nhiệt có dung tích 50 ml đến 60 ml, cổ bình cao 10 cm đến 12 cm, đường kính trong của cổ bình từ 14 mm đến 16 mm, ở khoảng giữa chiều cao của cổ bình có một ống nhánh dài 10 cm đến 12 cm, đường kính trong 5 mm và tạo với phần dưới của cổ bình một góc 70° đến 75°.

Ống ngưng ruột thẳng: Một ống thủy tinh thẳng dài 55 cm đến 60 cm, phần được cung cấp nước lạnh dài khoảng 40 cm. Ở cuối ống ngưng lắp một ống nối cong để dẫn chất lỏng cất được vào bình hứng.

Bình hứng: Là một ống đong thích hợp có dung tích 25 ml đến 50 ml, chia độ đến 0,5 ml.

Nguồn nhiệt có thể điều chỉnh được cường độ đốt nóng, có thể dùng bếp khí đốt, đèn cồn. Khi dùng bếp khí đốt hay đèn cồn phải dùng một lưới thép có phủ chất chịu nhiệt hình vuông, mỗi chiều dài 14 cm đến 16 cm, ở giữa có một lỗ tròn sao cho khi đặt bình cất vào, phần lọt xuống dưới lưới thép có phủ chất chịu nhiệt có dung tích 3 ml đến 4 ml. Nhiệt kế đã hiệu chuẩn chia độ đến 0,5 °C hoặc tới 0,2 °C. Lắp nhiệt kế ở đúng giữa cổ bình và để đáy của bầu thủy ngân ngang với mức thấp nhất của cổ bình.

Cách xác định

Cho vào bình cất 20 ml chất thử, thêm vào bình cất vài viên bi thủy tinh hay đá bọt. Đun nóng bình nhanh cho đến sôi. Đọc nhiệt độ khi giọt chất lỏng đầu tiên hứng được.

Hiệu chỉnh nhiệt độ đọc được với áp suất khí quyển bằng công thức sau:

$$t_1 = t_2 + k\,(101{,}3 - b)$$

Trong đó:

t_1 là nhiệt độ đã được hiệu chỉnh;

t_2 là nhiệt độ đọc được ở áp suất b;

b là áp suất không khí tại thời điểm thử nghiệm (tính theo kPa);

k là hệ số hiệu chỉnh có giá trị như ở bảng dưới đây:

Nhiệt độ sôi (°C)	Hệ số hiệu chỉnh
Dưới 100 °C	0,30
Trên 100 °C tới 140 °C	0,34
Trên 140 °C tới 190 °C	0,38
Trên 190 °C tới 240 °C	0,41
Trên 240 °C	0,45

Xác định khoảng chưng cất

Khoảng chưng cất của một chất lỏng là khoảng nhiệt độ được hiệu chỉnh ở áp suất 101,3 kPa, trong khoảng đó một chất lỏng hay một phần xác định chất lỏng chưng cất được trong điều kiện dưới đây:

Dụng cụ

Dụng cụ giống như dụng cụ xác định điểm sôi, chỉ khác là bình cất có dung tích 200 ml và nhiệt kế lắp sao cho đầu trên của bầu thủy ngân thấp hơn thành dưới của ống nhánh 5 mm. Nhiệt kế được chia vạch tới 0,2 °C và có khoảng thang đo được 50 °C. Trong khi chưng cất bình và cổ bình được bảo vệ để tránh gió lùa bằng một tấm màn chắn thích hợp. Hứng dịch cất vào một ống đong 50 ml chia độ tới 1 ml. Làm lạnh ống ngưng bằng nước tuần hoàn đối với các chất chưng cất dưới 150 °C.

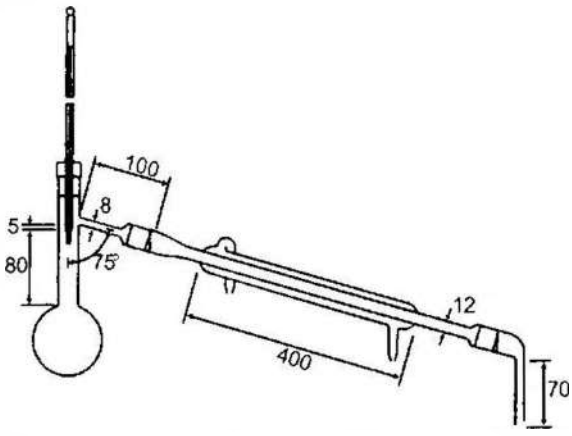
Cách xác định

Cho vào bình cất 50 ml chất lỏng thử nghiệm, thêm vài viên đá bọt. Đun bình sao cho chất lỏng sôi nhanh và ghi nhiệt độ tại đó giọt chất lỏng đầu tiên cất được nhỏ vào ống

đong. Điều chỉnh nguồn nhiệt để có tốc độ cất 2 ml/min đến 3 ml/min và ghi lại nhiệt độ mà tất cả chất thử hay một phần quy định chất thử ở 20 °C được chưng cất hết.
Hiệu chỉnh nhiệt độ đọc được với áp suất khi quyển bằng công thức sau:

$$t_1 = t_2 + k\ (101,3 - b)$$

Trong đó:
t_1 là nhiệt độ đã được hiệu chỉnh;
t_2 là nhiệt độ đọc được ở áp suất b;
b là áp suất không khí tại thời điểm thử nghiệm (tính theo kPa);
k là hệ số hiệu chỉnh ở bảng trong mục Xác định điểm sôi, nếu không có hệ số nào khác được quy định trong chuyên luận riêng.



Hình 6.8 - Dụng cụ xác định điểm sôi, khoảng chưng cất (*kích thước tính bằng mm*).

6.9 XÁC ĐỊNH ĐỘ THẨM THẤU

Xác định độ thẩm thấu là một phương pháp đo nồng độ thẩm thấu của dung dịch mẫu thử từ phép đo của độ hạ băng điểm.
Khi một dung dịch và một dung môi tinh khiết được ngăn cách nhau bởi một màng bán thấm, thì dung môi có thể đi qua tự do nhưng chất tan thì không thể, một phần của dung môi tinh khiết sẽ đi qua màng sang bên ngăn của dung dịch. Sự chênh lệch áp suất giữa hai ngăn đồng thời với việc di chuyển của dung môi qua màng được định nghĩa là áp suất thẩm thấu. Áp suất thẩm thấu là một đặc tính vật lý phụ thuộc vào tổng các dạng tiểu phân có mặt, bao gồm cả các phân tử trung hòa và các ion và không phụ thuộc vào bản chất chất tan. Các đặc tính của dung dịch như áp suất thẩm thấu, độ hạ băng điểm, độ tăng điểm sôi... không phụ thuộc vào bản chất của chất tan mà phụ thuộc vào tổng số của tất cả các dạng tiểu phân được gọi là các đặc tính phụ thuộc số lượng của dung dịch.
Áp suất thẩm thấu của một dung dịch polymer có thể đo trực tiếp như là sự chênh lệch áp suất thủy tĩnh giữa hai ngăn được cách nhau bởi một màng bán thấm, ví dụ màng celulose. Tuy nhiên, nó không áp dụng đối với dung dịch có chứa các phần tử nhỏ có thể đi qua màng bán thấm. Mặc dù áp suất thẩm thấu của một dung dịch như vậy không thể đo được trực tiếp, hướng và mức độ của việc di chuyển dung môi qua màng sinh học có thể được dự đoán trước từ tổng số tất cả các tiểu phân có mặt khi dung dịch được đặt dưới các điều kiện sinh lý. Các đặc tính phụ thuộc số lượng khác của dung dịch như độ hạ băng điểm, độ tăng điểm sôi, độ hạ áp suất hơi... có thể thu được trực tiếp bằng cách theo dõi sự thay đổi của nhiệt độ và áp suất.... Những đặc tính này phụ thuộc vào tổng các dạng ion và phân tử trung hòa trong dung dịch cũng như áp suất thẩm thấu và nồng độ các hạt phân tử được định nghĩa như là nồng độ thẩm thấu. Nồng độ thẩm thấu có thể được định nghĩa bằng hai cách, một là nồng độ dựa trên khối lượng (độ thẩm thấu ξ_m, mol/kg) và cách khác là nồng độ dựa trên thể tích (độ thẩm thấu ξ_c, mol/l). Trong thực tế, cách thứ hai thuận tiện hơn. Phương pháp đo độ hạ băng điểm thường được dùng để xác định nồng độ thẩm thấu, trừ khi có chỉ dẫn khác. Phương pháp dựa trên sự phụ thuộc tuyến tính của độ hạ băng điểm ΔT (°C) với độ thẩm thấu ξ_m (mol/kg) được biểu thị theo phương trình sau:

$$\Delta T = K \cdot \xi_m$$

Trong đó: K là hằng số của độ hạ băng điểm mol và bằng 1,86 °C kg/mol, khi dung môi là nước. Vì hằng số K được định nghĩa dựa trên nồng độ phân tử gam, nồng độ thẩm thấu mol có thể thu được từ phương trình trên. Trong khoảng nồng độ thẩm thấu loãng, độ thẩm thấu ξ_m (mol/kg) có thể coi bằng độ thẩm thấu ξ_c (mol/l). Bởi vậy, độ thẩm thấu thông thường (mol/l) và đơn vị osmol (Osm) được chấp nhận trong phương pháp thử này.
Một Osm có nghĩa là có một số lượng tiểu phân bằng với số Avogadro ($6,022 \times 10^{23}$/mol) chứa trong 1 L dung dịch. Nồng độ thẩm thấu thường được biểu thị bằng đơn vị miliosmol (mOsm, mosmol/l).

Thiết bị

Thẩm thấu kế gồm một cốc đo chứa một thể tích xác định của dung dịch mẫu thử, một bộ phận giữ cốc đo, một bể làm lạnh có bộ phận điều chỉnh nhiệt độ và một nhiệt điện trở để phát hiện nhiệt độ.

Cách tiến hành

Một thể tích xác định của dung dịch thử được đưa vào cốc đo theo quy định đối với từng loại thiết bị.
Thiết bị trước tiên phải được hiệu chuẩn bằng phương pháp hiệu chuẩn hai điểm dùng các dung dịch chuẩn.
Để hiệu chuẩn, chọn hai dung dịch chuẩn khác nhau để nồng độ thẩm thấu của dung dịch thử nằm trong khoảng đó. Ngoài các dung dịch chuẩn được cho trong bảng dưới đây, nước có thể được dùng như là một dung dịch chuẩn (0 mOsm) để đo các dung dịch có độ thẩm thấu thấp (0 mOsm đến 100 mOsm). Sau khi rửa cốc đựng mẫu và nhiệt điện trở như chỉ dẫn trong từng thiết bị riêng, đo độ hạ băng điểm của dung dịch thử. Dùng phương trình đã nêu trên để tính độ thẩm thấu của dung dịch.

Trong trường hợp dung dịch có độ thẩm thấu lớn hơn 1000 mOsm, cần hòa loãng mẫu bằng cách thêm nước cất. Đo độ thẩm thấu của dung dịch pha loãng như chỉ dẫn ở trên. Trong trường hợp này, cần chỉ rõ độ thẩm thấu đã được tính đổi với mẫu thử là độ thẩm thấu biểu kiến thu được bằng phương pháp pha loãng. Khi áp dụng phương pháp pha loãng, độ pha loãng nên được chọn để độ thẩm thấu đo được gần với độ thẩm thấu của dung dịch nước muối sinh lý.

Trong trường hợp mẫu thử ở trạng thái rắn như là thuốc đông khô, chuẩn bị dung dịch thử bằng cách hòa tan chất rắn trong dung môi thích hợp như chỉ dẫn.

Sự thích hợp của thiết bị

Sau khi hiệu chuẩn thiết bị, phép thử độ thích hợp phải được làm bằng cách lặp lại phép đo độ thẩm thấu đối với một dung dịch chuẩn không ít hơn 6 lần. Trong khi làm phép thử này nên chọn độ thẩm thấu của dung dịch thử và dung dịch chuẩn gần giống nhau.

Trong phép thử này, độ lặp lại của giá trị đo và độ lệch trung bình nên nhỏ hơn 2,0 % và 3,0 % tương ứng.

Chuẩn bị dung dịch chuẩn để hiệu chuẩn thẩm thấu kế

Cân chính xác một lượng natri clorid chuẩn (đã được nung trước ở 500 °C đến 650 °C trong 40 min đến 50 min và để nguội trong bình hút ẩm) theo chỉ dẫn trong Bảng 6.9 và hòa tan natri clorid trong chính xác 100 g *nước* để làm dung dịch chuẩn.

Bảng 6.9 - Lượng natri clorid để pha dung dịch chuẩn

Dung dịch chuẩn để hiệu chuẩn thẩm thấu kế (mosmol/kg)	Lượng natri clorid (g)
100	0,309
200	0,626
300	0,946
400	1,270
500	1,593
700	2,238
1000	3,223

Tỷ số thẩm thấu

Trong phương pháp thử này tỷ số thẩm thấu được định nghĩa là tỷ số độ thẩm thấu của dung dịch thử đối với dung dịch natri clorid đẳng trương. Tỷ số có thể được dùng để đo độ đẳng trương của dung dịch thử. Vì độ thẩm thấu của dung dịch natri clorid đẳng trương (NaCl 0,900 g/100 ml) C_S(mOsm) được coi như là hằng số (286 mOsm), độ thẩm thấu của dung dịch thử là C_T (mOsm), tỷ số thẩm thấu được tính theo phương trình:

$$\text{Tỷ số thẩm thấu} = \frac{C_T}{C_S}$$

C_S: 286 mOsm

Khi phép đo được tiến hành bằng phương pháp pha loãng, vì mẫu thử có độ thẩm thấu lớn hơn 1000 mOsm, độ thẩm thấu biểu kiến của dung dịch mẫu C'_T có thể được tính theo phương trình:

$$n \times C'_T = C_T$$

Trong đó:

n là độ pha loãng;

C'_T là độ thẩm thấu đo được của dung dịch loãng.

Trong phép tính này, đã chấp nhận giả thiết có sự tương quan tuyến tính giữa độ thẩm thấu và nồng độ dung dịch. Bởi vậy, khi có bước pha loãng, cần phải chỉ rõ độ pha loãng là n lần.

6.10 XÁC ĐỊNH ĐIỆN DẪN SUẤT

Điện dẫn suất (còn gọi là Độ dẫn điện riêng) là giá trị nghịch đảo của điện trở suất.

Một dây dẫn có độ dài L (cm) và thiết diện S (cm^2) thì điện trở của nó được tính theo công thức:

$$R = \rho \frac{L}{S}$$

Trong đó:

ρ là điện trở suất.

Đơn vị của điện trở R là ôm (Ω), của điện trở suất ρ là ôm·cm (Ω·cm).

Đơn vị của độ dẫn điện là simen (S). Simen là nghịch đảo của ôm: 1 S = 1/Ω.

Điện dẫn suất là nghịch đảo của ρ, có thứ nguyên là $\Omega^{-1} \cdot cm^{-1}$ hoặc S/cm ($S \cdot cm^{-1}$).

Điện dẫn suất κ (kappa) của một dung dịch được biểu thị bằng độ dẫn điện của một lớp dung dịch giữa 2 mặt đối nhau của một khối lập phương có cạnh 1 cm.

$$\kappa = \frac{1}{\rho} \quad S \cdot cm^{-1}$$

Ngoài đơn vị simen trên centimét, $S \cdot cm^{-1}$, điện dẫn suất κ còn được biểu thị bằng microsimen trên centimét, $\mu S \cdot cm^{-1}$. Nếu không có chỉ dẫn riêng, nhiệt độ để xác định κ là 25 °C.

Thiết bị và cách tiến hành mô tả dưới đây được áp dụng để đo các mẫu có điện dẫn suất lớn hơn 10 $\mu S \cdot cm^{-1}$. Việc đo điện dẫn suất của nước được đề cập trong các chuyên luận tương ứng.

Thiết bị

Thiết bị đo (là độ dẫn điện kế hay điện trở kế) được dùng để đo điện trở của cột chất lỏng giữa các điện cực của tế bào đo được nhúng trong chất lỏng cần đo. Thiết bị này dùng dòng điện xoay chiều để tránh ảnh hưởng của sự phân cực tại điện cực và được trang bị một đầu dò nhiệt độ và bộ phận bù chỉnh nhiệt độ. Tế bào đo gồm hai điện cực platin song song được phủ lớp bột đen platin, cách nhau một khoảng cách L; mỗi điện cực có diện tích bề mặt S. Cả hai điện cực được bảo vệ bằng một ống thủy tinh.

Một số loại tế bào đo khác với mô tả trên cũng có thể được sử dụng.

Hằng số C của tế bào đo được biểu thị bằng cm^{-1} theo phương trình:

$$C = \alpha \frac{L}{S}$$

Trong đó:
α là hệ số không có thứ nguyên, đặc trưng cho thiết kế của tế bào.

Thuốc thử dùng để xác định hằng số tế bào

Chuẩn bị 3 dung dịch chuẩn kali clorid có chứa lần lượt 0,7455 g, 0,0746 g và 0,0149 g *kali clorid (TT)* trong 1000 g dung dịch, dùng *nước không có carbon dioxyd (TT)* được điều chế từ nước cất có điện dẫn suất không quá 2 $\mu S \cdot cm^{-1}$. Điện dẫn suất và điện trở suất của 3 dung dịch này ở 20 °C cho trong Bảng 6.10.

Bảng 6.10 - Điện dẫn suất và điện trở suất của các dung dịch kali clorid

Nồng độ (g/1000 g)	Điện dẫn suất ($\mu S \cdot cm^{-1}$)	Điện trở suất ($\Omega \cdot cm$)
0,7455	1330	752
0,0746	133,0	7519
0,0149	26,6	37594

Nếu điện dẫn suất được xác định ở nhiệt độ khác 20 °C, dùng phương trình sau để hiệu chỉnh điện dẫn suất của các dung dịch kali clorid cho trong bảng 6.10. Phương trình này chỉ có giá trị khi nhiệt độ trong khoảng 15 °C đến 25 °C

$$\kappa_T = \kappa_{20} [\ 1 + 0{,}021(T - 20)]$$

Trong đó:
T là nhiệt độ quy định trong chuyên luận;
κ_T là điện dẫn suất của kali clorid ở T °C;
κ_{20} là điện dẫn suất của kali clorid ở 20 °C.
Cũng có thể sử dụng những dung dịch chuẩn khác được xác nhận cung cấp trên thị trường, nhất là đối với các tế bào đo có hằng số 0,1 cm^{-1}.

Cách tiến hành

Xác định hằng số tế bào

Chọn một tế bào đo thích hợp với tính chất và độ dẫn điện của dung dịch thử.
Điện dẫn suất của dung dịch cần đo càng cao thì cần chọn tế bào đo có hằng số C càng cao (có ρ thấp) để giá trị R đo được càng lớn càng tốt đối với máy đo. Các tế bào đo thường dùng có hằng số theo thứ tự là 0,1 cm^{-1}; 1 cm^{-1} và 10 cm^{-1}.
Dùng một dung dịch chuẩn, ví dụ, dung dịch kali clorid nồng độ thích hợp, để xác định hằng số tế bào. Nên chọn dung dịch chuẩn có điện dẫn suất gần với giá trị điện dẫn suất dự kiến của dung dịch cần đo. Rửa tế bào vài lần với *nước cất* và ít nhất hai lần với dung dịch chuẩn kali clorid trên. Đo điện trở của tế bào với dung dịch kali clorid ở nhiệt độ 25 °C ± 1 °C, hoặc ở nhiệt độ quy định trong chuyên luận. Hằng số C (cm^{-1}) của tế bào đo được tính bởi công thức sau:

$$C = R_{KCl} \times \kappa_{KCl}$$

Trong đó:
R_{KCl} là điện trở đo được của dung dịch chuẩn kali clorid tính bằng mega ôm (MΩ);
κ_{KCl} là điện dẫn suất của dung dịch chuẩn kali clorid tính bằng $\mu S \cdot cm^{-1}$;
Hằng số C đo được của tế bào phải nằm trong khoảng ± 5 % của giá trị đã cho.

Xác định điện dẫn suất của dung dịch thử

Sau khi hiệu chuẩn máy với một trong số các dung dịch chuẩn, rửa tế bào đo vài lần với *nước cất* và ít nhất hai lần với dung dịch mẫu thử ở 25 °C ± 1 °C, hoặc ở nhiệt độ quy định trong chuyên luận. Tiến hành tiếp theo các phép đo điện trở như quy định trong chuyên luận; từ điện trở đo được và hằng số tế bào xác định được ở trên, tính ra điện dẫn suất của dung dịch mẫu thử.

6.11 XÁC ĐỊNH KHỐI LƯỢNG RIÊNG CỦA CHẤT RẮN

Khối lượng riêng có liên quan đến sự phân bố không gian của chất trong một nguyên liệu.
Khối lượng riêng của chất rắn thường được biểu thị bằng số g/cm^3, khác với chất lỏng, khối lượng riêng thường được biểu thị bằng g/ml ở một nhiệt độ quy định.
Khối lượng riêng của một tiểu phân chất rắn có thể có các giá trị khác nhau phụ thuộc vào phương pháp đo thể tích tiểu phân đó. Cần phân biệt ba loại khối lượng riêng khác nhau:
Khối lượng riêng thực của một chất là khối lượng trung bình tính trên một đơn vị thể tích, không tính đến tất cả các khoảng trống không có vai trò cơ bản trong việc sắp xếp các phân tử. Đó là một đặc tính bên trong của chất, bởi vậy nó không phụ thuộc vào phương pháp xác định. Khối lượng riêng thực của một tinh thể hoàn chỉnh có thể được xác định từ kích thước và cấu trúc của đơn vị cấu tạo.
Khối lượng riêng đo bằng picnomet được đo bằng picnomet sử dụng khí. Đó là một phép đo khối lượng riêng thuận tiện đối với các bột dược phẩm. Trong một picnomet khí, thể tích bị chiếm chỗ bởi một khối lượng bột đã biết được xác định bằng cách đo thể tích của khí được thay thế vào chỗ của bột. Tỷ số giữa khối lượng và thể tích là khối lượng riêng đo bằng picnomet.
Khối lượng riêng đo bằng picnomet bằng khối lượng riêng thực trừ khi nguyên liệu có chứa những khoảng trống mà chất khí không thể thâm nhập vào được hoặc các lỗ hổng bị bịt kín mà khí dùng trong phương pháp này không thể lọt vào được.
Khối lượng riêng hạt tính cả những lỗ hổng hở nhỏ hơn một kích cỡ giới hạn vào thể tích của tiểu phân. Giới hạn kích cỡ phụ thuộc vào phương pháp đo. Một kỹ thuật đo chung là đo độ xốp bằng thủy ngân, tại đó kích cỡ lỗ giới hạn phụ thuộc vào áp suất khuếch tán tối đa. Vì thể tích lỗ hổng được tính thêm vào, nên khối lượng riêng hạt không bao giờ lớn hơn khối lượng riêng thực.

Một khái niệm có liên quan là *khối lượng riêng khí động lực*, đó là khối lượng riêng của tiểu phân với một thể tích được xác định bằng sự bao bọc tiểu phân bằng khí động lực trong một dòng chảy. Cả hai loại lỗ hổng kín và hở đều được tính đến nhưng các lỗ hở được làm đầy bằng chất lỏng tràn vào. Bởi vậy, khối lượng riêng khí động lực phụ thuộc vào khối lượng riêng của chất lỏng dùng trong phép thử nếu tiểu phân là xốp.

Tóm lại, khối lượng riêng đo bằng picnomet khí và khối lượng riêng thực đều chỉ khối lượng riêng, nếu cần có thể phân biệt dựa vào phương pháp đo.

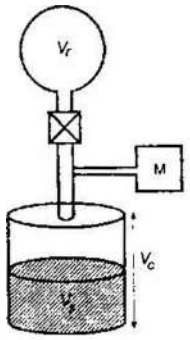
Khối lượng riêng của một nguyên liệu phụ thuộc vào trạng thái tập hợp phân tử. Đối với chất khí và chất lỏng, khối lượng riêng chỉ phụ thuộc vào nhiệt độ và áp suất. Đối với chất rắn, khối lượng riêng sẽ rất khác nhau tùy thuộc vào cấu trúc kết tinh và độ kết tinh.

Nếu chất rắn ở thể vô định hình, khối lượng riêng của nó có thể phụ thuộc vào quá trình tinh chế và xử lý. Bởi vậy, không giống như chất lỏng, khối lượng riêng của hai chất rắn tương đương về mặt hóa học có thể khác nhau và sự khác nhau này phản ánh sự không giống nhau về cấu trúc trạng thái rắn. Khối lượng riêng của các hạt thành phần là một đặc tính lý học quan trọng của bột dược phẩm.

Ngoài các định nghĩa trên về khối lượng riêng của tiểu phân, còn có *khối lượng riêng toàn khối* bao gồm cả thể tích trống giữa các hạt được tạo thành trong khối bột. Do đó, khối lượng riêng toàn khối phụ thuộc vào cả hai: Khối lượng riêng của các tiểu phân bột và sự sắp xếp của các tiểu phân bột.

Đo khối lượng riêng bằng picnomet khí

Đo bằng picnomet khí là một phương pháp thuận tiện và thích hợp để xác định khối lượng riêng của các tiểu phân bột. Một loại picnomet khí đơn giản được mô tả như trong Hình 6.11.



V_r: Thể tích đối chiếu;
V_c: Thể tích buồng thử;
V_s: Thể tích mẫu;
M: Áp kế.

Hình 6.11 - Sơ đồ picnomet khí

Mẫu thử có khối lượng w và thể tích V_s được đặt trong một buồng thử kín có thể tích của buồng rỗng là V_c. Áp suất đối chiếu của hệ thống là P_r được xác định bằng áp kế khi mở van nối thể tích đối chiếu với buồng thử. Sau đó van được đóng để tách riêng thể tích đối chiếu V_r khỏi buồng thử. Buồng thử được nén với một áp suất ban đầu P_1. Sau đó van lại được mở để nối thể tích đối chiếu V_r với buồng thử và áp suất cuối cùng sẽ giảm xuống còn P_2. Thể tích của mẫu thử V_s được tính theo công thức:

$$V_s = V_c - \frac{V_r}{\left|\frac{P_1 - P_2}{P_2 - P_r}\right| - 1} \qquad (1)$$

Khối lượng riêng ρ được tính theo phương trình:

$$\rho = \frac{w}{V_s} \qquad (2)$$

Các chi tiết thiết kế thiết bị có thể khác nhau, nhưng tất cả các picnomet khí đều dựa trên việc đo sự thay đổi áp suất khi một thể tích đối chiếu được thêm vào hoặc giảm đi ở buồng thử.

Khối lượng riêng đo được là khối lượng riêng trung bình của các tiểu phân bột. Kết quả đo khối lượng riêng này sẽ mắc sai số nếu chất khí trong phép thử bị hấp phụ vào bột hoặc có các tạp chất bay hơi thoát ra ngoài trong quá trình đo. Sự hấp phụ chất khí có thể loại bỏ được bằng cách chọn loại khí thử thích hợp. Khí heli nói chung hay được chọn cho phép đo này. Các tạp chất bay hơi có trong bột có thể được loại ra khỏi bột bằng cách dùng khí heli áp suất không đổi trước khi đo. Đôi khi bột có thể được khử khí dưới chân không.

Hai lần đọc kết quả liên tiếp của thể tích mẫu thử phải nằm trong khoảng 0,2 % nếu các chất lạ bay hơi không có ảnh hưởng đến phép đo. Vì các chất bay hơi có thể thoát ra trong lúc đo, nên khối lượng của mẫu thường cân sau khi đo thể tích bằng picnomet.

Cách đo

Phải đảm bảo rằng thể tích đối chiếu và thể tích hiệu chuẩn dùng cho picnomet khí đã được xác định bằng một quy trình thích hợp. Khí dùng trong phép thử là heli trừ khi một loại khí khác được quy định trong chuyên luận riêng. Nhiệt độ picnomet khí nên duy trì trong khoảng 15 °C và 30 °C và không nên thay đổi quá 2 °C trong cả quá trình đo.

Cho mẫu thử đã được chuẩn bị như chỉ dẫn trong chuyên luận riêng vào buồng đo. Dùng một lượng bột như hướng dẫn đối với picnomet. Đậy kín buồng thử, đẩy qua hệ thống picnomet dòng khí thử như trong hướng dẫn của nhà sản xuất. Nếu mẫu phải khử khí dưới chân không, làm như quy định trong chuyên luận riêng và hướng dẫn sử dụng của picnomet.

Lặp lại phép đo trên cùng mẫu bột cho đến khi các kết quả đo liên tiếp của thể tích mẫu V_s khớp trong khoảng 0,2 %. Cân lượng bột có trong cốc. Tính khối lượng riêng ρ của mẫu theo phương trình (2) ở trên.

6.12 PHÂN TÍCH NHIỆT

Phân tích nhiệt là một nhóm các kỹ thuật xác định những thay đổi tính chất vật lý của một chất theo sự thay đổi nhiệt độ. Các kỹ thuật thông dụng nhất đều áp dụng phương

pháp đo sự biến thiên khối lượng hoặc biến thiên năng lượng của mẫu thử.

Phép đo nhiệt trọng lượng (nhiệt khối)

Phép đo nhiệt trọng lượng (TGA) là kỹ thuật đo khối lượng của một chất khi thay đổi nhiệt độ theo một chương trình nhiệt độ được kiểm soát.

Thiết bị

Bộ phận chính của một cân nhiệt gồm một thiết bị làm nóng hoặc làm lạnh theo chương trình nhiệt độ đặt trước, một giá giữ mẫu trong môi trường không khí được kiểm soát, một cân điện tử và một máy ghi. Trong một số trường hợp, máy còn có thể gắn với một thiết bị cho phép phân tích các sản phẩm bay hơi.

Kiểm tra nhiệt độ

Kiểm tra thang nhiệt độ bằng một chất thích hợp theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Hiệu chuẩn cân điện

Đặt một lượng thích hợp chất đối chiếu phù hợp có chứng chỉ vào giá giữ mẫu và xác định khối lượng. Đặt tốc độ tăng nhiệt theo hướng dẫn của nhà sản xuất và bắt đầu tăng nhiệt độ. Ghi lại biểu đồ nhiệt trọng lượng với nhiệt độ hoặc thời gian trên trục hoành, tăng từ trái qua phải và khối lượng trên trục tung, tăng từ dưới lên trên. Dừng tăng nhiệt độ ở khoảng 230 °C. Đo trên đồ thị sự chênh lệch giữa các đường ổn định khối lượng - nhiệt độ hoặc đường ổn định khối lượng - thời gian ở giai đoạn đầu và giai đoạn cuối, tương ứng với sự mất khối lượng. Giá trị khối lượng mất đi của chất đối chiếu được ghi trên nhãn.

Tiến hành

Tiến hành quá trình trên đối với chất khảo sát, áp dụng các điều kiện được ghi trong chuyên luận. Tính khối lượng mất đi từ sự chênh lệch đo được trên đồ thị, biểu thị ra phần trăm theo khối lượng.

Nếu sử dụng máy đều đặn, phải định kỳ kiểm tra nhiệt độ và hiệu chuẩn. Nếu không dùng máy thường xuyên, kiểm tra nhiệt độ và hiệu chuẩn trước mỗi lần đo.

Vì yếu tố không khí môi trường ảnh hưởng nhiều đến kết quả đo nên các thông số như áp suất hoặc tốc độ, thành phần khí cần được ghi lại mỗi khi đo.

Phép đo nhiệt lượng quét vi sai

Đo nhiệt lượng quét vi sai (DSC) là một kỹ thuật cho phép nhận biết những hiện tượng năng lượng xảy ra trong quá trình làm nóng hoặc làm lạnh của một chất (hoặc hỗn hợp nhiều chất) và xác định biến thiên enthalpy, nhiệt dung riêng và nhiệt độ ở đó xuất hiện các hiện tượng này.

Kỹ thuật được dùng để xác định chênh lệch tốc độ nhiệt giải phóng hoặc hấp thu bởi chất khảo sát so sánh với mẫu đối chiếu theo sự thay đổi của nhiệt độ. Có hai kiểu thiết bị DSC. Kiểu thứ nhất áp dụng kỹ thuật bù năng lượng để giữ chênh lệch nhiệt độ giữa mẫu thử và mẫu đối chiếu bằng không. Kiểu thứ hai giữ tốc độ tăng nhiệt đều đặn và phát hiện sự chênh lệch nhiệt độ giữa mẫu thử và mẫu đối chiếu.

Thiết bị

Thiết bị bù năng lượng DSC gồm một lò nhiệt có giá giữ mẫu hai ngăn: Ngăn để mẫu thử và ngăn để mẫu đối chiếu. Thiết bị đo dòng nhiệt DSC gồm một lò nhiệt có một ngăn để đặt chén đựng mẫu thử và chén đựng mẫu đối chiếu.

Một thiết bị đặt chương trình nhiệt độ, một detector nhiệt và một hệ thống ghi nối với máy tính. Các phép đo được thực hiện trong điều kiện không khí môi trường được kiểm soát.

Hiệu chuẩn thiết bị

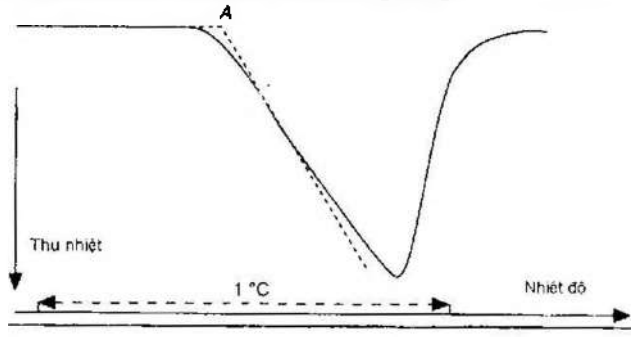
Dùng indi có mức tinh khiết cao hoặc vật liệu thích hợp có chứng chỉ để hiệu chuẩn nhiệt độ và biến thiên enthalpy theo hướng dẫn của nhà sản xuất, có thể dùng kết hợp hai kim loại indi và kẽm để kiểm tra độ tuyến tính.

Tiến hành

Cân một lượng thích hợp chất khảo sát vào một dụng cụ chịu nhiệt phù hợp. Đặt vào ngăn giữ mẫu. Đặt nhiệt độ đầu, nhiệt độ kết thúc và tốc độ tăng nhiệt theo các điều kiện được ghi trong chuyên luận riêng.

Bắt đầu phép phân tích và ghi biểu đồ phân tích nhiệt vi sai với nhiệt độ hoặc thời gian trên trục hoành (giá trị tăng từ trái qua phải) và biến thiên năng lượng trên trục tung (cho biết thay đổi thu nhiệt hay tỏa nhiệt).

Hiện tượng nhiệt xuất hiện ở nhiệt độ tương ứng với giao điểm (A) của đường nền kéo dài và tiếp tuyến tại điểm dốc nhất (điểm uốn) của đường cong (Hình 6.12.1). Kết thúc hiện tượng nhiệt là đỉnh của đường cong.



Hình 6.12.1 - Biểu đồ nhiệt

Enthalpy của hiện tượng tỷ lệ với diện tích dưới đường cong giới hạn bởi đường nền.

Hệ số tỷ lệ được xác định từ phép đo nhiệt nóng chảy của một chất đã biết (ví dụ indi) trong cùng điều kiện đo.

Mỗi biểu đồ nhiệt có thể kèm theo những thông số sau đây: Các điều kiện áp dụng, ghi chép của lần hiệu chuẩn cuối cùng, lượng mẫu, định tính (bao gồm tính chất nhiệt), bao bì, môi trường không khí (thành phần tính chất, tốc độ dòng, áp suất), chiều và tốc độ thay đổi nhiệt độ, độ nhạy của máy đo và máy ghi.

Áp dụng

Khảo sát các hiện tượng chuyển pha

Xác định biến thiên nhiệt độ, nhiệt dung và enthalpy của các quá trình chuyển pha xảy ra với một chất theo sự biến đổi của nhiệt độ như sau:

Chuyển pha rắn - rắn	biến đổi thù hình - đa hình tạo thành thủy tinh loại dung môi biến đổi vô định hình - kết tinh
Chuyển pha rắn - lỏng	nóng chảy
Chuyển pha rắn - khí	thăng hoa
Chuyển pha lỏng - rắn	đông đặc kết tinh lại
Chuyển pha lỏng - khí	bay hơi

Biến đổi thành phần hóa học

Đo nhiệt lượng hoặc nhiệt độ của phản ứng trong các điều kiện thực nghiệm nhất định, từ đó xác định động học của phản ứng phân hủy hoặc quá trình loại dung môi.

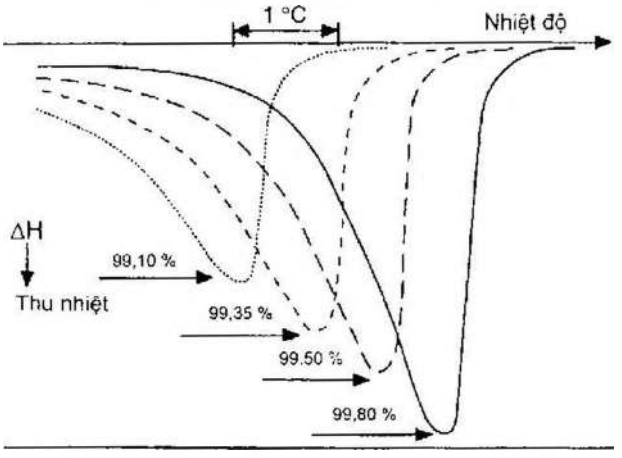
Áp dụng đối với biểu đồ pha

Thiết lập biểu đồ pha đối với một hỗn hợp rắn. Việc thiết lập này có thể là một bước quan trọng trong tiến trình công thức hóa sơ bộ và tối ưu hóa quá trình đông khô.

Xác định độ tinh khiết

Việc đo nhiệt nóng chảy và điểm chảy bằng DSC cho phép xác định hàm lượng tạp chất của một chất chỉ bằng một biểu đồ nhiệt đơn lẻ, với một vài miligam mẫu và không cần thiết phải lặp lại phép đo chính xác của nhiệt độ thực.

Theo lý thuyết, điểm chảy của một chất tinh khiết, kết tinh hoàn toàn ở áp suất hằng định có nhiệt nóng chảy đặc trưng ΔH_f dao động trong một khoảng rất hẹp, tương ứng với điểm chảy T_0. Sự dãn rộng khoảng này là một dấu hiệu khá nhạy về sự có mặt của các tạp chất. Do đó, các mẫu của cùng một chất, với lượng tạp chất thay đổi vài phần nghìn, cho những biểu đồ nhiệt khác nhau rõ rệt (Hình 6.12.2).



Hình 6.12.2 - Biểu đồ nhiệt biểu thị mức độ tinh khiết

Việc xác định mức độ tinh khiết mol bằng DSC dựa trên việc sử dụng phép tính gần đúng dạng tích phân của phương trình Van't Hoff áp dụng cho nồng độ (không phải hoạt độ) trong hệ 2 thành phần

$[\ln(1 - x_2) = -x_2$ và $T \times T_0 = T_0^2]$

$$T = T_0 - \frac{RT_0^2}{\Delta H_f} \times x_2 \qquad (1)$$

Trong đó:

x_2 là phần số mol của tạp chất, nghĩa là số mol tạp chất chia cho tổng số mol trong pha lỏng ở nhiệt độ (kenvin);

T_0 là điểm chảy của chất tinh khiết hóa học, đơn vị kenvin;

ΔH_f là nhiệt nóng chảy mol của chất khảo sát, đơn vị Jun·mol^{-1};

R là hằng số khí lý tưởng, đơn vị jun·kenvin^{-1}·mol^{-1}.

Từ đây, việc xác định độ tinh khiết bằng DSC giới hạn trong việc xác định các tạp chất tạo thành hỗn hợp eutectic với thành phần chính và biểu thị ra phân số mol ít hơn 2 % trong chất cần khảo sát.

Phương pháp này không áp dụng đối với:

Các chất vô định hình;

Các chất solvat hóa và đa hình không bền trong khoảng nhiệt độ khảo sát;

Các tạp chất tạo thành các dung dịch rắn với thành phần chính;

Các tạp chất không tan trong pha lỏng hoặc trong quá trình tan chảy của thành phần chính.

Trong quá trình làm nóng chất khảo sát, tạp chất chảy hoàn toàn ở nhiệt độ eutectic của hỗn hợp. Trên nhiệt độ này, pha rắn chỉ chứa chất tinh khiết. Khi nhiệt độ tăng dần từ nhiệt độ eutectic đến điểm chảy của chất tinh khiết, phân số mol của tạp chất trong chất lỏng giảm đều đặn bởi vì lượng chất tinh khiết chảy lỏng tăng dần. Ở tất cả mọi nhiệt độ trên điểm eutectic:

$$x_2 = \frac{1}{F} \times x_2^* \qquad (2)$$

Trong đó:

F là phần nóng chảy của mẫu phân tích,

x_2^* là phân số mol của tạp chất trong mẫu phân tích

Khi mẫu chảy hoàn toàn, $F = 1$ và $x_2 = x_2^*$.

Phương trình (2) kết hợp với phương trình (1) thu được:

$$T = T_0 - \frac{x_2^* RT_0^2}{\Delta H_f} \times \frac{1}{F}$$

Giá trị nhiệt nóng chảy thu được bằng cách lấy tích phân pic nóng chảy.

Điểm chảy T_0 của chất tinh khiết được ngoại suy từ đồ thị của $1/F$ theo nhiệt độ biểu thị bằng kenvin. Độ dốc α của đường cong, thu được bằng phương pháp tuyến tính hóa nếu cần thiết, tương ứng với $\frac{x_2^* RT_0^2}{\Delta H_f}$ cho phép tính được x_2^*. Lấy giá trị x_2^* nhân với 100 cho tỷ lệ phần trăm (tính theo mol) của tổng tạp chất eutectic.

Kính hiển vi nhiệt

Có thể quan sát quá trình chuyển pha bằng kính hiển vi nhiệt. Phương pháp này cho phép khảo sát mẫu dưới kính hiển vi phân cực theo sự thay đổi nhiệt độ được chương trình hóa.

Những khảo sát thu được dưới kính hiển vi nhiệt cho phép xác định rõ bản chất của các hiện tượng được phát hiện bằng phương pháp nhiệt trọng lượng và phân tích nhiệt vi sai.

Thiết bị

Thiết bị bao gồm kính hiển vi gắn với nguồn sáng phân cực, một đĩa nóng, một thiết bị điều khiển chương trình nhiệt độ làm nóng hoặc làm lạnh, một hệ thống máy ghi nhiệt độ chuyển pha. Có thể có thêm máy quay và ghi video.

6.13 XÁC ĐỊNH KHỐI LƯỢNG RIÊNG THÔ VÀ KHỐI LƯỢNG RIÊNG GÕ CỦA BỘT

Khối lượng riêng thô

Khối lượng riêng thô của bột là tỷ số giữa khối lượng của bột chưa bị dồn nén so với thể tích của nó, bao gồm cả thể tích khoảng trống giữa các hạt bột. Như vậy khối lượng riêng thô phụ thuộc vào khối lượng riêng của các hạt bột và sự xắp xếp không gian giữa các hạt trong khối bột. Mặc dù đơn vị khối lượng riêng là kg/m^3 nhưng khối lượng riêng thô được biểu thị là g/ml vì phép đo thể tích sử dụng ống đong, cũng có thể biểu thị bằng đơn vị g/cm^3.

Tính chất thô của bột tùy thuộc vào quá trình điều chế, xử lý và bảo quản bột. Các hạt bột có thể bị nén và có khối lượng riêng thô dao động trong một khoảng nhất định, ngoài ra một sự xáo trộn nhỏ trong khối bột cũng có thể làm thay đổi giá trị này. Vì vậy khối lượng riêng thô thường rất khó xác định với độ lặp lại cao và khi báo cáo kết quả nhất thiết phải chỉ rõ cách xác định.

Khối lượng riêng thô của bột có thể được xác định bằng cách đo thể tích của một khối lượng bột biết trước, được rây qua rây và chuyển vào một ống đong chia vạch (Phương pháp 1) hoặc xác định khối lượng bột đã biết thể tích trong một cốc hứng của thể tích kế (Phương pháp 2) hoặc trong một cốc đo (Phương pháp 3).

Phương pháp 1 và 3 là hai phương pháp hay được áp dụng.

Phương pháp 1: Đo thể tích bằng ống đong

Bột cần xác định khối lượng riêng thô được rây qua rây có kích thước lỗ rây không nhỏ hơn 1,0 mm. Nếu cần có thể làm vỡ các hạt bột kết dính một cách nhẹ nhàng sao cho không ảnh hưởng đến tính chất vốn có của bột. Cân khoảng 100 g bột đã rây (m) chính xác tới 0,1 %, chuyển bột một cách nhẹ nhàng, không được dồn nén vào một ống đong khô, có chia vạch dung tích 250 ml và có thể đọc chính xác đến 2 ml. Cẩn thận san bằng mặt bột, không nén, đọc thể tích biểu kiến (V_0) tại vạch chia độ gần nhất trên ống đong. Tính khối lượng riêng thô ra g/ml áp dụng công thức m/V_0. Thông thường, khi xác định tính chất này cần phải lặp lại phép đo nhiều lần.

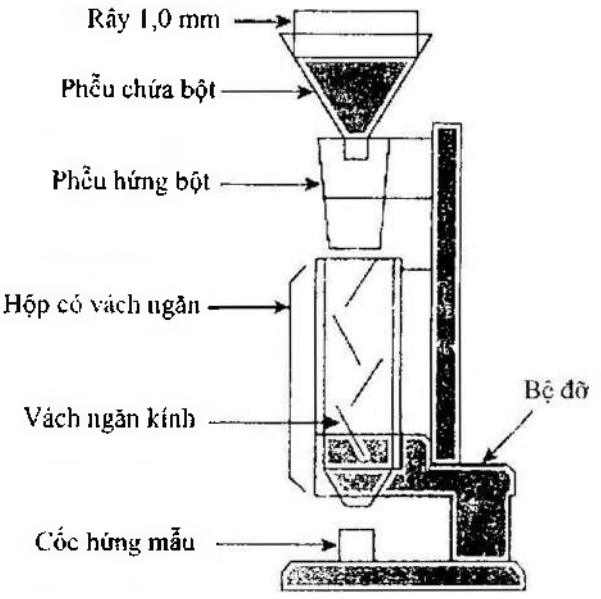
Nếu khối lượng riêng của bột quá thấp hoặc quá cao, tức là thể tích đo nhỏ hơn 150 ml hoặc lớn hơn 250 ml, thì không thể dùng 100 g mẫu thử. Trong trường hợp này lượng mẫu thử cần lấy sao cho thể tích biểu kiến nằm trong khoảng 150 ml đến 250 ml (thể tích biểu kiến không ít hơn 60 % thể tích của ống đong). Khối lượng mẫu thử cần được ghi kèm với kết quả.

Đối với mẫu thử có thể tích biểu kiến nằm trong khoảng từ 50 ml đến 100 ml có thể dùng ống đong dung tích 100 ml và có thể đọc chính xác đến 1 ml. Thể tích của ống đong cần được ghi rõ khi báo cáo kết quả.

Phương pháp 2: Đo bằng thể tích kế

Thiết bị (Hình 6.13.1): Bao gồm một phễu đặt ở trên, gắn với một rây có kích thước lỗ rây 1,0 mm. Phễu được đặt trên một hộp có 4 vách ngăn bằng kính để bột trượt và chảy qua đó. Đáy hộp có hình phễu giúp gom bột và chuyển bột chảy vào một cốc hứng được gắn ngay phía dưới. Cốc đo có thể hình trụ, thể tích (25,00 ± 0,05) ml và đường kính trong (30,00 ± 2,00) mm hoặc hình khối vuông, thể tích (16,39 ± 0,20) ml và kích thước cạnh trong (25,4 ± 0,076) mm.

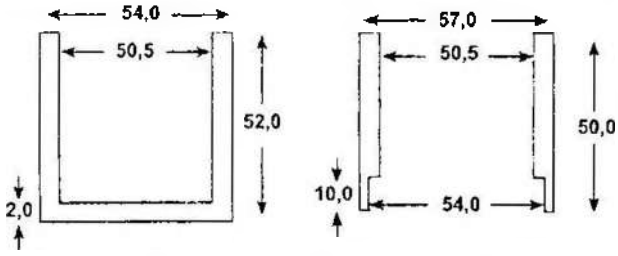
Cách tiến hành: Cho một lượng dư bột chảy qua thiết bị vào một cốc hứng đến khi bột tràn ra ngoài. Dùng ít nhất 25 cm^3 bột cho cốc hình vuông và 35 cm^3 bột cho cốc hình trụ. Cẩn thận gạt lượng bột dư trên mặt cốc bằng một lưỡi gạt đặt vuông góc và tiếp xúc với mặt trên của cốc. Chú ý không làm nén bộ thay làm mất bột trong cốc đo. Gạt bỏ bột dính bên ngoài cốc và xác định khối lượng (m) chính xác tới 0,1 %. Tính khối lượng riêng thô ra g/ml áp dụng công thức m/V_0 (trong đó V_0 là thể tích của cốc). Thực hiện trên 3 mẫu thử khác nhau và tính kết quả trung bình.



Hình 6.13.1 - Thể tích kế

Phương pháp 3: Đo thể tích bằng cốc đo

Thiết bị: Bao gồm một cốc hình trụ bằng thép không gỉ dung tích 100 ml với kích thước như trong Hình 6.13.2.



Hình 6.13.2 - Cốc đo (trái) và nắp (phải)
(Kích thước tính bằng mm)

Cách tiến hành: Lấy một lượng bột vừa đủ cho phép thử, rây qua rây kích thước 1,0 mm nếu cần để làm vỡ các hạt kết dính có thể hình thành trong khi bảo quản. Để mẫu chảy tự do vào cốc đo đến khi đầy tràn. Cẩn thận gạt bỏ lượng bột dư ở phía trên như mô tả ở phương pháp 2. Xác định khối lượng của cốc chứa bột chính xác tới 0,1 %, tính khối lượng bột (m_0) bằng cách trừ đi khối lượng cốc đo rỗng. Tính khối lượng riêng thô ra g/ml áp dụng công thức $m_0/100$. Thực hiện trên 3 mẫu thử khác nhau và tính kết quả trung bình.

Khối lượng riêng gõ

Khối lượng riêng gõ là khối lượng riêng thô của bột tăng lên khi dồn nén bột bằng tác động cơ học lên đồ đựng mẫu bột.

Khối lượng riêng gõ thu được bằng cách tác động cơ học (gõ) lên ống đong chia vạch hoặc cốc chứa mẫu bột. Sau khi xác định thể tích hoặc lượng bột ban đầu, ống đo hoặc cốc đo sẽ bị tác động cơ học cho đến khi những thay đổi về thể tích hay khối lượng là không đáng kể. Tác động cơ học đạt được bằng cách nâng ống đo hoặc cốc đo lên rồi để rơi tự do, độ cao khi nâng lên được chỉ ra trong 3 phương pháp dưới đây. Thiết bị có thể quay tròn ống hoặc cốc đo trong khi gõ có ưu điểm hơn do giảm thiểu khả năng bị phân lớp của khối bột trong quá trình gõ xuống.

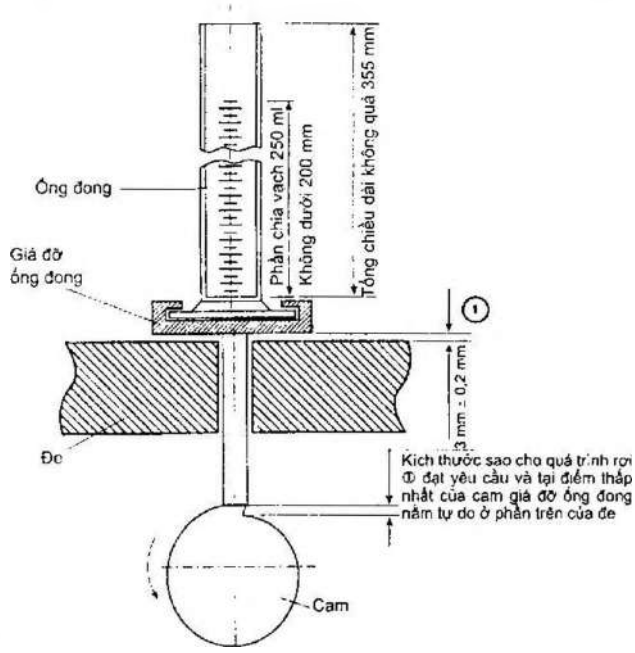
Phương pháp 1

Thiết bị: Như trong Hình 6.13.3, bao gồm:

Ống đong dung tích 250 ml (có thể đọc chính xác đến 2 ml) có khối lượng (220 ± 44) g.

Một thiết bị có khả năng tạo ra (250 ± 15) lần gõ trong 1 min từ độ cao (3,0 ± 0,2) mm hoặc thiết bị có khả năng tạo ra (300 ± 15) lần gõ từ độ cao (14 ± 2) mm. Giá đỡ ống đong và kẹp giữ có khối lượng (450 ± 10) g.

Cách tiến hành: Xác định thể tích thô (V_0) như mô tả ở phần trên. Lắp chặt ống đong vào giá đỡ. Tiến hành 10, 500, 1250 lần gõ lên cùng một mẫu bột và đọc các thể tích tương ứng V_{10}, V_{500}, V_{1250} tại vạch chia gần nhất. Nếu V_{500} và V_{1250} khác nhau không quá 2 ml, V_{1250} là thể tích gõ. Nếu V_{500} và V_{1250} khác nhau hơn 2 ml, tiếp tục gõ, ví dụ 1250 lần nữa đến khi chênh lệch về thể tích giữa 2 lần đo liên tiếp ít hơn 2 ml. Đối với một số loại bột, có thể áp dụng ít lần gõ hơn sau khi đã được thẩm định. Tính khối lượng riêng gõ ra g/ml áp dụng công thức m/V_f (V_f là thể tích gõ cuối cùng). Việc xác định tính chất này cần thực hiện bằng các phép đo lặp lại. Ghi rõ độ cao khi rơi cùng với kết quả.



Hình 6.13.3 - Thiết bị đo khối lượng riêng gõ

Nếu không thể dùng 100 g mẫu thử, dùng một lượng bột nhỏ hơn và ống đong 100 ml phù hợp (có thể đọc chính xác đến 1 ml) nặng (130 ± 16) g lắp với một giá đỡ nặng (240 ± 12) g. Ghi rõ những thay đổi này cùng với kết quả.

Phương pháp 2

Tiến hành như mô tả ở phương pháp 1 nhưng dùng thiết bị tạo ra 250 lần gõ trong 1 min từ độ cao (3,0 ± 0,2) mm.

Phương pháp 3

Tiến hành như mô tả trong phương pháp 3 của xác định khối lượng riêng thô, dùng cốc đo có nắp như mô tả trong Hình 6.13.2. Cốc đo có nắp được nâng lên hạ xuống 50 đến 60 lần trong một phút và dùng thiết bị thử khối lượng riêng gõ phù hợp. Thực hiện 200 lần gõ, bỏ nắp ra và gạt bột dư như mô tả trong phương pháp 3 của xác định khối lượng riêng thô. Lặp lại quá trình với 400 lần gõ. Nếu khối lượng của 2 lần đo khác nhau hơn 2 %, lặp lại quy trình thử với 200 lần gõ nữa đến khi chênh lệch khối lượng của 2 lần đo liên tiếp ít hơn 2 %. Tính khối lượng riêng gõ ra g/ml áp dụng công thức $m_f/100$ (m_f là khối lượng bột trong cốc đo). Thực hiện trên 3 mẫu thử khác nhau và tính kết quả trung bình. Các điều kiện thử, bao gồm độ cao khi rơi, cần được báo cáo cùng với kết quả.

Các phương pháp đo chỉ số nén của bột

Vì các tương tác giữa các hạt bột ảnh hưởng đến khối lượng riêng thô của bột cũng là những tương tác ảnh hưởng đến tính chất chảy của bột, nên việc so sánh khối lượng riêng thô và khối lượng riêng gõ có thể cung cấp thước đo mức độ quan trọng tương đối của các tương tác này đối với một loại bột. Phép so sánh này được sử dụng như một chỉ số về khả năng chảy của bột, ví dụ chỉ số nén hoặc tỷ số Hausner. Chỉ số nén và tỷ số Hausner là những chỉ số cho biết xu hướng bị nén của bột như mô tả ở trên. Các chỉ số này cho phép xác định khả năng lắng xuống của bột và cho phép đánh giá mức độ quan trọng tương đối của tương tác giữa các hạt. Với bột có tính chất chảy tự do, các tương tác này ít có ý nghĩa và khối lượng riêng thô và khối lượng riêng gõ có giá trị gần nhau. Đối với bột khả năng chảy kém hơn, tương tác giữa các hạt thường lớn hơn và khối lượng riêng thô và khối lượng riêng gõ cũng khác nhau nhiều hơn. Sự khác nhau này được phản ánh trong chỉ số nén và tỷ số Hausner.

Chỉ số nén:

$$\frac{100(V_0 - V_f)}{V_0}$$

Trong đó:

V_0 là thể tích biểu kiến khi chưa bị nén.

V_f là thể tích gõ cuối cùng.

Tỷ số Hausner:

$$\frac{V_0}{V_f}$$

Tùy thuộc vào chế phẩm, chỉ số nén có thể được xác định bằng cách áp dụng V_{10} thay cho V_0. Nếu V_{10} được áp dụng, cần phải ghi cùng với kết quả.

V_{10} là thể tích đọc được sau 10 lần gõ lên mẫu bột theo phương pháp 1 của mục Xác định khối lượng riêng gõ.

PHỤ LỤC 7

7.1 XÁC ĐỊNH CHỈ SỐ ACETYL

Chỉ số acetyl là số miligam kali hydroxyd cần thiết để trung hòa acid acetic được giải phóng sau khi thủy phân 1 g chế phẩm đã acetyl hóa.

Cách xác định

a) Xác định chỉ số xà phòng hóa của chế phẩm theo Phụ lục 7.7.

b) Acetyl hóa chế phẩm theo phương pháp sau: Lấy 10 g chế phẩm cho vào bình Kjeldahl dung tích 200 ml, thêm 20 ml *anhydrid acetic (TT)*. Lắp ống sinh hàn ngược dùng nguồn làm lạnh là không khí. Đặt bình trên tấm lưới phủ chất chịu nhiệt có khoét một lỗ tròn đường kính 4 cm. Đun sôi nhẹ trong 2 h bằng ngọn lửa nhỏ có chiều cao không quá 25 mm và được điều chỉnh để lửa không chạm vào đáy bình. Để nguội, rót vào một cốc to chứa sẵn 600 ml *nước*, thêm 0,2 g *đá bọt (TT)* và đun sôi 30 min. Làm nguội, chuyển sang bình gạn và gạn bỏ lớp dưới. Rửa chế phẩm đã acetyl hóa ít nhất 3 lần, mỗi lần với 50 ml *dung dịch natri clorid bão hòa (TT)* ấm, cho đến khi nước rửa không còn phản ứng acid với giấy quỳ. Cuối cùng, lắc với 20 ml nước ấm và loại thật kiệt nước. Rót chế phẩm đã acetyl hóa vào một bát sứ nhỏ, thêm 1 g *natri sulfat khan (TT)*, khuấy kỹ rồi lọc qua giấy lọc khô gấp nếp.

c) Xác định chỉ số xà phòng hóa của chế phẩm đã acetyl hóa theo Phụ lục 7.7.

d) Tính chỉ số acetyl của chế phẩm theo công thức sau:

$$\text{Chỉ số acetyl} = \frac{(b - a) \times 1335}{1335 - a}$$

Trong đó:

a là chỉ số xà phòng hóa của chế phẩm chưa acetyl hóa;

b là chỉ số xà phòng hóa của chế phẩm đã acetyl hóa.

7.2 XÁC ĐỊNH CHỈ SỐ ACID

Chỉ số acid là số miligam kali hydroxyd cần thiết để trung hòa các acid tự do chứa trong 1 g chế phẩm.

Cách xác định

Nếu không có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, cân chính xác khoảng 10 g chế phẩm, thêm 50 ml hỗn hợp đồng thể tích *ethanol 96 % (TT)* và *ether (TT)* đã được trung hòa trước với *dung dịch kali hydroxyd 0,1 N (CD)* hoặc *natri hydroxyd 0,1 N (CD)*, dùng 0,5 ml *dung dịch phenolphtalein (TT_1)* làm chỉ thị. Lắc để chế phẩm tan hoàn toàn. Nếu chế phẩm khó tan, có thể đun hồi lưu trên cách thủy. Chuẩn độ bằng *dung dịch kali hydroxyd 0,1 N (CD)*, lắc liên tục cho đến khi xuất hiện màu hồng bền vững trong 15 s.

Tính chỉ số acid của chế phẩm theo công thức sau:

$$\text{Chỉ số acid} = \frac{5,610 \times a}{P}$$

Trong đó:

a là số ml *dung dịch kali hydroxyd 0,1 N (CĐ)* đã dùng;

P là lượng chế phẩm đem thử (g).

7.3 XÁC ĐỊNH CHỈ SỐ ESTER

Chỉ số ester là số miligam kali hydroxyd cần thiết để xà phòng hóa các ester có trong 1 g chế phẩm.

Cách xác định

a) Xác định chỉ số xà phòng hóa của chế phẩm theo Phụ lục 7.7.

b) Xác định chỉ số acid của chế phẩm theo Phụ lục 7.2.

Tính chỉ số ester bằng cách lấy chỉ số xà phòng hóa trừ đi chỉ số acid của chế phẩm.

7.4 XÁC ĐỊNH CHỈ SỐ HYDROXYL

Chỉ số hydroxyl là số miligam kali hydroxyd cần thiết để trung hòa acid tổ hợp do acyl hóa 1 g chế phẩm.

Cách xác định

Sử dụng phương pháp A, trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng.

Phương pháp A

Nếu không có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, cân chính xác một lượng chế phẩm (theo chỉ dẫn trong Bảng 7.4) cho vào bình acetyl hóa dung tích 150 ml có lắp ống sinh hàn ngược dùng nguồn làm lạnh là không khí, thêm lượng *thuốc thử pyridin - anhydrid acetic (TT)* tương ứng. Đun sôi 1 h trong cách thủy, điều chỉnh để mực nước cao hơn mực chất lỏng trong bình khoảng 2,5 cm. Lấy bình cùng ống sinh hàn ra khỏi nồi cách thủy, để nguội, dùng 5 ml nước rửa ống sinh hàn. Nếu hỗn hợp bị đục, thêm *pyridin (TT)* vừa đủ để làm trong. Ghi lại số ml *pyridin (TT)* đã thêm. Lắc và đun lại trong cách thủy 10 min nữa, rồi lấy ra, để nguội. Rửa ống sinh hàn và thành bình với 5 ml *ethanol 96 % (TT)* đã trung tính trước với *dung dịch phenolphtalein (TT_1)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol (CĐ)*, dùng 0,2 ml *dung dịch phenolphtalein (TT_1)*. Song song tiến hành một mẫu trắng. Tính chỉ số hydroxyl của chế phẩm theo công thức sau:

$$\text{Chỉ số hydroxyl} = \frac{(b - a) \times 28,05}{P} + \text{chỉ số acid}$$

Trong đó:

a là số ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol (CĐ)* đã dùng trong mẫu thử;

b là số ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol (CĐ)* đã dùng trong mẫu trắng;

P là lượng chế phẩm đem thử (g).

Bảng 7.4 - Lượng chế phẩm và lượng thuốc thử tương ứng

Chỉ số hydroxyl	Lượng chế phẩm cần lấy (g)	Lượng thuốc thử Pyridin - anhydrid acetic (ml)
10 - 100	2,0	5,0
100 - 150	1,5	5,0
150 - 200	1,0	5,0
200 - 250	0,75	5,0
250 - 300	0,60 hay 1,20	5,0 hay 10,0
300 - 350	1,0	10,0
350 - 700	0,75	15,0
700 - 950	0,5	15,0

Phương pháp B

Cho lượng chế phẩm đã chỉ dẫn vào bình nón nút mài hoàn toàn khô dung tích 5 ml, thêm 2 ml *thuốc thử anhydrid propionic (TT)*. Đậy nút và lắc nhẹ nhàng cho đến khi chế phẩm tan hoàn toàn. Để yên trong 2 h. Nếu không có chỉ dẫn khác, mở nắp, cho cả bình vào một bình nón rộng miệng dung tích 500 ml, có chứa sẵn 25,0 ml *dung dịch anilin trong cyclohexan (TT)* và 30 ml *acid acetic băng (TT)*. Lắc tròn, để yên 5 min và chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* cho đến màu xanh ngọc, dùng 0,05 ml *dung dịch tím tinh thể (TT)* làm chỉ thị. Song song tiến hành một mẫu trắng.

Tính chỉ số hydroxyl của chế phẩm theo công thức sau:

$$\text{Chỉ số hydroxyl} = \frac{(b - a) \times 5{,}610}{P}$$

Trong đó:

a là số ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* đã dùng trong mẫu thử;

b là số ml *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* đã dùng trong mẫu trắng;

P là lượng chế phẩm đem thử (g).

Xác định hàm lượng (%) nước trong chế phẩm (A) theo Phụ lục 10.3. Tính chỉ số hydroxyl hiệu chỉnh theo công thức sau:

Chỉ số hydroxyl hiệu chỉnh = Chỉ số hydroxyl - 31,1 × A.

7.5 XÁC ĐỊNH CHỈ SỐ IOD

Chỉ số iod là số gam halogen, tính theo iod, kết hợp với 100 g chế phẩm trong những điều kiện qui định.

Cách xác định

Sử dụng phương pháp iod bromid, trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng.

Phương pháp iod bromid

Nếu không có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, lấy lượng chế phẩm theo chỉ dẫn trong Bảng 7.5 để thử.

Bảng 7.5 - Lượng chế phẩm cần lấy

Chỉ số iod	Lượng chế phẩm cần lấy (g)
Dưới 20	1,0
20 - 60	0,5 đến 0,25
60 - 100	0,25 - 0,15
Trên 100	0,15 - 0,10

Cân lượng chế phẩm đã chỉ dẫn, cho vào bình nón nút mài đã được làm khô hoặc được tráng bằng *acid acetic băng (TT)*, nếu không chỉ dẫn khác, hòa tan trong 15 ml *cloroform (TT)*. Thêm từ từ 25,0 ml *dung dịch iod bromid (TT)*, đậy nút, nếu không có chỉ dẫn khác, để yên trong chỗ tối 30 min, thỉnh thoảng lắc. Thêm 10 ml *dung dịch kali iodid 10 % (TT)* và 100 ml *nước cất*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)*, lắc mạnh cho đến khi dung dịch có màu vàng nhạt, thêm 5 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* và tiếp tục chuẩn độ chậm cho đến khi dung dịch mất màu. Song song tiến hành một mẫu trắng.

Tính chỉ số iod của chế phẩm theo công thức sau:

$$\text{Chỉ số iod} = \frac{1{,}269 \times (b - a)}{P}$$

Trong đó:

a là số ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* đã dùng trong mẫu thử;

b là số ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* dùng trong mẫu trắng;

P là lượng chế phẩm đem thử (g).

Phương pháp iod monoclorid

Nếu chuyên luận quy định dùng bình định lượng iod, trừ khi có chỉ dẫn khác, dùng loại bình dung tích 250 ml và đáp ứng các tiêu chuẩn quốc gia.

Hòa tan lượng chế phẩm đã chỉ dẫn với 10 ml *diclorometan (TT)* trong một bình định lượng iod khô. Thêm 20 ml *dung dịch iod monoclorid (TT)*. Đậy nút đã được làm ướt với *dung dịch kali iodid 10 % (TT)*, để yên 30 min trong chỗ tối ở nhiệt độ 15 °C đến 25 °C. Nhỏ 15 ml *dung dịch kali iodid 10 % (TT)* lên miệng bình và cẩn thận mở nút. Rửa nút, miệng và thành bình với 100 ml nước, lắc đều. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)*, lắc mạnh cho đến khi dung dịch có màu vàng nhạt, thêm 0,5 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* và tiếp tục chuẩn độ chậm cho đến khi dung dịch mất màu. Song song tiến hành một mẫu trắng.

Tính chỉ số iod của chế phẩm theo công thức sau:

$$\text{Chỉ số iod} = \frac{1{,}269 \times (b - a)}{P}$$

Trong đó:

a là số ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* đã dùng trong mẫu thử;

b là số ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* dùng trong mẫu trắng;

P là lượng chế phẩm đem thử (g).

Có thể tính lượng chế phẩm đem thử (g) bằng cách lấy 20 chia cho chỉ số iod lý thuyết cao nhất của chế

phẩm. Nếu mẫu thử tiêu thụ quá nửa lượng thuốc thử iod monoclorid cho vào, phải làm lại thí nghiệm với lượng chế phẩm nhỏ hơn.

7.6 XÁC ĐỊNH CHỈ SỐ PEROXYD

Chỉ số peroxyd là số mili đương lượng gam oxygen hoạt tính biểu thị lượng peroxyd chứa trong 1000 g chế phẩm khi được xác định theo các phương pháp dưới đây.

Cách xác định

Sử dụng phương pháp A, khi chuyên luận riêng không qui định phương pháp thử.

Phương pháp A

Cân 5,00 g chế phẩm cho vào bình nón nút mài dung tích 250 ml, thêm 30 ml hỗn hợp gồm 3 thể tích *acid acetic băng (TT)* và 2 thể tích *cloroform (TT)*, lắc cho tan và thêm 0,5 ml *dung dịch kali iodid bão hòa (TT)*. Lắc đúng 1 min, thêm 30 ml *nước*. Chuẩn độ chậm bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)*, liên tục lắc mạnh, cho đến khi màu vàng gần như biến mất. Thêm 0,5 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* và tiếp tục chuẩn độ, lắc mạnh, đến khi dung dịch mất màu.

Song song tiến hành một mẫu trắng. Lượng *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)* đã dùng trong mẫu trắng không được vượt quá 0,1 ml.

Chỉ số peroxyd của chế phẩm được tính theo công thức sau:

$$\text{Chỉ số peroxyd} = \frac{(a - b) \times 10}{P}$$

Trong đó:

a là số ml *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)* đã dùng trong mẫu thử;

b là số ml *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)* đã dùng trong mẫu trắng;

P là lượng chế phẩm đem thử (g).

Phương pháp B

Tiến hành thử trong điều kiện tránh ánh sáng.

Cân chính xác một lượng chế phẩm (theo chỉ dẫn trong Bảng 7.6.) cho vào bình nón nút mài dung tích 250 ml, thêm 50 ml hỗn hợp gồm 3 thể tích *acid acetic băng (TT)* và 2 thể tích *trimethylpentan (TT)*. Đậy nút, lắc cho tan và thêm 0,5 ml *dung dịch kali iodid bão hòa (TT)*. Đậy nút, để yên dung dịch trong (60 ± 1) s. Tiếp tục lắc mạnh, rồi thêm 30 ml *nước*. Chuẩn độ chậm bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)*, liên tục lắc mạnh cho đến khi màu vàng gần như biến mất. Thêm 0,5 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* và tiếp tục chuẩn độ, liên tục lắc mạnh, nhất là gần điểm kết thúc để giải phóng hết iod ra khỏi lớp dung môi. Thêm từng giọt *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)* cho đến khi mất màu lam.

Bảng 7.6 - Lượng chế phẩm cần lấy

Chỉ số peroxyd	Lượng chế phẩm cần lấy (g)
0 - 12	2,00 – 5,00
12 - 20	1,20 – 2,00
20 - 30	0,80 - 1,20
30 - 50	0,50 - 0,80
50 - 90	0,30 – 0,50

Tùy thuộc vào lượng *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)* đã sử dụng, nếu cần có thể thay thế bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)*.

Ghi chú: Đối với chỉ số peroxyd ≥ 70, khi chuẩn độ đến dung dịch có màu vàng nhạt, chờ 15 s đến 30 s mới thêm *dung dịch hồ tinh bột (TT)*, do trimethylpentan có xu hướng nổi lên bề mặt lớp nước và đây là thời gian cần thiết để trộn dung môi với dung dịch định lượng, đồng thời giải phóng hết iod. Nên dùng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* khi chỉ số peroxyd lớn hơn 150. Có thể cho lượng nhỏ dung dịch chất nhũ hóa cân bằng ưa nước/ưa dầu cao (như polysorbat 60) 0,5 % đến 1,0 % (kl/kl) vào hỗn hợp phản ứng để làm chậm sự tách pha và đẩy nhanh thời gian giải phóng iod.

Song song tiến hành một mẫu trắng. Nếu lượng dung dịch natri thiosulfat dùng trong mẫu trắng vượt quá 0,1 ml, thay các thuốc thử tinh khiết và tiến hành thử nghiệm lại.

Chỉ số peroxyd của chế phẩm được tính theo công thức sau:

$$\text{Chỉ số peroxyd} = \frac{(a - b) \times 1000 \times c}{P}$$

Trong đó:

a là số ml dung dịch natri thiosulfat đã dùng trong mẫu thử;

b là số ml dung dịch natri thiosulfat đã dùng trong mẫu trắng;

c là nồng độ đương lượng của dung dịch natri thiosulfat;

P là lượng chế phẩm đem thử (g).

7.7 XÁC ĐỊNH CHỈ SỐ XÀ PHÒNG HÓA

Chỉ số xà phòng hóa là số mili gam kali hydroxyd cần thiết để trung hòa các acid tự do và để xà phòng hóa các ester chứa trong 1 g chất thử.

Cách xác định

Nếu không có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, lấy lượng chế phẩm theo chỉ dẫn trong Bảng 7.7 để thử.

Bảng 7.7 - Lượng chế phẩm cần lấy

Chỉ số xà phòng hóa	Lượng chế phẩm cần lấy (g)
3 - 10	12,0 15,0
10 - 40	8,0 - 12,0
40 - 60	5,0 – 8,0
60 - 100	3,0 - 5,0
100 - 200	2,5 – 3,0
200 - 300	1,0 2,0
300 - 400	0,5 1,0

Cân chính xác lượng chế phẩm đã chỉ dẫn cho vào bình nón nút mài dung tích 250 ml. Thêm 25,0 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol (CĐ)* và vài viên bi thủy tinh. Lắp ống sinh hàn ngược và, trừ khi có chỉ dẫn khác, đun sôi 30 min trên cách thủy, thỉnh thoảng lắc. Thêm 1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT_1)* và chuẩn độ ngay (khi dung dịch còn đang nóng) bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,5 N (CĐ)*. Song song tiến hành một mẫu trắng.
Chỉ số xà phòng hóa của chế phẩm được tính theo công thức sau:

$$\text{Chỉ số xà phòng hóa} = \frac{28{,}05 \times (b - a)}{P}$$

Trong đó:
a là số ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol (CĐ)* đã dùng trong mẫu trắng;
b là số ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol (CĐ)* đã dùng trong mẫu thử;
P là lượng chế phẩm đem thử (g).

7.8 XÁC ĐỊNH CHẤT KHÔNG BỊ XÀ PHÒNG HÓA

Chất không bị xà phòng hóa, được tính bằng tỷ lệ phần trăm (kl/kl), là phần không bay hơi ở 100 °C đến 105 °C thu được khi chiết chế phẩm đã được xà phòng hóa với một dung môi hữu cơ.

Cách xác định

Dùng phương pháp 1, trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng.

Phương pháp 1

Cân chính xác khoảng 2,0 g đến 2,5 g chế phẩm cho vào bình dung tích 250 ml, thêm 25 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol (TT)* và đun sôi 1 h dưới ống sinh hàn ngược trên cách thủy, thỉnh thoảng lắc. Chuyển dung dịch sang bình gạn, tráng rửa bình với 50 ml *nước* và khi dung dịch còn đang ấm, chiết bằng cách lắc mạnh 3 lần, mỗi lần với 50 ml *ether không có peroxyd (TT)*, dùng 50 ml ether đầu để tráng rửa bình. Tập trung dịch chiết ether vào một bình gạn khác chứa sẵn 20 ml *nước*. Nếu dịch chiết ether có chứa các tiểu phân rắn lơ lửng, lọc qua giấy lọc loại không có chất béo, rồi rửa giấy lọc bằng *ether không có peroxyd (TT)*. Lắc nhẹ bình gạn trong vài phút, để yên cho tách lớp và loại bỏ lớp nước. Rửa dịch chiết ether bằng cách lắc mạnh 2 lần, mỗi lần với 20 ml *nước* và sau đó 3 lần, mỗi lần với 20 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N (TT)*, lắc mạnh và rửa với 20 ml *nước* sau mỗi lần xử lý. Cuối cùng rửa nhiều lần, mỗi lần với 20 ml *nước*, cho đến khi nước rửa không còn phản ứng kiềm với *dung dịch phenolphtalein (TT_1)*. Chuyển dịch chiết ether vào một bình đã cân bì và tráng bình gạn bằng *ether không có peroxyd (TT)*. Cất bay hơi ether, rồi thêm 3 ml *aceton (TT)*. Dùng luồng không khí nhẹ nhàng đuổi hết dung môi ra khỏi bình được ngâm ngập trong nước đang sôi, để nghiêng và quay tròn. Sấy bình đến khối lượng không đổi ở nhiệt độ không quá 80 °C.
Hòa tan cắn trong bình với 10 ml *ethanol 96 % (TT)* mới đun sôi và đã được trung tính với *dung dịch phenolphtalein (TT_1)*. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N trong ethanol (CĐ)* với chỉ thị là *dung dịch phenolphtalein (TT_1)*. Nếu lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N trong ethanol (CĐ)* tiêu thụ không quá 0,1 ml, khối lượng cắn cân được là lượng chất không bị xà phòng hóa. Tính tỷ lệ phần trăm chất không bị xà phòng hóa có trong chế phẩm.
Nếu lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N trong ethanol (CĐ)* tiêu thụ quá 0,1 ml, phải làm lại thí nghiệm.

Phương pháp 2

Cân chính xác lượng chế phẩm theo chỉ dẫn (P g) cho vào một bình dung tích 250 ml, thêm 50 ml *dung dịch kali hydroxyd 2 M trong ethanol (TT)* và đun 1 h dưới ống sinh hàn ngược trên cách thủy, thỉnh thoảng lắc. Làm nguội tới nhiệt độ dưới 25 °C và chuyển dung dịch sang một bình gạn, tráng rửa với 100 ml *nước*, rồi chiết cẩn thận 3 lần, mỗi lần với 100 ml *ether không có peroxyd (TT)*. Tập trung dịch chiết ether vào một bình gạn khác chứa sẵn 40 ml *nước*, lắc nhẹ vài phút, để yên cho tách lớp và loại bỏ lớp nước. Rửa dịch chiết ether 2 lần, mỗi lần với 40 ml *nước* và sau đó 3 lần, mỗi lần với 40 ml *dung dịch kali hydroxyd 3 % (TT)*, rửa với 40 ml *nước* sau mỗi lần xử lý. Cuối cùng rửa nhiều lần, mỗi lần với 40 ml *nước*, cho đến khi nước rửa không còn phản ứng kiềm với *dung dịch phenolphtalein (TT_1)*. Chuyển dung dịch ether vào bình đã cân bì, rửa bình gạn với *ether không có peroxyd (TT)*. Cất cẩn thận cho bay hơi hết ether, thêm 6 ml *aceton (TT)* vào cắn. Dùng luồng khí nhẹ nhàng đuổi hết dung môi ra khỏi bình và sấy khô cắn đến khối lượng không đổi ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C. Để nguội bình trong bình hút ẩm và cân xác định khối lượng cắn (A g).
Tỷ lệ phần trăm chất không bị xà phòng hóa trong chế phẩm = 100 A/P
Hòa tan cắn trong 20 ml *ethanol 96 % (TT)* đã được trung hòa trước với *dung dịch phenolphtalein (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N trong ethanol (CĐ)*. Nếu lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N trong ethanol (CĐ)* tiêu thụ quá 0,2 ml, cắn đã cân không được coi là chất không bị xà phòng hóa và phải làm lại thí nghiệm.

7.9 XÁC ĐỊNH LƯU HUỲNH DIOXYD

Áp dụng phương pháp 1, trừ khi có chỉ dẫn khác.

Phương pháp 1

Dụng cụ: Bình cầu dung tích 1000 ml đến 1500 ml được lắp với sinh hàn ngược. Đầu trên của sinh hàn nối liên tiếp với hai ống hấp thụ, mỗi ống chứa 10 ml *dung dịch hydrogen peroxyd 20 thể tích (TT)* mới được trung hòa với *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*, dùng *dung dịch xanh bromophenol (TT)* làm chỉ thị. Bình được lắp một vòi sục khí với đầu gần chạm đáy bình.
Cách tiến hành:
Cho 500 ml *nước* và 20 ml *acid hydrocloric (TT)* vào bình. Sục luồng khí nitrogen hay carbon dioxyd đã đi qua *dung*

dịch natri carbonat 10 % (TT), đun từ từ dung dịch trong bình cho đến sôi. Duy trì luồng khí sục, để dung dịch sôi trong khoảng 10 min, làm nguội bằng cách nhúng bình từ từ vào nước. Mở nắp, cho nhanh lượng chế phẩm đã cân (50 g đến 100 g) vào bình, đun nhẹ và để sôi trong 45 min. Tháo hai ống hấp thụ trước khi ngừng sục khí. Gộp dung dịch trong hai ống hấp thụ và chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*.

1 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* tương đương với 3,203 mg SO_2.

Lặp lại phép thử trên, nhưng không có chế phẩm. Dung dịch trong ống hấp thụ vẫn phải trung tính.

Phương pháp 2

Cho 150 ml *nước* vào bình A (Hình 7.9.) và sục khí carbon dioxyd 15 min qua toàn bộ hệ thống với tốc độ 100 ml/min. Lấy 10 ml *dung dịch hydrogen peroxyd loãng (TT)*, thêm 0,15 ml *dung dịch xanh bromophenol trong ethanol (TT)*. Thêm *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* cho đến khi xuất hiện màu tím xanh (không vượt quá điểm tương đương) và chuyển dung dịch thu được vào ống nghiệm D. Duy trì luồng khí sục carbon dioxyd, tháo bình gạn B ra và dùng 100 ml *nước* chuyển khoảng 25,0 g chế phẩm vào bình A. Qua bình gạn, cho 80 ml *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)* vào bình A và đun sôi 1 h. Mở khóa bình gạn, ngừng sục khí, dừng đun nóng và nước sinh hàn. Dùng một ít *nước* chuyển dung dịch trong ống nghiệm D sang bình nón miệng rộng dung tích 200 ml. Đun 15 min trên cách thủy và để nguội. Thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromophenol trong ethanol (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* cho đến khi chuyển màu từ vàng sang xanh tím.

Song song tiến hành một mẫu trắng.

Hàm lượng lưu huỳnh dioxyd (phần triệu) được tính theo công thức sau:

$$32030 = (V_1 - V_2) \times \frac{n}{m}$$

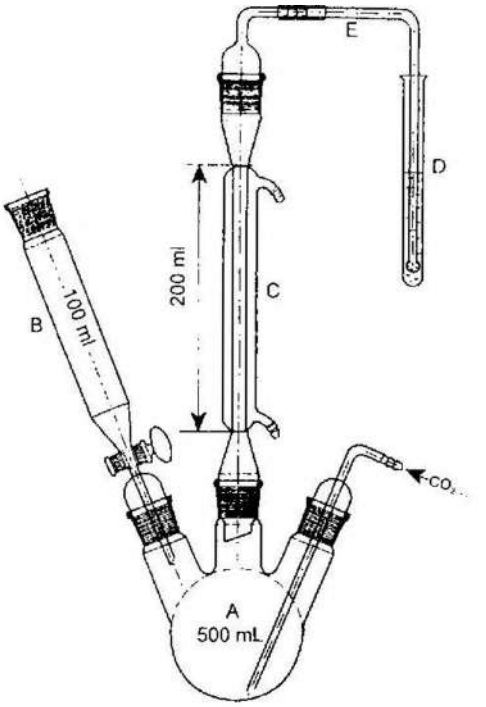
Trong đó:

V_1 là số ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* đã dùng trong mẫu thử;

V_2 là số ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)* đã dùng trong mẫu trắng;

n là nồng độ đương lượng thực của *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CĐ)*;

m là lượng chế phẩm đem thử (g).



Hình 7.9 - Dụng cụ xác định lưu huỳnh dioxyd

7.10 XÁC ĐỊNH CÁC CHẤT OXY HÓA

Cách xác định

Nếu không có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, cân chính xác khoảng 4,0 g chế phẩm cho vào bình nón nút mài dung tích 125 ml, thêm 50,0 ml *nước*. Đậy nút và lắc 5 min. Chuyển sang ống nút mài dung tích 50 ml và ly tâm. Lấy 25,0 ml dung dịch trong ở trên cho vào bình nón nút mài dung tích 125 ml, thêm 1 ml *acid acetic băng (TT)* và 0,5 g đến 1,0 g *kali iodid (TT)*. Đậy nút, lắc nhẹ và để yên 25 min đến 30 min trong chỗ tối. Thêm 1 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* và định lượng bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,002 N (CĐ)* cho đến khi dung dịch mất màu. Song song tiến hành một mẫu trắng.

1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,002 N (CĐ)* tương ứng với 34 µg chất oxy hóa, tính theo H_2O_2.

Hàm lượng chất oxy hóa, tính theo H_2O_2, không được quá 0,002 % (kl/kl), trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng.

7.11 XÁC ĐỊNH CARBON HỮU CƠ TOÀN PHẦN TRONG NƯỚC DÙNG CHO NGÀNH DƯỢC

Lượng carbon hữu cơ toàn phần (TOC) có trong nước dùng cho ngành dược được xác định bằng một phép định lượng gián tiếp các chất hữu cơ. Việc định lượng TOC cũng có thể được dùng để kiểm soát quá trình thực hiện các công đoạn khác nhau trong sản xuất thuốc.

Có nhiều phương pháp xác định TOC. Bởi vậy, thay vì đưa ra một kỹ thuật cụ thể, chuyên luận chung này chỉ mô tả các quy trình được sử dụng để đánh giá phương pháp đã

chọn và xử lý kết quả trong các phép thử giới hạn. Một dung dịch chuẩn được phân tích sau những khoảng thời gian thích hợp, tùy thuộc vào tần suất đo. Dung dịch chuẩn này được pha từ một chất dễ bị oxy hóa (như đường trắng) có nồng độ được điều chỉnh đủ để thiết bị phát hiện được và tương ứng với giới hạn TOC cần đo. Độ thích hợp của hệ thống được xác định bằng việc phân tích dung dịch một chất khó bị oxy hóa hơn (như 1,4-benzoquinon).

Nói chung, các kiểu thiết bị dùng để xác định TOC trong nước dùng cho ngành dược đều hoạt động theo nguyên lý oxy hóa hoàn toàn các phân tử chất hữu cơ trong mẫu nước thử thành carbon dioxyd, sau đó định lượng carbon dioxyd tạo thành và dùng kết quả thu được để tính hàm lượng carbon trong nước.

Thiết bị sử dụng phải phân biệt được carbon hữu cơ và carbon vô cơ (thường tồn tại ở dạng carbonat). Khả năng phân tách phải hiệu quả bằng cách xác định lượng carbon vô cơ rồi tính lượng carbon hữu cơ bằng cách trừ nó khỏi hàm lượng carbon toàn phần. Cũng có thể loại sạch carbon vô cơ khỏi mẫu thử trước khi oxy hóa. Trong trường hợp này có thể có những phân tử carbon hữu cơ cũng bị loại theo, tuy nhiên, những chất hữu cơ đó tồn tại rất ít trong nước dùng cho ngành dược.

Thiết bị

Sử dụng loại thiết bị đã được hiệu chỉnh gắn trên dây chuyền hoặc đặt riêng rẽ. Kiểm tra độ thích hợp của hệ thống sau những khoảng thời gian thích hợp như mô tả ở dưới đây. Thiết bị phải có giới hạn phát hiện ≤ 0,05 mg carbon/l.

Nước TOC

Sử dụng nước tinh khiết cao đạt các tiêu chuẩn sau:

Điện dẫn suất: Không quá 1,0 $\mu S \cdot cm^{-1}$ ở 25 °C.

TOC: Không quá 0,1 mg/l.

Tùy thuộc vào loại thiết bị sử dụng, hàm lượng kim loại nặng và đồng có thể phải được khống chế. Cần tuân theo các hướng dẫn của nhà sản xuất thiết bị.

Chuẩn bị đồ thủy tinh

Sử dụng đồ thủy tinh được rửa sạch cẩn thận bằng phương pháp thích hợp để loại bỏ các chất hữu cơ. Cuối cùng, dùng nước TOC để tráng lại.

Dung dịch chuẩn

Hòa tan đường trắng, đã được sấy khô 3 h ở 105 °C, trong nước TOC để thu được dung dịch chứa 1,19 mg đường trắng/L (0,50 mg carbon/L).

Dung dịch thử

Thực hiện tất cả các biện pháp cần thiết để tránh ô nhiễm. Lấy đầy nước cần thử vào một bình kín. Kiểm tra nước càng nhanh càng tốt để giảm thiểu ô nhiễm do đồ chứa và nút đậy của nó.

Dung dịch kiểm tra độ thích hợp của hệ thống

Hòa tan 1,4-benzoquinon trong nước TOC để thu được dung dịch có nồng độ 0,75 mg 1,4-benzoquinon/L (0,50 mg carbon/L).

Kiểm soát nước TOC

Sử dụng nước TOC thu được vào cùng thời điểm lấy để pha chế dung dịch chuẩn và dung dịch kiểm tra độ thích hợp của hệ thống.

Các dung dịch kiểm tra

Ngoài việc kiểm soát nước TOC, chuẩn bị các dung dịch trắng thích hợp hay các dung dịch cần thiết khác để hiệu chỉnh đường nền theo hướng dẫn của nhà sản xuất thiết bị. Tiến hành thử các mẫu trắng thích hợp để chỉnh thiết bị về không.

Độ thích hợp của hệ thống

Tiến hành thử và ghi lại đáp ứng của các dung dịch sau: Nước TOC (R_N), dung dịch chuẩn (R_C) và dung dịch kiểm tra độ thích hợp của hệ thống (R_{TH}). Tính tỷ lệ phần trăm hiệu quả đáp ứng theo công thức sau:

$$RE = \frac{R_{TH} - R_N}{R_C - R_N} \times 100$$

Hệ thống được coi là thích hợp nếu RE nằm trong khoảng 85,0 % đến 115,0 %.

Cách tiến hành

Tiến hành kiểm tra mẫu nước thử và ghi lại đáp ứng (R_T). Mẫu nước thử được coi là đạt yêu cầu khi $R_T \leq R_C - R_N$.

Có thể áp dụng phương pháp này khi sử dụng thiết bị đặt trong dây chuyền đã được hiệu chỉnh đúng mức và có độ thích hợp hệ thống chấp nhận được. Vị trí đặt thiết bị phải được lựa chọn để đảm bảo các đáp ứng là đại diện cho nước được sử dụng.

PHỤ LỤC 8

8.1 CÁC PHẢN ỨNG ĐỊNH TÍNH

Acetat

A. Đun nóng chế phẩm với cùng một lượng *acid oxalic (TT)*. Hơi xông ra có mùi acid acetic.

B. Hòa tan khoảng 30 mg chế phẩm trong 3 ml *nước* hoặc lấy 3 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm lần lượt 0,25 ml *dung dịch lanthan nitrat 5 % (TT)*, 0,1 ml *dung dịch iod 0,1 N* và 0,05 ml *dung dịch amoniac 2 M (TT)* và đun nóng hỗn hợp cẩn thận đến sôi, sau vài phút xuất hiện tủa màu xanh lam hay màu xanh lam thẫm.

Nhóm acetyl

Lấy một ống nghiệm (kích thước 18 mm × 180 mm), cho vào khoảng 15 mg chế phẩm hay một lượng theo chỉ dẫn trong chuyên luận và 0,15 ml *acid phosphoric (TT)*. Đậy ống nghiệm bằng một nút có mang bên trong một ống nghiệm nhỏ hơn (kích thước 10 mm × 100 mm), ống nghiệm này chứa nước để làm sinh hàn. Cho một giọt *dung dịch lanthan nitrat 5 % (TT)* bám vào thành đáy ngoài của ống nghiệm nhỏ (sao cho giọt thuốc thử này không bị rơi xuống ống nghiệm chứa chế phẩm trong suốt quá trình thí nghiệm, nếu rơi phải làm lại thí nghiệm từ đầu). Đặt thiết bị trong cách thủy sôi 5 min (trừ trường hợp chế phẩm khó thủy phân), sau đó lấy ống nghiệm nhỏ ra, gạt chất lỏng thu được ở đáy ngoài ống nghiệm vào một tấm sứ trắng đã chứa sẵn 0,05 ml *dung dịch iod 0,02 N (TT)*, thêm vào cạnh đó 0,05 ml *dung dịch amoniac 2 M (TT)*. Sau 1 min đến 2 min, ở vòng tiếp xúc giữa hai dung dịch xuất hiện màu xanh lam dần dần thẫm lên và bền trong một thời gian ngắn.

Đối với các chế phẩm khó thủy phân, tiến hành theo chỉ dẫn ở trên, nhưng đun hỗn hợp từ từ tới sôi trên ngọn lửa, thay cho việc đun trong cách thủy.

Alcaloid

Hòa tan vài mg chế phẩm hoặc một lượng chế phẩm theo chỉ dẫn trong chuyên luận trong 5 ml *nước*, thêm *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* đến khi có phản ứng acid, thêm 1 ml *thuốc thử Dragendorff (TT)*, xuất hiện tủa màu cam hay đỏ cam.

Amin thơm bậc nhất

Acid hóa một lượng dung dịch chế phẩm theo chỉ dẫn trong chuyên luận bằng *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* hoặc hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 2 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*. Thêm 0,2 ml *dung dịch natri nitrit 10 % (TT)*, sau 1 min đến 2 min thêm 1 ml *dung dịch 2-naphthol trong kiềm (TT)*. Hỗn hợp có màu cam thẫm hay màu đỏ và thường có tủa cùng màu.

Amoni (muối)

A. Hòa tan khoảng 0,02 g chế phẩm trong 2 ml *nước* hoặc lấy một lượng dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, đun nóng, sẽ xông ra khí có mùi đặc biệt và làm xanh giấy quỳ đỏ đã thấm nước.

B. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 5 ml *nước* hay một lượng dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm 0,2 ml *thuốc thử Nessler (TT)*, hỗn hợp có màu vàng hay tủa vàng nâu.

Arseniat

A. Đun cách thủy 5 ml dung dịch chế phẩm 5 % hoặc 5 ml dung dịch chế phẩm theo chỉ dẫn trong chuyên luận với cùng thể tích *dung dịch hypophosphit (TT)* (thuốc thử Tilé), sẽ cho tủa màu nâu.

B. Hòa tan khoảng 0,10 g chế phẩm trong 2 ml *nước* hoặc lấy 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm 1 ml *dung dịch bạc nitrat 2 % (TT)* sẽ tạo thành tủa màu nâu đỏ, tủa này tan khi thêm một lượng *dung dịch acid nitric loãng (TT)* hoặc một lượng *dung dịch amoniac*.

C. Hòa tan khoảng 0,20 g chế phẩm trong 5 ml *nước* hoặc lấy 5 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm 5 ml *dung dịch amoni clorid (TT)*, 1 ml *dung dịch amoniac* và vài giọt *dung dịch magnesi sulfat 5 % (TT)* sẽ cho tủa kết tinh trắng.

Arsenit

A. Phản ứng A trong mục arseniat.

B. Hòa tan khoảng 0,10 g chế phẩm trong 2 ml *nước* hoặc lấy 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1 ml *dung dịch bạc nitrat 2 % (TT)* sẽ tạo thành tủa màu trắng hơi vàng, tủa này tan khi thêm một lượng *dung dịch amoniac* hoặc một lượng *dung dịch acid nitric loãng (TT)*.

C. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 2 ml *nước*, hoặc lấy 2 ml dung dịch chế phẩm theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm 1 ml *dung dịch đồng sulfat (TT)*, tủa màu xanh lục sẽ được tạo thành, tách tủa và đun với *dung dịch natri hydroxyd*, tủa sẽ chuyển thành màu nâu đỏ.

Bạc (muối)

A. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 5 ml *nước* hoặc lấy một lượng dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm 3 giọt *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)* sẽ xuất hiện tủa trắng lổn nhổn, tủa này không tan trong *dung dịch acid nitric loãng (TT)* nhưng tan trong *dung dịch amoniac 6 M (TT)*.

B. Hòa tan 20 mg chế phẩm trong 5 ml *nước* hoặc lấy một lượng dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm 2 ml *dung dịch amoniac 6 M (TT)* và vài giọt *formaldehyd (TT)*, đun nóng dung dịch sẽ có tủa bạc kim loại bám vào thành ống nghiệm (phản ứng tráng gương).

Barbiturat

A. Lấy khoảng 5 mg chế phẩm, hòa tan trong 3 ml *dung dịch cobalt (II) acetat 0,2 % trong methanol (TT)*, thêm

20 mg đến 30 mg *natri tetraborat (TT)* đã được tán mịn, đun sôi sẽ xuất hiện màu xanh tím.
B. Barbiturat có hydro ở nhóm NH không bị thay thế: Hòa tan khoảng 5 mg chế phẩm trong 3 ml *methanol (TT)*, thêm 0,1 ml dung dịch có chứa 10 % *cobalt (II) nitrat (TT)* và 10 % *calci clorid (TT)*. Trộn đều, vừa lắc vừa thêm 0,1 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)* sẽ xuất hiện màu và tủa xanh tím.

Bari (muối)
A. Lấy một lượng dung dịch muối bari như chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm vài giọt *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)* sẽ xuất hiện tủa trắng, tủa này không tan trong *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)* và *dung dịch acid nitric loãng (TT)*.
B. Dùng một dây bạch kim hoặc đũa thủy tinh lấy một lượng chất thử đốt trên ngọn lửa không màu, ngọn lửa sẽ nhuộm thành màu xanh lục hơi vàng, khi nhìn qua kính thủy tinh màu lục ngọn lửa sẽ có màu xanh lam.

Benzoat
A. Lấy 1 ml dung dịch trung tính 10 % chế phẩm trong *nước* hoặc một lượng chế phẩm theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm 0,5 ml *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)* sẽ xuất hiện tủa màu vàng thẫm, tủa này tan trong *ether (TT)*.
B. Lấy khoảng 0,2 g chế phẩm hoặc một lượng chế phẩm theo chỉ dẫn trong chuyên luận vào một ống nghiệm, làm ẩm bằng 0,2 ml đến 0,3 ml *acid sulfuric (TT)* và đun nóng nhẹ ở đáy ống nghiệm, sẽ có tinh thể màu trắng thăng hoa bám ở thành trong của ống.
C. Hòa tan 0,5 g chế phẩm trong 10 ml *nước* hoặc dùng 10 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm 0,5 ml *acid hydrocloric (TT)*, sẽ cho tủa. Kết tinh lại tủa trong nước ấm rồi làm khô dưới áp suất giảm, tủa thu được có nhiệt độ nóng chảy từ 120 °C đến 124 °C (Phụ lục 6.7).

Bismuth (muối)
A. Thêm 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)* vào 0,5 g chế phẩm hoặc dùng 10 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Đun sôi trong 1 min, để nguội rồi lọc nếu cần. Thêm 20 ml *nước* vào 1 ml dung dịch thu được ở trên, xuất hiện tủa trắng hay hơi vàng, tủa này sẽ chuyển thành nâu khi thêm 0,05 ml đến 0,1 ml *dung dịch natri sulfid (TT)*.
B. Thêm 10 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* vào 40 mg đến 50 mg chế phẩm hoặc dùng 10 ml chế phẩm đã được xử lý theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Đun sôi trong 1 min, để nguội rồi lọc nếu cần. Thêm 2 ml *dung dịch thioure 10 % (TT)* vào 5 ml dịch lọc thu được ở trên, xuất hiện màu vàng da cam hay tủa da cam. Thêm 4 ml *dung dịch natri fluorid 2,5 % (TT)*, dung dịch không được mất màu trong vòng 30 min.

Borat
A. Hòa tan khoảng 0,1 g chế phẩm vào 0,1 ml *acid sulfuric (TT)* trong một chén sứ, thêm 3 ml *methanol (TT)*, trộn đều rồi châm lửa vào hỗn hợp, hỗn hợp cháy với ngọn lửa màu lục.
B. Lấy 5 ml dung dịch chế phẩm 10 %, thêm 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và 0,5 ml *cồn nghệ (TT)*, sẽ cho màu nâu; thêm 1 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 % (TT)*, màu nâu chuyển thành lam hay lục.

Bromid
A. Hòa tan một lượng chế phẩm có chứa khoảng 3 mg ion bromid trong 2 ml *nước* hoặc dùng 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Acid hóa bằng *dung dịch acid nitric loãng (TT)* và thêm 0,4 ml *dung dịch bạc nitrat 4 % (TT)*. Lắc và để yên, có tủa màu vàng nhạt lớn nhỏn tạo thành. Lọc lấy tủa, rửa tủa ba lần, mỗi lần với 1 ml *nước*. Phân tán tủa trong 2 ml *nước*, thêm 1,5 ml *dung dịch amoniac 10 M (TT)*, tủa khó tan.
B. Hòa tan một lượng chế phẩm có chứa khoảng 5 mg ion bromid trong 2 ml *nước* hoặc lấy một lượng dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận, acid hóa dung dịch bằng *acid sulfuric loãng (TT)*, thêm 1 ml *nước clor (TT)* và 2 ml *cloroform (TT)*, lắc. Lớp cloroform sẽ có màu đỏ đến màu nâu đỏ.

Carbonat và hydrocarbonat
A. Cho vào ống nghiệm khoảng 0,1 g chế phẩm, thêm 2 ml *nước* hoặc lấy 2 ml dung dịch chế phẩm đã được chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 2 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)*. Đậy ngay nút đã lắp sẵn một ống thủy tinh nhỏ uốn góc. Đun nhẹ ống nghiệm, khí thoát ra được dẫn vào một ống nghiệm khác có chứa sẵn 5 ml *dung dịch bão hòa calci hydroxyd (TT)*, sao cho đầu ống thủy tinh nhỏ phải ngập trong dung dịch này, tủa trắng tạo thành, tủa này tan trong *acid hydrocloric (TT)* quá thừa.
B. Cho vào ống nghiệm khoảng 0,1 g chế phẩm, thêm 2 ml *nước* hoặc lấy 2 ml dung dịch chế phẩm đã được chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 2 ml *dung dịch magnesi sulfat (TT)*, nếu là carbonat sẽ cho tủa trắng, nếu là hydrocarbonat sẽ không tạo tủa nhưng khi đun sôi cũng cho tủa trắng.

Calci (muối)
A. Lấy khoảng 20 mg chế phẩm hoặc một lượng chế phẩm theo chỉ dẫn trong chuyên luận, hòa tan trong 5 ml *dung dịch acid acetic 5 M (TT)*, thêm 0,5 ml *dung dịch kali ferocyanid (TT)*, dung dịch vẫn trong, thêm khoảng 50 mg *amoni clorid (TT)*, tạo thành tủa kết tinh trắng.
B. Thêm vào dung dịch chế phẩm theo chỉ dẫn trong chuyên luận vài giọt *dung dịch amoni oxalat 4 % (TT)*, tạo thành tủa trắng, tủa này ít tan trong *dung dịch acid acetic 6 M (TT)*, nhưng tan trong *acid hydrocloric (TT)*.

Chì (muối)
A. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 1 ml *dung dịch acid acetic 5 M (TT)* hoặc lấy 1 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm 2 ml *dung dịch kali cromat 5 % (TT)*, tủa vàng sẽ tạo thành, tủa này tan trong *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)*.
B. Hòa tan 50 mg chế phẩm trong 1 ml *dung dịch acid acetic 5 M (TT)* hoặc 1 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 10 ml *nước* và 0,2 ml *dung dịch kali*

iodid 10 % (TT), tủa màu vàng sẽ tạo thành; đun sôi 1 min đến 2 min cho tủa tan ra, để nguội, tủa lại xuất hiện có dạng những mảnh vàng lấp lánh.

Citrat

A. Hòa tan khoảng 0,1 g chế phẩm trong 2 ml *nước*, nếu cần có thể trung tính hóa dung dịch bằng *amoniac (TT)*, hoặc dùng một lượng dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1 ml *dung dịch calci clorid 10 % (TT)*, dung dịch vẫn trong. Đun sôi dung dịch sẽ xuất hiện tủa trắng, tủa này tan trong *dung dịch acid acetic 6 M (TT)*.

B. Hòa tan một lượng chế phẩm tương đương với khoảng 50 mg acid citric trong 5 ml *nước* hoặc lấy 5 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 0,5 ml *acid sulfuric (TT)*, 1 ml *dung dịch kali permanganat (TT)* và đun nóng đến khi mất màu. Thêm 0,5 ml *dung dịch natri nitroprusiat 10 % trong dung dịch acid sulfuric 1 M*, 4 g *acid sulfamic (TT)* và từng giọt *amoniac (TT)* đến khi acid sulfamic tan hết, khi cho thừa amoniac, xuất hiện màu tím chuyển dần thành xanh tím.

Clorat

A. Thêm vài giọt *acid sulfuric (TT)* vào 0,1 g chế phẩm, có tiếng nổ lép bép và khí màu vàng lục bay ra.

B. Hòa tan khoảng 0,05 g chế phẩm trong 5 ml *nước*, thêm 0,5 ml *dung dịch bạc nitrat 2 % (TT)*, không xuất hiện tủa. Khi thêm 2 giọt đến 3 giọt *dung dịch natri nitrit (TT)* và 2 giọt đến 3 giọt *acid nitric loãng (TT)*, sẽ có tủa trắng tạo thành, tủa này tan trong *dung dịch amoniac 6 M (TT)*.

Clorid

A. Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng với 2 mg ion clorid trong 2 ml *nước* hoặc dùng 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Acid hóa bằng *dung dịch acid nitric 2 M (TT)*, thêm 0,4 ml *dung dịch bạc nitrat 2 % (TT)*. Lắc và để yên, có tủa màu trắng, lổn nhổn tạo thành. Lọc lấy tủa, rửa tủa 3 lần, mỗi lần với 1 ml *nước*, phân tán tủa trong 2 ml *nước* và thêm 1,5 ml *dung dịch amoniac 10 M (TT)*, tủa tan dễ dàng.

B. Cho vào ống nghiệm một lượng chế phẩm tương ứng khoảng từ 10 mg đến 20 mg ion clorid hay một lượng theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1 ml *dung dịch kali permanganat 5 % (TT)* và 1 ml *acid sulfuric (TT)*, đun nóng, sẽ giải phóng khí clor có mùi đặc biệt, khí này làm xanh *giấy tẩm hồ tinh bột có kali iodid (TT)* đã thấm nước.

Đồng (muối)

A. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 2 ml *nước* hoặc dùng 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm vài giọt *dung dịch kali ferocyanid (TT)*, sẽ có tủa màu nâu đỏ không tan trong *acid acetic (TT)*.

B. Hòa tan khoảng 10 mg chế phẩm trong 2 ml *nước* hoặc dùng 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm vài giọt *dung dịch amoniac (TT)*, sẽ có tủa màu xanh, tủa này tan trong thuốc thử quá thừa tạo thành dung dịch màu xanh lam thẫm.

Ester

Lấy khoảng 30 mg chế phẩm, hoặc một lượng chế phẩm theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm 0,5 ml dung dịch chứa 7 % *hydroxylamin hydroclorid (TT)* trong *methanol (TT)* và 0,5 ml *dung dịch kali hydroxyd 10 % trong ethanol (TT)*. Đun sôi, để nguội, acid hóa dung dịch bằng *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*, rồi thêm vài giọt *dung dịch sắt (III) clorid 1 %*, sẽ xuất hiện màu đỏ hay màu đỏ có ánh lam.

Iodid

A. Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng khoảng 4 mg ion iodid trong 2 ml *nước* hoặc dùng 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Acid hóa bằng *dung dịch acid nitric 2 M (TT)*, thêm 0,4 ml *dung dịch bạc nitrat 4 % (TT)*. Lắc và để yên, có tủa màu vàng nhạt, lổn nhổn tạo thành. Lọc lấy tủa, rửa tủa 3 lần, mỗi lần với 1 ml *nước*. Phân tán tủa trong 2 ml *nước*, thêm 1,5 ml *dung dịch amoniac 10 M (TT)*, tủa không tan.

B. Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng với 4 mg ion iodid trong 2 ml *nước*, hoặc dùng 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm vài giọt *dung dịch sắt (III) clorid 3 % (TT)*, 2 giọt *acid hydrocloric (TT)*, 1 ml *cloroform (TT)* và lắc, để yên. Lớp cloroform có màu tím.

Kali (muối)

A. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 2 ml *nước* hoặc dùng 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1 ml *dung dịch natri carbonat 10 % (TT)* rồi đun nóng, không tạo thành tủa. Thêm vào trong lúc nóng 0,05 ml *dung dịch natri sulfid (TT)*, không tạo thành tủa. Làm nguội trong nước đá và thêm 1,5 ml *dung dịch acid tartric 20 % (TT)* và để yên, tạo thành tủa kết tinh màu trắng.

B. Hòa tan khoảng 40 mg chế phẩm trong 1 ml *nước* hoặc dùng 1 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)* và 1 ml *dung dịch natri cobaltinitrit 10 % (TT)* mới pha, tạo thành tủa màu vàng hay da cam.

Kẽm (muối)

Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 5 ml *nước* hoặc dùng 5 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 0,2 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)*, tạo thành tủa trắng, tủa này tan khi tiếp tục thêm 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)*. Thêm 10 ml *dung dịch amoni clorid 10 % (TT)*, dung dịch vẫn trong, thêm 0,1 ml *dung dịch natri sulfid (TT)*, tủa bông trắng được tạo thành.

Lactat

Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng khoảng 5 mg acid lactic trong 5 ml *nước*, hoặc lấy 5 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1 ml *nước brom (TT)* và 0,5 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)*. Đun trong cách thủy đến khi mất màu, thỉnh thoảng khuấy bằng đũa thủy tinh. Thêm 4 g *amoni sulfat (TT)* và trộn đều. Thêm từng giọt theo thành ống 0,2 ml dung dịch có chứa 10 % *natri nitroprusiat (TT)* trong *dung dịch acid sulfuric 1 M*

(chú ý không trộn) và 1 ml *amoniac đậm đặc (TT)*. Để yên 30 min, sẽ xuất hiện một vòng màu lục giữa bề mặt của hai chất lỏng.

Magnesi (muối)
Hòa tan khoảng 15 mg chế phẩm trong 2 ml *nước* hoặc lấy 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1 ml *dung dịch amoniac 6 M (TT)*, tạo thành tủa trắng, tủa này tan khi thêm 1 ml *dung dịch amoni clorid (TT)*. Thêm 1 ml *dung dịch dinatri hydrophosphat 9 %*, sẽ có tủa kết tinh màu trắng.

Natri (muối)
A. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 2 ml *nước* hoặc dùng 2 ml dung dịch đã được chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 2 ml *dung dịch kali carbonat 15 % (TT)* và đun đến sôi. Không được có tủa tạo thành. Thêm 4 ml *dung dịch kali pyroantimonat (TT)* và đun đến sôi. Để nguội trong nước đá, nếu cần cọ thành cốc bằng đũa thủy tinh. Tủa trắng được tạo thành.
B. Dùng một dây bạch kim hay đũa thủy tinh, lấy một hạt chất thử hay một giọt dung dịch chế phẩm, đưa vào ngọn lửa không màu, ngọn lửa sẽ nhuộm thành màu vàng.

Nhôm (muối)
Hòa tan khoảng 0,1 g chế phẩm trong 2 ml *nước* hoặc dùng 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm từng giọt *dung dịch amoniac (TT)* cho tới khi tạo tủa keo trắng, tủa này chuyển thành đỏ khi thêm vài giọt *dung dịch alizarin S (TT)*.

Nitrat
A. Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 2 ml *nước* hoặc dùng 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm từ từ 2 ml *acid sulfuric (TT)*, trộn và để nguội. Cho cẩn thận (không trộn) dọc theo thành ống nghiệm 1 ml *dung dịch sắt (II) sulfat 1,5 % (TT)*. Ở miền tiếp giáp giữa hai chất lỏng có một vòng màu nâu.
B. Trộn 0,1 ml *nitrobenzen (TT)* với 0,2 ml *acid sulfuric (TT)*, thêm một lượng chế phẩm đã tán nhỏ tương ứng với khoảng 1 mg ion nitrat hoặc một lượng dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận, để yên 5 min, làm lạnh trong nước đá vài min, vừa lắc vừa thêm từ từ 5 ml *nước*, sau đó 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)* và *5 ml aceton (TT)*, lắc rồi để yên. Lớp chất lỏng ở trên có màu tím thẫm.

Oxalat
A. Hòa tan khoảng 0,1 g chế phẩm trong 5 ml *nước* hoặc dùng 5 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 0,5 ml *dung dịch calci clorid 10 % (TT)*, tủa màu trắng tạo thành, tủa tan trong acid vô cơ, không tan trong *dung dịch acid acetic 6 M (TT)*.
B. Hòa tan khoảng 0,1 g chế phẩm trong 5 ml *nước* hoặc dùng 5 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Acid hóa dung dịch bằng *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*, dung dịch này sẽ làm mất màu *dung dịch kali permanganat 5 % (TT)* khi đun nóng.

Peroxyd
A. Nhỏ 1 giọt dung dịch chế phẩm vào 10 ml *dung dịch acid sulfuric 2 % (TT)*, thêm 2 ml *ether (TT)* và 1 giọt *dung dịch kali dicromat 5 % (TT)*, lắc, lớp ether có màu xanh.
B. Lấy 1 ml dung dịch chế phẩm, acid hóa nhẹ bằng *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*, thêm từng giọt *dung dịch kali iodid (TT)*, sẽ giải phóng iod, làm xanh *hồ tinh bột (TT)*.

Phosphat
A. Hòa tan khoảng 50 mg chế phẩm trong 3 ml *nước* hoặc dùng 3 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Acid hóa dung dịch bằng *dung dịch acid nitric loãng (TT)*, thêm 2 ml *dung dịch amoni molybdat (TT)* sẽ hiện tủa màu vàng.
B. Hòa tan khoảng 0,1 g chế phẩm trong 2 ml *nước* hoặc dùng 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Trung tính hóa dung dịch bằng *dung dịch acid nitric loãng (TT)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd (TT)*. Thêm 1 ml *dung dịch bạc nitrat 4 % (TT)* sẽ tạo tủa màu vàng, màu của tủa không thay đổi khi đun sôi, tủa tan khi thêm *dung dịch amoniac 10 M (TT)*.

Salicylat
A. Lấy 1 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 0,5 ml *dung dịch sắt (III) clorid 10,5 % (TT)*, xuất hiện màu tím, màu không bị mất khi thêm 0,1 ml *dung dịch acid acetic 5 M (TT)*.
B. Hòa tan khoảng 0,5 g chế phẩm trong 10 ml *nước* hoặc dùng 10 ml dung dịch theo chỉ dẫn của chuyên luận. Thêm 0,5 ml *acid hydrocloric (TT)*, sẽ xuất hiện tủa kết tinh màu trắng. Lọc lấy tủa, rửa tủa bằng *nước* đến phản ứng trung tính với giấy quỳ và làm khô trong bình hút ẩm có chứa *acid sulfuric (TT)*. Nhiệt độ nóng chảy của tủa từ 156 °C đến 161 °C (Phụ lục 6.7).

Sắt (II) (muối)
Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng với 10 mg sắt (II) trong 1 ml *nước*, hoặc dùng 1 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1 ml *dung dịch kali fericyanid 5 % (TT)*, tủa màu xanh lam tạo thành, tủa này không tan trong *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*.

Sắt (III) (muối)
A. Hòa tan một lượng chế phẩm có chứa khoảng 0,1 mg sắt (III) trong 3 ml *nước* hoặc dùng 3 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và 1 ml *dung dịch kali thiocyanat (TT)*, dung dịch có màu đỏ. Dùng 2 ống nghiệm, cho vào mỗi ống 1 ml dung dịch thu được ở trên. Một ống cho thêm 5 ml *alcol amylic (TT)* hoặc *ether (TT)*, lắc và để yên, lớp dung môi có màu hồng. Cho vào ống nghiệm kia 3 ml *dung dịch thủy ngân (II) clorid 5 % (TT)*, màu đỏ sẽ biến mất.
B. Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng với 1 mg sắt (III) trong 1 ml *nước* hoặc dùng 1 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1 ml *dung dịch kali ferocyanid (TT)* tủa màu xanh lam tạo thành, tủa này không tan trong *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*.

Silicat
Trong một chén nung bằng chì hay bằng bạch kim, dùng một sợi dây đồng trộn đều một lượng chất để thử với 10 mg *natri fluorid (TT)* và 0,2 ml *acid sulfuric đậm đặc (TT)*. Đậy chén bằng một nắp nhựa dẻo trong, mỏng; dưới nắp nhựa có một giọt nước. Đun nóng nhẹ, sẽ thấy xuất hiện một vòng màu trắng xung quanh giọt nước.

Stibi (antimony, hợp chất)
Hòa tan bằng cách đun nóng nhẹ khoảng 10 mg chế phẩm trong 10 ml *dung dịch natri kali tartrat 5 %* và để nguội. Lấy 2 ml dung dịch này hoặc 2 ml dung dịch chế phẩm theo chỉ dẫn trong chuyên luận, nhỏ vào đó từng giọt *dung dịch natri sulfid (TT)*, tủa màu đỏ cam tạo thành, tủa này sẽ tan khi thêm *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*.

Sulfat
A. Hòa tan 45 mg chế phẩm trong 5 ml *nước* hoặc dùng 5 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận, thêm 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và 1 ml *dung dịch bari clorid 5 % (TT)*, sẽ có tủa màu trắng tạo thành.
B. Thêm 0,1 ml *dung dịch iod 0,1 N* vào hỗn dịch thu được ở phản ứng trên, hỗn dịch có màu vàng (phân biệt với sulfit và dithionit) nhưng mất màu khi thêm từng giọt dung *dịch thiếc (II) clorid (TT)* (phân biệt với iodat). Đun sôi hỗn hợp, không được tạo thành tủa có màu (phân biệt với selenat và tungstat).

Sulfid
Hòa tan 0,1 g chế phẩm trong 2 ml *nước* hoặc dùng 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)*, khí bay ra có mùi của hydrosulfid, khí này sẽ làm nâu hoặc đen *giấy tẩm dung dịch chì acetat (TT)* đã thấm *nước*.

Bisulfit và sulfit
A. Hòa tan khoảng 0,1 g chế phẩm trong 2 ml *nước* hoặc dùng 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric 10 % (TT)*. Đun nóng nhẹ, sẽ có khí lưu huỳnh dioxyd bay ra và làm đen giấy tẩm *dung dịch thủy ngân (II) nitrat (TT)*.
B. Nhỏ từng giọt *dung dịch iod 0,1 N* vào dung dịch chế phẩm, màu của dung dịch iod sẽ mất.

Tartrat
A. Hòa tan khoảng 15 mg chế phẩm trong 5 ml *nước* hoặc dùng 5 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 0,05 ml *dung dịch sắt (II) sulfat 1 %* và 0,05 ml *dung dịch hydrogen peroxyd 10 tt (TT)*; màu vàng không bền vững được tạo thành, sau khi màu vàng biến mất, thêm từng giọt *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, xuất hiện màu tím hay đỏ tía.
B. Lấy 0,1 ml dung dịch chế phẩm chứa khoảng 15 mg acid tartric trong 1 ml hoặc dùng 0,1 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 0,1 ml *dung dịch kali bromid 10 % (TT)*, 0,1 ml *dung dịch resorcin 2 % (TT)* và 3 ml *acid sulfuric (TT)*. Đun trên cách thủy 5 min đến 10 min sẽ xuất hiện màu xanh lam thẫm. Để nguội và rót dung dịch vào *nước*, màu chuyển thành đỏ.

Thiosulfat
A. Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong 2 ml *nước* hoặc dùng 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm vài giọt *dung dịch iod 0,1 N*, màu của iod biến mất.
B. Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong 2 ml *nước* hoặc dùng 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm vài giọt *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)*, có tủa màu trắng dần chuyển thành màu vàng và có khí lưu huỳnh dioxyd bay ra làm đen giấy tẩm *dung dịch thủy ngân (II) nitrat (TT)*.
C. Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong 2 ml *nước* hoặc dùng 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm 1 ml *dung dịch bạc nitrat 4 % (TT)*, tủa màu trắng xuất hiện, chuyển nhanh sang màu vàng rồi dần dần sang màu đen.

Thủy ngân (muối)
A. Nhỏ 2 giọt đến 3 giọt dung dịch thử lên một miếng *đồng phôi (TT)* đã được cọ sạch, sẽ xuất hiện vết hoen màu xám tối; vết này sáng ra khi được lau nhẹ. Đốt nóng phôi đồng đó trong ống nghiệm thì vết hoen sẽ mất.
B. Hòa tan khoảng 0,10 g chế phẩm trong 2 ml *nước*, nếu là thủy ngân oxyd thì hòa tan trong 2 ml *dung dịch acid hydrocloric 10 % (TT)*, hoặc dùng 2 ml dung dịch theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Thêm từng giọt *dung dịch kali iodid (TT)* sẽ cho tủa màu đỏ, tủa tan trong thuốc thử quá thừa [đối với muối thủy ngân (II)].
Nếu là muối thủy ngân (I), khi thêm từng giọt *dung dịch kali iodid (TT)* sẽ cho tủa màu vàng, sau đó chuyển sang màu lục.

Nhóm xanthin
Trộn vài miligam chế phẩm hoặc lấy một lượng chế phẩm theo chỉ dẫn trong chuyên luận với 0,1 ml *dung dịch hydrogen peroxyd 100 tt (TT)* và 0,3 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*, đun trên cách thủy tới khô, sẽ có cắn màu đỏ hơi vàng, thêm 0,1 ml *dung dịch amoniac 2 M (TT)*, màu của cắn sẽ chuyển thành tím đỏ.

8.2 ĐỊNH TÍNH CÁC PENICILIN

Phương pháp sắc ký lớp mỏng
Tiến hành phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4), bản mỏng (pha tĩnh) là silica gel H đã được silan hoá.
Chấm riêng biệt lên bản mỏng 2 µl mỗi dung dịch sau:
Dung dịch 1: Dung dịch thử.
Dung dịch 2 và 3: Các dung dịch có chứa các chất đối chiếu tương ứng trong Bảng 8.2.
Sau khi triển khai sắc ký, để khô bản mỏng ngoài không khí, đặt bản mỏng vào bình có hơi iod cho đến khi xuất hiện các vết. Quan sát các vết dưới ánh sáng ban ngày. Trên sắc ký đồ, vết chính thu được của dung dịch (1) phải tương ứng về vị trí, màu sắc và kích thước với vết thu được của dung dịch (2). Đối với benzathin penicilin và procain penicilin,

Bảng 8.2 - Định tính các penicilin bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng

Tên mẫu	Dung môi để hoà tan	Nồng độ %	Chất đối chiếu trong dung dịch 2	Chất đối chiếu trong dung dịch 3	Pha động	Yêu cầu đối với phép thử
Amoxycilin natri	A	0,25	Amoxycilin trihydrat	Amoxycilin trihydrat + Ampicilin trihydrat	B	A
Amoxycilin trihydrat	A	0,25	Amoxycilin trihydrat	Amoxycilin trihydrat + Ampicilin trihydrat	B	A
Ampicilin	A	0,25	Ampicilin khan	Ampicilin khan + Amoxycilin trihydrat	B	A
Ampicilin natri	A	0,25	Ampicilin trihydrat	Ampicilin trihydrat + Amoxycilin trihydrat	B	A
Ampicilin trihydrat	A	0,25	Ampicilin trihydrat	Ampicilin trihydrat + Amoxycilin trihydrat	B	A
Benzathin penicilin	C	0,5	Benzathin benzylpenicilin	–	A*	B
Benzylpenicilin kali	D	0,5	Benzylpenicilin kali	Benzylpenicilin kali +Phenoxymethylpenicilin kali	A	A
Benzylpenicilin natri	D	0,5	Benzylpenicilin natri	Benzylpenicilin natri + Phenoxymethylpenicilin kali	A	A
Cloxacilin natri	D	0,5	Cloxacilin natri	Cloxacilin natri + Dicloxacilin natri + Flucloxacilin natri	A	C
Dicloxacilin natri	D	0,5	Dicloxacilin natri	Cloxacilin natri + Dicloxacilin natri + Flucloxacilin natri	A	C
Flucloxacilin natri	D	0,5	Flucloxacilin natri	Cloxacilin natri + Dicloxacilin natri + Flucloxacilin natri	A	C
Phenoxymethyl-penicilin	E*	0,5	Phenoxymethylpenicilin	Phenoxymethylpenicilin kali + Benzylpenicilin kali	A	A
Phenoxymethyl-penicilin kali	D	0,5	Phenoxymethylpenicilin kali	Phenoxymethylpenicilin kali + Benzylpenicilin kali	A	A
Procain penicilin	E	0,5	Procain benzylpenicilin	–	A*	B

dung dịch 1 phải có 2 vết chính tương ứng về vị trí, màu sắc và kích thước với 2 vết chính trên sắc ký đồ của dung dịch 2. Phép thử chỉ có giá trị khi đạt các yêu cầu được chỉ ra trong Bảng 8.2.

Các hệ dung môi khai triển (Pha động)

A: Hỗn hợp của *dung dịch amoni acetat 15,4 % (TT)* và *aceton (TT)* (70 : 30), được điều chỉnh tới pH 5,0 bằng *acid acetic khan (TT)* nếu như không có các chỉ dẫn khác trong bảng [A*: Điều chỉnh pH của pha động tới 7,0 bằng *amoniac (TT)*].

B: Hỗn hợp của *dung dịch amoni acetat 15,4 % (TT)* và *aceton (TT)* (90 : 10) được điều chỉnh tới pH 5,0 bằng *acid acetic khan (TT)*.

Dung môi

A: *Dung dịch natri hydrocarbonat 4,2 % (TT).*

B: Hỗn hợp *aceton - methanol* (1 : 1).

C: *Methanol.*

D: *Nước.*

E: *Aceton* (E*: Dùng *nước* là dung môi cho dung dịch 3).

Yêu cầu đối với phép thử

A: Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ dung dịch (3) tách ra 2 vết rõ ràng, riêng biệt.

B: Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ dung dịch (2) tách ra 2 vết rõ ràng, riêng biệt.

C: Phép thử chỉ có giá trị khi trên sắc ký đồ dung dịch (3) tách ra 3 vết rõ ràng, riêng biệt.

8.3 PHẢN ỨNG MÀU CỦA CÁC PENICILIN VÀ CEPHALOSPORIN

A. Cho 2 mg chế phẩm vào một ống nghiệm (kích thước 15 cm × 1,5 cm), làm ẩm với 0,05 ml *nước*, thêm 2 ml *acid sulfuric (TT)*. Lắc đều hỗn hợp và quan sát màu của dung dịch. Đặt ống nghiệm trong cách thủy sôi trong 1 min và lại quan sát màu. Dung dịch có màu tương ứng trong Bảng 8.3.

B. Lặp lại cách thử như phản ứng A, nhưng thay 2 ml *acid sulfuric (TT)* bằng 2 ml *dung dịch formaldehyd trong acid sulfuric (TT)*. Dung dịch có màu tương ứng trong Bảng 8.3.

Bảng 8.3 - Phản ứng màu của các penicilin và cephalosporin

Tên mẫu	*Acid sulfuric (TT)*	*Acid sulfuric (TT)* sau 1 min ở 100°C	*Dung dịch formaldehyd trong acid sulfuric (TT)*	*Dung dịch formaldehyd trong acid sulfuric (TT)* sau 1 min ở 100 °C
Amoxicilin natri			Hầu như không màu	Vàng sẫm
Amoxicilin trihydrat			Hầu như không màu	Vàng sẫm
Ampicilin			Hầu như không màu	Vàng sẫm
Ampicilin natri			Hầu như không màu	Vàng sẫm
Ampicilin trihydrat			Hầu như không màu	Vàng sẫm
Benzathin penicilin			Hầu như không màu	Nâu đỏ
Benzylpenicilin kali			Hầu như không màu	Nâu đỏ
Benzylpenicilin natri			Hầu như không màu	Nâu đỏ
Cefaclor			Hầu như không màu	Vàng nâu
Cefadroxil			Vàng	Da cam
Cefixim			Vàng	Da cam
Cefotaxim natri			Vàng sáng	Nâu
Cefradin			Vàng nhạt	Vàng sẫm
Cephalexin			Vàng nhạt	Vàng sẫm
Cephaloridin	Vàng nhạt	Hầu như không màu	Đỏ	Đỏ nâu
Cephalothin natri	Vàng (mau chuyển nhanh)	Hồng nâu	Đỏ	Đỏ nâu
Cloxacilin natri			Vàng xanh lá nhạt	Vàng
Dicloxacilin natri			Vàng xanh lá nhạt	Vàng
Flucloxacilin natri			Vàng xanh lá nhạt	Vàng
Phenoxymethyl penicilin			Nâu đỏ	Nâu đỏ sẫm
Phenoxymethyl penicilin kali			Nâu đỏ	Nâu đỏ sẫm
Procain penicilin	Hầu như không màu	Hầu như không màu	Hầu như không màu	Nâu đỏ

PHỤ LỤC 9

9.1 ỐNG NGHIỆM DÙNG TRONG CÁC PHÉP THỬ SO SÁNH

Ống Nessler

Khi các phép thử yêu cầu sử dụng ống Nessler thì các ống Nessler được sử dụng phải đạt các yêu cầu sau:

Ống Nessler phải đạt các yêu cầu về tiêu chuẩn của ống Nessler do nhà sản xuất đưa ra. Ống được làm từ thủy tinh trung tính trong suốt và có thể tích danh định 50 ml. Chiều cao của ống khoảng 15 cm, chiều cao đo bên ngoài ống từ đáy đến vạch 50 ml là 11,0 cm đến 12,4 cm, độ dày của thành ống từ 1,0 mm đến 1,5 mm, độ dày của đáy ống từ 1,0 mm đến 3,0 mm. Chiều cao đo bên ngoài ống từ đáy đến vạch 50 ml đối với các ống dùng trong một phép thử không được sai khác quá 1 mm.

Ống nghiệm dùng cho các phép thử so sánh

Nếu không có chỉ dẫn gì khác, các ống nghiệm dùng trong các phép thử so sánh là những ống thích hợp được làm bằng thủy tinh không màu, có đường kính trong đồng nhất. Đáy trong suốt và phẳng. Khi quan sát, nhìn cột chất lỏng theo trục thẳng đứng từ trên xuống trên nền trắng hoặc nền đen (nếu cần thiết) dưới ánh sáng khuyếch tán ban ngày. Thường dùng những ống có đường kính trong 16 mm. Có thể dùng những ống đường kính lớn hơn nhưng thể tích chất lỏng đem thử phải tăng lên sao cho chiều cao của lớp chất lỏng không thấp hơn chiều cao của lớp chất lỏng khi thử bằng những ống có đường kính trong bằng 16 mm.

9.2 XÁC ĐỊNH ĐỘ TRONG CỦA DUNG DỊCH

Độ trong của các dung dịch được xác định bằng cách so sánh các dung dịch đó với các hỗn dịch đối chiếu.

Dung dịch hydrazin sulfat: Hòa tan 1,0 g *hydrazin sulfat (TT)* trong *nước*, pha loãng với *nước* thành 100,0 ml và để yên trong thời gian 4 h đến 6 h.

Dung dịch hexamethylentetramin: Trong một bình nón thủy tinh nút mài dung tích 100 ml, hòa tan 2,5 g hexamethylentetramin trong 25,0 ml *nước*.

Hỗn dịch đục gốc

Thêm 25,0 ml dung dịch hydrazin sulfat vào 25,0 ml dung dịch hexamethylentetramin, lắc kỹ và để yên trong 24 h. Nếu được bảo quản trong lọ thủy tinh tốt (không có khuyết tật ở bề mặt) thì hỗn dịch đục gốc bền vững trong vòng 2 tháng. Hỗn dịch này phải không được bám dính vào thủy tinh và phải được lắc kỹ trước khi dùng.

Chuẩn đục: Pha loãng 15,0 ml hỗn dịch đục gốc thành 1000,0 ml với *nước*.

Chuẩn đục được chuẩn bị ngay trước khi dùng và có thể bảo quản tối đa trong vòng 24 h.

Hỗn dịch đối chiếu

Các hỗn dịch đối chiếu từ I tới IV được chuẩn bị như chỉ dẫn trong Bảng 9.2.

Mỗi hỗn dịch phải được trộn kỹ và lắc trước khi sử dụng.

Bảng 9.2 - Các hỗn dịch đối chiếu

	I	II	III	IV
Chuẩn đục (ml)	5,0	10,0	30,0	50,0
Nước	95,0	90,0	70,0	50,0

Cách thử

Việc so sánh được tiến hành trong các ống nghiệm giống nhau, bằng thủy tinh trung tính, trong, không màu, đáy bằng, có đường kính trong khoảng từ 15 mm đến 25 mm. Chiều dày của lớp dung dịch thử và của hỗn dịch đối chiếu là 40 mm. Hỗn dịch đối chiếu sau khi pha 5 min phải được so sánh ngay với dung dịch cần thử bằng cách quan sát chất lỏng từ trên xuống trong các ống nghiệm trên nền đen dưới ánh sáng khuếch tán ban ngày. Ánh sáng khuếch tán phải phù hợp để có thể phân biệt được hỗn dịch đối chiếu I với nước cất và với hỗn dịch đối chiếu II.

Cách đánh giá kết quả

Một chất lỏng được coi như trong nếu nó tương đương với độ trong của *nước cất* hay của dung môi đã dùng khi thử nghiệm trong những điều kiện như đã mô tả, hoặc nếu chất lỏng đó hơi đục nhẹ thì cũng không được đục quá hỗn dịch đối chiếu I.

Các yêu cầu khác nhau về độ đục được biểu thị theo hỗn dịch đối chiếu I, II, III, và IV.

9.3 XÁC ĐỊNH MÀU SẮC CỦA DUNG DỊCH

Việc xác định màu sắc của dung dịch trong phạm vi nâu - vàng - đỏ được tiến hành theo một trong hai phương pháp dưới đây, tùy theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Một dung dịch được coi là không màu nếu nó giống như *nước cất* hay dung môi dùng để pha dung dịch đó, hoặc có màu không thẫm hơn dung dịch màu đối chiếu N_9.

Phương pháp 1

Dùng những ống thủy tinh trung tính, không màu, trong suốt và giống hệt nhau, có đường kính ngoài 12 mm để so sánh 2,0 ml dung dịch thử với 2,0 ml *nước cất*, hoặc dung môi, hoặc dung dịch màu đối chiếu (Bảng 9.3.2a tới 9.3.2e) theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Quan sát màu của dung dịch theo chiều ngang ống nghiệm, dưới ánh sáng khuếch tán, trên nền trắng.

Phương pháp 2

Dùng những ống thủy tinh trung tính, đáy bằng, không màu, trong suốt, giống hệt nhau và có đường kính trong từ 15 mm đến 25 mm để so sánh lớp dung dịch thử với *nước cất*, hoặc

dung môi, hoặc dung dịch màu đối chiếu (Bảng 9.3.2 a tới Bảng 9.3.2 e) theo chỉ dẫn trong chuyên luận, bề dày của lớp chất lỏng là 40 mm. Quan sát màu của dung dịch dọc theo trục ống, dưới ánh sáng khuếch tán trên nền trắng.

Pha chế các dung dịch gốc

Dung môi A: 25 ml *acid hydrocloric (TT)* hòa tan trong 975 ml *nước cất.*

Dung dịch gốc màu vàng: Hòa tan 46 g *sắt (III) clorid (TT)* trong 900 ml dung môi A, cho vừa đủ dung môi A thành 1000 ml. Chuẩn độ rồi điều chỉnh bằng dung môi A để có dung dịch chứa 45 mg $FeCl_3.6H_2O$ trong 1 ml. Bảo quản tránh ánh sáng.

Chuẩn độ: Cho vào một bình nón dung tích 250 ml có nút mài 10 ml dung dịch gốc màu vàng, 15 ml *nước*, 5 ml *acid hydrocloric (TT)* và 4 g *kali iodid (TT).* Đậy nút, lắc đều rồi để yên 15 min ở chỗ tối. Thêm vào bình 100 ml *nước* và chuẩn độ iod giải phóng bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ),* chỉ thị là 0,5 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* cho vào lúc gần cuối chuẩn độ.

1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 27,03 mg $FeCl_3.6H_2O$.

Dung dịch gốc màu đỏ: Hòa tan 60 g *cobalt (II) clorid (TT)* trong 900 ml dung môi A, cho vừa đủ dung môi A thành 1000 ml. Chuẩn độ, rồi điều chỉnh bằng dung môi A để có dung dịch chứa 59,5 mg $CoCl_2.6H_2O$ trong 1 ml.

Chuẩn độ: Cho vào một bình nón dung tích 250 ml có nút mài 5 ml dung dịch gốc màu đỏ, 5 ml *dung dịch hydrogen peroxyd 10 tt (TT)* và 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 30 % (TT).* Đun sôi nhẹ trong 10 min, để nguội rồi thêm 60 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* và 2 g *kali iodid (TT).* Đậy bình và lắc nhẹ cho tan tủa, chuẩn độ iod giải phóng bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* với chỉ thị là 0,5 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* cho vào lúc gần cuối chuẩn độ. Dung dịch chuyển thành màu hồng khi chuẩn độ đến điểm tương đương.

1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 23,79 mg $CoCl_2.6H_2O$.

Dung dịch gốc màu xanh: Hòa tan 63 g *đồng (II) sulfat (TT)* trong 900 ml dung môi A, cho vừa đủ dung môi A thành 1000 ml. Chuẩn độ, rồi điều chỉnh bằng dung môi A để có dung dịch chứa 62,4 mg $CuSO_4.5H_2O$ trong 1 ml.

Chuẩn độ: Cho vào một bình nón dung tích 250 ml có nút mài 10 ml dung dịch gốc màu xanh, 50 ml *nước*, 12 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)* và 3 g *kali iodid (TT).* Chuẩn độ iod giải phóng bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* đến khi có màu nâu nhạt, chỉ thị là 0,5 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* cho vào lúc gần cuối chuẩn độ.

1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 N (CĐ)* tương tương với 24,97 mg $CuSO_4.5H_2O$.

Pha chế các dung dịch màu chuẩn

Dùng 3 dung dịch gốc để pha 5 dung dịch màu chuẩn theo Bảng 9.3.1

Bảng 9.3.1 - Các dung dịch màu chuẩn

Dung dịch màu chuẩn	Dung dịch gốc (ml)			Dung dịch acid hydrocloric 1 % (ml)
	Màu vàng	Màu đỏ	Màu xanh	
N (nâu)	30	30	24	16
VN (vàng nâu)	24	10	4	62
V (vàng)	24	6	0	70
VL (vàng lục)	96	2	2	0
D (đỏ)	10	20	0	70

Pha chế các dung dịch màu đối chiếu (dung dịch màu mẫu) Dùng 5 dung dịch màu chuẩn pha các dung dịch màu đối chiếu theo các Bảng 9.3.2 a đến 9.3.2 e sau đây:

Bảng 9.3.2 a - Dung dịch màu đối chiếu N

Dung dịch màu đối chiếu	Dung dịch màu chuẩn N (ml)	Dung dịch acid hydrocloric 1 % (ml)
N_1	75,0	25,0
N_2	50,0	50,0
N_3	37,5	62,5
N_4	25.0	75,0
N_5	12,5	87,5
N_6	5,0	95,0
N_7	2,5	97,5
N_8	1,5	98,5
N_9	1,0	99,0

Bảng 9.3.2 b - Dung dịch màu đối chiếu VN

Dung dịch màu đối chiếu	Dung dịch màu chuẩn VN (ml)	Dung dịch acid hydrocloric 1 % (ml)
VN_1	100,0	0,0
VN_2	75,0	25,0
VN_3	50,0	50,0
VN_4	25,0	75,0
VN_5	12,5	87,5
VN_6	5,0	95,0
VN_7	2,5	97,5

Bảng 9.3.2 c - Dung dịch màu đối chiếu V

Dung dịch màu đối chiếu	Dung dịch màu chuẩn V (ml)	Dung dịch acid hydrocloric 1 % (ml)
V_1	100,0	0,0
V_2	75,0	25,0
V_3	50,0	50,0
V_4	25,0	75,0
V_5	12,5	87,5
V_6	5,0	95,0
V_7	2,5	97,5

Bảng 9.3.2 d - Dung dịch màu đối chiếu VL

Dung dịch màu đối chiếu	Dung dịch màu chuẩn VL (ml)	Dung dịch acid hydrocloric 1 % (ml)
VL_1	25,0	75,0
VL_2	15,0	85,0
VL_3	8,5	91,5
VL_4	5,0	95,0
VL_5	3,0	97,0
VL_6	1,5	98,5
VL_7	0,75	99,25

Bảng 9.3.2 e - Dung dịch màu đối chiếu Đ

Dung dịch màu đối chiếu	Dung dịch màu chuẩn Đ (ml)	Dung dịch acid hydrocloric 1 % (ml)
$Đ_1$	100,0	0,0
$Đ_2$	75,0	25,0
$Đ_3$	50,0	50,0
$Đ_4$	37,5	62,5
$Đ_5$	25,0	75,0
$Đ_6$	12,5	87,5
$Đ_7$	5,0	95,0

Bảo quản

Với phương pháp 1, các dung dịch màu đối chiếu cần được bảo quản trong những ống thủy tinh trung tính, không màu, trong suốt có đường kính ngoài 12 mm, được hàn kín và tránh ánh sáng.

Với phương pháp 2, các dung dịch màu đối chiếu phải được chuẩn bị ngay trước khi dùng từ dung dịch màu chuẩn.

9.4 XÁC ĐỊNH GIỚI HẠN CÁC TẠP CHẤT

9.4.1 Amoni

Dùng phương pháp A, trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận.

Phương pháp A

Hòa tan một lượng chế phẩm thử như chỉ dẫn trong chuyên luận với 14 ml *nước* trong một ống nghiệm có nút mài, kiềm hoá nếu cần bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 15 ml. Thêm 0,3 ml *dung dịch kali tetraiodomercurat kiềm (TT)*, lắc đều rồi để yên 5 min. So sánh màu tạo thành trong ống thử với màu mẫu được chuẩn bị đồng thời trong cùng điều kiện như dung dịch thử.

Màu mẫu: Lấy chính xác 10 ml *dung dịch amoni mẫu 1 phần triệu NH_4 (TT)* cho vào một ống nghiệm, pha loãng với *nước* thành 15 ml. Thêm 0,3 ml *dung dịch kali tetraiodomercurat kiềm (TT)*, lắc đều rồi để yên 5 min.

Khi so màu, quan sát dọc theo trục ống nghiệm, dưới ánh sáng khuếch tán trên nền trắng. Màu vàng xuất hiện trong ống thử không được đậm hơn màu trong ống mẫu.

Phương pháp B

Cho một lượng chế phẩm (theo chỉ dẫn trong chuyên luận riêng) đã nghiền mịn vào một bình 25 ml có nút đậy bằng polyethylen và hòa tan hoặc phân tán trong 1 ml *nước*. Thêm 0,3 g *magnesi oxyd nặng (TT)*. Đậy bình ngay sau khi đã đặt xuống dưới nắp polyethylen một mẩu *giấy tẩm mangan bạc (TT)* hình vuông có cạnh 5 mm đã được làm ẩm bằng vài giọt *nước*. Lắc xoay tròn bình, tránh chất lỏng bắn lên và để yên ở 40 °C trong 30 min.

Màu xám nếu xuất hiện trên mẩu giấy tẩm mangan bạc ở bình thử không được đậm hơn ở bình mẫu được chuẩn bị đồng thời trong cùng điều kiện với lượng *dung dịch amoni mẫu 1 phần triệu NH_4 (TT)* đã được chỉ dẫn trong chuyên luận, 1 ml *nước* và 0,3 g *magnesi oxyd nặng (TT)*.

9.4.2 Arsen

Dùng phương pháp A, trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận.

Phương pháp A

Dụng cụ: Bộ dụng cụ thử arsen (Hình 9.4.2) gồm một bình nón nút mài cỡ 100 ml được đậy bằng nút thủy tinh mài, xuyên qua nút có một ống thủy tinh dài khoảng 200 mm, đường kính trong là 5 mm. Phần dưới của ống thủy tinh được kéo nhỏ lại để có đường kính trong là 1,0 mm và cách đầu ống 15 mm có một lỗ trên thành ống với đường kính 2 mm đến 3 mm. Khi gắn ống thủy tinh vào nút thì lỗ này phải ở cách mặt dưới của nút ít nhất là 3 mm. Đầu trên của ống thủy tinh có một đĩa tròn phẳng, mặt phẳng của đĩa vuông góc với trục ống.

Một ống thủy tinh thứ hai dài 30 mm, có cùng đường kính và cũng có đĩa tròn phẳng tương tự như ống thứ nhất, đặt tiếp xúc mặt đĩa tròn với ống thứ nhất và được giữ chặt với ống thứ nhất bằng 2 dây lò xo.

Tiến hành: Cho xuống đầu thấp của ống thủy tinh dài khoảng 50 mg đến 60 mg *bông tẩm chì acetat (TT)* hoặc một miếng gạc cotton bọc một mẩu *giấy tẩm chì acetat (TT)* có khối lượng 50 mg đến 60 mg. Đặt một miếng *giấy tẩm thủy ngân (II) bromid (TT)*, hình tròn hay hình vuông, có kích thước đủ để phủ kín lỗ tròn giữa 2 ống thủy tinh (15 mm × 15 mm), giữ chặt 2 ống thủy tinh bằng 2 dây lò xo. Cho vào bình nón một lượng chế phẩm thử theo chỉ dẫn trong chuyên luận. Hòa tan hoặc pha loãng (nếu chế phẩm thử là dung dịch) với *nước* thành 25 ml. Thêm 15 ml *acid hydrocloric (TT)*, 0,1 ml *dung dịch thiếc (II) clorid AsT (TT)* và 5 ml *dung dịch kali iodid 16,6 % (TT)*. Để yên 15 min rồi thêm 5 g *kẽm không có arsen (TT)*. Đậy ngay bình nón bằng nút đã lắp sẵn giấy thử ở trên và ngâm bình trong nước ở nhiệt độ sao cho khí được giải phóng đều đặn. Song song tiến hành một mẫu so sánh trong cùng điều kiện, dùng 1 ml *dung dịch arsen mẫu 1 phần triệu As (TT)* hòa loãng với *nước* thành 25 ml thay cho chế phẩm thử.

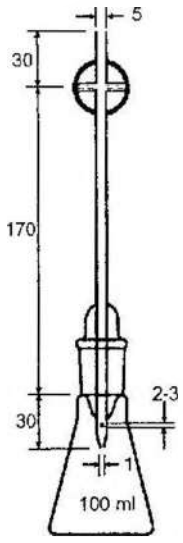
Sau ít nhất 2 h lấy các miếng *giấy tẩm thủy ngân (II) bromid (TT)* ra so sánh các vết màu. Vết màu nếu có trên miếng giấy của bình thử phải không được đậm hơn vết màu trên miếng giấy của bình mẫu.

Phương pháp B

Lấy một lượng chế phẩm thử theo chỉ dẫn trong chuyên luận cho vào một ống nghiệm chứa 4 ml *acid hydrocloric (TT)* và khoảng 5 mg *kali iodid (TT)*, thêm 3 ml *dung dịch hypophosphit (TT)*. Đun cách thủy hỗn hợp trong 15 min, thỉnh thoảng lắc.

Tiến hành song song một mẫu so sánh trong cùng điều kiện, thay chế phẩm thử bằng 0,5 ml *dung dịch arsen mẫu 10 phần triệu As (TT)*.

So sánh màu trong hai ống. Màu trong ống thử không được đậm hơn màu trong ống so sánh.



Hình 9.4.2 - Dụng cụ thử arsen
(Kích thước tính bằng milimét)

9.4.3 Calci

Các dung dịch dùng trong phép thử này phải được chuẩn bị với *nước cất*.

Thêm 1 ml *dung dịch amoni oxalat 4 % (TT)* vào 0,2 ml *dung dịch calci mẫu 100 phần triệu Ca trong ethanol 96 % (TT)*. Sau 1 min, thêm hỗn hợp gồm 1 ml *dung dịch acid acetic 2 M (TT)* và 15 ml dung dịch chế phẩm thử như chỉ dẫn trong chuyên luận và lắc.

Sau 15 min, so sánh độ đục tạo thành trong ống thử với độ đục mẫu được chuẩn bị đồng thời trong cùng điều kiện nhưng thay dung dịch chế phẩm thử bằng hỗn hợp gồm 10 ml *dung dịch calci mẫu 10 phần triệu Ca (TT)* và 5 ml *nước*.

Ống thử phải không được đục hơn ống mẫu.

9.4.4 Chì trong đường

Tiến hành theo phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 2), dùng ngọn lửa acetylen - không khí, đèn cathod rỗng chì và các dung dịch sau:

Dung dịch thử: Hòa tan 20,0 g chế phẩm thử trong *dung dịch acid acetic 1 M (TT)* để được 100,0 ml. Thêm 2,0 ml dung dịch bão hòa *amoni pyrolidin dithiocarbamat (TT)* và 10,0 ml *4-methylpentan-2-on (TT)*, lắc trong 30 s, tránh ánh sáng. Để yên cho tách lớp và lấy lớp 4-methylpentan-2-on.

Các dung dịch đối chiếu: Chuẩn bị 3 dung dịch đối chiếu trong cùng điều kiện như dung dịch thử, bằng cách thêm riêng biệt 0,5 ml; 1,0 ml; 1,5 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* vào mỗi bình đã có 20,0 g chế phẩm thử.

Chuẩn bị một mẫu trắng trong cùng điều kiện giống như dung dịch thử nhưng không có chế phẩm thử.

Đo độ hấp thụ của dung dịch thử, 3 dung dịch đối chiếu và mẫu trắng ở cực đại 283,3 nm, dùng dung dịch trắng để hiệu chỉnh điểm 0 của máy. Vẽ đường biểu diễn sự phụ thuộc giữa độ hấp thụ với nồng độ chì trong các dung dịch và xác định hàm lượng của chì trong chế phẩm thử.

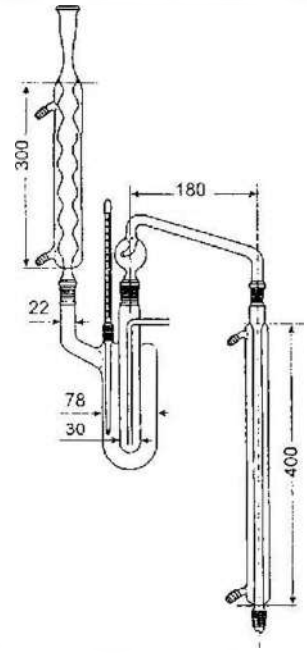
Hàm lượng chì không được lớn hơn 0,5 phần triệu trừ khi có chỉ dẫn khác.

9.4.5 Clorid

Chuẩn bị dung dịch thử như chỉ dẫn trong chuyên luận, cho vào một ống nghiệm, pha loãng với *nước* đến 15 ml. Thêm 1 ml *dung dịch acid nitric 2 M (TT)* và 1 ml *dung dịch bạc nitrat 2 % (TT)*. Để yên 5 min, tránh ánh sáng. So sánh độ đục tạo thành trong ống thử với độ đục trong ống mẫu được chuẩn bị đồng thời trong cùng điều kiện nhưng thay dung dịch thử bằng hỗn hợp gồm 10 ml *dung dịch clorid mẫu 5 phần triệu Cl (TT)* và 5 ml *nước*. Quan sát dọc theo trục ống nghiệm, dưới ánh sáng khuếch tán trên nền đen. Ống thử không được đục hơn ống mẫu.

9.4.6 Fluorid

Dùng thiết bị cất như mô tả trong Hình 9.4.6 bao gồm một ống nghiệm nút mài nối với một ống ngưng ruột thẳng. Ống nghiệm được đặt trong một bộ phận đun bằng thủy tinh chịu nhiệt kín có nối với một ống sinh hàn và nhiệt kế.



Hình 9.4.6 - Dụng cụ thử giới hạn fluorid
(Kích thước tính bằng milimét)

Cân và chuyển một lượng chế phẩm như chỉ dẫn trong chuyên luận vào ống nghiệm, thêm 0,1 g cát đã được rửa bằng acid và 20 ml *dung dịch acid sulfuric* 50 % (tt/tt). Rót *tetracloroethan (TT)* vào bình đun, đun nóng và giữ ở nhiệt độ sôi của tetracloroethan (146 °C). Chưng cất và hứng dịch cất vào bình định mức 100 ml có chứa sẵn 0,3 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CD)* và 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)*. Duy trì thể tích ở trong ống nghiệm là 20 ml trong suốt quá trình cất, và giữ cho dịch trong bình cất luôn luôn kiềm bằng cách thêm *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CD)* nếu cần. Thêm nước vào bình hứng dịch cất vừa đủ 100 ml, được dung dịch thử. Chuẩn bị mẫu chuẩn với cùng điều kiện như mẫu thử nhưng thay chế phẩm bằng 5 ml *dung dịch fluorid chuẩn 10 phần triệu F (TT)*. Lấy 2 ống nghiệm nút mài, thêm riêng rẽ 20 ml dung dịch thử và dung dịch chuẩn và thêm 5 ml *thuốc thử acid aminomethylalizarindiacetic (TT)* vào mỗi dung dịch, sau 20 min nếu dung dịch thử có màu xanh (ban đầu là màu đỏ) thì không được đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu.

9.4.7 Kali

Thêm 2 ml *dung dịch natri tetraphenylborat 1 % (TT)* mới pha vào 10 ml dung dịch chế phẩm thử đã chỉ dẫn trong chuyên luận, để yên 5 min. So sánh độ đục tạo thành trong ống thử với độ đục trong ống mẫu được chuẩn bị đồng thời trong cùng điều kiện một hỗn hợp của 5 ml *dung dịch kali mẫu 20 phần triệu K (TT)* và 5 ml *nước*.

Độ đục trong ống thử không được đậm hơn độ đục trong ống mẫu.

9.4.8 Kim loại nặng

Các phương pháp sau đây yêu cầu dùng *dung dịch thioacetamid (TT)*. Có thể dùng *dung dịch natri sulfid (TT)* (0,1 ml) để thay thế. Vì các phương pháp dưới đây được xây dựng dựa trên sử dụng *dung dịch thioacetamid (TT)* nên nếu sử dụng *dung dịch natri sulfid (TT)* thay thế thì phải chuẩn bị thêm dung dịch kiểm tra khi thử theo phương pháp 1, 2 và 8. Dung dịch kiểm tra được chuẩn bị từ lượng chế phẩm giống như lượng chế phẩm dùng để chuẩn bị dung dịch thử và thêm thể tích dung dịch chì mẫu giống như thể tích dung dịch chì mẫu dùng để chuẩn bị dung dịch đối chiếu. Phép thử chỉ có giá trị khi dung dịch kiểm tra có màu đậm ít nhất là bằng màu của dung dịch đối chiếu.

Phương pháp 1

Dung dịch thử: 12 ml dung dịch chế phẩm được chuẩn bị như chỉ dẫn trong chuyên luận.

Dung dịch đối chiếu: Hỗn hợp gồm 10 ml *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* hoặc *dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb (TT)* tùy theo chỉ dẫn trong chuyên luận và 2 ml dung dịch thử.

Dung dịch mẫu trắng: Hỗn hợp gồm 10 ml *nước* và 2 ml dung dịch thử.

Thêm 2 ml *dung dịch đệm acetat pH 3,5 (TT)* vào mỗi dung dịch trên. Lắc đều và thêm dung dịch thu được vào 1,2 ml *dung dịch thioacetamid (TT)*, lắc ngay. Quan sát các dung dịch sau 2 min.

Tính thích hợp của phép thử: Dung dịch đối chiếu phải có nâu nâu nhạt khi so sánh với dung dịch mẫu trắng.

Đánh giá kết quả: Màu nâu của dung dịch thử, nếu có, không được đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu.

Nếu như khó đánh giá kết quả, lọc các dung dịch qua màng lọc 0,45 µm nếu không có chỉ dẫn khác. Tiến hành lọc chậm và đều với áp lực lên piston nhẹ nhàng và liên tục. So sánh màu sắc của các vết trên màng lọc thu được từ các dung dịch.

Phương pháp 2

Dung dịch thử: 12 ml dung dịch chế phẩm được chuẩn bị như chỉ dẫn trong chuyên luận, dùng dung môi hữu cơ có chứa một tỷ lệ nước tối thiểu [Ví dụ như *1,4-dioxan (TT)* hoặc *aceton (TT)* có chứa 15 % *nước* (tt/tt)].

Dung dịch đối chiếu: Hỗn hợp gồm 10 ml *dung dịch chì mẫu (1 hay 2 phần triệu Pb* tùy theo chỉ dẫn trong chuyên luận) và 2 ml dung dịch thử.

Dung dịch ion chì mẫu 1 hoặc 2 phần triệu Pb được pha chế bằng cách pha loãng *dung dịch chì mẫu 100 phần triệu Pb (TT)* với dung môi được dùng để pha dung dịch thử.

Dung dịch mẫu trắng: Hỗn hợp gồm 10 ml dung môi được dùng để pha dung dịch thử và 2 ml dung dịch thử.

Thêm 2 ml *dung dịch đệm acetat pH 3,5 (TT)* vào mỗi dung dịch trên. Lắc đều và thêm dung dịch thu được vào 1,2 ml *dung dịch thioacetamid (TT)*, lắc đều ngay. Quan sát các dung dịch sau 2 min.

Tính thích hợp của phép thử: Dung dịch đối chiếu phải có nâu nâu nhạt khi so sánh với dung dịch mẫu trắng.

Đánh giá kết quả: Màu nâu của dung dịch thử, nếu có, không được đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu.

Nếu như khó đánh giá kết quả, lọc các dung dịch qua màng lọc 0,45 µm nếu không có chỉ dẫn khác. Tiến hành lọc chậm và đều với áp lực lên piston nhẹ nhàng và liên tục. So sánh màu sắc của các vết trên màng lọc thu được từ các dung dịch.

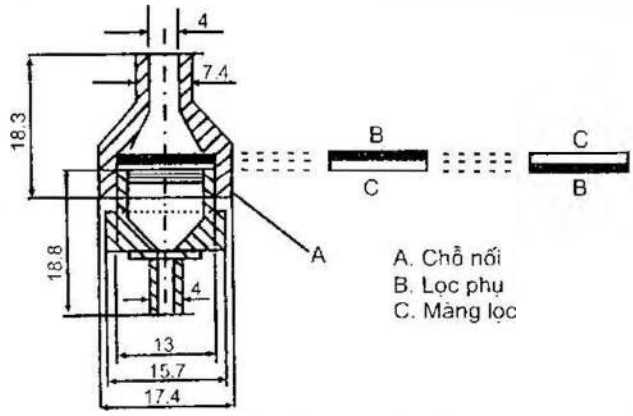
Phương pháp 3

Dung dịch thử: Lấy một lượng chế phẩm như chỉ dẫn trong chuyên luận (không quá 2 g) cho vào một chén nung sứ. Thêm 4 ml *dung dịch magnesi sulfat 25 % trong acid sulfuric 1 M (TT)*. Trộn đều bằng một đũa thủy tinh nhỏ rồi đun nóng cẩn thận. Nếu hỗn hợp là một chất lỏng thì làm bay hơi từ từ trên cách thủy đến khô. Đốt dần dần để chế phẩm cháy hết và tiếp tục đốt cho đến khi thu được cắn có màu gần trắng hay ít nhất là xám nhạt. Tiến hành nung ở nhiệt độ không quá 800 °C. Để nguội. Làm ẩm cắn bằng vài giọt *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)*. Bốc hơi, nung lại và để nguội. Toàn bộ thời gian nung không được quá 2 h. Hòa tan cắn trong *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* 2 lần, mỗi lần dùng 5 ml. Thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)*, cho từng giọt *amoniac (TT)* đến khi có màu hồng. Để nguội, thêm *acid acetic băng (TT)* đến khi dung dịch mất màu và thêm thừa 0,5 ml nữa. Lọc nếu cần và pha loãng dung dịch với *nước* thành 20 ml.

Dung dịch đối chiếu: Tiến hành theo chỉ dẫn ở phần dung dịch thử, dùng một thể tích *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* như đã ghi trong chuyên luận thay cho chế phẩm. Thêm 2 ml dung dịch thử vào 10 ml dung dịch thu được.
Dung dịch kiểm tra: Tiến hành theo chỉ dẫn ở phần dung dịch thử, dùng lượng chế phẩm như lượng dùng để chuẩn bị dung dịch thử và thể tích *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* như thể tích dùng để chuẩn bị dung dịch đối chiếu. Thêm 2 ml dung dịch thử vào 10 ml dung dịch thu được.
Dung dịch mẫu trắng: Hỗn hợp gồm 10 ml *nước* và 2 ml dung dịch thử.
Lấy 12 ml của mỗi dung dịch trên, thêm 2 ml *dung dịch đệm acetat pH 3,5 (TT)*. Lắc đều và thêm dung dịch thu được vào 1,2 ml *dung dịch thioacetamid (TT)*, lắc đều ngay. Quan sát các dung dịch sau 2 min.
Tính thích hợp của phép thử: Dung dịch đối chiếu phải có nâu nâu nhạt khi so sánh với dung dịch mẫu trắng và dung dịch kiểm tra phải có màu ít nhất là đậm bằng màu của dung dịch đối chiếu.
Đánh giá kết quả: Màu nâu của dung dịch thử, nếu có, không được đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu.
Nếu như khó đánh giá kết quả, lọc các dung dịch qua màng lọc 0,45 µm nếu không có chỉ dẫn khác. Tiến hành lọc chậm và đều với áp lực lên piston nhẹ nhàng và liên tục. So sánh màu sắc của các vết trên màng lọc thu được từ các dung dịch.

Phương pháp 4
Dung dịch thử: Trộn đều một lượng chế phẩm như chỉ dẫn trong chuyên luận với 0,5 g *magnesi oxyd (TT)* trong một chén sứ. Nung đỏ hỗn hợp cho đến khi thu được một khối đồng nhất màu trắng hay trắng xám. Nếu sau khi nung 30 min mà hỗn hợp vẫn có màu thì để nguội, dùng đũa thủy tinh trộn đều rồi nung lại. Nếu cần, lặp lại thao tác đó. Cuối cùng nung ở 800 °C trong 1 h. Hòa tan cắn trong hỗn hợp đồng thể tích của *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* và *nước*, 2 lần, mỗi lần dùng 5 ml. Thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)*, cho từng giọt *amoniac (TT)* đến khi có màu hồng. Để nguội, thêm *acid acetic băng (TT)* đến khi dung dịch mất màu và thêm thừa 0,5 ml nữa. Lọc nếu cần và pha loãng dung dịch với *nước* thành 20 ml.
Dung dịch đối chiếu: Lấy thể tích *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* như đã ghi trong chuyên luận, làm khô ở 100 °C đến 105 °C, thay cho chế phẩm và tiến hành theo chỉ dẫn ở phần dung dịch thử. Thêm 2 ml dung dịch thử vào 10 ml dung dịch thu được.
Dung dịch kiểm tra: Lấy lượng chế phẩm như lượng dùng để chuẩn bị dung dịch thử và thể tích *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* như thể tích dùng để chuẩn bị dung dịch đối chiếu, làm khô ở 100 °C đến 105 °C và tiến hành theo chỉ dẫn ở phần dung dịch thử. Thêm 2 ml dung dịch thử vào 10 ml dung dịch thu được.
Dung dịch mẫu trắng: Hỗn hợp gồm 10 ml *nước* và 2 ml dung dịch thử.
Lấy 12 ml của mỗi dung dịch trên, thêm 2 ml *dung dịch đệm acetat pH 3,5 (TT)*. Lắc đều và thêm dung dịch thu được vào 1,2 ml *dung dịch thioacetamid (TT)*, lắc đều ngay. Quan sát các dung dịch sau 2 min.
Tính thích hợp của phép thử: Dung dịch đối chiếu phải có nâu nâu nhạt khi so sánh với dung dịch mẫu trắng và dung dịch kiểm tra phải có màu ít nhất là đậm bằng màu của dung dịch đối chiếu.
Đánh giá kết quả: Màu nâu của dung dịch thử, nếu có, không được đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu.
Nếu như khó đánh giá kết quả, lọc các dung dịch qua màng lọc 0,45 µm nếu không có chỉ dẫn khác. Tiến hành lọc chậm và đều với áp lực lên piston nhẹ nhàng và liên tục. So sánh màu sắc của các vết trên màng lọc thu được từ các dung dịch.

Phương pháp 5
Dung dịch thử: Hòa tan một lượng chế phẩm như chỉ dẫn trong chuyên luận trong 30 ml *nước* hay trong thể tích như chỉ dẫn.
Dung dịch đối chiếu: Nếu không có chỉ dẫn khác, pha loãng thể tích *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* như chỉ dẫn trong chuyên luận thành thể tích bằng thể tích của dung dịch thử.
Chuẩn bị một thiết bị lọc bằng cách lắp thân một bơm tiêm, không có piston, dung tích 50 ml với một giá đỡ có chứa, trên mặt đĩa, một màng lọc (Kích thước lỗ 3 µm) và phía trên có màng lọc phụ (Hình 9.4.8).
Chuyển dung dịch thử vào bơm tiêm, lắp piston, ấn nhẹ và đều đến khi dung dịch được lọc hết. Tháo giá đỡ và lấy màng lọc phụ ra, kiểm tra xem màng lọc có bị nhiễm bẩn không, nếu cần thì thay màng lọc và lọc lại trong cùng điều kiện.
Thêm 2 ml *dung dịch đệm acetat pH 3,5 (TT)* vào toàn bộ hay một phần dịch lọc như chỉ dẫn ở chuyên luận, lắc đều và thêm dung dịch thu được vào 1,2 ml *dung dịch thioacetamid (TT)*, lắc đều ngay và để yên 10 min. Lọc lại như chỉ dẫn ở trên nhưng đảo trật tự màng lọc, dung dịch qua màng lọc rồi mới qua màng lọc phụ. Quá trình lọc phải được thực hiện từ từ và đều bằng cách ấn piston nhẹ nhàng và liên tục. Sau khi lọc xong lấy màng lọc ra, làm khô bằng cách ép trên giấy lọc.
Song song tiến hành như chỉ dẫn ở trên với dung dịch đối chiếu.



Hình 9.4.8 - Dụng cụ thử giới hạn kim loại nặng
(Kích thước tính bằng milimet)

Đánh giá kết quả: Màu của vết thu được từ dung dịch thử không được đậm màu hơn màu của vết thu được từ dung dịch đối chiếu.

Phương pháp 6

Dung dịch thử: Lấy một lượng chế phẩm như chỉ dẫn trong chuyên luận vào một bình Kjeldahl khô và sạch dung tích 100 ml (có thể dùng bình dung tích 300 ml nếu phản ứng tạo bọt nhiều). Giữ bình nghiêng một góc 45°. Nếu chế phẩm là chất rắn, thêm vừa đủ một thể tích *hỗn hợp acid* gồm 8 ml *acid sulfuric (TT)* và 10 ml *acid nitric (TT)* để làm ẩm toàn bộ mẫu. Nếu chế phẩm là chất lỏng, thêm vài ml *hỗn hợp acid*. Đun nóng nhẹ đến khi phản ứng bắt đầu, đợi phản ứng giảm bớt và tiếp tục thêm từng phần *hỗn hợp acid*, đun nóng sau mỗi lần thêm, đến khi hết 18 ml *hỗn hợp acid*. Tăng nhiệt độ và đun sôi nhẹ đến khi dung dịch thẫm màu. Để nguội, thêm 2 ml *acid nitric (TT)* và đun nóng đến khi dung dịch thẫm màu. Tiếp tục đun và thêm *acid nitric (TT)* đến khi dung dịch không còn thẫm màu thêm nữa. Đun nóng mạnh đến khi có khói trắng, dày đặc tạo thành. Để nguội, thêm cẩn thận 5 ml *nước*, đun sôi nhẹ đến khi có khói trắng, dày đặc tạo thành và tiếp tục đun đến khi còn 2 ml đến 3 ml. Để nguội, thêm cẩn thận 5 ml *nước* và quan sát màu của dung dịch. Nếu dung dịch có màu vàng, thêm cẩn thận 1 ml *dung dịch hydrogen peroxyd đậm đặc (TT)* và tiếp tục đun đến khi có khói trắng, dày đặc tạo thành và dung dịch còn khoảng 2 ml đến 3 ml. Nếu dung dịch vẫn có màu vàng, lặp lại bước thêm 5 ml *nước* và 1 ml *dung dịch hydrogen peroxyd đậm đặc (TT)* đến khi dung dịch không màu. Để nguội, pha loãng cẩn thận với *nước* và tráng vào ống Nessler dung tích 50 ml sao cho thể tích dung dịch thu được không vượt quá 25 ml. Điều chỉnh pH dung dịch đến 3,0 - 4,0 bằng *amoniac (TT)* [có thể dùng *dung dịch amoniac 6 M (TT)* để điều chỉnh khi đến gần khoảng pH yêu cầu], dùng chỉ thị ngoại là giấy chỉ thị có khoảng chỉ thị pH hẹp. Thêm *nước* để được 40 ml và trộn đều. Thêm 2 ml *dung dịch đệm acetat pH 3,5 (TT)*. Lắc đều và thêm dung dịch thu được vào 1,2 ml *dung dịch thioacetamid (TT)*. Lắc đều ngay. Pha loãng với *nước* thành 50 ml, lắc đều.

Dung dịch mẫu (đối chiếu): Tiến hành đồng thời như dung dịch thử, thay chế phẩm bằng thể tích *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* như chỉ dẫn trong chuyên luận.

Dung dịch kiểm tra: Tiến hành như dung dịch thử, dùng lượng chế phẩm như lượng dùng để chuẩn bị dung dịch thử và thể tích *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* như thể tích dùng để chuẩn bị dung dịch đối chiếu.

Dung dịch mẫu trắng: Tiến hành như dung dịch thử nhưng không có chế phẩm.

Sau 2 min quan sát các dung dịch dọc theo chiều dài ống nghiệm trên nền trắng.

Tính thích hợp của phép thử: Dung dịch đối chiếu phải có màu nâu nhạt khi so sánh với dung dịch mẫu trắng và dung dịch kiểm tra phải có màu ít nhất là đậm bằng màu của dung dịch đối chiếu.

Đánh giá kết quả: Màu nâu của dung dịch thử, nếu có, không được đậm hơn màu của dung dịch đối chiếu.

Nếu như khó đánh giá kết quả, lọc các dung dịch qua màng lọc 0,45 µm nếu không có chỉ dẫn khác. Tiến hành lọc chậm và đều với áp lực lên piston nhẹ nhàng và liên tục. So sánh màu sắc của các vết trên màng lọc thu được từ các dung dịch.

Phương pháp 7

Chú ý: Khi dùng thiết bị phá mẫu áp suất cao phải theo đúng hướng dẫn vận hành và chú ý về an toàn do nhà sản xuất đưa ra. Thiết lập chu kỳ phá mẫu tùy thuộc kiểu lò vi sóng (Ví dụ kiểu lò kiểm soát năng lượng, kiểu lò kiểm soát nhiệt độ hoặc lò áp suất cao). Chu kỳ này phải theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Chu kỳ phá mẫu là phù hợp nếu thu được dung dịch trong.

Dung dịch thử: Lấy một lượng chế phẩm như chỉ dẫn trong chuyên luận (không quá 0,5 g) vào một cốc phù hợp, sạch. Thêm lần lượt 2,7 ml *acid sulfuric (TT)*, 3,3 ml *acid nitric (TT)* và 2,0 ml *dung dịch hydrogen peroxyd đậm đặc (TT)* vừa thêm vừa khuấy đều bằng máy khuấy từ, để từng thuốc thử phản ứng với chế phẩm trước khi thêm thuốc thử tiếp theo. Chuyển hỗn hợp vào bình phá mẫu chịu áp suất cao (bằng fluoropolyme hoặc thạch anh), bình phải được làm khô trước khi cho mẫu vào.

Dung dịch đối chiếu: Tiến hành như dung dịch thử, thay chế phẩm bằng thể tích *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* như chỉ dẫn trong chuyên luận.

Dung dịch kiểm tra: Tiến hành như dung dịch thử, dùng lượng chế phẩm như lượng dùng để chuẩn bị dung dịch thử và thể tích *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* như thể tích dùng để chuẩn bị dung dịch đối chiếu.

Dung dịch mẫu trắng: Tiến hành như dung dịch thử nhưng không có chế phẩm.

Đậy bình phá mẫu và đặt vào trong lò vi sóng. Tiến hành phá mẫu bằng cách sử dụng nối tiếp 2 chương trình tách biệt thích hợp. Thiết lập các chương trình theo một số bước để có thể kiểm soát phản ứng, theo dõi áp suất, nhiệt độ hoặc năng lượng tùy theo kiểu lò vi sóng sử dụng. Sau khi áp dụng chương trình đầu tiên, để nguội các bình phá mẫu trước khi mở. Thêm vào mỗi bình 2 ml *dung dịch hydrogen peroxyd đậm đặc (TT)* và áp dụng chương trình thứ hai. Sau khi áp dụng chương trình thứ hai, để nguội các bình phá mẫu trước khi mở. Nếu cần thiết để có được dung dịch trong, lặp lại bước thêm *dung dịch hydrogen peroxyd đậm đặc (TT)* và chương trình phá mẫu thứ hai.

Để nguội, pha loãng cẩn thận với *nước* và tráng vào một bình nón sao cho thể tích dung dịch thu được không vượt quá 25 ml. Điều chỉnh pH dung dịch đến 3,0 - 4,0 bằng *amoniac (TT)* (có thể dùng *dung dịch amoniac 6 M (TT)* để điều chỉnh khi đến gần khoảng pH yêu cầu), dùng chỉ thị ngoại là giấy chỉ thị có khoảng chỉ thị pH hẹp. Để tránh làm nóng dung dịch, ngâm dung dịch trong nước đá và dùng máy khuấy từ. Pha loãng thành 40 ml với *nước* và trộn đều. Thêm 2 ml *dung dịch đệm acetat pH 3,5 (TT)*. Lắc đều và thêm dung dịch thu được vào 1,2 ml *dung dịch thioacetamid (TT)*. Lắc đều ngay. Pha loãng với *nước* thành 50 ml, lắc đều và để yên 2 min.

Lọc các dung dịch qua màng lọc thích hợp 0,45 µm nếu không có chỉ dẫn khác. Tiến hành lọc chậm và đều với áp lực lên piston nhẹ nhàng và liên tục. So sánh màu sắc của các vết trên màng lọc thu được từ các dung dịch trên.

Tính thích hợp của phép thử: Vết thu được từ dung dịch đối chiếu phải có màu nâu khi so sánh với vết thu được từ dung dịch mẫu trắng và vết thu được từ dung dịch kiểm tra phải có màu ít nhất là đậm bằng màu của vết thu được từ dung dịch đối chiếu.

Đánh giá kết quả: Màu nâu của vết thu được từ dung dịch thử không được đậm hơn màu của vết thu được từ dung dịch đối chiếu.

Phương pháp 8

Dung dịch thử: Hòa tan một lượng chế phẩm theo chỉ dẫn trong chuyên luận trong 20 ml dung môi hay hỗn hợp dung môi được chỉ dẫn trong chuyên luận.

Dung dịch đối chiếu: Pha loãng thể tích *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* theo chỉ dẫn trong chuyên luận thành 20 ml với dung môi để pha dung dịch thử.

Dung dịch mẫu trắng: 20 ml dung môi để pha dung dịch thử.

Thêm 2 ml *dung dịch đệm acetat pH 3,5 (TT)* vào mỗi dung dịch trên. Lắc đều (Trong một vài trường hợp có tủa tạo thành, khi đó chuyên luận riêng có hướng dẫn hòa tan lại trong thể tích xác định của dung môi cho sẵn). Thêm dung dịch thu được vào 1,2 ml *dung dịch thioacetamid (TT)*. Lắc ngay và để yên 2 min. Lọc các dung dịch qua màng lọc 0,45 µm nếu không có chỉ dẫn khác. So sánh các vết trên màng lọc thu được từ các dung dịch trên.

Tính thích hợp của phép thử: Vết thu được từ dung dịch đối chiếu phải có màu đen nâu so với vết thu được từ dung dịch mẫu trắng.

Đánh giá kết quả: Màu đen nâu của vết thu được từ dung dịch thử không được đậm hơn màu của vết thu được từ dung dịch đối chiếu.

9.4.9 Nhôm

Chuyển dung dịch chế phẩm thử đã chỉ dẫn trong chuyên luận vào một bình gạn và chiết lần lượt với 20 ml, 20 ml và 10 ml dung dịch *8-hydroxyquinolin 0,5 % trong cloroform (TT)*. Gộp các dịch chiết cloroform và pha loãng tới 50,0 ml bằng *cloroform (TT)* (dung dịch thử).

Trừ khi có chỉ dẫn khác, chuẩn bị dung dịch trắng và dung dịch chuẩn trong cùng điều kiện như dung dịch thử.

Dung dịch trắng là hỗn hợp 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0* và 100 ml *nước*.

Dung dịch chuẩn là hỗn hợp 2 ml *dung dịch nhôm mẫu 2 phần triệu Al (TT)*, 10 ml *dung dịch đệm acetat pH 6,0* và 98 ml *nước*.

Đo huỳnh quang của dung dịch thử (I_1), dung dịch chuẩn (I_2) và dung dịch trắng (I_3) (Phụ lục 4.3) với bước sóng kích thích là 392 nm và một kính lọc phụ có dải truyền quang tập trung ở 518 nm, hoặc đặt một thiết bị làm đơn sắc ánh sáng để truyền quang ở chính bước sóng đó.

Cường độ huỳnh quang của dung dịch thử (I_1 - I_3) không được lớn hơn của dung dịch chuẩn (I_2 - I_3).

9.4.10 Nickel trong polyol

Tiến hành theo phương pháp II của quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4), dùng ngọn lửa acetylen - không khí, đèn cathod rỗng nickel và các dung dịch sau:

Dung dịch thử: Hòa tan 20,0 g chế phẩm thử trong *dung dịch acid acetic 1 M (TT)* và pha loãng thành 100,0 ml với cùng dung môi. Thêm 2,0 ml dung dịch bão hòa *amoni pyrolidin dithiocarbamat (TT)* (khoảng 1 %) và 10,0 ml *4-methylpentan-2-on (TT)* lắc trong 30 s, tránh ánh sáng. Để yên cho tách lớp và lấy lớp methylpentanon.

Dung dịch đối chiếu: Chuẩn bị 3 dung dịch đối chiếu trong cùng điều kiện như dung dịch thử bằng cách thêm riêng biệt 0,5 ml; 1,0 ml; 1,5 ml *dung dịch nickel mẫu 10 phần triệu Ni (TT)* vào mỗi bình đã có 20,0 g chế phẩm thử.

Chuẩn bị một mẫu trắng trong cùng điều kiện giống như dung dịch thử, nhưng không có chế phẩm thử và dùng dung dịch này để hiệu chỉnh điểm "0" của máy.

Đo độ hấp thụ của dung dịch thử, 3 dung dịch đối chiếu và mẫu trắng ở cực đại 232,0 nm. Vẽ đường cong biểu diễn sự phụ thuộc giữa độ hấp thụ với nồng độ nickel trong các dung dịch và xác định hàm lượng của nickel trong chế phẩm thử.

Hàm lượng nickel không lớn hơn 1 phần triệu, trừ khi có chỉ dẫn khác.

9.4.11 Kim loại nặng trong dược liệu và trong dầu béo

Tiến hành bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4).

Chú ý: Khi dùng thiết bị phá mẫu áp suất cao và lò vi sóng dùng trong phòng thí nghiệm, phải thành thạo các thao tác an toàn và vận hành thiết bị mà nhà sản xuất đưa ra.

Thiết bị

Bao gồm các bộ phận sau:

Bình phá mẫu bằng polytetrafluoroethylen thể tích 120 ml có nắp đậy kín, có van điều chỉnh áp suất bên trong và một ống bằng polytetrafluoroethylen để xả khí.

Một hệ thống giữ các bình phá mẫu kín với cùng một lực xoắn.

Lò vi sóng với tần số 2450 MHz có công suất điều chỉnh được từ 0 đến (630 ± 70) W, nối với một máy tính có phần mềm điều khiển chương trình. Vách lò phủ một lớp polytetrafluoroethylen. Lò có quạt hút thay đổi được tốc độ, có hệ thống đĩa quay và ống hút để xả khói.

Máy quang phổ hấp thụ nguyên tử dùng đèn cathod rỗng là nguồn phát xạ và đèn deuterium hiệu chỉnh đường nền. Máy được nối với:

a) Bộ hóa hơi nguyên tử không ngọn lửa lò graphit đối với cadimi, đồng, chì, sắt, nickel và kẽm.

b) Bộ hoá hơi hydrid đối với arsen và bộ phận hóa hơi lạnh cho thủy ngân, hoặc một bộ hoá hơi khác có tính năng phù hợp cho 2 nguyên tố này.

Tiến hành

Nếu dùng trang thiết bị khác với mô tả ở trên thì cần điều chỉnh các thông số thiết bị cho phù hợp.

Rửa sạch các đồ đựng bằng thủy tinh và dụng cụ thí nghiệm bằng *dung dịch acid nitric (TT)* 10 g/l trước khi dùng.

Bảng 9.4.11.1 - Các thông số kỹ thuật để tiến hành phép thử

		Cd	Cu	Fe	Ni	Pb	Zn
Bước sóng	nm	228,8	324,8	248,3	232	283,5	213,9
Độ rộng khe	nm	0,5	0,5	0,2	0,2	0,5	0,5
Cường độ đèn	mA	6	7	5	10	5	7
Nhiệt độ tro hóa	°C	800	800	800	800	800	800
Nhiệt độ nguyên tử hóa	°C	1800	2300	2300	2500	2200	2000
Hiệu chỉnh đường nền		có	không	không	không	không	không
Tốc độ khí nitrogen	L/min	3	3	3	3	3	3

Dung dịch thử: Cân và chuyển vào bình phá mẫu một lượng chế phẩm theo chỉ dẫn trong chuyên luận (khoảng 0,5 g bột dược liệu hoặc dầu béo). Thêm 6 ml *acid nitric không có kim loại nặng (TT)* và 4 ml *acid hydrocloric không có kim loại nặng (TT)*. Đậy kín bình.

Đặt bình phá mẫu vào lò vi sóng. Tiến hành phá mẫu theo 3 bước như sau (dùng cho 7 bình chứa mẫu thử): 80 % công suất ở 15 min đầu, 100 % công suất ở 5 min tiếp theo và 80 % ở 20 min cuối.

Để nguội các bình ngoài không khí, thêm vào mỗi bình 4 ml *acid sulfuric không có kim loại nặng (TT)*. Lặp lại các bước phá mẫu như trên một lần nữa. Sau khi để nguội, mở bình phá mẫu ra, thu được dung dịch trong và không màu. Chuyển toàn bộ dung dịch vào bình định mức 50 ml, tráng bình phá mẫu 2 lần, mỗi lần với 15 ml *nước* và tập trung dịch tráng vào bình định mức trên. Thêm 1,0 ml dung dịch *magnesi nitrat (TT)* 1 % và 1,0 ml dung dịch *amoni dihydrophosphat (TT)* 10 %, thêm *nước* vừa đủ 50 ml.

Dung dịch mẫu trắng: Trộn 6 ml *acid nitric không có kim loại nặng (TT)* và 4 ml *acid hydrocloric không có kim loại nặng (TT)* vào bình phá mẫu và tiến hành phá mẫu như đối với dung dịch thử.

Định lượng cadimi, đồng, sắt, chì, nickel và kẽm

Xác định hàm lượng cadimi, đồng, sắt, chì, nickel, kẽm bằng phương pháp thêm chuẩn (Phụ lục 4.4), dùng các dung dịch đối chiếu của mỗi kim loại nặng và áp dụng các thông số kỹ thuật như Bảng 9.4.11.1. Độ hấp thụ của dung dịch mẫu trắng được tự động trừ vào độ hấp thụ của dung dịch thử.

Định lượng arsen và thủy ngân

Xác định hàm lượng arsen và thủy ngân trong mẫu dựa vào các dung dịch chuẩn arsen hoặc thủy ngân đã biết nồng độ bằng phương pháp xác định trực tiếp (Phụ lục 4.4) với hệ thống hoá hơi hydrid đối với arsen và hóa hơi lạnh đối với thủy ngân, hoặc với một thiết bị hóa hơi khác phù hợp.

Arsen

Dung dịch mẫu: Lấy 19,0 ml dung dịch thử hoặc trắng chuẩn bị như trên, thêm 1 ml dung dịch *kali iodid (TT)* 20 %. Để yên dung dịch ở nhiệt độ phòng trong 50 min hoặc ở 70 °C trong 4 min.

Acid: Acid hydrocloric không có kim loại nặng (TT).

Dung dịch khử: Dung dịch *natri borohydrid (TT)* 0,6 % trong dung dịch *natri hydroxyd (TT)* 0,5 %.

Áp dụng các thông số kỹ thuật trong Bảng 9.4.11.2.

Thủy ngân

Dung dịch mẫu: Dung dịch thử hoặc dung dịch trắng chuẩn bị như trên.

Acid: Dung dịch chứa 515 g/l acid hydrocloric không có kim loại nặng (TT).

Dung dịch khử: Dung dịch thiếc (II) clorid 1 % trong *dung dịch acid hydrocloric loãng không có kim loại nặng (TT).*

Áp dụng các thông số kỹ thuật trong Bảng 9.4.11.2.

Bảng 9.4.11.2 - Các thông số kỹ thuật để tiến hành phép thử

		As	Hg
Bước sóng	nm	193,7	253,7
Độ rộng khe	nm	0,2	0,5
Cường độ đèn	mA	10	4
Tốc độ acid	ml/min	1,0	1,0
Tốc độ dung dịch khử	ml/min	1,0	1,0
Tốc độ dung dịch mẫu	ml/min	7,0	7,0
Buồng đo		Thạch anh (làm nóng)	Thạch anh (không làm nóng)
Hiệu chỉnh đường nền		Không	Không
Tốc độ khí nitrogen	L/min	0,1	0,1

9.4.12 Phosphat

Thêm 4 ml *dung dịch sufomolybdic (TT)* vào 100 ml dung dịch đã được chuẩn bị, nếu cần thì trung hòa như chỉ dẫn. Lắc và thêm 0,1 ml *dung dịch thiếc (II) clorid (TT_1)*. Chuẩn bị dung dịch chuẩn trong cùng điều kiện, dùng 2 ml *dung dịch phosphat mẫu 5 phần triệu PO_4 (TT)* và 98 ml *nước*. Sau 10 min, lấy mỗi dung dịch 20 ml và so sánh màu. Màu trong ống thử phải không được đậm hơn màu trong ống chuẩn.

9.4.13 Sắt

Hòa tan một lượng chế phẩm thử quy định trong *nước* rồi pha loãng với *nước* thành 10 ml, hoặc lấy 10 ml dung dịch chế phẩm thử như chỉ dẫn trong chuyên luận cho vào một ống Nessler. Thêm 2 ml *dung dịch acid citric 20 %* và 0,1 ml *acid mercaptoacetic (TT)*. Lắc đều, kiềm hóa bằng *dung dịch amoniac 10 M (TT)* và pha với *nước* thành 20 ml. Để yên 5 min.

Chuẩn bị một dung dịch chuẩn trong cùng điều kiện, dùng 10 ml *dung dịch sắt mẫu 1 phần triệu Fe (TT)* thay cho dung dịch chế phẩm thử.

Màu hồng tạo thành trong dung dịch thử không được đậm hơn màu trong dung dịch chuẩn.

9.4.14 Sulfat

Các dung dịch dùng trong phép thử này phải được chuẩn bị trong *nước cất*.

Thêm 1 ml *dung dịch bari clorid 25 % (TT)* vào 1,5 ml *dung dịch sulfat mẫu 10 phần triệu SO_4 (TT)*, lắc và để yên 1 min. Thêm 15 ml dung dịch chế phẩm thử đã được chỉ dẫn trong chuyên luận hoặc thêm một lượng chế phẩm thử quy định đã hòa tan trong 15 ml *nước*, và 0,5 ml *dung dịch acid acetic 5 M (TT)*. Để yên 5 min.

Độ đục tạo thành trong ống thử không được đậm hơn trong ống chuẩn được chuẩn bị đồng thời trong cùng điều kiện, nhưng dùng 15 ml *dung dịch sulfat mẫu 10 phần triệu SO_4 (TT)* thay cho dung dịch chế phẩm thử.

9.4.15 Magnesi

Lấy 10 ml dung dịch thử được pha như chỉ dẫn của chuyên luận, thêm 0,1 g *natri tetraborat (TT)*. Nếu cần thì điều chỉnh pH của dung dịch tới khoảng từ 8,8 đến 9,2 bằng *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*. Lắc 2 lần, mỗi lần với 5 ml *dung dịch 8-hydroxyquinolin 0,1 % trong cloroform (TT)*, mỗi lần lắc 1 min, để yên cho tách lớp rồi gạn bỏ lớp cloroform phía dưới. Thêm vào lớp nước 0,4 ml *n-butylamin (TT)* và 0,1 ml *triethanolamin (TT)*. Nếu cần thì điều chỉnh pH tới khoảng từ 10,5 đến 11,5. Thêm 4 ml *dung dịch 8-hydroxyquinolin 0,1 % trong cloroform (TT)*, lắc 1 min rồi để yên cho tách lớp. Nếu lớp cloroform có màu thì không được đậm hơn màu mẫu thu được khi tiến hành như trên với 1 ml *dung dịch magnesi mẫu 10 phần triệu Mg (TT)* và 9 ml *nước*.

9.4.16 Magnesi và kim loại kiềm thổ

Lấy 200 ml *nước*, thêm 0,1 g *hydroxylamin hydroclorid (TT)*; 10 ml *dung dịch đệm amoniac pH 10,0 (TT)*; 1 ml *dung dịch kẽm sulfat 0,1 M (CĐ)* và khoảng 15 mg *hỗn hợp đen eriocrom T (TT)*. Đun nóng tới 40 °C và chuẩn độ với *dung dịch trilon B 0,01 M (CĐ)* đến khi màu tím chuyển hẳn sang xanh. Thêm vào dung dịch một lượng chế phẩm đã được hòa tan trong 100 ml *nước*, hoặc một thể tích dung dịch chế phẩm, như chỉ dẫn trong chuyên luận. Nếu màu dung dịch chuyển sang tím, thì chuẩn độ tiếp với *dung dịch trilon B 0,01 M (CĐ)* đến khi màu hoàn toàn trở lại xanh. Thể tích *dung dịch trilon B 0,01 M (CĐ)* dùng trong lần chuẩn độ thứ hai không được quá lượng quy định.

9.5 XÁC ĐỊNH GIỚI HẠN CARBON MONOXYD TRONG KHÍ Y TẾ

Thiết bị

Thiết bị (Hình 9.5) gồm các phần sau được mắc nối tiếp với nhau:

U1: Ống hình chữ U chứa silica gel khan được tẩm *crom (VI) oxyd (TT)*.

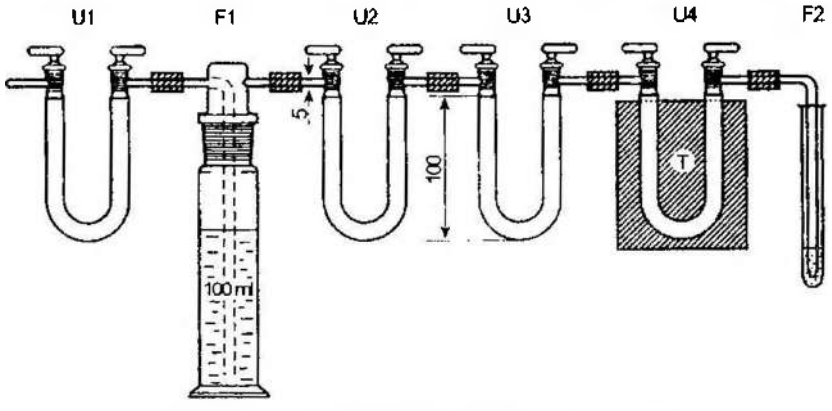
F1: Bình rửa chứa 100 ml *dung dịch kali hydroxyd 40 % (TT)*.

U2: Ống hình chữ U chứa các hạt *kali hydroxyd (TT)* (ống này không cần khi thử carbon dioxyd).

U3: Ống hình chữ U chứa phosphor pentoxyd được phân tán trên đá bọt.

U4: Ống hình chữ U chứa 30 g các hạt iod pentoxyd kết tinh lại đã được sấy trước ở 200 °C và duy trì ở 120 °C trong suốt quá trình thử. Iod pentoxyd được nhồi trong một ống thành các cột 1 cm được phân cách bằng các cột bông thủy tinh 1 cm để được một đoạn hữu hiệu dài 5 cm.

F2: Ống phản ứng chứa 2,0 ml *dung dịch kali iodid 16,6 % (TT)* và 0,15 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)*.



Hình 9.5 - Thiết bị thử giới hạn carbon monoxyd
(Kích thước tính bằng milimét)

Tiến hành

Rửa thiết bị bằng 5,0 L khí argon và nếu cần, làm mất màu của dung dịch iodid bằng cách thêm lượng ít nhất *dung dịch natri thiosulfat 0,002 N (CĐ)* mới pha. Tiếp tục rửa đến khi lượng *dung dịch natri thiosulfat 0,002 N (CĐ)* cần dùng không quá 0,045 ml sau khi cho 5,0 L khí argon chạy qua.

Cho khí cần kiểm tra chạy qua thiết bị, dùng thể tích và tốc độ dòng theo qui định trong chuyên luận riêng. Rửa vết iod giải phóng vào bình phản ứng bằng cách cho 1,0 L khí argon chạy qua. Chuẩn độ iod giải phóng bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,002 N (CĐ)*.

Tiến hành mẫu trắng trong cùng điều kiện, dùng thể tích argon theo qui định trong chuyên luận riêng. Thể tích *dung dịch natri thiosulfat 0,002 N (CĐ)* chênh lệch giữa hai lần chuẩn độ không được quá giới hạn qui định trong chuyên luận riêng.

9.6 XÁC ĐỊNH MẤT KHỐI LƯỢNG DO LÀM KHÔ

Mất khối lượng do làm khô là sự giảm khối lượng của mẫu thử biểu thị bằng phần trăm (khối lượng/khối lượng) khi được làm khô trong điều kiện xác định ở mỗi chuyên luận. Phương pháp này dùng để xác định hàm lượng nước, một phần hoặc toàn bộ lượng nước kết tinh và lượng chất dễ bay hơi khác trong mẫu thử.

Việc xác định mất khối lượng do làm khô không được làm thay đổi tính chất lý hóa cơ bản của mẫu thử, vì vậy mỗi chuyên luận riêng sẽ có quy định cách làm khô theo một trong các phương pháp sau đây:

a) Trong bình hút ẩm. Tiến hành làm khô trong bình hút ẩm với những chất hút nước như phosphor pentoxyd, silica gel v.v...

b) Trong chân không. Tiến hành làm khô ở điều kiện áp suất từ 1,5 kPa đến 2,5 kPa có mặt chất hút ẩm phosphor pentoxyd và ở nhiệt độ phòng.

c) Trong chân không ở điều kiện nhiệt độ xác định. Tiến hành làm khô ở điều kiện áp suất từ 1,5 kPa đến 2,5 kPa có mặt chất hút ẩm phosphor pentoxyd và trong điều kiện nhiệt độ quy định trong chuyên luận riêng.

d) Trong tủ sấy ở điều kiện nhiệt độ xác định. Tiến hành làm khô trong tủ sấy ở điều kiện nhiệt độ quy định trong chuyên luận riêng.

e) Trong chân không hoàn toàn. Tiến hành làm khô trong điều kiện áp suất không quá 0,1 kPa có mặt chất hút ẩm phosphor pentoxyd và ở điều kiện nhiệt độ qui định trong chuyên luận riêng.

Cách tiến hành

Dùng dụng cụ dùng để sấy bằng thủy tinh rộng miệng đáy bằng có nắp mài làm bì đựng mẫu thử; làm khô bì trong thời gian 30 min theo phương pháp và điều kiện quy định trong chuyên luận rồi cân để xác định khối lượng bì. Cân ngay vào bì này một lượng chính xác mẫu thử bằng khối lượng quy định trong chuyên luận với sai số ± 10 %. Nếu không có chỉ dẫn gì đặc biệt thì lượng mẫu thử được dàn mỏng thành lớp có độ dày không quá 5 mm. Nếu mẫu thử có kích thước lớn thì phải nghiền nhanh tới kích thước dưới 2 mm trước khi cân. Tiến hành làm khô trong điều kiện quy định của chuyên luận. Nếu dùng phương pháp sấy thì nhiệt độ thực cho phép chênh lệch ± 2 °C so với nhiệt độ quy định. Sau khi sấy phải làm nguội tới nhiệt độ phòng cân trong bình hút ẩm có silica gel rồi cân ngay. Nếu chuyên luận không quy định thời gian làm khô có nghĩa là phải làm khô đến khối lượng không đổi, tức là sự chênh lệch khối lượng sau khi sấy thêm 1 h trong tủ sấy hoặc 6 h trong bình hút ẩm so với lần sấy trước đó không quá 0,5 mg.

Nếu mẫu thử bị chảy ở nhiệt độ thấp hơn nhiệt độ sấy quy định thì trước khi đưa lên nhiệt độ đó, cần duy trì từ 1 h đến 2 h ở nhiệt độ thấp hơn nhiệt độ nóng chảy của mẫu thử từ 5 °C đến 10 °C.

Nếu mẫu thử ở dạng nang hoặc viên bao thì phải bỏ vỏ (lấy không ít hơn 4 viên) và nghiền nhanh tới kích thước dưới 2 mm rồi lấy lượng bột viên như chỉ dẫn trong chuyên luận riêng.

Nếu mẫu thử là dược liệu, khi chuyên luận riêng không có chỉ dẫn gì đặc biệt thì tiến hành sấy trong tủ sấy ở áp suất thường. Dược liệu phải được làm thành mảnh nhỏ đường kính không quá 3 mm; lượng đem thử từ 2 g đến 5 g; chiều dày lớp mẫu thử đem sấy là 5 mm và không quá 10 mm đối với dược liệu có cấu tạo xốp. Nhiệt độ và thời gian sấy theo yêu cầu của chuyên luận riêng. Nếu chuyên luận không qui định thời gian sấy có nghĩa là sấy đến khối lượng không đổi, tức là sự chênh lệch khối lượng sau khi sấy thêm 1 h so với lần sấy trước đó không quá 5 mg.

9.7 XÁC ĐỊNH TRO KHÔNG TAN TRONG ACID

Nếu không có hướng dẫn khác trong chuyên luận thì dùng phương pháp 1.

Phương pháp 1

Cho 25 ml *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* vào tro toàn phần, đun sôi 5 min, lọc để tập trung những chất không tan vào một phễu thủy tinh xốp đã cân bì, hoặc vào một giấy lọc không tro, rửa bằng nước nóng rồi đem nung ở 500 °C đến khối lượng không đổi. Tính tỷ lệ phần trăm của tro không tan trong acid so với dược liệu đã làm khô trong không khí.

Phương pháp 2

Cho vào chén nung chứa tro toàn phần hay tro sulfat (nếu trong chuyên luận riêng không có chỉ dẫn khác) 15 ml *nước* và 10 ml *acid hydrocloric (TT)*. Đậy chén bằng một mặt kính đồng hồ, đun sôi cẩn thận 10 min rồi để nguội. Rửa mặt kính đồng hồ với 5 ml nước nóng rồi cho vào chén nung. Tập trung chất không tan vào một phễu lọc thủy tinh xốp đã cân bì hoặc vào một giấy lọc không tro, rửa bằng nước nóng tới khi dịch lọc cho phản ứng trung tính. Làm khô rồi nung tới đỏ tối, để nguội trong bình hút ẩm rồi cân. Nung tiếp tới khi giữa 2 lần cân khối lượng

chênh lệch nhau không vượt quá 1 mg. Tính tỷ lệ phần trăm của tro không tan trong acid so với dược liệu đã được làm khô trong không khí.

9.8 XÁC ĐỊNH TRO TOÀN PHẦN

Nếu không có hướng dẫn khác trong chuyên luận thì áp dụng phương pháp 1.

Phương pháp 1

Với mẫu thử là dược liệu, thuốc từ dược liệu: Cho 2 g đến 3 g bột mẫu thử vào một chén sứ hoặc chén platin đã nung và cân bì. Nung ở nhiệt độ không quá 450 °C tới khi không còn carbon, làm nguội rồi cân. Bằng cách này mà tro chưa loại được hết carbon thì dùng một ít nước nóng cho vào khối chất đã than hóa, dùng đũa thủy tinh khuấy đều, lọc qua giấy lọc không tro. Rửa đũa thủy tinh và giấy lọc, tập trung nước rửa vào dịch lọc. Cho giấy lọc và cắn vào chén nung rồi nung đến khi thu được tro màu trắng hoặc gần như trắng. Tập trung dịch lọc vào cắn trong chén nung, đem bốc hơi đến khô rồi nung ở nhiệt độ không quá 450 °C đến khi khối lượng không đổi. Tính tỷ lệ phần trăm của tro toàn phần theo dược liệu đã làm khô trong không khí.

Với các mẫu thử khác: Cũng thực hiện như trên nhưng chỉ dùng 1 g mẫu thử nếu không có chỉ dẫn gì khác trong chuyên luận.

Phương pháp 2

Lấy một chén sứ hoặc chén platin nung tới đỏ trong 30 min. Để nguội trong bình hút ẩm rồi cân. Nếu trong chuyên luận riêng không có hướng dẫn gì khác thì lấy 1 g mẫu thử rải đều vào chén nung, sấy 1 h ở 100 °C đến 105 °C rồi đem nung trong lò nung ở 600 °C ± 25 °C. Sau mỗi lần nung, lấy chén nung cùng cắn tro đem làm nguội trong bình hút ẩm rồi cân. Trong quá trình thao tác không được để tạo thành ngọn lửa. Nếu sau khi đã nung lâu mà vẫn chưa loại hết carbon của tro thì dùng nước nóng để lấy cắn ra, lọc qua giấy lọc không tro rồi lại nung cắn và giấy lọc trong chén nung. Tập trung dịch lọc vào tro ở trong chén, làm bốc hơi cẩn thận tới khô rồi nung đến khối lượng không đổi.

9.9 XÁC ĐỊNH TRO SULFAT

Áp dụng một trong các phương pháp sau đây nếu trong chuyên luận riêng không có hướng dẫn khác.

Phương pháp 1

Nung một chén sứ hoặc chén platin tới đỏ trong 10 min, để nguội trong bình hút ẩm rồi cân. Nếu không có chỉ dẫn gì đặc biệt trong chuyên luận riêng thì cho 1 g mẫu thử vào chén nung, làm ẩm với *acid sulfuric (TT)*, đốt cẩn thận rồi lại làm ẩm với *acid sulfuric (TT)* và nung ở khoảng 800 °C. Làm nguội rồi cân. Nung lại 15 min, làm nguội rồi cân nhắc lại. Lặp lại quá trình này cho đến khi hai lần cân liên tiếp, khối lượng không chênh lệch nhau quá 0,5 mg.

Phương pháp 2

Nung một chén nung sứ hoặc platin ở 600 °C ± 50 °C trong 30 min, để nguội trong bình hút ẩm rồi cân. Cho vào chén nung một lượng mẫu thử như chỉ dẫn trong chuyên luận và cân. Làm ẩm mẫu bằng một lượng nhỏ *acid sufuric (TT)* (khoảng 1 ml), đốt nóng ở mức độ nhẹ nhất có thể đến khi mẫu hóa tro hoàn toàn. Để nguội, làm ẩm cắn bằng một lượng nhỏ *acid sufuric (TT)*, đốt nóng nhẹ đến khi bay hết khói trắng và nung ở 600 °C ± 50 °C đến khi cắn thành tro hoàn toàn. Trong khi đốt và nung không được để tạo thành ngọn lửa. Để nguội trong bình hút ẩm, cân và tính khối lượng của cắn. Nếu khối lượng cắn vượt ngoài giới hạn cho phép thì lại làm ẩm cắn bằng *acid sufuric (TT)* và nung như trên đến khối lượng không đổi nếu không có chỉ dẫn gì khác.

Lượng mẫu thử thường dùng (từ 1 g đến 2 g) được tính từ giới hạn tro sulfat đã qui định sao cho khối lượng tro sulfat (khoảng 1 mg) có thể cân được để đảm bảo độ chính xác.

9.10 XÁC ĐỊNH TRO TAN TRONG NƯỚC

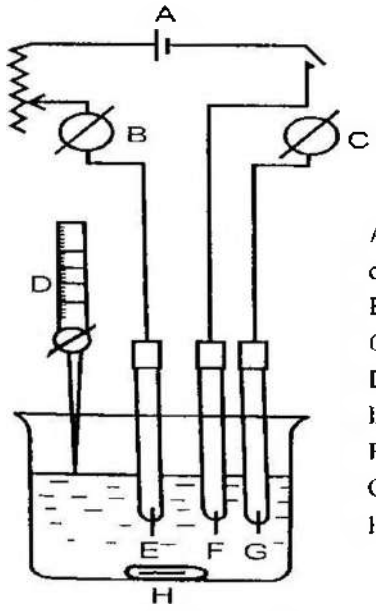
Đun sôi tro toàn phần (Phụ lục 9.8) với 25 ml *nước* trong 5 min. Tập trung những chất không tan vào một phễu thủy tinh xốp, hoặc vào trong một chén lọc thủy tinh xốp, hoặc trên một giấy lọc không tro đã cân bì trước, rửa bằng *nước* nóng rồi nung 15 min ở nhiệt độ không quá 450 °C. Để nguội rồi cân để xác định khối lượng cắn không tan trong nước. Lấy khối lượng tro toàn phần trừ đi khối lượng cắn không tan trong nước, được khối lượng tro tan trong nước. Tính tỷ lệ phần trăm tro tan trong nước so với dược liệu đã làm khô trong không khí.

PHỤ LỤC 10

10.1 PHƯƠNG PHÁP CHUẨN ĐỘ ĐO AMPE

Trong chuẩn độ đo ampe, điểm kết thúc được xác định bằng cách quan sát sự biến đổi của cường độ dòng điện đo giữa hai điện cực (một điện cực chỉ thị và một điện cực so sánh hoặc hai điện cực chỉ thị) nhúng trong dung dịch khảo sát và duy trì một hiệu điện thế không đổi. Cường độ dòng điện này là một hàm số mà biến số là lượng dung dịch chuẩn độ thêm vào.
Thế của điện cực đo cần phải đủ để đảm bảo dòng khuếch tán đối với chất điện hoạt.

Máy
Máy gồm có một nguồn cung cấp điện thế điều chỉnh được và một đồng hồ đo microampe nhạy. Hệ thống để phát hiện nói chung gồm một điện cực chỉ thị (ví dụ: điện cực platin, điện cực giọt thủy ngân, điện cực có đĩa quay hoặc điện cực than) ghép đôi với một điện cực so sánh như điện cực calomel hoặc điện cực bạc - bạc clorid.
Có thể dùng máy có 3 điện cực, máy này ngoài điện cực chỉ thị và điện cực so sánh còn có điện cực bổ trợ phân cực.



A: Nguồn cung cấp dòng có thể không đổi
B: Micro - ampe kế
C: Điện thế kế
D: Dung dịch chuẩn độ
E: Điện cực bổ trợ
F: Điện cực chỉ thị
G: Điện cực so sánh
H: Khuấy từ

Hình 10.1 - Sơ đồ chuẩn độ đo Ampe

Cách tiến hành
Chỉnh thế của điện cực chỉ thị theo các chỉ dẫn trong chuyên luận riêng. Lập đồ thị biểu diễn cường độ dòng ban đầu và các giá trị cường độ dòng khác thu được trong khi chuẩn độ, dưới dạng một hàm số với biến số là lượng dung dịch chuẩn độ thêm vào. Khi tổng lượng dung dịch chuẩn độ thêm vào đạt xấp xỉ 80 % thể tích lý thuyết dung dịch chuẩn độ cần dùng để đạt điểm tương đương, thêm dung dịch chuẩn độ không ít hơn 3 lần liên tiếp để tiến dần tới điểm tương đương. Các giá trị thu được này cần phải ở trên một đường thẳng. Tiếp tục thêm dung dịch chuẩn độ đến quá điểm tương đương và lại thêm không ít hơn ba lần liên tiếp dung dịch chuẩn độ nữa, các giá trị thu được lần này phải ở trên một đường thẳng khác. Điểm kết thúc của phép chuẩn độ là giao điểm của hai đường thẳng nói trên.
Trong trường hợp chuẩn độ đo ampe bằng hai điện cực chỉ thị nên ghi lại toàn bộ đường cong chuẩn độ và dùng đồ thị này để xác định điểm tương đương.

10.2 PHƯƠNG PHÁP CHUẨN ĐỘ ĐO ĐIỆN THẾ

Trong chuẩn độ đo điện thế, điểm kết thúc của chuẩn độ được xác định bằng cách quan sát sự biến đổi hiệu số điện thế đo được giữa hai điện cực (một điện cực chỉ thị và một điện cực so sánh hoặc hai điện cực chỉ thị) nhúng trong dung dịch khảo sát. Sự biến đổi này như là một hàm số mà biến số là lượng dung dịch chuẩn độ thêm vào. Điện thế thường được đo ở cường độ dòng điện bằng không hoặc thực tế bằng không.

Máy
Máy được sử dụng (máy đo thế đơn hoặc máy có tổ hợp mạch điện tử) gồm có một von kế cho phép đọc được tới 1 mV.
Tùy theo bản chất của hợp chất cần định lượng mà chọn điện cực chỉ thị, có thể là điện cực thủy tinh hoặc điện cực kim loại (như platin, vàng, bạc, thủy ngân....). Điện cực so sánh thường là điện cực calomel hoặc điện cực bạc - bạc clorid.
Trong chuẩn độ acid kiềm, trừ trường hợp có những chỉ dẫn khác của chuyên luận riêng, người ta thường dùng điện cực kép thủy tinh - calomel hoặc thủy tinh - bạc - bạc clorid.

Cách tiến hành
Lập đồ thị biểu diễn những biến đổi về điện thế tương ứng với lượng dung dịch chuẩn độ thêm vào cho đến và vượt điểm tương đương giả định. Điểm kết thúc của chuẩn độ tương ứng với điểm mà ở đó có sự thay đổi đột biến về điện thế.

10.3 ĐỊNH LƯỢNG NƯỚC

Nếu không có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, áp dụng Phương pháp 1 và định lượng trực tiếp.

Phương pháp 1 (Định lượng nước bằng thuốc thử Karl Fischer)

Nguyên tắc
Phương pháp định lượng nước này dựa trên phản ứng toàn lượng của nước với lưu huỳnh dioxyd và iod trong dung môi khan chứa một chất base hữu cơ thích hợp.
Dung môi hữu cơ thông dụng là methanol khan nước, cũng có khi được thay bằng dung môi hữu cơ khác thích hợp để

hòa tan chế phẩm. Chất base hữu cơ là pyridin, nhưng hiện nay đã dùng những chất base hữu cơ khác để thay thế như imidazol, 2-methylaminopyridin.

Thiết bị

Hiện nay có nhiều loại dụng cụ, nhưng nguyên tắc đều phải cấu tạo sao cho thao tác thuận tiện và tránh ẩm. Dụng cụ gồm có một cốc chuẩn độ dung tích khoảng 60 ml, có nắp gắn điện cực kép platin, một ống dẫn khí nitrogen, có lỗ cắm với buret và lỗ cắm ống thông hơi chứa chất hút ẩm. Chế phẩm được đưa vào bình chuẩn độ qua lỗ trên nắp hoặc miệng bên cạnh có nút mài. Trong quá trình chuẩn độ, khuấy bằng máy khuấy từ hoặc bằng luồng khí nitrogen khô đi qua dung dịch. Điểm kết thúc phản ứng được xác định bằng điện kế gắn trong mạch có biến trở 2000 Ω, nối với một nguồn pin 1,5 V. Lúc bắt đầu kim điện kế chỉ điểm không, vì dòng điện chạy qua 2 điện cực platin không đáng kể. Khi nhỏ thuốc thử Karl Fischer vào dung dịch, do hiện tượng khử cực nên kim điện kế lệch đi nhưng lập tức trở về vị trí ban đầu, chỉ khi đến điểm kết thúc thì một giọt thuốc thử thừa sẽ làm kim lệch đi và duy trì ít nhất 30 s.

Thuốc thử

Thuốc thử Karl Fischer gốc gồm 4 thành phần chính là lưu huỳnh dioxyd, iod, pyridin hoặc một base hữu cơ khác và methanol pha thành một dung dịch, hoặc hai dung dịch. Trường hợp pha thành hai dung dịch thì dung dịch A chứa lưu huỳnh dioxyd và pyridin pha trong methanol khan, dung dịch B chứa iod pha trong methanol khan. Trước khi dùng 1 h, trộn đều 1 thể tích dung dịch A với 1 thể tích dung dịch B, sau đó xác định đương lượng nước của thuốc thử. Lượng thuốc thử thu được chỉ dùng trong ngày. Hiện nay trên thị trường vừa có các loại thuốc thử như trên, vừa có loại đã thay pyridin và methanol bằng chất kiềm hữu cơ khác và dung môi hữu cơ khác. Do vậy, cần kiểm tra kỹ thành phần thuốc thử và cách sử dụng cho đúng mục đích. Các thuốc thử Karl Fischer và dung môi dùng trong phương pháp đều phải khan nước, bảo quản trong lọ màu, tránh ánh sáng, chống ẩm và phải xác định lại đương lượng nước trước khi dùng.

Xác định đương lượng nước của thuốc thử

Đương lượng nước của thuốc thử Karl Fischer dễ bị thay đổi theo thời gian nên trước khi dùng phải xác định lại và phải đạt tối thiểu 3,5 mg nước cho 1 ml thuốc thử. Có thể xác định theo 2 cách:

a. Áp dụng xác định hàm lượng nước nhỏ hơn 1 %.

Dùng một hóa chất có hàm lượng nước kết tinh xác định, sau khi đã sấy ở nhiệt độ quy định đến khối lượng không đổi để loại hết ẩm, cho tác dụng với thuốc thử rồi tính ra đương lượng. Thường dùng *natri tartrat dihydrat* ($C_4H_4Na_2O_6.2H_2O$).

Cách tiến hành:

Cho một lượng *methanol khan (TT)* hoặc dung môi thích hợp dùng cho thuốc thử Karl Fischer vào cốc chuẩn độ đủ ngập điện cực platin rồi chuẩn độ bằng *thuốc thử Karl Fischer* đến điểm dừng. Cho nhanh khoảng từ 250 mg đến 350 mg *natri tartrat dihydrat* đã cân chính xác vào cốc và chuẩn độ bằng *thuốc thử Karl Fischer* đến điểm kết thúc, tính hệ số đương lượng nước F (tính bằng mg nước/ml thuốc thử) của thuốc thử theo công thức:

$$F = 2 \times (18,02/230,08) \times (W/V)$$

Trong đó:

18,02 và 230,08 là khối lượng phân tử của nước và của natri tartrat dihydrat;

W là khối lượng *natri tartrat dihydrat* (tính bằng mg);

V là thể tích của *thuốc thử Karl Fischer* đã dùng (tính bằng ml).

b. Áp dụng xác định hàm lượng nước lớn hơn hoặc bằng 1 %.

Dùng nước tinh khiết đã chưng cất đạt tiêu chuẩn làm chất chuẩn hòa vào *methanol khan (TT)* hoặc dung môi thích hợp loại dùng cho thuốc thử Karl Fischer rồi dùng *thuốc thử Karl Fischer* để chuẩn độ.

Cách tiến hành:

Cho 25 ml *methanol khan (TT)* vào cốc chuẩn độ, chuẩn độ bằng *thuốc thử Karl Fischer* đến điểm kết thúc. Thêm nhanh khoảng 50 mg *nước tinh khiết* đã cân chính xác vào cốc chuẩn độ trên và chuẩn độ bằng thuốc thử Karl Fischer đến điểm kết thúc. Tính hệ số đương lượng nước F (tính bằng mg nước/ml thuốc thử) của thuốc thử theo công thức:

$$F = W/V$$

Trong đó:

W là khối lượng nước (tính bằng mg);

V là thể tích thuốc thử Karl Fischer đã dùng (tính bằng ml).

Định lượng

Chuẩn bị mẫu thử: Nếu không có chỉ dẫn gì khác trong chuyên luận riêng, cân hoặc lấy chính xác một lượng chế phẩm ước lượng chứa khoảng 10 mg đến 50 mg nước đem định lượng. Thao tác phải nhanh và thực hiện trong phòng có độ ẩm thấp để tránh ẩm ở ngoài ảnh hưởng đến chất phân tích.

Phương pháp định lượng trực tiếp

Nếu không có chỉ dẫn gì khác trong chuyên luận riêng, cho khoảng 20 ml *methanol khan (TT)* hoặc dung môi thích hợp dùng cho thuốc thử Karl Fischer vào cốc chuẩn độ, chuẩn độ bằng *thuốc thử Karl Fischer* đến điểm dừng. Cho nhanh một lượng chế phẩm đã chỉ dẫn trong chuyên luận riêng vào cốc chuẩn độ, đóng nút ngay, khuấy đều để phản ứng tác dụng trong khoảng 1 min rồi tiếp tục chuẩn độ bằng thuốc thử Karl Fischer đến điểm dừng. Tính hàm lượng nước X (tính bằng mg) của chế phẩm theo công thức:

$$X = N \times F$$

Trong đó:

N là thể tích thuốc thử Karl Fischer đã dùng cho lần chuẩn độ sau khi cho chế phẩm (tính bằng ml);

F là hệ số đương lượng nước của thuốc thử Karl Fischer (tính bằng mg/ml).

Phương pháp định lượng gián tiếp

Dung dịch nước chuẩn: Pha loãng 2 ml *nước tinh khiết* với *methanol khan (TT)* hoặc dung môi thích hợp thành

1000 ml. Lấy chính xác 25,0 ml dung dịch này cho vào cốc định lượng và chuẩn độ bằng thuốc thử Karl Fischer vừa mới xác định độ chuẩn. Tính hàm lượng nước W (tính bằng mg/ml) của dung dịch nước chuẩn theo công thức:

$$W = V \times F/25$$

Trong đó:
V là thể tích thuốc thử Karl Fischer đã dùng (ml);
F là hệ số đương lượng nước của thuốc thử Karl Fischer (tính bằng mg/ml).
Cách tiến hành: Nếu không có chỉ dẫn gì khác trong chuyên luận riêng, cho một lượng *methanol khan (TT)*, hoặc dung môi được chỉ dẫn trong chuyên luận riêng vào cốc định lượng vừa đủ ngập điện cực, chuẩn độ bằng *thuốc thử Karl Fischer* đến điểm kết thúc. Cho nhanh một lượng chế phẩm đã chỉ dẫn trong chuyên luận riêng vào cốc, đóng nút ngay, thêm tiếp một lượng chính xác *thuốc thử Karl Fischer* vào cốc sao cho thừa khoảng 1 ml, hoặc theo một thể tích đã chỉ dẫn trong chuyên luận riêng. Đóng nút để yên 1 min, tránh ánh sáng, thỉnh thoảng khuấy. Chuẩn độ phần thuốc thử Karl Fischer thừa bằng dung dịch nước chuẩn vừa mới pha ở trên. Tính hàm lượng nước A (tính bằng mg) có trong chế phẩm theo công thức:

$$A = F \times V_1 - W \times V_2$$

Trong đó:
F là đương lượng nước của thuốc thử Karl Fischer (tính bằng mg/ml);
V_1 là thể tích *thuốc thử Karl Fischer* đã thêm vào (ml);
V_2 là thể tích dung dịch nước chuẩn đã dùng (ml);
W là hàm lượng nước của dung dịch nước chuẩn ở trên (tính bằng mg/ml).
Chú ý:
Cần phải kiểm tra xem chất thử có tương kỵ với thuốc thử Karl Fischer không trước khi áp dụng phương pháp này. Những chất có khả năng phản ứng với một hay nhiều thành phần của thuốc thử như acid ascorbic, các mercaptan, các sulfid, các muối hydrocarbonat và carbonat kiềm, các oxyd và hydrat của oxyd kim loại... không áp dụng được phương pháp này. Đối với các aldehyd và ceton, hiện nay đã có loại thuốc thử dành riêng để định lượng nước trong các chất này.
Những dung môi hữu cơ sau đây có thể dùng thay thế methanol trong thuốc thử Karl Fischer khi chất thử không tan trong methanol: Cloroform, methyl celosolve, diethylen glycol monoethyl ether. Trước khi sử dụng phải làm khan bằng zeolit đạt tiêu chuẩn cho định lượng nước.
Những chất base hữu cơ sau đây có thể thay pyridin trong thuốc thử Karl Fischer: Imidazol, 2-methyl-aminopyridin. Phải kiểm tra hàm lượng nước trước khi dùng.

Phương pháp 2 (Phương pháp chuẩn độ đo điện tích)

Nguyên tắc
Phương pháp chuẩn độ đo điện tích có nguyên tắc tương tự phương pháp 1 tức là dựa trên phản ứng toàn lượng của nước với lưu huỳnh dioxyd và iod trong dung môi khan chứa một chất base hữu cơ thích hợp. Tuy nhiên, khác với phương pháp 1, iod được tạo ra bằng cách oxy hóa ion iodid tại buồng phản ứng điện hóa. Iod tạo thành ở anod phản ứng ngay với nước và lưu huỳnh dioxyd có trong buồng phản ứng. Hàm lượng nước trong chế phẩm tỷ lệ thuận với lượng điện tích tăng thêm cho đến khi kết thúc chuẩn độ. Điểm kết thúc đạt được khi toàn bộ nước phản ứng hết và iod dư xuất hiện. 1 mol iod tương ứng với 1 mol nước, 10,71°C điện tích tương ứng với 1 mg nước.
Độ ẩm bị loại khỏi hệ thống bằng quy trình trước điện phân. Các lần định lượng có thể thực hiện nối tiếp nhau trong cùng một dung dịch thuốc thử, trong các điều kiện sau:
- Mỗi thành phần của hỗn hợp thử không tương kỵ lẫn nhau,
- Không có phản ứng nào khác xảy ra,
- Thuốc thử điện phân phải đủ về thể tích và có đủ khả năng trung hòa nước.
Phương pháp chuẩn độ đo điện tích chỉ áp dụng được với những mẫu có hàm lượng nước nhỏ, khoảng từ 10 µg đến 10 mg nước là phù hợp.
Độ đúng và độ chính xác của phương pháp chủ yếu phụ thuộc vào mức độ loại bỏ được độ ẩm của môi trường ra khỏi hệ thống. Việc kiểm soát hệ thống phải được theo dõi bằng cách đo độ trôi của đường nền.

Thiết bị
Thiết bị bao gồm một buồng phản ứng, điện cực và khuấy từ. Buồng phản ứng có một ngăn anod rộng và một ngăn cathod nhỏ hơn. Có thể có vách ngăn phân cách hai ngăn điện cực tùy theo thiết kế. Mỗi ngăn có một điện cực platin. Chất lỏng hoặc mẫu thử đã hòa tan được đưa vào buồng phản ứng bằng một xi lanh qua nắp septum. Có thể áp dụng kỹ thuật bay hơi trong đó mẫu thử được làm nóng lên trong một ống đựng mẫu (buồng sấy) và hơi nước từ mẫu được đưa đến buồng phản ứng nhờ một dòng khí trơ khô. Phải tránh việc đưa mẫu rắn vào buồng phản ứng. Tuy nhiên, nếu không có cách nào khác thì việc đưa mẫu rắn vào phải qua một cổng nạp mẫu kín, phải áp dụng các biện pháp thích hợp để tránh đưa thêm độ ẩm của môi trường vào, ví dụ phải làm việc trong hộp có lồng găng tay và trong môi trường khí trơ khô. Quy trình thử nghiệm được theo dõi bằng một thiết bị điện tử phù hợp, có hiển thị kết quả.

Cách tiến hành
Đổ đầy các ngăn của buồng phản ứng bằng *thuốc thử điện phân dùng trong vi định lượng nước* theo hướng dẫn của nhà sản xuất và tiến hành chuẩn độ đến điểm kết thúc ổn định. Đưa lượng mẫu theo chỉ dẫn vào buồng phản ứng và khuấy 30 s, nếu không có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, chuẩn độ đến khi đạt được điểm kết thúc ổn định. Trường hợp phải dùng kỹ thuật bay hơi, đưa lượng mẫu như chỉ dẫn vào buồng sấy và làm nóng. Sau khi hơi nước bay hết sang buồng phản ứng, quá trình chuẩn độ bắt đầu. Đọc kết quả trên máy và tính phần trăm nước có trong chế phẩm, nếu cần. Thực hiện mẫu trắng tùy theo loại mẫu hoặc cách chuẩn bị mẫu.

Kiểm tra độ đúng

Giữa hai lần chuẩn độ, đưa một lượng nước được cân chính xác tương đương với lượng nước trong một lần chuẩn độ mẫu thử, có thể dùng *nước* hoặc *dung dịch chuẩn dùng cho vi định lượng nước*, tiến hành chuẩn độ. Tỷ lệ tìm thấy phải từ 97,5 % đến 102,5 % trong trường hợp lượng nước thêm vào khoảng 1000 µg; từ 90,0 % đến 110,0 % trong trường hợp lượng nước thêm vào khoảng 100 µg.

10.4 PHƯƠNG PHÁP CHUẨN ĐỘ BẰNG NITRIT

Chuẩn độ bằng nitrit là phương pháp định lượng thể tích, trong đó dung dịch chuẩn độ là dung dịch natri nitrit.

Phương pháp này được dùng chủ yếu để định lượng các chế phẩm có chứa nhóm amin thơm bậc nhất hoặc những chế phẩm khác mà qua biến đổi hóa học chuyển được thành hợp chất có nhóm amin thơm bậc nhất.

Cách tiến hành

Cân chính xác một lượng chế phẩm tương ứng với khoảng 0,002 phân tử gam hoạt chất (hoặc theo chỉ dẫn trong chuyên luận riêng) hòa tan trong 20 ml *acid hydrocloric (TT)*, và 50 ml *nước*. Cho thêm 2 g *kali bromid (TT)*, làm lạnh trong nước đá rồi chuẩn độ bằng *dung dịch natri nitrit 0,1 M (CĐ)* (phải để đầu nhỏ dung dịch chuẩn độ của buret ngập dưới mặt dung dịch cần chuẩn độ). Trong quá trình chuẩn độ phải lắc bình liên tục, nhẹ nhàng sao cho không tạo ra dòng xoáy không khí trong dung dịch (tốt nhất là dùng máy khuấy từ). Nhỏ dung dịch chuẩn độ với tốc độ lúc đầu chừng 2 ml trong một phút, đến trước điểm tương đương khoảng 1 ml thì nhỏ từng 0,1 ml một và để yên ít nhất 1 min sau mỗi lần thêm dung dịch.

Điểm kết thúc được xác định bằng phương pháp đo điện (theo hướng dẫn trong các Phụ lục 10.1, Phương pháp chuẩn độ đo ampe hoặc Phụ lục 10.2, Phương pháp chuẩn độ đo điện thế) hoặc bằng chỉ thị màu thích hợp.

10.5 PHƯƠNG PHÁP CHUẨN ĐỘ COMPLEXON

Nhôm (Al)

Lấy một lượng dung dịch như chỉ dẫn trong chuyên luận riêng cho vào một bình nón 500 ml. Thêm 25 ml *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)* và 10 ml hỗn hợp đồng thể tích của *dung dịch amoni acetat 2 M* và *acid acetic loãng (TT)*. Đun sôi dung dịch 2 min, để nguội, thêm 50 ml *ethanol (TT)* và 3 ml *dung dịch dithizon 0,025 % (kl/tt) mới pha trong ethanol (TT)* rồi chuẩn độ *dung dịch Trilon B 0,1 M* thừa bằng *dung dịch kẽm sulfat 0,1 M (CĐ)* đến khi màu của dung dịch chuyển từ xanh sang tím đỏ.

1 ml *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)* tương đương với 2,698 mg Al.

Bismuth (Bi)

Nếu không có chỉ dẫn gì khác, pha loãng chế phẩm với *nước* thành 250 ml. Vừa lắc vừa thêm từng giọt *amoniac 13,5 M (TT)* cho đến khi tủa bắt đầu xuất hiện. Thêm 0,5 ml *acid nitric (TT)* và đun nóng đến 70 °C, duy trì nhiệt độ này cho đến khi dung dịch trong suốt. Thêm khoảng 50 mg *hỗn hợp đa cam xylenol (TT)* rồi chuẩn độ bằng *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)* đến khi màu của dung dịch chuyển từ tím hồng sang vàng.

1 ml *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)* tương đương với 20,90 mg Bi.

Calci (Ca)

Lấy một lượng dung dịch chế phẩm như chỉ dẫn trong chuyên luận cho vào một bình nón 500 ml rồi pha loãng với *nước* thành 300 ml. Thêm 6 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)* và khoảng 200 mg *hỗn hợp calcon (TT)* rồi chuẩn độ bằng *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)* đến khi màu của dung dịch chuyển từ tím sang xanh hoàn toàn.

1 ml *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)* tương đương với 4,008 mg Ca.

Chì (Pb)

Lấy một lượng dung dịch chế phẩm như chỉ dẫn trong chuyên luận cho vào một bình 500 ml rồi pha loãng với *nước* thành 200 ml. Thêm khoảng 50 mg *hỗn hợp đa cam xylenol (TT)* và một lượng *hexamin (TT)* vừa đủ để thu được dung dịch có màu hồng tím rồi chuẩn độ bằng *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)* đến khi dung dịch chuyển sang màu vàng.

1 ml *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)* tương đương với 20,72 mg Pb.

Magnesi (Mg)

Cho vào một bình nón 500 ml một lượng dung dịch chế phẩm như chỉ dẫn trong chuyên luận và pha loãng với *nước* thành 300 ml hoặc hòa tan một lượng chế phẩm như chỉ dẫn trong chuyên luận trong 5 ml đến 10 ml *nước* hoặc trong một lượng nhỏ *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* rồi pha loãng với nước thành 50 ml. Thêm 10 ml *dung dịch đệm amoniac pH 10,0 (TT)* và khoảng 50 mg *hỗn hợp đen eriocrom T (TT)* vào dung dịch cuối cùng. Đun nóng dung dịch đến 40 °C và chuẩn độ ở nhiệt độ đó bằng *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)* đến khi màu của dung dịch chuyển từ tím sang xanh lam hoàn toàn.

1 ml *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)* tương đương với 2,431 mg Mg.

Kẽm (Zn)

Cho vào một bình nón 500 ml một lượng dung dịch như đã chỉ dẫn trong chuyên luận rồi pha loãng với *nước* thành 200 ml. Thêm khoảng 50 mg *hỗn hợp đa cam xylenol (TT)* và một lượng *hexamin (TT)* vừa đủ để làm dung dịch chuyển sang màu hồng tím. Thêm 2 g *hexamin (TT)* nữa rồi chuẩn độ bằng *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)* đến khi màu của dung dịch chuyển sang vàng.

1 ml *dung dịch Trilon B 0,1 M (CĐ)* tương đương với 6,54 mg Zn.

10.6 PHƯƠNG PHÁP CHUẨN ĐỘ TRONG MÔI TRƯỜNG KHAN

Chuẩn độ trong môi trường khan là phương pháp chuẩn độ acid và base yếu hoặc những muối của chúng trong môi trường không phải là nước.

Phương pháp 1

(Áp dụng cho base và muối của chúng)

Hòa tan một lượng chế phẩm như chỉ dẫn trong chuyên luận riêng trong một thể tích thích hợp *acid acetic khan (TT)* đã được trung tính hóa trước với chỉ thị quy định trong chuyên luận riêng, nếu cần thiết có thể làm ấm hay làm lạnh, hoặc chuẩn bị một dung dịch như chỉ dẫn trong chuyên luận riêng.

Khi chế phẩm là muối của acid hydrocloric hoặc acid hydrobromic thì thêm 15 ml *dung dịch thủy ngân (II) acetat 5 % (TT)* trước khi trung tính dung môi, trừ khi có những chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng.

Chuẩn độ bằng *dung dịch acid percloric 0,1 N (CĐ)* đến khi có sự chuyển màu của chỉ thị, điều này tương ứng với giá trị tuyệt đối cao nhất của dE/dV trong chuẩn độ đo thế của chế phẩm thử, ở đây E là thế điện động và V là thể tích dung dịch chuẩn độ (Phụ lục 10.2).

Việc trung tính hóa dung dịch thủy ngân (II) acetat và chuẩn hóa dung dịch chuẩn độ cũng phải dùng cùng một chỉ thị được quy định trong chuyên luận riêng cho chuẩn độ chế phẩm.

Khi nhiệt độ t_2 của dung dịch chuẩn độ ở thời điểm định lượng khác với nhiệt độ t_1 của dung dịch chuẩn độ lúc được chuẩn hóa thì tính kết quả định lượng căn cứ vào thể tích dung dịch chuẩn độ hiệu chỉnh.

$$V(h) = V(c) \times [1 + 0,0011 \times (t_1 - t_2)]$$

Trong đó:

V(h) là thể tích dung dịch chuẩn độ hiệu chỉnh;

V(c) là thể tích dung dịch chuẩn độ đã dùng.

Tiến hành chuẩn độ mẫu trắng khi cần thiết.

Phương pháp 2

(Áp dụng cho acid yếu)

Dung dịch chuẩn độ, dung môi và chỉ thị được chỉ dẫn trong chuyên luận riêng.

Bảo vệ dung dịch thử và dung dịch chuẩn độ khỏi sự thâm nhập của carbon dioxyd và độ ẩm của không khí trong suốt quá trình chuẩn độ.

Hòa tan chế phẩm trong một thể tích thích hợp dung môi đã trung tính hóa trước với chỉ thị quy định, nếu cần có thể làm ấm hay lạnh, hoặc chuẩn bị một dung dịch chế phẩm như đã chỉ dẫn trong chuyên luận riêng.

Chuẩn độ cho đến khi có sự chuyển màu của chỉ thị, điều này tương ứng với giá trị tuyệt đối cao nhất của dE/dV trong chuẩn độ đo thế của chế phẩm, ở đây E là thế điện động và V là thể tích dung dịch chuẩn độ (Phụ lục 10.2).

Dung dịch chuẩn độ được chuẩn hóa bằng cách sử dụng dung môi và chỉ thị giống như đã sử dụng cho chuẩn độ chế phẩm.

Tiến hành chuẩn độ mẫu trắng khi cần thiết.

10.7 ĐỊNH LƯỢNG CÁC KHÁNG SINH HỌ PENICILIN BẰNG PHƯƠNG PHÁP ĐO IOD

Phương pháp sau đây được áp dụng để định lượng phần lớn thuốc kháng sinh họ penicillin trong Dược điển và những dạng bào chế của chúng mà phép chuẩn độ đo iod là đặc biệt thích hợp. Tiến hành thí nghiệm ở nhiệt độ 25 °C ± 2 °C.

Dung dịch chuẩn

Cân chính xác một lượng thích hợp chất chuẩn quy định trong từng chuyên luận, hòa tan vào dung môi đã được ghi trong Bảng 10.7 và pha loãng với cùng dung môi đó để được một dung dịch có nồng độ ở khoảng nồng độ quy định trong Bảng 10.7.

Dung dịch thử

Nếu không có chỉ định gì khác trong chuyên luận riêng, cân chính xác một lượng mẫu thử thích hợp hòa tan trong dung môi ghi trong Bảng 10.7 và pha loãng với dung môi đó để được một dung dịch có nồng độ ở vào khoảng nồng độ ghi trong Bảng 10.7.

Phương pháp tiến hành

Làm mất hoạt tính và chuẩn độ: Hút riêng rẽ 2,0 ml dung dịch chuẩn và 2,0 ml dung dịch thử vào 2 bình nón nút mài dung tích 125 ml tương ứng. Thêm vào mỗi bình 2,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, lắc đều và để yên 15 min. Tiếp tục cho vào mỗi bình 2,4 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*, thêm 10,0 ml *dung dịch iod 0,01 N (CĐ)*, đậy ngay nút bình và để yên 15 min. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)* đến gần điểm kết thúc, thêm 1 giọt *dung dịch hồ tinh bột (TT)* và tiếp tục chuẩn độ đến khi mất màu xanh.

Mẫu trắng: Hút 2,0 ml dung dịch chuẩn cho vào một bình nón nút mài, thêm 10,0 ml *dung dịch iod 0,01 N (CĐ)*. Nếu dung dịch chuẩn là amoxicilin hay ampicilin thì thêm ngay lập tức 0,12 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*. Chuẩn độ ngay bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)* đến gần điểm kết thúc, thêm 1 giọt *dung dịch hồ tinh bột (TT)* và tiếp tục chuẩn độ đến khi mất màu xanh. Cũng làm như vậy đối với bình có chứa 2,0 ml dung dịch thử.

Tính toán: Tính đương lượng F [số microgam (hay đơn vị) kháng sinh chuẩn tương ứng với 1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)*] bằng công thức:

$$\frac{2 \times C \times P}{B - I}$$

Trong đó:

C là nồng độ chất chuẩn tính bằng mg trong 1 ml của dung dịch chuẩn;

P là hoạt lực tính bằng microgam (hay đơn vị) trong 1 mg của chất chuẩn;

B là thể tích tính bằng ml của *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)* tiêu thụ trong mẫu trắng của dung dịch chuẩn;

I là thể tích tính bằng ml của *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)* tiêu thụ trong phép thử làm mất hoạt tính và chuẩn độ của dung dịch chuẩn;

Bảng 10.7 - Những dung môi và nồng độ cuối cùng của dung dịch kháng sinh

Chất kháng sinh	Dung môi	Nồng độ cuối cùng
Amoxicilin	Nước	1,0 mg/ml
Ampicilin	Nước	1,25 mg/ml
Ampicilin natri	Đệm phosphat pH 6,0	1,25 mg/ml
Cloxacilin natri	Nước	1,25 mg/ml
Dicloxacilin natri	Đệm phosphat pH 6,0	1,25 mg/ml
Methicilin natri	Đệm phosphat pH 6,0	1,25 mg/ml
Oxacilin natri	Đệm phosphat pH 6,0	1,25 mg/ml
Penicilin G kali	Đệm phosphat pH 6,0	2000 đơn vị/ml
Penicilin G natri	Đệm phosphat pH 6,0	2000 đơn vị/ml
Penicilin V kali	Đệm phosphat pH 6,0	2000 đơn vị/ml

10.8 ĐỊNH LƯỢNG CÁC STEROID BẰNG TETRAZOLIUM

Phương pháp này được áp dụng để định lượng các steroid chứa các nhóm chức có tính khử.

Các sản phẩm của phản ứng màu này có khuynh hướng hấp phụ lên bề mặt của thủy tinh. Để tránh sự sai lệch kết quả, nên xử lý các bình phản ứng thủy tinh bằng cách để chúng chứa chính các sản phẩm của phản ứng màu này trước khi dùng. Nên giữ các bình thủy tinh đã được xử lý để dùng riêng cho phép định lượng này và chỉ rửa bình bằng nước giữa các lần định lượng. Phương pháp này được tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng.

Dung dịch thử

Trừ khi có chỉ dẫn cụ thể trong chuyên luận riêng, hòa tan một lượng chế phẩm trong *ethanol không có aldehyd (TT)* để thu được một dung dịch thử có nồng độ từ 30 µg/ml đến 35 µg/ml.

Dung dịch chuẩn

Chuẩn bị một dung dịch chất chuẩn tương ứng trong *ethanol không có aldehyd (TT)* có nồng độ tương đương với nồng độ của dung dịch thử.

Tiến hành

Lấy chính xác 10 ml mỗi dung dịch thử và dung dịch chuẩn cho vào hai bình định mức 25 ml riêng biệt và cho 10 ml *ethanol không có aldehyd (TT)* vào một bình định mức 25 ml thứ ba. Lần lượt thêm vào các bình 2 ml *dung dịch triphenyltetrazolium clorid (TT)*, 2 ml *dung dịch tetramethylamoni hydroxyd loãng (TT)*. Đậy bình, trộn đều bằng cách lắc xoay tròn nhẹ nhàng và ngâm các bình phản ứng này trong cách thủy ở 30 °C trong 1 h, trừ khi có quy định cụ thể trong chuyên luận riêng. Làm lạnh nhanh, thêm *ethanol không có aldehyd (TT)* đến định mức 25 ml. Lắc đều và đo ngay độ hấp thụ ánh sáng của các dung dịch thu được trong hai bình đầu (theo thứ tự khi cho thuốc thử) ở cực đại 485 nm (Phụ lục 4.1), trong cốc đo có nắp đậy, lấy dung dịch thu được trong bình thứ ba làm mẫu trắng.

10.9 ĐỊNH LƯỢNG NITROGEN TRONG HỢP CHẤT HỮU CƠ

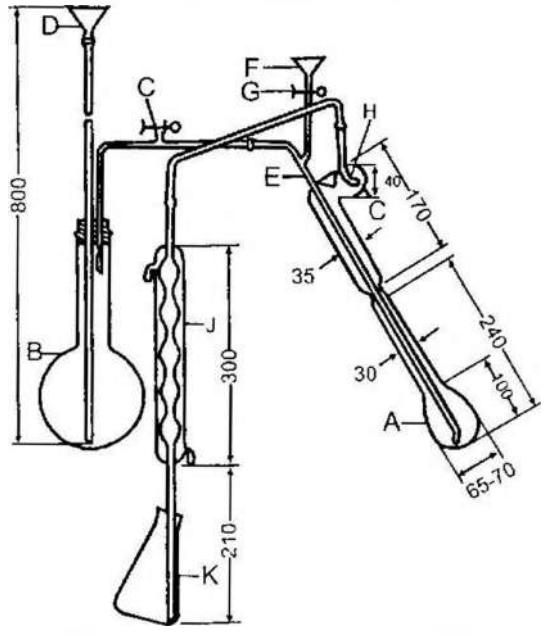
Nitrogen trong hợp chất hữu cơ được định lượng dưới dạng amoniac trong amoni sulfat thu được khi vô cơ hóa các hợp chất hữu cơ có chứa nitrogen với acid sulfuric.

Áp dụng phương pháp I nếu không có chỉ dẫn khác.

Phương pháp I

Dụng cụ

Bộ dụng cụ định lượng nitrogen có thể được chế tạo nguyên bộ chuyên dùng cất amoniac hoặc được lắp ghép từ các dụng cụ thủy tinh cần thiết với nhau sao cho đảm bảo đủ các bộ phận và yêu cầu như Hình 10.9. Các phần bằng cao su của thiết bị nên được xử lý bằng cách đun sôi 10 min đến 30 min trong *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, tiếp theo 30 min đến 60 min trong *nước*, cuối cùng rửa lại bằng *nước* trước khi dùng.



Hình 10.9 - Dụng cụ định lượng nitrogen
(Đơn vị đo tính bằng milimét)

A. Bình Kjeldahl để vô cơ hóa mẫu thử và thực hiện phản ứng.
B. Bình cầu để cung cấp hơi nước.
C. Khoá an toàn.
D. Phễu cấp nước vào bình B.
E. Ống dẫn hơi nước từ bình B sang bình phản ứng A.
F. Phễu cấp dung dịch kiềm vào bình phản ứng A.
G. Ống nối bằng cao su có kẹp khóa.
H. Lỗ nhỏ có đường kính bằng đường kính ống cấp hơi.
J. Ống sinh hàn.
K. Bình hứng dịch cất được.

Cách tiến hành

Nếu chuyên luận riêng không có chỉ dẫn gì đặc biệt thì tiến hành như sau:

a. Vô cơ hóa

Lấy chính xác một lượng mẫu thử có chứa khoảng 5 mg nitrogen cho vào bình Kjeldahl A, thêm 1 g hỗn hợp *kali sulfat (TT)* hoặc *natri sulfat khan (TT)* và *đồng sulfat (TT)* (tỷ lệ 10 : 1) đã được tán nhỏ, 7 ml *acid sulfuric đậm đặc (TT)* và vài viên bi thủy tinh. Đậy bình bằng một phễu có cuống dài. Đặt bình nghiêng 45° trên ngọn lửa nhỏ để hỗn hợp nóng lên từ từ rồi tăng dần nhiệt độ tới khi sôi và tiếp tục đun tới khi chất lỏng trong bình có màu lục tươi và không còn những đốm đen của chất hóa than trên thành bình. Nếu chất lỏng trong bình chưa chuyển sang màu lục tươi, có thể thêm 1 ml đến 2 ml *dung dịch hydrogen peroxyd 100 tt (TT)* khi đã để nguội và đun tiếp đến khi thu được màu này. Đun thêm 30 min nữa, để nguội.

b. Chuẩn bị cất

Thêm 20 ml *nước cất* vào bình Kjeldahl đã vô cơ hóa, để nguội trở lại rồi lắp bình này vào bộ dụng cụ cất đã được làm sạch trước bằng cách cho hơi nước chạy qua. Nếu bộ dụng cụ cất amoniac có bình phản ứng A gắn liền thì dùng 20 ml *nước cất* để chuyển hỗn hợp từ bình Kjeldahl vào bình phản ứng.

Cho *nước cất* vào khoảng 2/3 bình cấp hơi nước B, thêm vài giọt *acid sulfuric (TT)* để acid hóa chống sự thâm nhập của amoniac từ không khí.

Lấy chính xác 30,0 ml *dung dịch acid sulfuric 0,02 N (CĐ)* và 2 giọt *dung dịch hỗn hợp đỏ methyl (TT)* cho vào bình hứng K.

Lắp nối các bộ phận với nhau như hình vẽ sao cho tạo thành một hệ thống kín, đầu cuối của ống sinh hàn thu dịch cất được phải ngập sâu trong dung dịch của bình hứng K.

c. Tiến hành cất

Khi việc chuẩn bị cất đã hoàn tất, cho nước lạnh chảy qua ống sinh hàn và bắt đầu đun nước trong bình B. Khi nước sôi thì cho vào bình phản ứng A qua phễu F từng ít một 30 ml *dung dịch natri hydroxyd 40 % (TT)* bằng cách sau: đổ hết lượng kiềm này vào phễu F và dùng kẹp G điều chỉnh cho dung dịch kiềm chảy xuống từ từ, khi xong khóa chặt kẹp lại. Tiếp tục cất đến khi hứng được khoảng 100 ml dịch cất. Hạ thấp bình hứng và rửa đầu sinh hàn với một ít *nước cất*.

d. Chuẩn độ

Chuẩn độ acid sulfuric thừa trong bình hứng dịch cất bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)* tới khi chuyển sang màu vàng, ghi số ml *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)* đã dùng (a ml).

Tiến hành song song một mẫu trắng theo trình tự trên. Ghi số ml *dung dịch natri hydroxyd 0,02 N (CĐ)* đã dùng (b ml).

Tính kết quả: Lượng nitrogen trong mẫu thử (X) tính bằng gam theo công thức:

$$X = (b - a) \times 0,00028$$

Trường hợp mẫu thử có lẫn nitrat và nitrit:

Tiến hành tương tự như trên nhưng giai đoạn vô cơ hóa cần tiến hành loại trừ ảnh hưởng của nitrat và nitrit như sau:

Sau khi cho mẫu thử vào bình Kjeldahl A, thêm 10 ml *acid sulfuric (TT)* đã hòa tan 0,4 g *acid salicylic (TT)*, lắc đều và để yên 30 min (thỉnh thoảng lắc đều). Thêm 2 g *natri thiosulfat (TT)*, lắc đều, thêm 200 mg bột *đồng sulfat khan (TT)* rồi tiến hành vô cơ hóa như trên bắt đầu từ "Đặt bình nghiêng 45°... "

Phương pháp II

Định lượng protein trong các chế phẩm máu

Đối với các chế phẩm máu khô, chuẩn bị dung dịch chế phẩm như chỉ dẫn trong chuyên luận riêng.

Lấy một thể tích chế phẩm tương ứng với 0,1 g protein, pha loãng thành 20 ml bằng *dung dịch natri clorid 0,9 % (TT)*. Lấy 2 ml dung dịch thu được chuyển vào ống nghiệm dung tích 75 ml, thêm 2 ml dung dịch chứa 75 % *acid sulfuric không có nitrogen (TT)*, 4,5 % *kali sulfat (TT)* và 0,5 % *đồng sulfat (TT)*, trộn đều và đậy ống nghiệm một cách lỏng lẻo. Đun nóng từ từ đến sôi và tiếp tục đun sôi mạnh trong khoảng 1,5 h và để nguội. Nếu dung dịch thu được không trong thì thêm 0,25 ml dung dịch *dung dịch hydrogen peroxyd 20 tt (TT)* và đun tiếp đến khi thu được dung dịch trong và để nguội. Trong quá trình đun, chú ý không để phần trên của ống nghiệm bị nóng quá.

Chuyển dung dịch thu được vào bộ dụng cụ cất, dùng *nước* tráng rửa 3 lần, mỗi lần 3 ml. Thêm vào bình cất 10 ml *dung dịch natri hydroxyd 10 M (TT)* và cất nhanh trong vòng 4 min. Hứng dịch cất vào trong hỗn hợp 5 ml *dung dịch acid boric bão hòa (TT)* và 5 ml *nước*, giữ đầu cuối của ống sinh hàn ngập trong dịch hứng. Hạ thấp bình hứng để đầu ống sinh hàn không còn ngập trong dịch hứng và tiếp tục cất thêm 1 min nữa. Chuẩn độ bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,02 N (CĐ)* dùng *dung dịch hỗn hợp đỏ methyl (TT)* làm chỉ thị (V_1).

Lấy một thể tích chế phẩm tương ứng với 0,1 g protein, thêm 12 ml *dung dịch natri clorid 0,9 % (TT)*, thêm 2 ml *dung dịch natri molybdat 7,5 %* và 2 ml hỗn hợp *acid sulfuric không có nitrogen - nước* (1 : 30). Lắc đều, để yên 15 min và thêm *nước* vừa đủ 20 ml. Lắc và ly tâm. Lấy 2 ml dịch ly tâm ở trên chuyển vào ống nghiệm dung tích 75 ml và tiếp tục tiến hành như trên, bắt đầu từ: "thêm 2 ml dung dịch chứa *75 % acid sulfuric không có nitrogen*..." (V_2). Tính hàm lượng protein trong chế phẩm (X mg/ml) áp dụng công thức sau (cần tính đến hệ số pha loãng ban đầu):

$$X = 6,25 \times 0,280(V_1 - V_2)$$

10.10 ĐỊNH LƯỢNG VITAMIN A

Hoạt lực của vitamin A được tính theo đơn vị quốc tế (ký hiệu IU). 1 IU vitamin A tương đương với 0,300 µg retinol; 0,344 µg retinyl acetat; 0,359 µg retinyl propionat hoặc 0,550 µg retinyl palmitat.

Tiến hành định lượng nhanh nhất có thể trong điều kiện tránh ánh sáng, không khí và các chất oxy hóa, các chất

xúc tác sự oxy hóa (như đồng, sắt), acid và tránh đun nóng (với vitamin A có nguồn gốc tự nhiên), tránh đun nóng kéo dài với retinol tổng hợp đậm đặc dạng bột và dạng dầu. Sử dụng các dung dịch mới pha.

Tùy theo đặc điểm của vitamin A trong các thuốc và nguyên liệu làm thuốc mà áp dụng 1 trong 5 phương pháp dưới đây để định lượng.

Phương pháp 1
(Phương pháp đo quang trực tiếp)

Có thể áp dụng đối với nguyên liệu là các ester của retinol đậm đặc dạng dầu với hàm lượng lớn (≥ 5000 IU/g).

Cân chính xác đến 0,1 % (so với lượng cân) khoảng từ 25 mg đến 100 mg chế phẩm và đem hòa tan trong 5 ml *pentan (TT)*, pha loãng bằng *2-propanol (TT)* để được dung dịch chứa chính xác khoảng 10 IU đến 15 IU vitamin A trong 1 ml.

Xác định độ hấp thụ cực đại của dung dịch đo, nếu cực đại hấp thụ nằm trong khoảng bước sóng từ 325 nm đến 327 nm thì đo độ hấp thụ của dung dịch tại các bước sóng 300 nm, 326 nm, 350 nm và 370 nm trong cốc đo dày 1 cm, dùng *2-propanol (TT)* làm mẫu trắng, đo 2 lần lấy giá trị trung bình làm kết quả đo. Tính tỷ lệ độ hấp thụ tại mỗi bước sóng so với độ hấp thụ tại bước sóng 326 nm (A_λ/A_{326}).

Nếu tỷ lệ A_λ/A_{326} không lớn hơn các giá trị ghi dưới đây:

0,60 ở λ = 300 nm
0,54 ở λ = 350 nm
0,14 ở λ = 370 nm

thì tính kết quả hàm lượng vitamin A trong mẫu thử (IU/g) theo công thức:

$$\frac{A_{326} \times V \times 1900}{100 \times m}$$

Trong đó:

A_{326} là độ hấp thụ tại bước sóng 326 nm.

m là lượng chế phẩm đem thử (g).

V là lượng thể tích dung dịch thu được sau khi pha loãng đến nồng độ 10 IU/ml đến 15 IU/ml để đem đo (ml).

1900 là hệ số chuyển đổi độ hấp thụ riêng của ester retinol thành IU/g.

Nếu cực đại hấp thụ nằm ngoài dải sóng từ 325 nm đến 327 nm hoặc có một giá trị A_λ/A_{326} lớn hơn giá trị qui định thì kết quả không có giá trị, tiến hành định lượng theo phương pháp 4.

Phương pháp 2
(Phương pháp đo quang sau khi chiết tách vitamin A)

Có thể áp dụng cho các nguyên liệu vitamin A có nguồn gốc tự nhiên và đa số các dạng thuốc chứa vitamin A: Thuốc nang, viên nén, thuốc bột, thuốc mỡ, dầu gan cá...

Lấy một lượng chế phẩm chứa khoảng 50 000 IU vitamin A vào bình nút mài, thêm 3 ml dung dịch *kali hydroxyd (TT)* 50 % mới pha, 30 ml *ethanol (TT)*, đun sôi 30 min trên cách thủy có lắp ống sinh hàn hồi lưu, dưới dòng khí nitrogen không có oxygen. Làm nguội nhanh rồi dùng 30 ml *nước cất* chuyển hết hỗn hợp sang bình gạn. Chiết 4 lần mỗi lần với 50 ml *ether (TT)* và bỏ lớp dưới khi tách lớp hoàn toàn. Tập trung dịch chiết lại rồi rửa dịch chiết 4 lần, mỗi lần 50 ml *nước cất*, (chú ý lắc rất nhẹ nhàng ở 2 lần đầu để tránh tạo thành nhũ tương). Làm bay hơi dịch chiết ether trên cách thủy dưới dòng khí nitrogen không có oxygen hoặc cất quay chân không ở nhiệt độ không quá 30 °C đến hết dung môi. Hòa tan cắn trong một lượng *2-propanol (TT)* vừa đủ để thu được dung dịch chứa 10 IU đến 15 IU vitamin A trong 1 ml. Đo độ hấp thụ của dung dịch thu được ở các bước sóng 300 nm, 310 nm, 325 nm, và 334 nm trong cốc dày 1 cm với mẫu trắng là *2-propanol (TT)*, sau đó xác định bước sóng có hấp thụ cực đại.

Nếu cực đại hấp thụ nằm trong khoảng 323 nm đến 327 nm và tỷ lệ $A_{300}/A_{325} \leq 0,73$ thì kết quả được tính như sau:

Tính độ hấp thụ hiệu chỉnh $A_{325(K)}$:

$$A_{325(K)} = 6,815A_{325} - 2,555A_{310} - 4,260A_{334}$$

Nếu $A_{325(K)}/A_{325} \geq 0,970$ thì tính kết quả hàm lượng vitamin A trong mẫu thử (IU/g) theo công thức sau:

$$A_{325} \times \frac{1830}{100m} \times V$$

Nếu $A_{325(K)}/A_{325} < 0,970$ thì tính kết quả hàm lượng vitamin A trong mẫu thử (IU/g) theo công thức sau:

$$A_{325(K)} \times \frac{1830}{100m} \times V$$

Trong đó:

A_{325} là độ hấp thụ quang tại bước sóng 325nm;

m là lượng chế phẩm đem thử (g);

V là lượng thể tích dung dịch thu được sau khi hòa tan cắn đến nồng độ 10 IU đến 15 IU vitamin A để đem đo (ml);

1830 là hệ số chuyển đổi độ hấp thụ riêng của ester retinol thành IU.

Nếu cực đại hấp thụ nằm ngoài khoảng 323 nm đến 327 nm hoặc tỷ lệ $A_{300}/A_{325} > 0,73$ thì phải tiến hành theo phương pháp 5.

Chú ý

Trong cách tiến hành của phương pháp 2 nếu chế phẩm ở dạng thuốc nang, viên nén hoặc dạng bào chế thể rắn khác, sau khi đã bỏ vỏ, nghiền thành bột mà vẫn không xà phòng hóa được (do ở dạng vỉ nang) thì phải xử lý trước bằng cách đun nóng với 10 ml *nước cất* trên cách thủy 5 min, dùng đũa thủy tinh nghiền nhỏ các chất rắn còn lại và giữ nóng 5 min nữa.

Khi tiến hành xà phòng hóa, nếu không có khí nitrogen có thể thay thế bằng cách cho chất chống oxy hóa vào bình phản ứng như 3 ml *dung dịch hydroquinon 1 % trong ethanol*, hoặc 30 mg BHT *[butyl hydroxytoluen (TT)]*.

Để chiết vitamin A có thể thay *ether (TT)* bằng *ether dầu hỏa (TT)* hoặc *n-hexan (TT)*.

Phương pháp 3
(Phương pháp sắc ký lỏng trực tiếp)

Có thể áp dụng đối với các nguyên liệu vitamin A tổng hợp, các thành phẩm chứa vitamin A tổng hợp mà trong thành phần chỉ chứa vitamin A ở một dạng ester đồng nhất hoặc dạng retinol.

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Methanol - ethyl acetat - nước* (90 : 7 : 3).
Dung dịch thử: Lấy chính xác một lượng chế phẩm có chứa khoảng 4000 IU vitamin A cho vào bình định mức dung tích 100 ml, thêm *ethanol (TT)*, lắc kỹ rồi thêm *ethanol (TT)* đến định mức, lắc đều, lọc.
Dung dịch chuẩn: Pha chất chuẩn vitamin A (dạng giống với dung dịch thử: retinol, retinyl acetat, retinyl palmitat ...) trong *ethanol (TT)* để thu được dung dịch chuẩn có nồng độ vitamin A chính xác khoảng 40 IU/ml.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm đến 10 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 325 nm.
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min đến 2,0 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối (RSD) của diện tích pic thu được trên sắc ký đồ của 6 lần tiêm lặp lại mẫu chuẩn không được lớn hơn 2,0 %.
Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch chuẩn và dung dịch thử.
Cách tính kết quả:
Hàm lượng vitamin A trong mẫu thử (IU/g) được tính theo công thức:

$$\frac{S_T \times C \times 100}{S_C \times m_1} \text{ (IU/g)}$$

Trong đó:
S_T và S_C là diện tích của pic vitamin A trên sắc đồ của thử và chuẩn;
m_1 là lượng cân mẫu thử (g);
C là nồng độ vitamin A trong dung dịch chuẩn (IU/ml).

Chú ý
Trong việc chuẩn bị dung dịch thử, nếu chế phẩm ở dạng thuốc nang, viên nén hoặc dạng bào chế thể rắn khác, sau khi bỏ vỏ, nghiền thành bột, mà vitamin A vẫn không hòa tan được trong ethanol (do ở dạng vi nang) thì phải xử lý trước bằng cách đun nóng với 10 ml *nước cất* trên cách thủy 5 min, dùng đũa thủy tinh nghiền nhỏ các khối rắn còn lại và giữ nóng thêm 5 min nữa rồi mới cho ethanol vào để hòa tan.
Nếu mẫu thử có nhiều tá dược dạng dầu thì nên thêm 2 ml *ethyl acetat (TT)* hoặc 2 ml *n-hexan (TT)* và lắc kỹ trước khi cho ethanol vào để hòa tan.
Nếu trên sắc đồ thu được ngoài pic của dạng vitamin A cần đo còn có pic của dạng vitamin A khác thì phải tiến hành theo phương pháp 2 hoặc 5.

Phương pháp 4
(Phương pháp sắc ký lỏng sau khi thủy phân)

Có thể áp dụng đối với nguyên liệu vitamin A tổng hợp dạng bột, dạng dầu và dạng nhũ tương.
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Methanol - nước* (95 : 5).
Dung dịch thử (1):
Đối với nguyên liệu dạng bột: Cân 0,200 g chế phẩm vào bình định mức 100 ml. Thêm khoảng 20 mg đến 30 mg *bromelain (TT)*, 5,0 ml *nước* và 0,15 ml *2-propanol (TT)*. Đun trong cách thủy ở 60 °C đến 65 °C trong 5 min và thỉnh thoảng khuấy. Thêm 40 ml *dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,1 M trong 2-propanol (TT)*. Khuấy nhẹ và để thủy phân trong cách thủy ở 60 °C đến 65 °C trong 10 min, thỉnh thoảng khuấy. Đảm bảo chế phẩm được làm ướt hoàn toàn. Để nguội đến nhiệt độ phòng rồi pha loãng thành 100,0 ml bằng *2-propanol (TT)* có chứa 0,1 % *butyl hydroxytoluen (TT)*. Lắc đều cẩn thận tránh tạo bọt khí. Dung dịch có thể vẫn đục.
Đối với nguyên liệu dạng dầu hoặc nhũ tương: Cân 0,100 g chế phẩm vào bình định mức 100 ml. Hòa tan ngay trong 5 ml *pentan (TT)*. Thêm 40 ml *dung dịch tetrabutylamoni hydroxyd 0,1 M trong 2-propanol*. Khuấy nhẹ và để thủy phân trong cách thủy ở 60 °C đến 65 °C trong 10 min, thỉnh thoảng khuấy nhẹ. Để nguội đến nhiệt độ phòng, rồi pha loãng thành 100,0 ml bằng *2-propanol (TT)* có chứa 0,1 % *butyl hydroxytoluen (TT)*. Lắc cẩn thận tránh tạo bọt khí.
Dung dịch thử (2): Pha loãng dung dịch thử (1) bằng *2-propanol (TT)* để thu được dung dịch có nồng độ 100 IU/ml.
Lọc trước khi tiêm đối với dung dịch thử được chuẩn bị từ nguyên liệu dạng bột.
Dung dịch chuẩn (1): Cân chính xác 0,100 g retinyl acetat chuẩn (hàm lượng khoảng 1 000 000 IU/g) vào bình định mức 100 ml và tiến hành như dung dịch thử (1) đối với nguyên liệu dạng dầu hoặc nhũ tương.
Dung dịch chuẩn (2): Pha loãng 5,0 ml dung dịch chuẩn (1) thành 50,0 ml bằng *2-propanol (TT)*. Lắc cẩn thận tránh tạo bọt khí.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (12,5 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 325 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký dung dịch thử (2) và dung dịch chuẩn (2) với thời gian gấp 1,5 lần thời gian lưu của retinol.
Thời gian lưu của retinol khoảng 3 min.
Cách tính kết quả:
Hàm lượng vitamin A trong mẫu thử (IU/g) được tính theo công thức:

$$\frac{S_T \times C \times m_c \times F}{S_C \times m_T \times 1000}$$

Trong đó:
S_T, S_C là diện tích pic của retinol trên sắc đồ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn;
m_C, m_T là lượng cân mẫu chuẩn, thử (mg);
C là hàm lượng retinyl acetat chuẩn được xác định theo phương pháp 1 (IU/g);
F là độ pha loãng của dung dịch thử.

Phương pháp 5
(Phương pháp sắc ký lỏng sau khi chiết tách vitamin A)

Có thể áp dụng đối với các chế phẩm phức tạp và có chứa vitamin A với hàm lượng thấp không thực hiện được 1 trong 4 phương pháp trên.
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Methanol - nước (97 : 3).
Dung dịch thử: Lấy một lượng chế phẩm chứa khoảng 2000 IU vitamin A vào bình cầu nút mài, thêm 5 ml dung dịch *acid ascorbic (TT)* 10 % mới pha và 10 ml dung dịch *kali hydroxyd (TT)* 80 % mới pha, 100 ml *ethanol 96 % (TT)*, đun sôi 15 min trên cách thủy có lắp ống sinh hàn hồi lưu, thêm 100 ml dung dịch *natri clorid (TT)* 1 % và để nguội. Chuyển dung dịch vào bình chiết dung tích 500 ml, tráng rửa bình nút mài bằng 75 ml dung dịch *natri clorid (TT)* 1 % và rửa tiếp với 150 ml dung dịch đồng thể tích *ether dầu hỏa (40 °C đến 60 °C)* và *ether (TT)*, chuyển hết dịch tráng rửa vào bình chiết ở trên. Lắc 1 min, khi tách lớp hoàn toàn, bỏ lớp dưới, rửa lớp trên lần đầu với 50 ml dung dịch *kali hydroxyd (TT)* 3 % trong dung dịch 10 % (tt/tt) *ethanol 96 % (TT)*, sau đó rửa 3 lần, mỗi lần với 50 ml dung dịch *natri clorid (TT)* 1 %. Lọc nhanh lớp trên qua giấy lọc có chứa 5 g *natri sulfat khan (TT)* vào bình cầu 250 ml thích hợp để lắp vào dụng cụ cất quay. Rửa bình chiết bằng 10 ml hỗn hợp dung môi dùng để chiết mới pha [dung dịch đồng thể tích *ether dầu hỏa (40 °C đến 60 °C)* và *ether (TT)*], lọc và gộp các dịch lọc lại. Cất quay ở nhiệt độ không quá 30 °C dưới áp suất giảm (đuổi nước) và đóng đầy với khí nitrogen khi bay hơi xong. Hoặc có thể bay hơi dung môi dưới luồng khí nitrogen ở nhiệt độ không quá 30 °C. Hòa tan cắn trong *2-propanol (TT)* và chuyển vào bình định mức 25 ml, pha loãng thành 25 ml với cùng dung môi, đun nóng nhẹ hay siêu âm nếu cần.
Dung dịch chuẩn gốc: Hòa tan retinyl acetat chuẩn trong *2-propanol (TT_1)* để thu được dung dịch có nồng độ khoảng 1000 IU vitamin A trong 1 ml. Nồng độ chính xác của dung dịch chuẩn gốc được xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến (Phụ lục 4.1). Pha loãng dung dịch chuẩn gốc bằng *2-propanol (TT_1)* tới nồng độ 10 đến 15 IU trong 1 ml rồi đo độ hấp thụ ở bước sóng 326 nm trong cốc đo dày 1 cm, dùng *2-propanol (TT_1)* làm mẫu trắng.
Tính nồng độ vitamin A trong dung dịch chuẩn gốc (IU/ml) tính theo retinyl acetat theo công thức:

$$A_{326} \times \frac{1900 \times V_2}{100 \times V_1}$$

Trong đó:
A_{326} là độ hấp thụ quang của dung dịch ở 326 nm;
V_1 là thể tích dung dịch chuẩn gốc đem pha loãng (ml);
V_2 là thể tích dung dịch loãng đã pha (ml);
1900 là hệ số chuyển đổi độ hấp thụ riêng của ester retinol thành IU.
Dung dịch chuẩn: Lấy chính xác 2 ml dung dịch chuẩn gốc đem xử lý hoàn toàn như mẫu thử. Xác định nồng độ chính xác của dung dịch chuẩn bằng phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến (Phụ lục 4.1). Pha loãng dung dịch chuẩn bằng *2-propanol (TT_1)* tới nồng độ 10 IU đến 15 IU trong 1 ml rồi đo độ hấp thụ ở bước sóng 325 nm trong cốc đo dày 1 cm, dùng *2-propanol (TT_1)* làm mẫu trắng.
Tính nồng độ all-*trans*-retinol trong dung dịch chuẩn (IU/ml) theo công thức:

$$A_{325} \times \frac{1830 \times V_4}{100 \times V_3}$$

Trong đó:
A_{325} là độ hấp thụ của dung dịch ở 325 nm;
V_3 là thể tích dung dịch chuẩn đem pha loãng (ml);
V_4 là thể tích dung dịch đã pha loãng (ml);
1830 là hệ số chuyển đổi độ hấp thụ riêng của all-*trans*-retinol thành IU.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 đến 10 µm).
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 325 nm.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký 3 lần với mỗi dung dịch thử và dung dịch chuẩn.
Thời gian lưu của all-*trans*-retinol khoảng (5 ± 1) min.
Kết quả được chấp nhận nếu đáp ứng các yêu cầu sau:
Trên sắc ký đồ của dung dịch thử có pic tương ứng với pic của all-*trans*-retinol trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.
Khi dùng phương pháp thêm chuẩn vào dung dịch thử thì phần trăm thu hồi retinol acetat chuẩn phải lớn hơn 95 % và phần trăm thu hồi all-*trans*-retinol trong dung dịch chuẩn được xác định bằng phương pháp đo quang phải lớn hơn 95 % so với nồng độ tính từ dung dịch chuẩn gốc.
Tính kết quả:
Hàm lượng vitamin A trong mẫu thử (IU/g) được tính theo công thức:

$$S_1 \times \frac{C \times V}{S_2} \times \frac{1}{m}$$

Trong đó:
S_1 là diện tích pic của all-*trans*-retinol trên sắc đồ của dung dịch thử;
S_2 là diện tích pic của all-*trans*-retinol trên sắc đồ của dung dịch chuẩn;
C là nồng độ retinyl acetat trong dung dịch chuẩn gốc (IU/ml);
m là lượng chế phẩm đem xử lý thành dung dịch thử (g);
V là thể tích dung dịch chuẩn gốc đã đem xử lý (ml).

10.11 PHƯƠNG PHÁP PHÂN TÍCH ACID AMIN

Phương pháp phân tích acid amin là phương pháp xác định thành phần và hàm lượng các acid amin trong các protein và peptid, cũng như trong các chế phẩm thuốc. Phương pháp phân tích acid amin được áp dụng để định tính và định lượng các protein và peptid dựa trên các cấu tử acid

amin tạo ra chúng, để giúp việc xác định cấu trúc của các protein và peptid cũng như việc xác định cách phân đoạn của chúng nhằm thiết lập giản đồ peptid và để phát hiện các acid amin không điển hình có thể có mặt trong một protein hoặc peptid.

Trước khi phân tích acid amin trong protein hoặc peptid, cần thiết phải thủy phân protein hoặc peptid thành các acid amin. Sau đó tiến hành phân tách các acid amin thu được giống như khi ta phân tách các acid amin tự do có trong các chế phẩm thuốc. Điều quan trọng là chúng phải được biến đổi thành các dẫn chất thích hợp cho việc phân tách và phát hiện.

Thiết bị

Các phương pháp để phân tích acid amin thường dựa trên việc tách các acid amin có trong mẫu thử bằng phương pháp sắc ký. Các thiết bị sắc ký tự động thường chiếm lợi thế. Thiết bị phân tích acid amin điển hình là một máy sắc ký lỏng áp suất thấp hoặc áp suất cao, có khả năng thực hiện chương trình dung môi để tách các acid amin khi qua cột sắc ký. Máy cần có thêm thiết bị tạo dẫn chất acid amin sau cột, trừ khi mẫu thử được tạo thành dẫn chất trước cột. Để phát hiện kết quả, thường dùng detector hấp thụ tử ngoại - khả kiến hoặc detector huỳnh quang, tùy thuộc vào cách tạo dẫn chất đã áp dụng. Một thiết bị tích phân cho phép chuyển đổi tín hiệu tương tự đi từ detector ra và cho phép định lượng.

Thường sử dụng các máy chuyên dụng để phân tích acid amin.

Chú ý

Nhiễu đường nền luôn là mối quan tâm của người tiến hành phân tích acid amin. Để khắc phục, phải dùng các thuốc thử có độ tinh khiết cao (ví dụ acid hydrocloric có độ tinh khiết thấp có thể gây nhiễm glycin). Thông thường cách một vài tuần lại phải thay mới các thuốc thử. Chỉ dùng các dung môi dùng cho sắc ký lỏng. Lọc lại các dung môi trước khi dùng để giảm thiểu sự nhiễm khuẩn và các tạp chất. Đậy kín các bình đựng dung môi. Không để các thiết bị phân tích acid amin tiếp xúc trực tiếp với tia sáng mặt trời.

Chất lượng thực hành phòng thí nghiệm có thể quyết định chất lượng phân tích acid amin. Giữ phòng thí nghiệm sạch sẽ. Đặt thiết bị phân tích trong phòng thí nghiệm tại chỗ riêng biệt, ít bị ảnh hưởng của các hoạt động khác. Định kỳ rửa sạch và chuẩn hóa lại các pipet. Bảo quản đầu pipet trong hộp đậy kín. Không được cầm đầu pipet bằng tay trần, phải mang găng tay bằng cao su không xoa bột talc hoặc loại khác có chất lượng tương đương. Hạn chế số lần mở và đóng bình đựng mẫu thử vì bụi có thể làm gia tăng kết quả về hàm lượng các chất glycin, serin và alanin. Cần bảo dưỡng tốt thiết bị phân tích acid amin để có kết quả chấp nhận được. Nếu thiết bị được dùng thường ngày thì hàng ngày phải kiểm tra độ rò rỉ dung môi của thiết bị, độ ổn định của đèn và detector, độ phân giải của cột.

Định kỳ làm sạch hoặc thay thế các kính lọc của thiết bị và các linh phụ kiện cần bảo dưỡng khác.

Các chất đối chiếu

Trên thị trường có sẵn các acid amin chuẩn để dùng trong phân tích acid amin; chúng thường là dung dịch hỗn hợp các acid amin chuẩn trong nước. Khi cần xác định thành phần acid amin trong một mẫu thử, các protein hoặc peptid chuẩn phải được phân tích song song với mẫu thử để kiểm tra sự toàn vẹn của thử nghiệm. Trong trường hợp này, chuẩn protein được sử dụng là albumin huyết thanh bò tinh khiết cao.

Chuẩn hóa thiết bị

Việc chuẩn hóa thiết bị phân tích acid amin được thực hiện bằng cách phân tích một chuẩn acid amin, gồm hỗn hợp các acid amin chuẩn đã biết trước hàm lượng của từng chất, để xác định hệ số đáp ứng và khoảng tuyến tính ứng với mỗi một acid amin chuẩn đã thử.

Pha loãng mẫu chuẩn acid amin thành nhiều dung dịch có nồng độ khác nhau, nằm trong khoảng tuyến tính dự đoán trước của các acid amin có trong mẫu chuẩn. Tiến hành phân tích nhiều lần với mỗi nồng độ. Biểu thị kết quả thu được trên biểu đồ thể hiện tương quan giữa diện tích pic thu được ứng với mỗi nồng độ của acid amin đã thử. Nhờ biểu đồ này, có thể xác định được khoảng tuyến tính của mỗi acid amin, tại đó, các diện tích pic thu được có tương quan xấp xỉ tuyến tính với các nồng độ của các acid amin đã thử. Khi phân tích acid amin, để có kết quả đúng và lặp lại, điều quan trọng là phải pha và thử nghiệm trên các mẫu thử có nồng độ nằm trong khoảng tuyến tính tương ứng với kỹ thuật phân tích đang áp dụng.

Để xác định hệ số đáp ứng cho mỗi acid amin, ta phân tích từ 4 nồng độ đến 6 nồng độ của acid amin chuẩn tương ứng. Hệ số đáp ứng tính được là giá trị trung bình của diện tích pic (hoặc của chiều cao pic) ứng với nồng độ 1 nanomol của dung dịch acid amin chuẩn. Thiết lập một dãy chuẩn hóa bao gồm hệ số đáp ứng tương ứng của các acid amin và sử dụng dãy này để tính nồng độ (nanomol) của mỗi acid amin có trong mẫu thử bằng cách chia diện tích pic (hoặc chiều cao pic) thu được của acid amin đó cho hệ số đáp ứng tương ứng có trong dãy chuẩn hóa.

Trong việc phân tích thường ngày, khi dùng dãy chuẩn hóa, ta chỉ cần xác định một diện tích pic là đủ. Tuy nhiên, dãy chuẩn hóa này phải thường xuyên được thử lại bằng các phân tích kiểm tra và được cập nhật để bao đảm tính toàn vẹn của nó.

Độ lặp lại

Muốn có các kết quả phân tích acid amin có chất lượng ổn định tại một phòng thí nghiệm phân tích, cần quan tâm đến độ lặp lại của phép định lượng. Cần có một hệ thống thiết bị phân tích các acid amin có khả năng cung cấp các giá trị lặp lại của thời gian lưu của pic (để định tính) và các giá trị lặp lại của diện tích pic (để định lượng). Cách xác định tiêu biểu độ lặp lại bao gồm việc pha chế một dung dịch chuẩn các acid amin, rồi tiến hành đo mẫu đó nhiều lần (6 lần hoặc nhiều hơn). Sau đó, tính độ lệch chuẩn của các giá trị thời gian lưu và độ lệch chuẩn các giá trị diện

tích pic đã được tích phân, ứng với mỗi acid amin đã được phân tích. Việc xác định độ lặp lại còn được mở rộng bằng cách nhiều người phân tích khác nhau cùng tiến hành xác định độ lặp lại đó trong nhiều ngày. Người ta còn thực hiện việc định lượng nhiều dung dịch có nồng độ khác nhau của chuẩn gốc để xác định sự biến thiên do việc pha chế mẫu thử. Thường người ta phân tích thành phần acid amin của một protein chuẩn (ví dụ albumin huyết thanh bò) để đánh giá độ lặp lại. Nhờ việc xác định độ lệch chuẩn, ta có thể thiết lập các giới hạn phân tích để đạt kết quả tốt, với độ lệch chuẩn thấp nhất. Để giảm bớt sai số trong phân tích, nhiều yếu tố cần được quan tâm và xem xét đầy đủ như: cách chuẩn bị mẫu thử, nhiễu đường nền do chất lượng của các thuốc thử, việc thực hành thí nghiệm, tính năng và việc bảo dưỡng máy móc thiết bị, các dữ liệu phân tích và cách biện giải và cuối cùng là việc thực thi thành thạo của người làm phân tích.

Chuẩn bị mẫu thử

Muốn có kết quả phân tích acid amin đúng, phải dùng các mẫu thử protein và peptid đã tinh chế. Các tạp chất như các muối, ure, chất tẩy rửa... có thể gây nhiễu, nên cần phải loại khỏi mẫu thử trước khi tiến hành phân tích. Phương pháp điều chế dẫn chất sau cột sắc ký không bị nhiễm bởi các tạp chất ở mức độ lớn như khi điều chế dẫn chất trước cột sắc ký. Nên giảm số thao tác trên mẫu thử để giảm nhiễu đường nền, tăng kết quả tìm thấy và giảm công lao động. Các cách thông thường để loại tạp chất trong mẫu thử protein bao gồm:

Tách bằng sắc ký lỏng cao áp pha đảo, thu protein bằng một dung môi bay hơi có chứa một lượng thích hợp thành phần hữu cơ rồi làm khô bằng ly tâm chân không;

Thẩm tách loại bỏ tạp chất;

Ly tâm siêu lọc;

Kết tủa protein bằng một dung môi hữu cơ (ví dụ aceton);

Lọc qua gel.

Chất chuẩn nội

Cần dùng một chất chuẩn nội để kiểm soát những mất mát và biến đổi lý hóa học xảy ra trong quá trình phân tích acid amin. Do đó, trước khi tiến hành thủy phân phải thêm một lượng chính xác chất chuẩn nội vào dung dịch protein cần phân tích. Lượng chuẩn nội tìm thấy được sẽ là một thông số chung cho lượng tìm thấy được của các acid amin có trong protein. Tuy nhiên các acid amin tự do và các acid amin liên kết trong cấu trúc protein không giống nhau về tốc độ thủy phân hoặc phân hủy. Vì vậy việc dùng chất chuẩn nội để hiệu chỉnh sự mất mát trong quá trình thủy phân có thể cho kết quả không đáng tin cậy. Cần chú ý điều này khi biện giải kết quả phân tích. Ta còn có thể thêm chất chuẩn nội vào hỗn hợp các acid amin sau khi đã được thủy phân để hiệu chỉnh những sai lệch về kết quả phân tích gây ra do các sai lệch khi tiêm mẫu, do thay đổi độ ổn định của thuốc thử cũng như tốc độ dòng của dung môi. Chất chuẩn nội lý tưởng là một acid amin bậc nhất nhân tạo, có sẵn trên thị trường với giá rẻ. Chất này phải bền vững trong quá trình thủy phân, có hệ số đáp ứng tuyến tính với nồng độ và phải được rửa giải cho một pic có thời gian lưu duy nhất và được phân giải tốt với các pic tương ứng với các acid amin khác. Các chất chuẩn nội thường được dùng bao gồm norleucin, nitrotyrosin và acid α-aminobutyric.

Thủy phân protein

Cần thiết phải tiến hành thủy phân các mẫu thử protein và peptid trước khi phân tích các acid amin tạo thành. Để tránh sai kết quả, các ống thủy tinh dùng trong thủy phân phải hết sức sạch. Dấu vân tay trên ống thủy phân hoặc bột tách ra từ bao tay cũng có thể làm nhiễm bẩn mẫu thử. Để rửa sạch các ống thủy tinh dùng trong thủy phân (ống thủy phân), ta đun sôi chúng 1 h trong dung dịch acid hydrocloric 1 M hoặc ngâm chúng trong acid nitric đậm đặc hoặc trong hỗn hợp đồng thể tích acid hydrocloric và dung dịch nitric đậm đặc. Sau đó tráng sạch bằng nước cất tinh khiết cao, tiếp đến bằng methanol dùng trong sắc ký lỏng cao áp. Cuối cùng sấy qua đêm trong tủ sấy rồi bảo quản kín cho đến khi dùng. Cũng có thể nung đồ thủy tinh dùng để thủy phân ở nhiệt độ 500 °C trong 4 h để tránh nhiễm bẩn. Cũng có thể sử dụng loại dụng cụ thích hợp, chỉ dùng một lần rồi bỏ.

Thủy phân bằng acid là phương pháp thông dụng nhất để thủy phân một mẫu thử protein trước khi tiến hành phân tách các acid amin tạo ra mẫu thử đó. Thủy phân bằng acid có thể cho kết quả phân tích thay đổi vì một số acid amin bị phân hủy một phần hay hoàn toàn. Cụ thể là: Tryptophan bị phân hủy, serin và threonin bị phân hủy một phần, methionin có thể bị oxy hóa còn cystein thì chuyển đổi thành cystin (tuy nhiên lượng cystin tìm thấy được thường thấp hơn thực tế vì một phần bị phân hủy hoặc bị khử trở lại thành cystein). Có thể giảm thiểu sự phân hủy do bị oxy hóa bằng cách tiến hành thủy phân trong môi trường chân không thích hợp (áp suất thấp hơn 200 µm thủy ngân hoặc 26,7 Pa) hoặc bằng cách nạp một khí trơ (argon) vào khoảng trống phía trên của bình phản ứng. Các đường nối peptid giữa isoleucin - isoleucin, valin - valin, isoleucin - valin và valin - isoleucin chỉ có một phần được cắt dứt để giải phóng acid amin thôi. Asparagin và glutamin đều bị khử amid để thành acid aspartic và acid glutamic tương ứng. Vì tryptophan, asparagin và glutamin bị mất mát trong khi thủy phân bằng acid nên ta chỉ còn định lượng được 17 acid amin. Một số kỹ thuật thủy phân mô tả sau đây sẽ đề cập cách khắc phục các trở ngại nêu trên. Tuy nhiên một số kỹ thuật (từ số 4 đến số 11) lại có thể biến đổi một số acid amin khác. Vì vậy cần cân nhắc lợi hại khi chọn kỹ thuật thủy phân protein/peptid và phải thực nghiệm thích hợp trước khi chọn một kỹ thuật thủy phân khác kỹ thuật thủy phân bằng acid.

Thường hay dùng phương pháp phân tích acid amin theo chương trình thời gian thủy phân (tức là phân tích acid amin ở các thời điểm thủy phân là 24 h, 48 h và 72 h) để xác định nồng độ ban đầu của các acid amin dễ bị phân hủy hoặc chậm bị phân tách khi thủy phân. Vẽ đồ thị biểu thị sự liên quan giữa nồng độ thu được của acid amin dễ

bị phân hủy (ví dụ serin, threonin) với thời gian thủy phân rồi ngoại suy tới điểm gốc thời gian, ta sẽ được nồng độ ban đầu (nồng độ ở gốc thời gian) của acid amin dễ bị phân hủy đó. Áp dụng phương pháp chương trình thời gian thủy phân này cho các acid amin chậm được phân tách (ví dụ isoleucin và valin), trên đồ thị sẽ có một đoạn bằng (đoạn thẳng nằm ngang) ứng với nồng độ của acid amin cần phân tích đó. Nếu thời gian thủy phân quá dài, nồng độ của các acid amin cần phân tích sẽ bắt đầu giảm, chứng tỏ acid amin đó đã bị phân hủy do điều kiện thủy phân.

Một cách khác của phân tích acid amin theo chương trình thời gian thủy phân được chấp thuận là cho một chuẩn acid amin trải qua cùng các điều kiện như khi thủy phân mẫu thử protein/peptid. Acid amin chuẩn, ở thể tự do, có thể sẽ không có kết quả hoàn toàn tiêu biểu cho tốc độ phân hủy của các acid amin dễ bị phân hủy có trong mẫu thử protein/peptid. Điều này đặc biệt đúng đối với các liên kết peptid chậm bị phân tách (như liên kết isoleucin - valin). Tuy nhiên cách phân tích này sẽ cho phép giải thích một vài trường hợp phân hủy acid amin trong mẫu thử.

Cách thủy phân bằng acid trong lò vi sóng cũng đã được sử dụng, cho kết quả nhanh chóng nhưng đòi hỏi thiết bị đặc biệt và cần thận trọng đặc biệt. Phải xác định được các điều kiện thủy phân trong lò vi sóng tối ưu cho mỗi mẫu thử protein/peptid riêng biệt. Thủy phân trong lò vi sóng chỉ cần thời gian ít phút, nhưng nếu chỉ thêm hoặc bớt một phút so với yêu cầu thôi cũng sẽ có thể có kết quả sai lệch (hoặc do các acid amin dễ bị phân hủy sẽ bị phân hủy hoặc do mẫu thử chưa được thủy phân hoàn toàn).

Cách thủy phân hoàn toàn bằng một hỗn hợp các men protease cũng được áp dụng nhưng phức tạp, đòi hỏi phải được kiểm soát chặt chẽ và thường được áp dụng nhiều để phân tích các peptid hơn là các protein.

Khi tiến hành phân tích lần đầu một mẫu thử protein mới, cần phải làm thực nghiệm để xác định các điều kiện tối ưu về thời gian và nhiệt độ thủy phân.

Kỹ thuật thủy phân 1

Thủy phân bằng acid hydrocloric có chứa một lượng phenol là kỹ thuật thông dụng nhất để thủy phân mẫu thử protein/peptid trước khi tiến hành phân tích acid amin. Thêm phenol vào môi trường thủy phân cốt để ngăn ngừa hiện tượng halogen hóa tyrosin.

Dung dịch thủy phân: Dung dịch acid hydrocloric 6 M chứa từ 0,1 % đến 1 % phenol.

Thủy phân pha lỏng: Cho vào ống thủy phân mẫu thử protein/peptid rồi làm khô (để loại nước, tránh pha loãng dung dịch thủy phân). Cứ 500 µg mẫu thử đông khô, ta thêm 200 µl dung dịch thủy phân. Làm lạnh ống thử trong aceton đông băng khan. Hàn ống thủy phân ở chân không. Thủy phân mẫu thử trong 24 h ở 110 °C và trong chân không hoặc khí trơ để tránh oxy hóa. Nếu lo ngại mẫu thử chưa được thủy phân hoàn toàn, cần nghiên cứu kéo dài thêm thời gian thủy phân (ví dụ trong 48 h và 72 h).

Thủy phân pha hơi: Đây là một trong các kỹ thuật thủy phân thông dụng nhất được ưa dùng để làm vi phân tích, khi chỉ có một lượng nhỏ mẫu thử. Kỹ thuật này cũng cho phép giảm thiểu việc mẫu thử bị nhiễm bẩn bởi dung dịch thủy phân. Đặt ống thủy phân chứa mẫu thử đã làm khô trong một ống thử to hơn, ống này chứa một lượng thích hợp dung dịch thủy phân và như vậy ngăn không cho mẫu thử tiếp xúc trực tiếp với dung dịch thủy phân. Hút chân không (áp suất thấp hơn 200 µm thủy ngân hoặc 26,7 Pa), hoặc bơm một khí trơ vào phần trên của ống thử. Hàn ống lớn và thủy phân ở 110 °C trong 24 h. Hơi acid sẽ thủy phân mẫu thử và lượng acid ngưng tụ trong ống thủy phân chứa mẫu thử là tối thiểu. Sau khi thủy phân xong, sấy khô mẫu thử trong chân không để loại bỏ acid dư thừa.

Kỹ thuật thủy phân 2

Giảm hiện tượng oxy hóa tryptophan trong khi thủy phân bằng cách dùng acid mercaptoethansulfonic (MESA) làm acid khử.

Dung dịch thủy phân: Dung dịch MESA 2,5 M.

Thủy phân pha hơi: Làm khô 1 µg đến 100 µg mẫu thử protein/peptid trong ống thủy phân. Đặt ống thủy phân trong một ống lớn hơn, chứa khoảng 200 µl dung dịch thủy phân. Hàn ống lớn trong chân không (áp suất khoảng 50 µm thủy ngân hoặc 6,7 Pa). Thủy phân ở 170 °C đến 185 °C trong khoảng 12,5 min. Sau khi thủy phân xong làm khô ống thủy phân ở chân không trong 15 min để loại acid dư thừa.

Kỹ thuật thủy phân 3

Ngăn ngừa hiện tượng oxy hóa tryptophan bằng cách dùng acid thioglycolic (TGA) làm acid khử.

Dung dịch thủy phân: Dung dịch acid hydrocloric 7 M chứa 1 % phenol, 10 % acid trifluoroacetic và 20 % acid thioglycolic.

Thủy phân pha hơi: Làm khô từ 10 µg đến 50 µg mẫu thử protein/peptid trong một ống thủy phân. Đặt ống thủy phân trong một ống lớn hơn, chứa khoảng 200 µl dung dịch thủy phân. Hàn ống lớn trong chân không (áp suất khoảng 50 µm thủy ngân hoặc 6,7 Pa). Thủy phân mẫu thử ở 166 °C trong khoảng 15 min đến 30 min. Sau khi thủy phân xong, làm khô ống thủy phân trong chân không trong 5 min để loại acid dư thừa.

Lượng tryptophan tìm thấy có thể phụ thuộc vào lượng mẫu lấy thử.

Kỹ thuật thủy phân 4

Oxy hóa cystein/cystin và methionin bằng acid performic trước khi thủy phân mẫu thử.

Dung dịch oxy hóa: Dùng acid performic mới pha bằng cách trộn đều 1 thể tích *hydrogen peroxyd 30 % (TT)* với 9 thể tích *acid formic khan (TT)*, rồi để ở nhiệt độ phòng trong 1 h.

Tiến hành: Hòa tan mẫu thử protein/peptid trong 20 µl *acid formic khan (TT)* và để ở 50 °C trong 5 min. Sau đó thêm 100 µl dung dịch oxy hóa. Để phản ứng xảy ra trong 10 min đến 30 min. Cystein sẽ chuyển thành acid cysteic, còn methionin thành methionin sulfon. Ly tâm chân không

để loại thuốc thử thừa, rồi thủy phân mẫu thử đã được oxy hóa theo kỹ thuật 1 hoặc 2 nói trên.
Kỹ thuật 4 này có thể làm biến đổi tyrosin khi môi trường có muối halid.

Kỹ thuật thủy phân 5
Oxy hóa cystein/cystin trong quá trình thủy phân pha lỏng bằng natri azid.
Dung dịch thủy phân: Thêm vào *dung dịch acid hydrocloric 6 M (TT)* có chứa 0,2 % phenol một lượng *natri azid (TT)* để có nồng độ 0,2 %. Phenol có trong dung dịch thủy phân ngăn ngừa sự halogen hóa của tyrosin.
Thủy phân pha lỏng: Thủy phân mẫu thử protein/peptid ở 110 °C trong 24 h. Trong quá trình thủy phân, cystein/cystin trong mẫu thử chuyển thành acid cysteic bởi tác dụng của natri azid có trong dung dịch thủy phân. Kỹ thuật 5 này cho kết quả tìm thấy của tyrosin tốt hơn kỹ thuật 4 nhưng lại không định lượng được methionin. Methionin chuyển thành hỗn hợp của methionin với 2 dẫn chất oxy hóa là methionin sulfoxid và methionin sulfon.

Kỹ thuật thủy phân 6
Oxy hóa cystein/cystin bằng *dimethyl sulfoxid (DMSO) (TT)*.
Dung dịch thủy phân: Thêm vào dung dịch acid hydrocloric 6 M, chứa 0,1 % đến 1 % phenol, một lượng DMSO để được dung dịch nồng độ DMSO 2 % (tt/tt).
Thủy phân pha hơi: Tiến hành thủy phân mẫu thử protein/peptid ở khoảng 110 °C trong 24 h. Trong quá trình thủy phân, cystein/cystin có trong mẫu thử sẽ bị DMSO có trong dung dịch thủy phân chuyển thành acid cysteic. Để hạn chế sự bất ổn định của kết quả thu được và để chỉnh lý những sai lệch do sự phân hủy từng phần, người ta khuyến nên xác định kết quả tìm thấy acid cysteic sau khi đã thủy phân oxy hóa các mẫu protein chuẩn chứa từ 1 mol đến 8 mol cystein. Các hệ số đáp ứng thu được từ các dung dịch thủy phân protein/peptid thường thấp hơn khoảng 30 % so với hệ số đáp ứng thu được từ các chuẩn acid cysteic không qua thủy phân.
Vì histidin, methionin, tyrosin và tryptophan đều bị biến đổi nên kỹ thuật 6 này không cho kết quả phân tích đầy đủ thành phần cấu tạo của protein/peptid.

Kỹ thuật thủy phân 7
Khử oxy và alkyl hóa cystein/cystin bằng phản ứng pyridylethyl hóa ở pha hơi.
Dung dịch khử: Cho vào một bình thích hợp: 83,3 µl *pyridin (TT)*, 16,7 µl *4-vinylpyridin*, 16,7 µl *tributyl phosphin* và 83,3 µl *nước cất* rồi trộn đều.
Tiến hành: Cho vào ống thủy phân một lượng mẫu thử protein/peptid (trong khoảng từ 1 µg đến 100 µg). Đặt ống thủy phân vào một ống lớn hơn đã có sẵn dung dịch khử. Hàn kín ống lớn ở chân không (áp suất khoảng 50 µm thủy ngân hoặc 6,7 Pa) rồi làm nóng ở 100 °C trong 5 min. Sau đó lấy ống thủy phân ra, làm khô trong bình hút ẩm chân không trong 15 min để loại bỏ thuốc thử dư thừa. Cuối cùng thủy phân mẫu thử đã được pyridylethyl hóa, theo một trong các kỹ thuật thủy phân mô tả ở trên. Song song, tiến hành pyridylethyl hóa trong cùng điều kiện một mẫu chuẩn protein chứa 1 mol đến 8 mol cystein để xác định giá trị tìm thấy của pyridylethyl cystein.
Chú ý: Việc kéo dài thời gian phản ứng pyridylethyl hóa sẽ gây biến đổi các nhóm α-amino và ε-amino của lysin có trong mẫu thử protein/peptid.

Kỹ thuật thủy phân 8
Khử oxy và alkyl hóa cystein/cystin bằng phản ứng pyridylethyl hóa ở pha lỏng.
Các dung dịch gốc: Pha chế và lọc 3 dung dịch trong *nước* sau đây:
Dung dịch gốc A: *Dung dịch Tris-hydroclorid 1 M (pH 8,5) chứa 4 mM dinatri edetat.*
Dung dịch gốc B: *Dung dịch guanidin hydroclorid 8 M.*
Dung dịch gốc C: *Dung dịch 2-mercaptoethanol 10 %.*
Dung dịch khử: Pha hỗn hợp gồm 1 thể tích dung dịch gốc A và 3 thể tích dung dịch gốc B để có dung dịch đệm guanidin hydroclorid 6 M trong Tris-hydroclorid 0,25 M.
Tiến hành: Hòa tan khoảng 10 µg mẫu thử protein/peptid trong 50 µl dung dịch khử, rồi thêm 2,5 µl dung dịch gốc C. Để 2 h ở nhiệt độ phòng, trong khí nitrogen hoặc argon và ở chỗ tối. Để thực hiện phản ứng pyridylethyl hóa, thêm vào khoảng 2 µl 4-vinylpyridin và để yên 2 h trong tối, ở nhiệt độ phòng. Sau đó, loại tạp bằng cách tách bằng sắc ký lỏng cao áp pha đảo. Làm khô mẫu thử protein/peptid sau khi qua sắc ký bằng cách ly tâm chân không rồi tiến hành thủy phân bằng acid.

Kỹ thuật thủy phân 9
Khử oxy và alkyl hóa cystein/cystin bằng phản ứng carboxymethyl hóa ở pha lỏng.
Các dung dịch gốc: Pha như ở kỹ thuật thủy phân 8.
Dung dịch carboxymethyl hóa: Dung dịch iodoacetamid 10 % trong ethanol 96 %.
Dung dịch đệm: Dùng dung dịch khử của kỹ thuật thủy phân 8.
Tiến hành: Hòa tan mẫu thử protein/peptid trong 50 µl dung dịch đệm, thêm khoảng 2,5 µl dung dịch gốc C. Bảo quản 2 h trong khí nitrogen hoặc argon ở nhiệt độ phòng và trong tối. Thêm một lượng dung dịch carboxymethyl hóa gấp 1,5 lần tổng lượng các thiol có trong mẫu thử theo lý thuyết. Nếu không biết hàm lượng các thiol trong mẫu thử thì cứ 20 nanomol protein dùng 5 µl *dung dịch iodoacetamid 100 mM.* Để tiếp 30 min trong tối ở nhiệt độ phòng. Sau đó thêm lượng dư *2-mercaptoethanol* để dừng phản ứng. Loại tạp và thu phần protein/peptid bằng cách phân tách trên sắc ký lỏng pha đảo. Làm khô phần protein/peptid thu được bằng ly tâm chân không trước khi thủy phân bằng acid.
Chất S-carboxyamidomethylcystein mới tạo thành được chuyển đổi thành S-carboxymethylcystein trong quá trình thủy phân.

Kỹ thuật thủy phân 10
Cystein/cystin tác dụng với acid dithiodiglycolic hoặc acid dithiodipropionic để cho một disulfid hỗn tạp. Tùy theo

yêu cầu về độ phân giải của kỹ thuật phân tích acid amin được áp dụng mà chọn dùng acid dithiodiglycolic hoặc acid dithiodipropionic.

Dung dịch khử: Dung dịch acid dithiodiglycolic (hoặc *acid dithiodipropionic*) *1 % trong dung dịch NaOH 0,2 M.*

Tiến hành: Cho vào ống thủy phân khoảng 20 µg mẫu thử protein/peptid. Thêm 5 µl dung dịch khử và 10 µl *isopropanol*. Ly tâm chân không để loại pha lỏng rồi thủy phân mẫu thử theo kỹ thuật thủy phân I.

Kỹ thuật 10 này có lợi là các thành phần acid amin khác trong mẫu thử không bị ảnh hưởng của phản ứng và không cần loại tạp trước khi thủy phân.

Kỹ thuật thủy phân II

Trong quá trình thủy phân bằng acid, asparagin và glutamin được chuyển đổi thành acid aspartic và acid glutamic tương ứng. Asparagin và acid aspartic được biểu thị bằng một đại lượng chung Asx, còn glutamin và acid glutamic bằng Glx. Trái lại, khi thủy phân bằng acid với sự có mặt của thuốc thử bis (1,1-trifluoroacetoxy)iodobenzen (BTI), asparagin và glutamin bị tác dụng và chuyển tương ứng thành acid diaminopropionic và acid diaminobutyric. Nhờ đó, ta xác định được asparagin và glutamin trong protein/peptid ngay khi có mặt của acid aspartic và acid glutamic.

Các dung dịch khử: Pha chế và lọc 3 dung dịch sau:

Dung dịch A: *Dung dịch acid trifluoroacetic 10 mM.*

Dung dịch B: *Dung dịch chứa guanidin hydroclorid 5 M và acid trifluoroacetic 10 mM.*

Dung dịch C: *Dung dịch mới pha BTI 3,6 % trong dimethylformamid.*

Tiến hành: Cho vào một ống thủy phân sạch khoảng 200 µg mẫu thử protein/peptid, 2 ml dung dịch A hoặc dung dịch B và 2 ml dung dịch C. Hàn ống thủy phân trong chân không. Để 4 h ở nhiệt độ 60 °C, trong tối. Sau đó thẩm tách mẫu thử bằng *nước cất* để loại bỏ thuốc thử dư thừa. Chiết mẫu thử đã thẩm tách 3 lần bằng 3 thể tích tương đương *butyl acetat (TT)*, rồi làm đông khô.

Cuối cùng thủy phân mẫu thử đông khô theo các kỹ thuật thủy phân đã nói ở trên.

Các acid α,β-diaminopropionic và α,γ- diaminobutyric đều không được phân giải rõ ràng với lysin có trong mẫu thử, khi phân tách bằng sắc ký trao đổi ion. Vì vậy, khi dùng sắc ký trao đổi ion để tách các acid amin, hàm lượng của asparagin và của glutamin có mặt trong mẫu thử được xác định bằng hiệu số giữa hàm lượng của acid aspactic và của acid glutamic tương ứng thu được khi thủy phân acid không có BTI và hàm lượng của acid aspartic và của acid glutamic tương ứng thu được khi thủy phân có BTI.

Hàm lượng của threonin, methionin, cystein, tyrosin và histidin có thể bị sai lệch khi thủy phân bằng acid có BTI. Vì vậy, muốn có giá trị đúng của các hàm lượng này, mẫu thử phải được thủy phân bằng acid, không có thuốc thử BTI.

Tách và phát hiện các acid amin

Có nhiều kỹ thuật để tách và phát hiện các acid amin. Lựa chọn kỹ thuật nào phụ thuộc vào yêu cầu về độ nhạy của phép định lượng. Nhìn chung, khoảng một nửa các phép phân tích acid amin dựa trên việc tách thành acid amin tự do bằng sắc ký lỏng trao đổi ion rồi tạo dẫn chất sau cột phân tách. Kỹ thuật tạo dẫn chất sau cột có thể áp dụng cho các mẫu thử có một lượng nhỏ chất đệm (như các muối và urê) và thường cần từ 5 µg đến 10 µg mẫu thử protein cho một lần phân tích.

Các kỹ thuật còn lại, bao gồm việc tạo các dẫn chất trước cột rồi tách chúng bằng sắc ký lỏng cao áp pha đảo. Các kỹ thuật tạo dẫn chất trước cột rất nhạy và thường chỉ cần từ 0,5 µg đến 1,0 µg mẫu thử protein/peptid cho mỗi lần phân tích, nhưng lại có thể bị ảnh hưởng bởi các muối đệm có trong mẫu thử. Mặt khác, kỹ thuật tạo dẫn chất trước cột còn có thể cho nhiều dẫn chất khác nhau của cùng một acid amin, do đó gây trở ngại cho việc biện giải kết quả phân tích. So với kỹ thuật tạo dẫn chất trước cột, thường kỹ thuật tạo dẫn chất sau cột ít bị ảnh hưởng bởi các biến thiên trong việc thực hiện phép định lượng hơn.

Có thể dùng các kỹ thuật sau đây để phân tích định lượng các acid amin.

Thiết bị và thuốc thử đều có sẵn trên thị trường. Hơn nữa, hiện có nhiều cải tiến về các mặt như pha chế thuốc thử, cách tiến hành phản ứng, thiết bị sắc ký dùng trong các kỹ thuật này, v.v.... Các thông số đặc trưng có thể thay đổi tùy thuộc vào thiết bị đã dùng và cách tiến hành phân tích. Nhiều phòng thí nghiệm còn áp dụng đồng thời nhiều kỹ thuật chứ không chỉ một, để tận dụng lợi ích của mỗi kỹ thuật đã áp dụng. Trong các kỹ thuật sau đây, tín hiệu tương tự được hiển thị trên máy ghi và diện tích các pic được tích phân để định lượng.

Kỹ thuật 1: Tạo dẫn chất sau cột với thuốc thử ninhydrin

Sắc ký trao đổi ion tạo dẫn chất sau cột với thuốc thử ninhydrin là một trong các kỹ thuật thông dụng nhất để phân tích định lượng các acid amin. Theo nguyên tắc, sắc ký trao đổi cation, dùng lithi làm đối ion trong pha động được áp dụng để phân tích các mẫu thử sinh học phức tạp; trái lại, sắc ký trao đổi cation, dùng natri làm đối ion trong pha động, nhanh hơn, được dùng với các mẫu thử đơn giản hơn, gồm hỗn hợp các acid amin đã được thủy phân từ protein/peptid ra (tiêu biểu gồm 17 acid amin khác nhau). Việc phân tích acid amin trên cột trao đổi ion được thực hiện thông qua sự phối hợp giữa thay đổi pH và thay đổi lực ion của pha động (chương trình dung môi). Chương trình nhiệt độ cũng thường được áp dụng để tăng nhanh sự phân tách.

Các acid amin bậc nhất tác dụng với ninhydrin cho hợp chất màu tím, hấp thụ cực đại ở bước sóng 570 nm. Trái lại, các acid amin bậc 2 (các imino acid) như prolin, tác dụng với ninhydrin cho hợp chất màu vàng, hấp thụ cực đại ở 440 nm. Vì vậy ta phát hiện các dẫn chất của acid amin thu được sau cột ở các bước sóng 440 nm và 570 nm. Đối với đa số các dẫn chất acid amin, giới hạn phát hiện được xác định là 10 picomol; đối với dẫn chất của prolin, giới hạn đó là 50 picomol. Khoảng tuyến tính là 20 picomol đến 500 picomol, với hệ số tương quan

r > 0,999. Để có kết quả tốt, dùng một lượng mẫu thử lớn hơn 1 µg để thủy phân trước khi phân tích các acid amin trong protein/peptid là thích hợp nhất.

Kỹ thuật 2: Tạo dẫn chất sau cột với thuốc thử OPA

Thuốc thử ortho-phthalaldehyd (OPA) tác dụng với các amin bậc nhất, khi có mặt một hợp chất thiol, cho các hợp chất isoindol phát huỳnh quang. OPA không tác dụng với các amin bậc 2 (các imino acid như prolin) để có hợp chất phát huỳnh quang; tuy nhiên, nếu oxy hóa chúng bằng natri hypoclorid hoặc cloramin T thì phản ứng với OPA sẽ xảy ra. Do đó, để phân tích các acid amin trong mẫu thử protein/peptid bằng kỹ thuật này, ta phải tách các acid amin tự do bằng sắc ký trao đổi cation mạnh rồi oxy hóa sau cột bằng natri hypoclorid hoặc cloramin T và tiếp đó tạo dẫn chất phát huỳnh quang bằng thuốc thử OPA với sự có mặt của một hợp chất thiol như N-acetyl-L-cystein hoặc 2-mercaptoethanol. Các acid amin bậc nhất không bị ảnh hưởng bởi sự oxy hóa nói trên.

Việc tách các acid amin bằng sắc ký lỏng trao đổi ion được thực hiện nhờ sự phối hợp giữa việc thay đổi pH và thay đổi lực ion của pha động (chương trình dung môi). Sau khi được phân tách, các dẫn chất phát huỳnh quang sẽ được phát hiện với bước sóng kích thích ở 348 nm và bước sóng phát quang ở 450 nm.

Giới hạn phát hiện được xác định ở mức một vài chục picomol, đối với đa số các dẫn chất OPA của acid amin. Khoảng tuyến tính là từ vài picomol đến vài chục nanomol. Để có kết quả phân tích tốt, lấy mẫu thử protein/peptid lớn hơn 500 ng để thủy phân.

Kỹ thuật 3: Tạo dẫn chất trước cột với thuốc thử PITC

Thuốc thử phenylisothiocyanat (PITC) tác dụng với các acid amin để thành dẫn chất phenylthiocarbamyl (PTC) hấp thụ mạnh bức xạ ở bước sóng 254 nm. Tách các dẫn chất PTC của acid amin, đã được tạo trước cột, bằng sắc ký lỏng cao áp pha đảo, dùng cột octadecylsilyl (ODS) và phát hiện ở bước sóng 254 nm.

Việc phân tách các dẫn chất acid amin bằng sắc ký lỏng cao áp pha đảo được thực hiện nhờ việc phối hợp giữa các thay đổi về nồng độ acetonitril và về lực ion trong pha động.

Đối với đa số các dẫn chất PTC-acid amin, giới hạn phát hiện được xác định là 1 picomol. Khoảng tuyến tính là 20 picomol đến 500 picomol với hệ số tương quan r > 0,999. Để có kết quả phân tích tốt, lấy lượng mẫu thử lớn hơn 500 ng để thủy phân.

Chú ý: Sau khi đã loại bỏ trong chân không thuốc thử dư, các dẫn chất PTC-acid amin có thể bảo quản khô và đông băng trong vài tuần lễ mà không có sự phân hủy nào đáng kể. Nếu dung dịch để tiêm vào máy sắc ký được bảo quản lạnh, sau 3 ngày cũng chưa thấy suy giảm đáp ứng sắc ký nào đáng kể xảy ra.

Kỹ thuật 4: Tạo dẫn chất trước cột với thuốc thử AQC

Thuốc thử 6-aminoquinolyl-N-hydroxysuccinimidyl carbamat (AQC) tác dụng với các acid amin tạo thành các dẫn chất urê bất đối xứng, ổn định, phát huỳnh quang (các dẫn chất AQC-acid amin) và được phân tách bằng sắc ký lỏng cao áp pha đảo. Do đó, ta tạo dẫn chất AQC trước cột rồi tách chúng bằng sắc ký lỏng cao áp pha đảo, dùng cột ODS và phát hiện bằng detector huỳnh quang, ở bước sóng kích thích 250 nm và bước sóng phát quang ở 395 nm. Việc phân tách được thực hiện nhờ việc phối hợp sự thay đổi nồng độ acetonitril và thay đổi lực ion của pha động (chương trình dung môi). Tiêm trực tiếp hỗn hợp mẫu thử và thuốc thử vào máy sắc ký. Không có nhiễu đáng kể gây ra bởi 6-aminoquinolin, sản phẩm thứ cấp chủ yếu phát huỳnh quang của thuốc thử. Thuốc thử dư được thủy phân nhanh chóng (nửa đời < 15 s) thành các chất 6-aminoquinolin, N-hydroxysuccinimid và carbon dioxyd và sau 1 min, không còn phản ứng tạo dẫn chất xảy ra.

Diện tích pic của các dẫn chất AQC-acid amin không thay đổi chủ yếu trong thời gian 1 tuần, ở nhiệt độ phòng. Nhờ tính ổn định này, có thể tiến hành phân tích qua đêm trên các máy tự động được.

Giới hạn phát hiện được xác định ở vào khoảng từ 40 femtomol đến 320 femtomol, tính cho mỗi acid amin, trừ cystein. Giới hạn phát hiện của cystein xấp xỉ bằng 800 femtomol. Khoảng tuyến tính là từ 2,5 micromol đến 200 micromol, với hệ số tương quan r > 0,999. Có thể thu được kết quả phân tích tốt với lượng mẫu protein/peptid lấy thử thấp tới 30 ng.

Kỹ thuật 5: Tạo dẫn chất trước cột với thuốc thử OPA

Thuốc thử ortho-phthalaldehyd (OPA), khi có mặt một hợp chất thiol (có thể dùng 2-mercaptoethanol hoặc acid 3-mercaptopropionic), sẽ tác dụng với các amin bậc nhất để cho một hợp chất isoindol phát huỳnh quang mạnh. Bản thân thuốc thử OPA không phát huỳnh quang, nên không gây trở ngại. Mặt khác, vì OPA dễ tan và ổn định trong nước đồng thời cho phản ứng nhanh nên có thể tạo dẫn chất và phân tích mẫu thử một cách tự động, dùng thiết bị tự nạp mẫu thử để trộn lẫn mẫu thử với thuốc thử. Tuy nhiên, OPA không cho phản ứng với các amin bậc 2, nên kỹ thuật 5 này không áp dụng được để phân tích các acid amin có hóa chức amin bậc 2 như prolin. Để khắc phục, phải phối hợp kỹ thuật 5 này với kỹ thuật 7 hoặc 8 mô tả sau đây.

Vì dẫn chất OPA-acid amin không bền vững nên sau khi tạo dẫn chất trước cột, phải tiến hành phân tích ngay trên sắc ký lỏng cao áp pha đảo và phát hiện kết quả bằng detector huỳnh quang ở bước sóng kích thích 348 nm và bước sóng phát quang 450 nm.

Giới hạn phát hiện bằng huỳnh quang thấp tới 50 femtomol đã được báo cáo. Tuy nhiên, giới hạn phát hiện thực tế của phép phân tích là 1 picomol.

Kỹ thuật 6: Tạo dẫn chất trước cột bằng thuốc thử DABS-Cl

Thuốc thử dimethylamino-azobenzensulfonyl clorid (DABS-Cl) là một thuốc thử cho màu để phát hiện acid amin. Các dẫn chất tạo thành (DABS-acid amin) rất bền vững và hấp thụ cực đại ở bước sóng 436 nm. Tạo các dẫn chất này trước cột rồi tách chúng bằng sắc ký

lỏng cao áp pha đảo, dùng cột ODS và phát hiện kết quả ở bước sóng 436 nm.

Kỹ thuật này có thể phân tích cả các acid amin bậc nhất và acid amin bậc hai (như prolin) với cùng độ nhạy như nhau. Còn có thể định lượng đồng thời thành phần tryptophan có trong mẫu thử protein/peptid sau khi đã thủy phân mẫu thử bằng các acid sulfonic như: acid mercaptoethansulfonic, acid p-toluensulfonic hoặc acid methansulfonic như đã mô tả ở kỹ thuật thủy phân 2 ở trên. Các thành phần khác dễ hỏng vì acid như asparagin và glutamin cũng được phân tích sau khi đã làm phản ứng chuyển đổi thành acid diaminopropionic và acid diaminobutyric tương ứng bằng phản ứng với thuốc thử BTI đã mô tả ở kỹ thuật thủy phân 11 ở trên.

Trong kỹ thuật này, không dùng norleucin nhân tạo để làm chuẩn nội, vì nó được rửa giải ra tại vùng dày đặc các pic của các acid amin bậc nhất trên sắc đồ. Có thể dùng nitrotyrosin làm chuẩn nội vì nó được rửa giải ra tại vùng có ít pic trên sắc đồ.

Giới hạn phát hiện các DABS-acid amin ở khoảng 1 picomol. Lượng nhỏ từ 2 đến 5 picomol của một DABS-acid amin nào đó cũng có thể cho kết quả định lượng đáng tin cậy, và chỉ cần dùng 10 ng đến 30 ng protein thủy phân đã được dẫn chất hóa cho mỗi lần phân tích.

Kỹ thuật 7: Tạo dẫn chất trước cột với thuốc thử FMOC-Cl

Thuốc thử 9-fluorenylmethyl cloroformat (FMOC-Cl) tác dụng với acid amin bậc nhất và acid amin bậc hai để tạo thành các dẫn chất FMOC-acid amin phát huỳnh quang mạnh.

Phản ứng xảy ra nhẹ nhàng trong môi trường nước, trong 30 s. Các dẫn chất được tạo thành đều bền vững, chỉ riêng dẫn chất của histidin là có biểu hiện phân hủy nào đó. Mặc dù bản thân thuốc thử và các sản phẩm phụ của phản ứng đều phát huỳnh quang nhưng ta có thể loại chúng mà không làm mất mát các dẫn chất FMOC-acid amin.

Sau khi tạo dẫn chất trước cột, tiến hành tách các FMOC-acid amin bằng sắc ký lỏng cao áp pha đảo, dùng cột ODS, với chương trình gradient dung môi, biến thiên tuyến tính từ hỗn hợp gồm 10 thể tích acetonitril, 40 thể tích methanol và 50 thể tích đệm acid acetic đến hỗn hợp gồm 50 thể tích acetonitril, 50 thể tích đệm acid acetic. Phát hiện kết quả bằng detector huỳnh quang ở bước sóng kích thích 260 nm và bước sóng phát quang 313 nm. Có thể phân tích được 20 dẫn chất acid amin trong vòng 20 min.

Giới hạn phát hiện vào cỡ femtomol. Đa số các acid amin có khoảng tuyến tính từ 0,1 micromol đến 50 micromol.

Kỹ thuật 8: Tạo dẫn chất trước cột bằng thuốc thử NBD-F

Thuốc thử 7-fluoro-4-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazol (NBD-F) tác dụng với cả acid amin bậc nhất và acid amin bậc 2, ở nhiệt độ 60 °C, trong 5 min, để cho các dẫn chất NBD-acid amin phát huỳnh quang mạnh. Sau khi tạo dẫn chất trước cột, tách chúng bằng sắc ký lỏng cao áp pha đảo, dùng cột ODS và chương trình gradient dung môi gồm acetonitril và hỗn hợp đệm trong nước. 17 dẫn chất acid amin được tách ra trong vòng 35 min. Có thể dùng acid ε-aminocaproic làm chất chuẩn nội, vì được rửa giải ở vùng ít pic trên sắc đồ. Phát hiện kết quả bằng detector huỳnh quang, ở bước sóng kích thích 480 nm và bước sóng phát quang ở 530 nm.

Kỹ thuật này có độ nhạy gần tương tự như độ nhạy của kỹ thuật tạo dẫn chất trước cột với thuốc thử OPA (kỹ thuật 5) đối với các acid amin, trừ prolin không phân tích được bằng kỹ thuật 5 vì không phản ứng với thuốc thử OPA. Như vậy, kỹ thuật 8 này ích lợi hơn kỹ thuật 5.

Giới hạn phát hiện mỗi acid amin ở khoảng 10 femtomol và lượng mẫu thử protein/peptid thủy phân cần lấy để tạo dẫn chất trước cột ở khoảng 1,5 mg.

Tính kết quả

Khi xác định hàm lượng các acid amin trong một mẫu thử protein/peptid, cần nhớ rằng, trong quá trình thủy phân bằng acid, tryptophan và cystein bị phá hủy, serin và threonin bị phá hủy một phần, valin và isoleucin không được tách hoàn toàn, methionin có thể bị oxy hóa và một vài acid amin như glycin và serin thường bị nhiễu. Tiến hành phân tích ở môi trường chân không thích hợp (áp suất thấp hơn 200 µm thủy ngân hoặc 26,7 Pa) hoặc ở môi trường có khí trơ (như argon) khi thủy phân pha hơi, có thể giảm mức phân hủy do bị oxy hóa. Các kết quả định lượng cystein, tryptophan, threonin, isoleucin, valin, methionin, glycin và serin trong một mẫu thử protein/peptid đã thủy phân có thể thay đổi và do đó thường cần tiến hành xem xét đánh giá bổ sung.

Tính tỷ lệ phần trăm hàm lượng của một loại acid amin có trong mẫu thử protein/peptid

Đó là số lượng nanomol của một loại acid amin có trong 100 nanomol của toàn thể các acid amin có trong mẫu thử protein/peptid. Tỷ lệ này có ích trong việc đánh giá các dữ liệu thu được khi phân tích các acid amin trong một protein mà ta chưa biết khối lượng phân tử. Nó giúp cung cố kết quả định tính một protein/peptid chưa biết bằng cách so sánh tỷ lệ phần trăm hàm lượng mỗi loại acid amin trong mẫu thử chưa biết với tỷ lệ phần trăm hàm lượng của mỗi loại acid amin tương ứng có trong các protein/peptid đã biết.

Tính tỷ lệ phần trăm hàm lượng của một acid amin trong protein/peptid theo công thức sau:

$$\frac{100r_i}{r_t}$$

Trong đó:

r_i là đáp ứng (hàm lượng) tính theo nanomol của acid amin i;

r_t là đáp ứng (hàm lượng) tính theo nanomol của tất cả các acid amin thu được trên sắc đồ.

Mẫu thử protein/peptid chưa biết

Xác định khối lượng Q_i (tính theo microgam) của mỗi loại acid amin có mặt trong mẫu protein/peptid chưa biết

Tính bằng công thức sau:

$$Q_i = \frac{m_i \times M_i}{1000}$$

Trong đó:
Q_i là khối lượng (tính theo microgam) của acid amin i có trong mẫu thử;
m_i là hàm lượng (tính theo nanomol) của tất cả các acid amin i tìm thấy trên sắc đồ;
M_i là phân tử lượng trung bình (tính theo gam) của acid amin i, đã được hiệu chỉnh về khối lượng H_2O bị loại khi tạo thành liên kết peptid.

Ước lượng tổng khối lượng của mẫu thử protein/peptid:
Tổng khối lượng $\sum Q_i$ của các loại acid amin tìm thấy cho phép ta ước lượng khối lượng của protein/peptid đem thử sau khi đã hiệu chỉnh về khối lượng mất mát do có sự phân hủy từng phần hoặc toàn phần của một số acid amin dễ bị phân hủy trong quá trình thủy phân.

Xác định số lượng của mỗi loại acid amin tham gia cấu tạo mẫu thử protein/peptid chưa biết. Nếu xác định được phân tử lượng M_p của protein/peptid đem thử (ví dụ bằng khối phổ), ta tính số lượng của mỗi loại acid amin i theo công thức sau:

$$\frac{\dfrac{m_i}{1000Q_p}}{M_p} = \frac{m_i \times M_p}{1000Q_p}$$

Trong đó:
m_i là hàm lượng (tính theo nanomol) của acid amin i tìm thấy trong mẫu thử;
Q_p là khối lượng (tính theo microgam) của protein đem thử;
M_p là phân tử lượng của protein đem thử (tính theo gam).

Mẫu thử protein/peptid đã biết phân tử lượng và thành phần cấu tạo

Khi phân tích acid amin, một số acid amin cho kết quả tìm thấy tốt, trái lại, một số cho kết quả tìm thấy không sử dụng được vì hoặc bị phân hủy một phần hay toàn phần (ví dụ: tryptophan, cystein, threonin, serin, methionin), hoặc liên kết peptid không được tách hoàn toàn (như liên kết của isoleucin, của valin), hoặc bị nhiễu bởi một số acid amin tự do (như bởi glycin và serin). Các acid amin cho kết quả tìm thấy tốt điển hình là aspartat-asparagin, glutamat-glutamin, alanin, leucin, phenylalanin, lysin và arginin. Danh sách này có thể thay đổi tùy thuộc vào hệ thống phân tích đã dùng. Các acid amin cho kết quả tìm thấy tốt đại diện cho protein, do đó ta lợi dụng chúng để xác định hàm lượng protein và số lượng của mỗi loại acid amin (còn gọi là thành phần của acid amin) có trong mẫu thử.

Xác định hàm lượng protein trong mẫu thử

Chia hàm lượng (tính theo nanomol) của mỗi loại acid amin có giá trị tìm thấy tốt cho số lượng dự đoán của acid amin đó trong protein để có hàm lượng protein tính theo loại acid amin đó. Tính giá trị trung bình của tất cả các hàm lượng protein tính được theo từng loại acid amin có giá trị tìm thấy tốt của mẫu thử. Các hàm lượng protein tính theo từng loại acid amin riêng rẽ phải được phân bố đồng đều xung quanh giá trị trung bình của hàm lượng protein mới tính được ở trên. Phải loại bỏ các giá trị hàm lượng protein riêng rẽ của từng acid amin quá sai lệch với giá trị trung bình đã tính được. Thường các giá trị sai lệch quá 5 % phải loại bỏ. Khi đó, phải tính lại giá trị trung bình của hàm lượng protein mới, dựa trên các giá trị còn lại (không bị loại bỏ) của hàm lượng protein riêng rẽ tính theo từng loại acid amin còn lại.

Xác định số lượng của từng loại acid amin trong mẫu thử

Chia hàm lượng của mỗi loại acid amin cho giá trị trung bình của hàm lượng protein đã tính ở trên, ta được số lượng của loại acid amin đó (tức thành phần acid amin) trong mẫu thử.

Tính sai số tương đối (theo tỷ lệ phần trăm) về thành phần trong mẫu thử

Áp dụng công thức sau để tính sai số tương đối về thành phần đối với một loại acid amin i:

$$\frac{100m_i}{m_{is}}$$

Trong đó:
m_i là hàm lượng, tính theo nanomol, xác định bằng thực nghiệm, của loại acid amin i có trong mẫu thử;
m_{is} là hàm lượng (tính theo nanomol) đã biết của loại acid amin i có trong mẫu thử.

Giá trị sai số tương đối trung bình về thành phần của mẫu thử là giá trị trung bình của tất cả các sai số tương đối về thành phần tính theo từng loại acid amin riêng rẽ, trừ tryptophan và cystein. Giá trị sai số tương đối trung bình về thành phần của một mẫu thử cung cấp thông tin quan trọng về độ ổn định của phép phân tích theo thời gian. Sự phù hợp giữa giá trị thành phần acid amin trong mẫu thử, tìm thấy bằng thực nghiệm với giá trị thành phần acid amin đã biết trước của protein đem thử có thể giúp cho việc củng cố kết quả định tính và xác định độ tinh khiết của protein trong mẫu thử.

10.12 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG ETHANOL

Sử dụng phương pháp 1 hoặc phương pháp 2 trừ khi có những chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng.

Phương pháp 1

Tiến hành phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2) sử dụng các dung dịch sau:

Dung dịch 1: Chứa 5 % (tt/tt) *ethanol (TT)* và 5 % (tt/tt) *propan-1-ol (TT)* (chuẩn nội).

Dung dịch 2: Hòa loãng một thể tích chế phẩm thử bằng *nước* để được dung dịch có nồng độ ethanol từ 4,0 % đến 6,0 % (tt/tt).

Dung dịch 3: Chuẩn bị như dung dịch 2 nhưng thêm vừa đủ chất chuẩn nội để tạo ra nồng độ cuối cùng của chuẩn nội trong dung dịch này là 5,0 % (tt/tt).

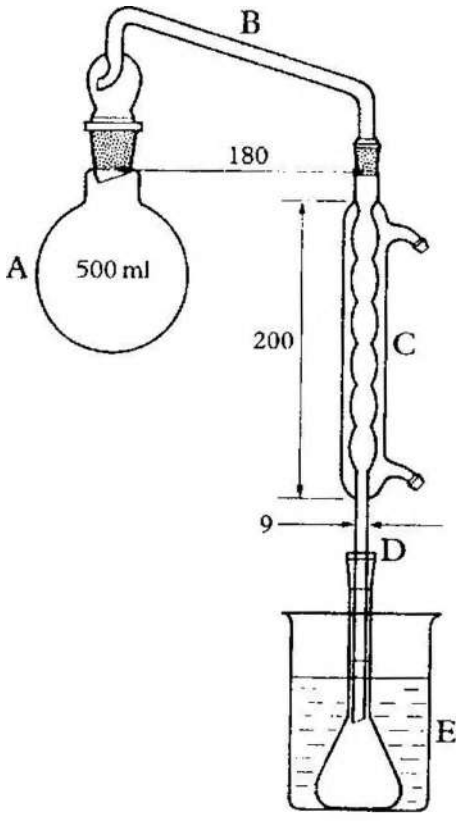
Quá trình sắc ký có thể thực hiện bằng cách dùng cột (1,5 m × 4 mm) đã nhồi hạt xốp polymer (100 mesh đến 120 mesh) (Porapak Q hoặc Chromosorb 101 đều thích

hợp) với nhiệt độ lò cột đặt ở 150 °C, nhiệt độ buồng tiêm và detector ở 170 °C.
Tính hàm lượng phần trăm ethanol căn cứ vào các diện tích pic ethanol trong sắc ký đồ thu được từ dung dịch 1 và dung dịch 3.

Phương pháp 2
Với những chế phẩm thử mà trong đó theo quy định của chuyên luận riêng đã sử dụng cồn công nghiệp, xác định hàm lượng ethanol giống như phương pháp 1 nhưng chuẩn bị dung dịch 2 bằng cách hòa loãng một thể tích chế phẩm thử với nước để tạo một dung dịch có nồng độ tổng cộng của methanol và ethanol từ 4,0 % đến 6,0 % (tt/tt).
Xác định hàm lượng methanol bằng cách thực hiện quá trình sắc ký như đã mô tả ở phương pháp 1 nhưng chuẩn bị các dung dịch như sau:
Dung dịch 1: Chứa 0,25 % (tt/tt) *methanol (T)* và 0,25 % (tt/tt) *propan 1-ol (TT)*.
Dung dịch 2: Hòa loãng một thể tích chế phẩm thử bằng *nước* để được dung dịch có nồng độ methanol từ 0,2 % đến 0,3 % (tt/tt).
Dung dịch 3: Chuẩn bị như dung dịch 2 nhưng thêm vừa đủ chất chuẩn nội để có nồng độ cuối cùng của chuẩn nội trong dung dịch này là 0,25 %.
Tổng lượng ethanol và methanol phải ở trong giới hạn quy định của chuyên luận riêng và tỷ số giữa lượng methanol và lượng ethanol tìm được phải tương ứng với tỷ lệ này của cồn công nghiệp đã sử dụng.

Phương pháp 3
Phương pháp này chỉ dùng để khảo sát những chế phẩm thuốc dạng lỏng, chắc chắn chứa ethanol đồng thời với các chất tan khác, nhưng các chất này phải được tách khỏi ethanol khi cất.
Khi cất nếu trong mẫu thử, ngoài ethanol và nước, còn có lẫn các chất bay hơi khác thì các hướng dẫn thích hợp sẽ được quy định trong chuyên luận riêng.
Hàm lượng ethanol chứa trong một chất lỏng được biểu thị bằng số thể tích ethanol trong 100 thể tích chất lỏng ấy ở 20 °C ± 0,1 °C và được hiểu là phần trăm ethanol tính theo thể tích/thể tích.
Hàm lượng cũng có thể được biểu thị bằng gam ethanol cho 100 g chất lỏng và được hiểu là phần trăm ethanol tính theo khối lượng/khối lượng.
Liên quan giữa tỷ trọng ở 20 °C ± 0,1 °C, tỷ trọng tương đối (đã hiệu chỉnh ở chân không) và hàm lượng ethanol của hỗn hợp nước và ethanol được ghi trong Bảng của Tổ chức Quốc tế về Đo lường hợp pháp (1972) * Khuyến cáo Quốc tế số 22**.
[*International Organisation for Legal Metrology (1972).
** International Recommendation (No 22)].

Thiết bị
Thiết bị (Hình 10.12) bao gồm một bình cầu thủy tinh đáy tròn (A) gắn với một đầu cất có bộ phận bẫy hơi (B), bộ phận này được nối với một ống sinh hàn (C) đặt thẳng đứng. Tiếp theo là một ống dẫn gắn vào phần thấp của ống sinh hàn để dẫn dịch cất vào bình hứng (D). Bình hứng có vạch định mức dung tích 100 ml hoặc 250 ml. Trong suốt quá trình cất, bình hứng này được nhúng trong cốc (E) chứa hỗn hợp đá và nước đá. Ngoài ra còn có thêm một đĩa có khoét thủng một lỗ tròn đường kính khoảng 6 cm đặt dưới bình cất để bảo hiểm.



Hình 10.12 - Dụng cụ để xác định hàm lượng ethanol
(Kích thước tính bằng milimét)

Xác định bằng lọ đo tỷ trọng (Pycnomet)
Đong chính xác 25 ml chế phẩm ở 20 °C ± 0,1 °C chuyển vào bình cất. Pha loãng với 100 ml đến 150 ml *nước cất* và thêm vài hạt đá bọt. Lắp hệ thống chưng cất. Chưng cất và hứng không dưới 90 ml dịch cất vào bình định mức 100 ml. Điều chỉnh nhiệt độ dịch cất tới 20 °C ± 0,1°C, pha loãng đến 100 ml bằng *nước cất* ở 20 °C ± 0,1 °C. Xác định tỷ trọng tương đối ở 20 °C ± 0,1 °C bằng lọ đo tỷ trọng (Phụ lục 6.5).
Hàm lượng ethanol tính bằng phần trăm theo thể tích bằng 4 lần trị số chỉ ra trong cột 3 ở Bảng 10.12. (Liên quan giữa tỷ trọng, tỷ trọng tương đối và hàm lượng ethanol trong dung dịch). Biểu thị kết quả với một chữ số ở phần thập phân.

Xác định bằng tỷ trọng kế (Phụ lục 6.5)
Đong chính xác 50 ml chế phẩm ở 20 °C ± 0,1 °C chuyển vào bình cất. Pha loãng với 200 ml đến 250 ml *nước cất* và thêm vài hạt đá bọt. Lắp hệ thống chưng cất. Chưng cất

và lứng không dưới 180 ml dịch cất vào bình định mức 250 ml. Điều chỉnh nhiệt độ dịch cất tới 20 °C ± 0,1 °C; pha loãng đến 250 ml bằng *nước cất* ở 20 °C ± 0,1 °C. Chuyển dịch cất vào một ống đong hình trụ có đường kính lớn hơn đường kính bầu của tỷ trọng kế ít nhất 6 mm. Nếu thể tích dịch cất không đủ, tăng lượng mẫu gấp đôi và pha loãng dịch cất đến 500 ml bằng *nước cất* ở 20 °C ± 0,1 °C. Hàm lượng ethanol tính bằng phần trăm theo thể tích bằng 5 lần trị số chỉ ra trong cột 3 ở Bảng 10.12 (Liên quan giữa tỷ trọng, tỷ trọng tương đối và hàm lượng ethanol trong dung dịch). Biểu thị kết quả ở dạng có một chữ số ở phần thập phân.

Bảng 10.12 - Liên quan giữa tỷ trọng, tỷ trọng tương đối và hàm lượng ethanol

ρ_{20} (kg·m^{-3})	Tỷ trọng tương đối của dịch cất đo trong không khí ở 20 °C (d_{20}^{20})	Hàm lượng ethanol tính theo % (tt/tt) ở 20 °C	ρ_{20} (kg·m^{-3})	Tỷ trọng tương đối của dịch cất đo trong không khí ở 20 °C (d_{20}^{20})	Hàm lượng ethanol tính theo % (tt/tt) ở 20 °C
1	2	3	1	2	3
968,0	0,9697	25,09	983,5	0,9853	11,02
968,5	0,9702	24,64	984,0	0,9858	10,60
969,0	0,9707	24,19	984,5	0,9863	10,18
969,5	0,9712	23,74	985,0	0,9868	9,76
970,0	0,9717	23,29	985,5	0,9873	9,35
970,5	0,9722	22,83	986,0	0,9878	8,94
971,0	0,9727	22,37	986,5	0,9883	8,53
971,5	0,9733	21,91	987,0	0,9888	8,13
972,0	0,9738	21,45	987,5	0,9893	7,73
972,5	0,9743	20,98	988,0	0,9898	7,34
973,0	0,9748	20,52	988,5	0,9903	6,95
973,5	0,9753	20,05	989,0	0,9908	6,56
974,0	0,9758	19,59	989,5	0,9913	6,17
974,5	0,9763	19,12	990,0	0,9918	5,79
975,0	0,9768	18,66	990,5	0,9923	5,42
975,5	0,9773	18,19	991,0	0,9928	5,04
976,0	0,9778	17,73	991,5	0,9933	4,67
976,5	0,9783	17,25	992,0	0,9938	4,30
977,0	0,9788	16,80	992,5	0,9943	3,94
977,5	0,9793	16,34	993,0	0,9948	3,58
978,0	0,9798	15,88	993,5	0,9953	3,22
978,5	0,9803	15,43	994,0	0,9958	2,86
979,0	0,9808	14,97	994,5	0,9963	2,51
979,5	0,9813	14,52	995,0	0,9968	2,16
980,0	0,9818	14,07	995,5	0,9973	1,82
980,5	0,9823	13,63	996,0	0,9978	1,47
981,0	0,9828	13,18	996,5	0,9983	1,13
981,5	0,9833	12,74	997,0	0,9988	0,80
982,0	0,9838	12,31	997,5	0,9993	0,46
982,5	0,9843	11,87	998,0	0,9998	0,13
983,0	0,9848	11,44			

10.13 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG METHANOL VÀ PROPAN-2-OL

Phương pháp

Tiến hành phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2), sử dụng các dung dịch sau:

Dung dịch chuẩn nội: Chuẩn bị một dung dịch chứa *propan -1-ol (TT)* 2,5 %.

Dung dịch thử: Thêm 2,0 ml dung dịch chuẩn nội vào bình định mức dung tích 50 ml có chứa dịch cất mẫu thử (dịch cất thu được từ phương pháp 3, chuyên luận xác định hàm lượng ethanol, Phụ lục 10.12), điều chỉnh hàm lượng ethanol tới 10 % (tt/tt) bằng cách pha loãng với *nước* hoặc với *ethanol 90 % (TT)* vừa đủ để đạt tới 50 ml dung dịch thử, tùy theo hàm lượng ethanol trong dịch cất cao hay thấp hơn 10,0 % (tt/tt).

Dung dịch đối chiếu: Chuẩn bị 50 ml dung dịch chứa 2,0 ml dung dịch chuẩn nội, 10 % (tt/tt) *ethanol (TT)*, 0,05 % (tt/tt) *propan-2-ol (TT)* và một lượng *methanol khan (TT)* vừa đủ để có nồng độ tổng cộng của methanol trong dung dịch này là 0,05 % (tt/tt) kể cả lượng methanol chứa trong *ethanol (TT)*.

Quá trình sắc ký

Có thể thực hiện bằng cách sử dụng cột thủy tinh đã nhồi hạt xốp copolymer ethylvinylbenzen divinylbenzen (125 µm đến 150 µm) với nhiệt độ cột đặt và duy trì ở 130 °C, buồng tiêm ở 200 °C, detector 220 °C. Tiêm 1 µl mỗi dung dịch trên. Từ các sắc ký đồ thu được, tính hàm lượng methanol và propan-2-ol có trong sản phẩm gốc.

Độ nhạy của phương pháp

Với phương pháp này có thể phát hiện được hàm lượng methanol và propan-2-ol thấp hơn 0,025 % (tt/tt).

10.14 XÁC ĐỊNH DUNG MÔI TỒN DƯ

Quy trình mô tả trong phụ lục này được áp dụng để xác định dung môi tồn dư trong các trường hợp:

1. Định tính dung môi nhóm 1 và dung môi nhóm 2 tồn dư trong dược chất, tá dược, hay dược phẩm;
2. Thử giới hạn dung môi nhóm 1 và dung môi nhóm 2 khi chúng tồn tại trong dược chất, tá dược, hay dược phẩm;
3. Định lượng dung môi nhóm 2 khi lượng tồn dư lớn hơn 1000 phần triệu (0,1 %) hoặc định lượng dung môi nhóm 3 tồn dư khi có yêu cầu.

Các dung môi tồn dư nhóm 1, nhóm 2, nhóm 3 được liệt kê tại các bảng trong Phụ lục 10.14.1 Quy định đối với tạp chất là dung môi tồn dư.

Chuyên luận này giới thiệu 3 cách pha mẫu thử và các điều kiện kỹ thuật tiêm pha hơi các mẫu thử hóa hơi lên hệ thống sắc ký khí. Sử dụng hai hệ sắc ký, hệ sắc ký A thường được chọn trước, còn hệ sắc ký B thường được dùng để củng cố kết quả phát hiện. Việc chọn cách pha mẫu thử tùy thuộc vào độ tan của mẫu thử. Trong một số ít trường hợp cách pha mẫu tùy thuộc dung môi tồn dư cần kiểm tra.

Các dung môi tồn dư sau đây không dễ dàng phát hiện được bằng các điều kiện tiêm pha hơi ghi trong chuyên luận này: formamid, 2-ethoxyethanol, 2-methoxyethanol, ethylen glycol, N-methylpyrrolidon và sulfolan. Phải áp dụng các qui trình khác thích hợp để kiểm tra sự tồn dư của các dung môi trên.

Khi dùng qui trình của chuyên luận này để định lượng các dung môi tồn dư, phải tiến hành thẩm định qui trình.

Tiến hành

Thực nghiệm bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2) với kỹ thuật tiêm pha hơi tĩnh (static head-space injection).

Pha mẫu thử

Cách 1: Dùng để kiểm tra dung môi tồn dư trong các chất tan trong nước.

Dung dịch mẫu thử (1): Hòa tan 0,200 g mẫu thử trong *nước*, pha loãng với *nước* tới 20,0 ml.

Cách 2: Dùng để kiểm tra dung môi tồn dư trong các chất không tan trong nước.

Dung dịch mẫu thử (2): Hòa tan 0,200 g mẫu thử trong *N,N-dimethylformamid (DMF) (TT)*, pha loãng tới 20,0 ml với cùng dung môi.

Cách 3: Dùng để kiểm tra N,N-dimethylacetamid và/hoặc N,N-dimethylformamid khi biết rõ hoặc nghi ngờ có một hoặc cả hai dung môi này tồn dư trong mẫu thử.

Dung dịch mẫu thử (3): Hòa tan 0,200 g mẫu thử trong *1,3-dimethyl-2-imidazolidinon (DMI)* và pha loãng đến 20,0 ml với cùng dung môi.

Khi không có cách pha mẫu nào nêu trên phù hợp với mẫu thử, thì cách pha mẫu thử và điều kiện tiêm pha hơi tĩnh áp dụng phải được chứng minh là phù hợp.

Dung dịch dung môi (a): Hòa tan 1,0 ml *dung dịch dung môi tồn dư nhóm 1 chuẩn* với 9 ml *dimethyl sulfoxid (TT)* và pha loãng với *nước* thành 100 ml. Pha loãng 1,0 ml dung dịch này với *nước* thành 10,0 ml.

Dung dịch dung môi (b): Hòa tan một lượng thích hợp dung môi tồn dư nhóm 2 trong *dimethyl sulfoxid (TT)*. Pha loãng với *nước* thành 100,0 ml. Tiếp tục pha loãng để thu được dung dịch có nồng độ bằng 1/20 giới hạn quy định tại Bảng 10.14.1-2 trong Phụ lục 10.14.1 Quy định đối với tạp chất là dung môi tồn dư.

Dung dịch dung môi (c): Hòa tan 1,00 g dung môi hoặc các dung môi có trong mẫu thử với *dimethyl sulfoxid (TT)* hoặc *nước* (nếu thích hợp), và pha loãng với *nước* thành 100,0 ml. Tiếp tục pha loãng để thu được dung dịch có nồng độ bằng 1/20 giới hạn quy định tại Bảng 10.14.1-1 hoặc Bảng 10.14.1-2, trong Phụ lục 10.14.1 Qui định đối với tạp chất là dung môi tồn dư.

Dung dịch mẫu trắng: Chuẩn bị như cách pha dung dịch dung môi (c) nhưng không thêm dung môi cần xác định (để kiểm tra sự vắng mặt của các pic nhiễu).

Dung dịch thử: Lấy 5,0 ml dung dịch mẫu thử và 1,0 ml dung dịch mẫu trắng cho vào một lọ đựng mẫu tiêm.

Dung dịch đối chiếu (a) (nhóm 1): Lấy 1,0 ml dung dịch dung môi (a) và 5,0 ml chất pha loãng thích hợp vào một lọ đựng mẫu tiêm.

Dung dịch đối chiếu (a_1) (nhóm 1): Lấy 1,0 ml dung dịch dung môi (a) và 5,0 ml dung dịch mẫu thử vào một lọ đựng mẫu tiêm.

Dung dịch đối chiếu (b) (nhóm 2): Lấy 1,0 ml dung dịch dung môi (b) và 5,0 ml chất pha loãng thích hợp vào một lọ đựng mẫu tiêm.

Dung dịch đối chiếu (c): Lấy 1,0 ml dung dịch dung môi (c) và 5,0 ml dung dịch mẫu thử vào một lọ đựng mẫu tiêm.

Dung dịch đối chiếu (d): Lấy 1,0 ml dung dịch mẫu trắng và 5,0 ml chất pha loãng thích hợp vào một lọ đựng mẫu tiêm.

Đóng kín các lọ đựng mẫu tiêm nói trên bằng nút cao su có bao lớp polytetrafluoroethylen và giữ bởi một vòng chụp ngoài bằng nhôm. Lắc mạnh để có một dung dịch đồng nhất.

Các điều kiện tiêm pha hơi tĩnh có thể dùng:

Thông số hoạt động	Cách pha mẫu		
	1	2	3
Nhiệt độ cân bằng (°C)	80	105	80
Thời gian cân bằng (min)	60	45	45
Nhiệt độ dòng chảy (°C)	85	110	105
Khí mang	Nitrogen hoặc heli dùng cho sắc ký khí ở áp suất thích hợp		
Thời gian điều áp (s)	30	30	30
Thể tích tiêm (ml)	1	1	1

Điều kiện sắc ký

Hệ sắc ký A

Cột mao quản thủy tinh hoặc cột có nòng rỗng, dài 30 m, đường kính trong 0,32 mm hoặc 0,53 mm được phủ bằng lớp các polymer liên kết mạng gồm polydimethylsiloxan 94 % và polycyanopropylphenylsiloxan 6 % (dày 1,8 µm hoặc 3,0 µm).

Khí mang: *Nitrogen dùng cho sắc ký khí* hoặc *heli dùng cho sắc ký khí*, tỷ lệ chia dòng 1 : 5, tốc độ dòng khoảng 35 cm/s.

Detector ion hóa ngọn lửa [có thể dùng detector khối phổ hoặc để phát hiện dung môi tồn dư nhóm 1 ở dạng hợp chất clor hóa có thể dùng detector thu (bắt) điện tử].

Duy trì nhiệt độ cột ở 40 °C, trong 20 min, sau đó gia tăng nhiệt độ với tốc độ 10 °C/min cho đến khi đạt 240 °C, giữ ở 240 °C trong 20 min. Nhiệt độ buồng tiêm 140 °C, nhiệt độ detector 250 °C.

Hệ sắc ký B

Cột mao quản thủy tinh hoặc cột có nòng rỗng, dài 30 m có đường kính trong 0,32 mm hoặc 0,53 mm, được phủ macrogol 20 000 dày 0,25 µm.

Khí mang: *Nitrogen dùng cho sắc ký khí* hoặc *heli dùng cho sắc ký khí*, tỷ lệ chia dòng 1 : 5, tốc độ dòng khoảng 35 cm/s.

Detector ion hóa ngọn lửa [có thể dùng detector khối phổ hoặc để phát hiện dung môi tồn dư nhóm 1 ở dạng hợp chất clorid có thể dùng detector thu (bắt) điện tử].

Duy trì nhiệt độ cột ở 50 °C trong 20 min, sau đó gia tăng nhiệt độ với tốc độ 6 °C/min cho đến khi đạt 165 °C. Giữ ở 165 °C trong 20 min. Nhiệt độ buồng tiêm ở 140 °C, nhiệt độ detector ở 250 °C.

Phân tích trên hệ A

Tiêm 1 ml pha hơi của dung dịch đối chiếu (a), ghi sắc ký đồ ở các điều kiện sao cho có thể xác định được tỷ lệ tín hiệu/nhiễu của 1,1,1-tricloroethan. Tỷ lệ tín hiệu/nhiễu của 1,1,1-tricloroethan không được nhỏ hơn 5; xem sắc ký đồ tại Hình 10.14-1.

Tiêm 1 ml pha hơi của dung dịch đối chiếu (a_1). Pic của các dung môi nhóm 1 thường được phát hiện.

Tiêm 1 ml pha hơi của dung dịch đối chiếu (b), ghi sắc ký đồ ở các điều kiện sao cho hệ số phân giải giữa acetonitril và methylen clorid có thể xác định được. Hệ sắc ký A sẽ thích hợp nếu hệ số phân giải giữa acetonitril và methylen clorid không nhỏ hơn 1,0 và sắc ký đồ có dạng như Hình 10.14-2.

Tiêm 1 ml pha hơi của dung dịch thử lên cột phân tích của hệ A. Nếu sắc ký đồ thu được không có pic nào tương ứng với một trong các pic của những dung môi tồn dư trong sắc ký đồ cho bởi các dung dịch đối chiếu (a) và (b) thì mẫu thử đạt yêu cầu. Nếu sắc ký đồ của mẫu thử có pic tương ứng với pic của một trong những dung môi tồn dư trong sắc ký đồ cho bởi các dung dịch đối chiếu (a) và (b), thì phải tiếp tục phân tích trên hệ B.

Phân tích trên hệ B

Tiêm 1 ml pha hơi của dung dịch đối chiếu (a) ghi sắc ký đồ ở các điều kiện sao cho có thể xác định được tỷ lệ tín hiệu/nhiễu của benzen. Tỷ lệ tín hiệu/nhiễu của benzen không được nhỏ hơn 5. Xem sắc ký đồ tại Hình 10.14-3.

Tiêm 1 ml pha hơi của dung dịch đối chiếu (a_1). Pic của các dung môi nhóm 1 thường được phát hiện.

Tiêm 1 ml pha hơi của dung dịch đối chiếu (b), ghi sắc ký đồ ở các điều kiện sao cho hệ số phân giải giữa acetonitril và tricloroethylen có thể xác định được. Hệ sắc ký B sẽ thích hợp nếu hệ số phân giải giữa acetonitril và tricloroethylen không nhỏ hơn 1,0 và sắc ký đồ có dạng như Hình 10.14-4.

Tiêm 1 ml pha hơi của dung dịch thử. Nếu sắc ký đồ thu được không có pic nào tương ứng với một trong các pic của dung môi tồn dư trong sắc ký đồ cho bởi các dung dịch đối chiếu (a) và (b) thì mẫu thử đạt yêu cầu. Nếu sắc ký đồ của mẫu thử có pic tương ứng với một trong những pic của dung môi tồn dư trong sắc ký đồ cho bởi các dung dịch đối chiếu (a) và (b) và phù hợp với kết quả phân tích trên hệ A thì tiến hành như sau:

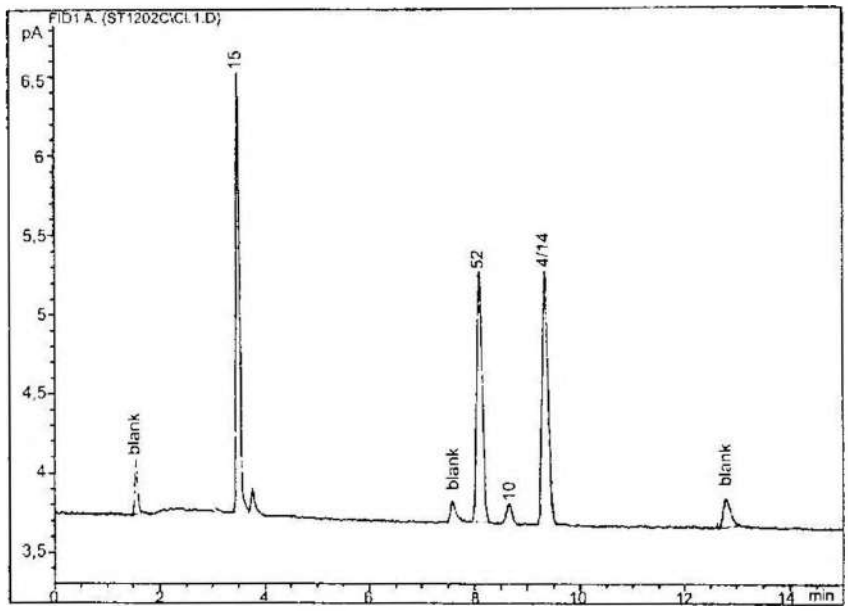
Tiêm 1 ml pha hơi của dung dịch đối chiếu (c) lên cột phân tích của hệ A hoặc B. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao của pic dung môi tồn dư (hay của các dung môi tồn dư) không dưới 50 % của thang đo.

Tiêm 1 ml pha hơi của dung dịch đối chiếu (d) lên cột. Phải không có pic nhiễu nào được phát hiện. Tiêm 1,0 ml pha hơi của dung dịch thử và 1,0 ml pha hơi của dung dịch đối chiếu (c) lên cột. Tiêm lặp lại 2 lần nữa.

Diện tích pic trung bình của dung môi tồn dư trong sắc ký đồ cho bởi dung dịch thử không được lớn hơn một nửa (1/2) diện tích trung bình của pic tương ứng trong sắc ký

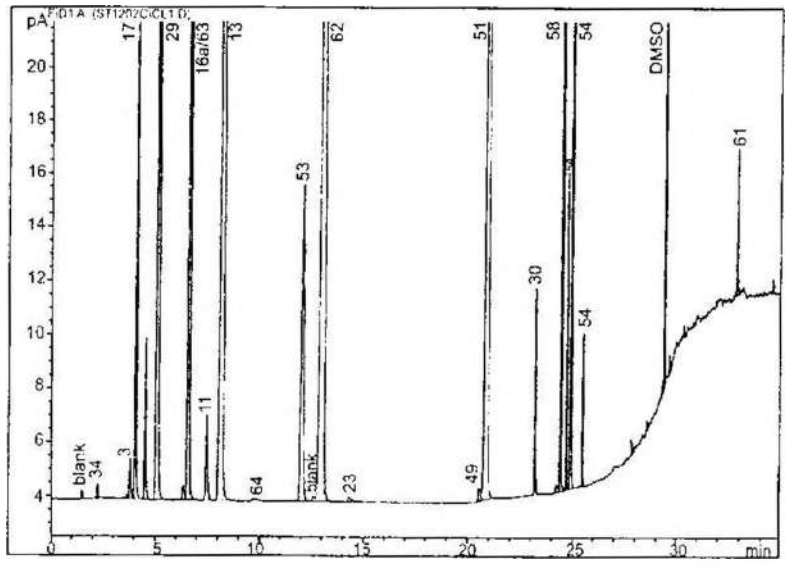
đồ cho bởi dung dịch đối chiếu (c). Thử nghiệm chỉ có giá trị nếu độ lệch chuẩn tương đối của các hiệu số giữa ba cặp diện tích pic của chất phân tích thu được từ dung dịch đối chiếu (a) và dung dịch thử nhỏ hơn 15 %.

Khi hàm lượng dung môi tồn dư thuộc nhóm 2 hoặc nhóm 3 ở mức 0,1 % hoặc lớn hơn thì có thể tiến hành định lượng bằng phương pháp thêm chuẩn.



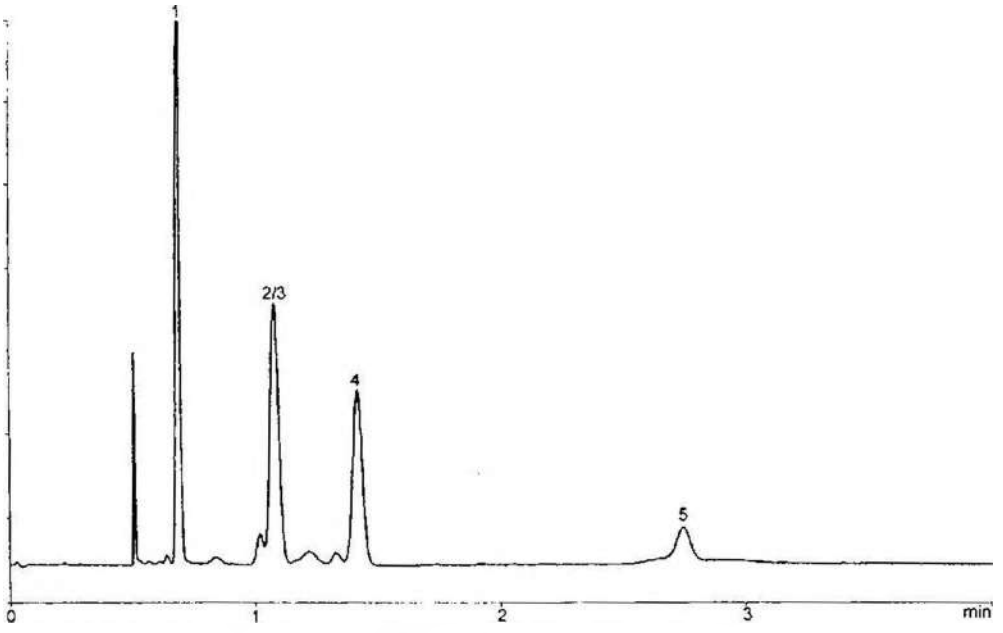
4. benzen
10. carbon tetrachlorid
14. 1,2-dicloroethan
15. 1,1-dicloroethylen
52. 1,1,1-tricloroethan

Hình 10.14-1 - Sắc ký đồ các dung môi nhóm 1 phân tích trên hệ thống A theo qui trình 1. Detector ion hóa ngọn lửa



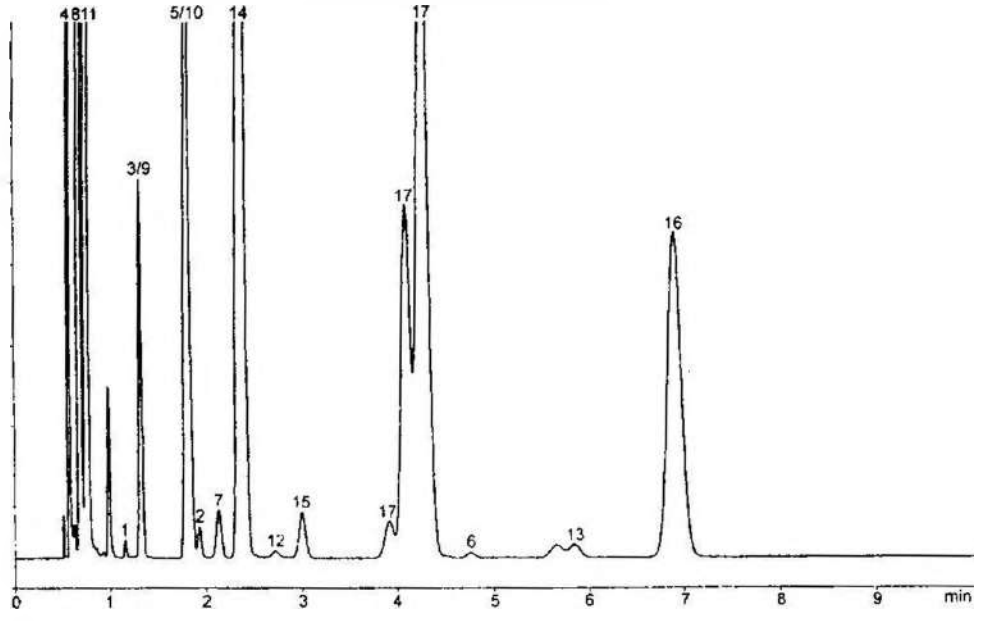
3. acetonitril
11. cloroform
13. cyclohexan
30. 2-hexanon
16a. *cis*-1,2- dicloroethylen
17. diclorometan
23. 1,4-dioxan
29. hexan
54. xylen (ortho, meta, para)
34. methanol
49. pyridin
51. toluen
53. 1,1,2-tricloroethylen
64. 1,2-dimethoxyethan
58. clorobenzen
61. tetralin
62. methylcyclohexan
63. nitromethan

Hình 10.14-2 - Sắc ký đồ các dung môi nhóm 2 phân tích trên hệ thống A theo qui trình 1. Detector ion hóa ngọn lửa



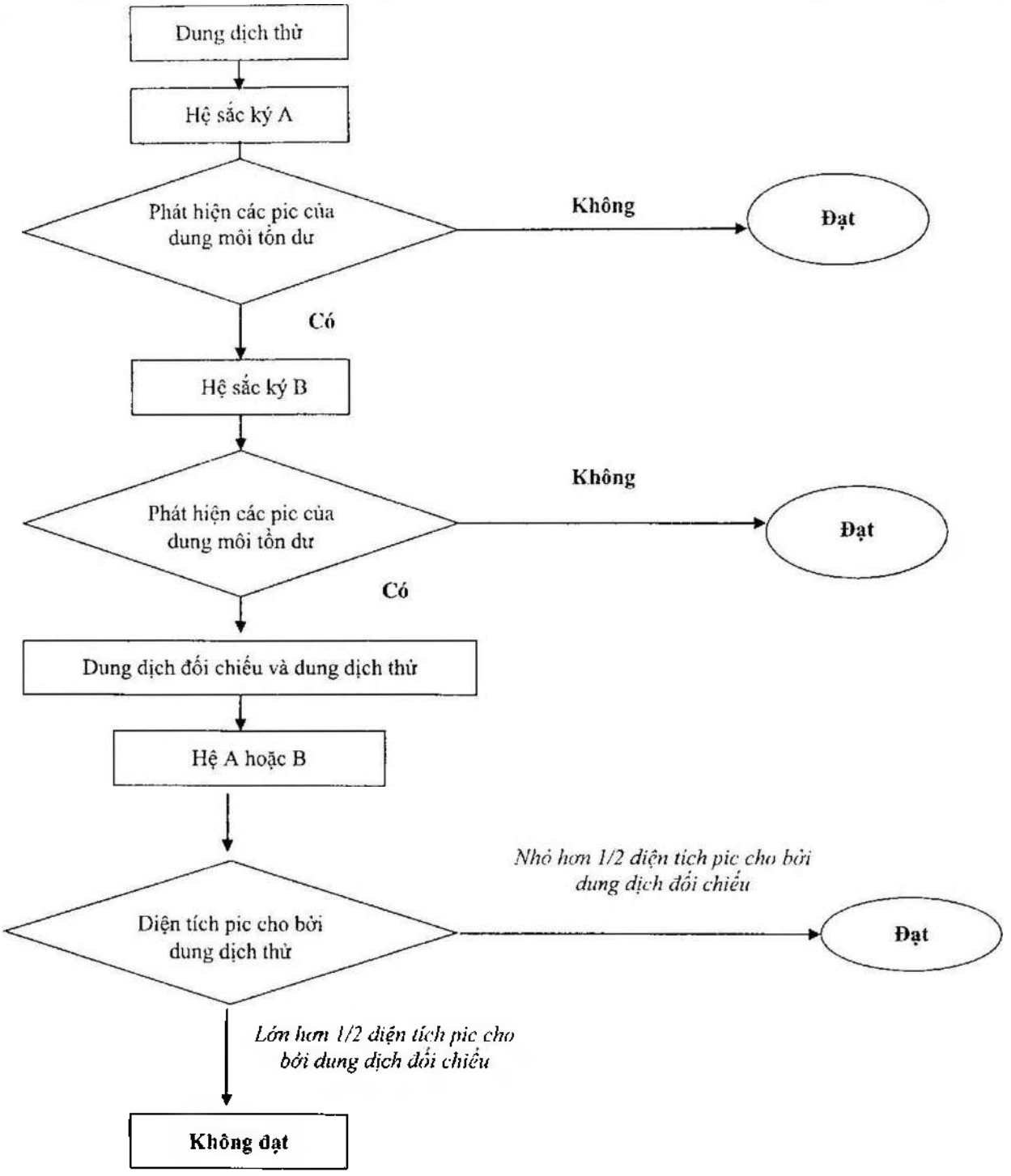
1. 1,1-dicloroethen
2. 1,1,1-tricloroethan
3. carbon tetraclorid
4. benzen
5. 1,2-dicloroethan

Hình 10.14-3 - Sắc ký đồ các dung môi nhóm 1 phân tích trên hệ thống B theo qui trình 1. Detector ion hóa ngọn lửa



1. methanol
2. acetonitril
3. dicloromethan
4. hexan
5. *cis*-1,2-dichloroethen
6. nitromethan
7. cloroform
8. cyclohexan
9. 1,2-dimethoxyethan
10. 1,1,2-tricloroethen
11. methylcyclohexan
12. 1,4-dioxan
13. pyridin
14. toluen
15. 2-hexanon
16. clorobenzen
17. xylen (ortho, meta, para)
18. tetralin (t_r – 28 min).

Hình 10.14-4 - Sắc ký đồ các dung môi nhóm 2, phân tích trên hệ thống B theo qui trình 1. Detector ion hóa ngọn lửa



Hình 10.14-5 - Sơ đồ các bước tiến hành định tính và thử giới hạn các dung môi tồn dư

10.14.1 Quy định đối với tạp chất là dung môi tồn dư
(Theo tài liệu CPMP/ICH/283/95)

1. Mở đầu

Mục tiêu của Quy định này là đề ra lượng dung môi cho phép tồn dư trong dược phẩm, nhằm bảo đảm sự an toàn của người bệnh. Quy định khuyến cáo dùng các dung môi ít độc và đưa ra những giới hạn độc tính có thể chấp nhận được đối với một số dung môi.

Dung môi tồn dư trong dược phẩm là các chất hữu cơ bay hơi, được sử dụng hoặc sinh ra trong quá trình sản xuất các dược chất, tá dược hoặc trong quá trình bào chế các dược phẩm. Các dung môi này không loại bỏ được hoàn toàn trong quá trình sản xuất. Sự chọn lọc dung môi thích hợp dùng trong tổng hợp các dược chất có thể nâng cao sản lượng hoặc quyết định các đặc tính như dạng tinh thể, độ tinh khiết, tính hòa tan của sản phẩm. Vì vậy, đôi khi dung môi là một yếu tố quyết định trong quy trình tổng hợp. Quy định này không đề cập đến các dung môi dùng có cân nhắc kỹ lưỡng như một chất phụ gia, hoặc đến các solvat. Tuy nhiên hàm lượng dung môi trong các sản phẩm loại này phải được xác định và chứng minh hợp lý.

Vì các dung môi tồn dư không có tác dụng điều trị, các dung môi này phải được loại bỏ đến mức tối đa để đạt được các yêu cầu kỹ thuật của sản phẩm, việc thực hành tốt sản xuất (GMP) hoặc các yêu cầu chất lượng khác. Dược phẩm phải chứa một mức dung môi tồn dư không được cao hơn các dữ liệu an toàn. Phải tránh dùng một số dung môi có độc tính không thể chấp nhận được (dung môi Nhóm 1, Bảng 10.14.1-1), trừ khi lợi ích của việc sử dụng chúng được xác định chắc chắn. Một số dung môi có độc tính ít nguy hiểm hơn (dung môi Nhóm 2, Bảng 10.14.1-2) cũng cần phải dùng hạn chế, để bảo vệ người bệnh khỏi tác dụng độc hại. Tốt nhất phải dùng các dung môi ít độc (dung môi Nhóm 3, Bảng 10.14.1-3).

2. Phạm vi áp dụng

Các dung môi tồn dư trong dược chất, tá dược và dược phẩm thuộc phạm vi áp dụng của quy định này. Vì thế phải thực hiện phép thử tìm các dung môi tồn dư trong quá trình sản xuất hay tinh chế để kiểm soát sự hiện diện của chúng. Chỉ cần kiểm tra đối với các dung môi đã được sử dụng hay được sản sinh ra trong quá trình sản xuất hoặc tinh chế các dược chất, tá dược hoặc dược phẩm đó. Mặc dù các nhà sản xuất có thể chọn phương pháp xác định hàm lượng dung môi tồn dư trong sản phẩm, ta vẫn có thể tính hàm lượng đó, đi từ hàm lượng dung môi tồn dư trong các thành phần dùng để sản xuất ra sản phẩm đó. Nếu kết quả tính toán bằng hoặc thấp hơn giới hạn cho phép đã được khuyến cáo trong bản quy định này, thì không cần tiến hành thí nghiệm trên sản phẩm. Trái lại, nếu kết quả tính được vượt mức giới hạn cho phép, dược phẩm phải được thử nghiệm để biết chắc chắn lượng tồn dư dung môi đó có nằm trong phạm vi cho phép không. Sản phẩm cũng phải được thử nghiệm nếu có dùng dung môi trong quá trình sản xuất.

Quy trình này không áp dụng cho dược chất, tá dược hoặc sản phẩm mới đang trong quá trình nghiên cứu áp dụng lâm sàng và cũng không áp dụng cho các dược phẩm đang được lưu hành trên thị trường.

Quy định này áp dụng cho mọi dạng bào chế và mọi cách dùng thuốc. Trong một vài trường hợp, có thể cho phép giới hạn dung môi tồn dư cao hơn như khi dùng trong thời gian ngắn (30 ngày hay ít hơn), hoặc khi dùng dạng thuốc đắp. Việc chứng minh sự đúng đắn của giới hạn cao này phải dựa trên cơ sở của từng trường hợp một.

Xem Chú thích 2 (ở bên dưới) để biết thêm thông tin cơ bản có liên quan tới các dung môi tồn dư.

3. Các nguyên tắc cơ bản

Phân loại dung môi tồn dư theo mức độ nguy hiểm

Thuật ngữ "liều có thể dung nạp được cho mỗi ngày" (*tolerable daily intake, TDI*) được Chương trình quốc tế về an toàn hóa chất (IPCS) sử dụng và thuật ngữ "liều có thể dùng mỗi ngày" (*acceptable daily intake ADI*) được Tổ chức Y tế Thế giới, các Viện và các cơ quan quản lý sức khỏe quốc gia và quốc tế khác sử dụng để chỉ giới hạn hàm lượng các hóa chất độc có thể dùng mỗi ngày.

Thuật ngữ mới "liều phơi nhiễm được phép mỗi ngày" (*permitted daily exposure, PDE*) được nêu trong Quy định này là một lượng dung môi tồn dư trong dược phẩm có thể đưa vào cơ thể, để tránh nhầm với liều ADI của cùng dung môi.

Các dung môi tồn dư ghi trong Quy định này được liệt kê theo tên thông thường. Chúng được phân làm 3 nhóm, tùy thuộc khả năng gây độc đối với sức khỏe con người, như sau:

Nhóm 1: Các dung môi phải tránh sử dụng

Các chất gây ung thư cho người hay có khả năng gây ung thư cho người rõ rệt. Các chất gây nhiễm độc môi trường.

Nhóm 2: Các dung môi phải hạn chế sử dụng

Các chất gây ung thư trên động vật, không độc cho gen hoặc các tác nhân có thể gây độc không hồi phục như độc tính trên thần kinh hoặc gây quái thai. Các dung môi nghi có độc tính quan trọng, nhưng hồi phục được.

Nhóm 3: Các dung môi độc tính thấp

Các dung môi có độc tính thấp trên người: Không cần xác định liều gây tác hại cho sức khỏe.

Các dung môi Nhóm 3 có liều phơi nhiễm được phép mỗi ngày (PDE) bằng hoặc lớn hơn 50 mg/ngày.

Phương pháp xác định giới hạn phơi nhiễm

Phương pháp dùng để xác định liều PDE của các dung môi tồn dư được giới thiệu trong Chú thích 3. Tóm tắt các dữ liệu về độc tính dùng để thiết lập PDE được công bố trong *Pharmeuropa Vol 1, No 1, Supplement April/1997.*

Phương pháp xác định giới hạn dung môi Nhóm 2

Có hai cách có thể áp dụng để xác định giới hạn cho các dung môi Nhóm 2.

Cách 1:

Có thể dùng hàm lượng (nồng độ) giới hạn tính theo phần triệu (ppm) ghi trong Bảng 10.14.1-2. Các nồng độ này

được tính theo công thức (1) với lượng chế phẩm dùng mỗi ngày cho là 10 g.

$$\text{Nồng độ (phần triệu)} = \frac{1000 \times PDE}{10} \quad (1)$$

Trong đó:
PDE là liều phơi nhiễm được phép mỗi ngày tính theo mg/ngày; 10 là số lấy làm lượng chế phẩm dùng trong mỗi ngày và tính theo g/ngày.
Giới hạn này áp dụng cho mọi dược chất, tá dược hoặc dược phẩm. Cách 1 có thể áp dụng nếu liều dùng hàng ngày không được biết hoặc không được quy định cụ thể. Khi mọi tá dược, dược chất có trong công thức bào chế đáp ứng với giới hạn cho bởi cách 1, các thành phần của chế phẩm có thể dùng theo bất kỳ tỷ lệ nào. Không cần tính toán gì thêm, nếu liều dùng mỗi ngày không quá 10 g. Chế phẩm có liều dùng lớn hơn 10 g mỗi ngày phải tính theo cách 2.
Cách 2:
Không nhất thiết mỗi thành phần của dược phẩm đều phải đáp ứng giới hạn đã đưa ra trong cách 1. Có thể dùng PDE tính theo mg/ngày ghi trong Bảng 10.14.1-2, cùng với liều tối đa mỗi ngày và công thức (1) để xác định hàm lượng dung môi tồn dư cho phép trong dược phẩm. Các giới hạn này được chấp nhận miễn là chứng minh được rằng dung môi tồn dư đã được giảm đến lượng thực tế tối thiểu. Các giới hạn này phải thực tế có liên quan đến độ chính xác của phép phân tích, điều kiện sản xuất, các thay đổi hợp lý của quá trình sản xuất và các giới hạn phải thực hiện các tiêu chuẩn công nghệ đương thời.
Có thể áp dụng cách 2 bằng cách cộng các lượng dung môi tồn dư trong mỗi thành phần của chế phẩm. Tổng lượng dung môi dùng trong ngày phải thấp hơn PDE.
Hãy xét một ví dụ áp dụng cách 1 và cách 2 cho dung môi acetonitril trong một dược phẩm. PDE của acetonitril là 4,1 mg/ngày. Như vậy, giới hạn tính theo cách 1 là 410 phần triệu (410 ppm). Lượng dùng tối đa mỗi ngày của dược phẩm là 5,0 g; dược phẩm chứa 2 tá dược. Thành phần dược phẩm và hàm lượng tối đa của acetonitril tồn dư thể hiện trong bảng sau đây:

Thành phần	Lượng trong công thức bào chế	Hàm lượng acetonitril	Lượng phơi nhiễm mỗi ngày
Dược chất	0,3 g	800×10^{-6}	0,24 mg
Tá dược 1	0,9 g	400×10^{-6}	0,36 mg
Tá dược 2	3,8 g	800×10^{-6}	3,04 mg
Dược phẩm	5,0 g	728×10^{-6}	3,64 mg

Tá dược 1 đáp ứng giới hạn tính theo cách 1.
Tá dược 2, dược chất và dược phẩm không đáp ứng giới hạn tính theo cách 1.
Tuy thế, dược phẩm tính theo cách 2 đáp ứng giới hạn 4,1 mg/ngày, và như vậy phù hợp với yêu cầu của quy định này.

Hãy xét một ví dụ khác, coi acetonitril là dung môi tồn dư. Lượng dùng tối đa mỗi ngày của một dược phẩm là 5,0 g, dược phẩm có chứa 2 tá dược. Thành phần dược phẩm và hàm lượng tối đa của acetonitril tồn dư thể hiện trong bảng sau:

Thành phần	Lượng trong công thức chế	Hàm lượng acetonitril	Lượng phơi nhiễm mỗi ngày
Dược chất	0,3 g	800×10^{-6}	0,24 mg
Tá dược 1	0,9 g	2000×10^{-6}	1,80 mg
Tá dược 2	3,8 g	800×10^{-6}	3,04 mg
Dược phẩm	5,0 g	1016×10^{-6}	5,08 mg

Trong ví dụ này, dược phẩm không đáp ứng giới hạn tính theo cách 1 và cả cách 2 bằng cách cộng. Nhà sản xuất phải thử nghiệm dược phẩm để xem quá trình bào chế có làm giảm mức độ tồn dư của acetonitril không. Nếu suốt quá trình bào chế, mức acetonitril không giảm tới giới hạn cho phép, khi đó nhà sản xuất phải tiến hành các bước làm giảm lượng acetonitril trong dược phẩm. Nếu tất cả các bước này không làm giảm được mức tồn dư của acetonitril, trong trường hợp đặc biệt, nhà sản xuất có thể cung cấp bản tóm tắt những cố gắng để giảm lượng dung môi tồn dư, nhằm đạt quy định này, và đưa ra lý lẽ phân tích nguy cơ/lợi ích khi dùng chế phẩm có chứa dung môi tồn dư ở mức cao này.

Qui trình phân tích dung môi tồn dư
Phương pháp phân tích dung môi tồn dư thông thường là dùng kỹ thuật sắc ký như sắc ký khí. Nếu thích hợp, dùng phương pháp xác định dung môi tồn dư mô tả trong dược điển. Ngoài ra, nhà sản xuất có thể tự do chọn lựa một quy trình phân tích có hiệu lực thích hợp nhất để áp dụng riêng. Nếu chỉ hiện diện dung môi Nhóm 3 thôi, có thể dùng một phương pháp không đặc hiệu như phương pháp Xác định mất khối lượng do làm khô (Phụ lục 9.6).
Thẩm định các phương pháp xác định dung môi tồn dư phải tuân thủ các quy định của ICH (Hội nghị quốc tế về hài hòa các yêu cầu kỹ thuật để đăng ký các thuốc dùng cho người) ghi trong "Văn bản thẩm định quy trình phân tích" (*Text on validation of analytical procedures*) và "Mở rộng văn bản thẩm định quy trình phân tích" (*Extension of the ICH Text on validation of analytical procedures*).

Báo cáo mức dung môi tồn dư
Nhà sản xuất dược phẩm cần nắm chắc thông tin về nồng độ dung môi tồn dư trong dược chất và tá dược để dược phẩm sản xuất ra đạt được mức của Quy định này.
Sau đây là các ví dụ về các thông tin mà nhà cung cấp tá dược hay dược chất có thể cung cấp cho nhà sản xuất dược phẩm. Nhà cung cấp có thể chọn một trường hợp thích hợp trong số các trường hợp sau đây:
Chỉ có các dung môi Nhóm 3 hiện diện. Mất khối lượng do làm khô không quá 0,5 %.
Chỉ có các dung môi Nhóm 2 (X, Y...) hiện diện. Tất cả phải thấp hơn giới hạn tính theo cách 1 (ở đây, nhà cung cấp chỉ rõ tên các dung môi Nhóm 2: X, Y...).

Chỉ có các dung môi Nhóm 2 (X, Y...) và các dung môi Nhóm 3 hiện diện. Các dung môi Nhóm 2 tồn dư phải dưới mức giới hạn tính theo cách 1 và các dung môi Nhóm 3 tồn dư không quá 0,5 %.

Nếu chắc chắn hiện diện các dung môi Nhóm 1 thì phải định tính và định lượng chúng. Dung môi chắc chắn hiện diện là những dung môi được dùng trong giai đoạn cuối của quy trình sản xuất và các dung môi khác được dùng trước đó mà không được loại bỏ hoàn toàn bằng các biện pháp hữu hiệu.

Nếu dung môi Nhóm 2 hoặc Nhóm 3 hiện diện ở mức lớn hơn giới hạn cho phép tính theo Cách 1 (Nhóm 2) hay lớn hơn 0,5 % (Nhóm 3) thì chúng phải được định tính và định lượng.

4. Giới hạn dung môi tồn dư

Dung môi phải tránh sử dụng

Không được sử dụng các dung môi Nhóm 1 trong việc sản xuất dược chất, tá dược và dược phẩm. Chúng có độc tính không thể chấp nhận được, hoặc có tác hại đến môi trường. Khi buộc phải sử dụng chúng trong quy trình sản xuất một dược phẩm có tác dụng trị liệu vượt trội rõ rệt, phải tuân thủ giới hạn ghi trong Bảng 10.14.1-1; trừ trường hợp buộc phải chấp nhận giới hạn lớn hơn đã được giải thích chứng minh rõ. Dung môi 1,1,1-tricloroethan được xếp trong Bảng 10.14.1-1 vì là một tác nhân nguy hại cho môi trường. Giới hạn 1500 phần triệu dựa trên cơ sở thông tin về dữ liệu an toàn.

Dung môi phải hạn chế sử dụng

Các dung môi trong Bảng 10.14.1-2 phải được quy định mức giới hạn có trong dược phẩm vì độc tính vốn có của chúng. Các giá trị PDE được đưa ra dao động trong khoảng 0,1 mg/ngày. Hàm lượng tồn dư trong dược phẩm dao động trong khoảng 10 phần triệu.

Dung môi có độc tính thấp

Các dung môi Nhóm 3 (có trong Bảng 10.14.1-3) có thể coi như ít độc và có nguy cơ thấp đối với sức khỏe con người. Nhóm 3 bao gồm các dung môi không nguy hiểm đối với sức khỏe con người ở hàm lượng thường được chấp nhận trong dược phẩm. Tuy nhiên chưa có các nghiên cứu về độc tính trường diễn và về khả năng gây ung thư của nhiều dung môi thuộc nhóm này. Các dữ liệu hiện có cho thấy các dung môi này tỏ ra ít độc trong các nghiên cứu cấp diễn hoặc ngắn hạn và cho kết quả âm tính với những thử nghiệm độc tính trên gen. Do đó, coi như được phép dùng các dung môi này với lượng 50 mg mỗi ngày hoặc thấp hơn (tương ứng với hàm lượng 5000 × 10^{-6} hoặc 0,5 % tính theo cách 1) mà không cần phải thuyết minh. Có thể dùng ở mức cao hơn, miễn là thực tế các mức đó có liên quan đến khả năng sản xuất và thực hành sản xuất tốt.

Dung môi chưa có đủ thông tin về độc tính

Các dung môi trong Bảng 10.14.1-4 có thể cũng được các nhà sản xuất dược chất, tá dược hoặc dược phẩm quan tâm. Tuy nhiên, chưa có các dữ liệu đầy đủ về độc tính của chúng để làm cơ sở cho việc xác định PDE. Khi sử dụng các dung môi này trong sản xuất, nhà sản xuất phải giải trình rõ ràng sự tồn dư của các dung môi này trong sản phẩm của mình.

Bảng 10.14.1-1: Nhóm 1, các dung môi phải tránh sử dụng trong dược phẩm

Dung môi	Nồng độ giới hạn (µg/g)	Độc tính
Benzen	2	Gây ung thư
Carbon tetraclorid	4	Độc và nguy hại cho môi trường
1,2- Dicloroethan	5	Độc
1,1- Dicloroethen	8	Độc
1,1,1- Tricloroethan	1500	Nguy hại cho môi trường

Bảng 10.14.1-2: Nhóm 2, các dung môi phải hạn chế sử dụng trong dược phẩm

Dung môi	Liều phơi nhiễm được phép mỗi ngày (PDE) (mg/ngày)	Nồng độ giới hạn (µg/g)
Acetonitril	4,1	410
Clorobenzen	3,6	360
Cloroform	0,6	60
Cyclohexan	38,8	3880
1,2- Dicloroethen	18,7	1870
Diclorometan	6,0	600
1,2- Dimethoxyethan	1,0	100
N,N- Dimethylacetamid	10,9	1090
N,N- Dimethylformamid	8,8	880
1,4- Dioxan	3,8	380
2- Ethoxyethanol	1,6	160
Ethylenglycol	6,2	620
Formamid	2,2	220
Hexan	2,9	290
Methanol	30,0	3000
2- Methoxyethanol	0,5	50
Methylbutylketon	0,5	50
Methylcyclohexan	11,8	1180
N- Methylpyrrolidon	5,3	530
Nitromethan	0,5	50
Pyridin	2,0	200
Sulfolan	1,6	160
Tetrahydrofuran	7,2	720
Tetralin	1,0	100
Toluen	8,9	890
1,1,2- Tricloroethen	0,8	80
Xylen*	21,7	2170

** Thường dùng hỗn hợp gồm m-xylen 60 %; p-xylen 14 %; o-xylen 9 % và ethyl benzen 17 %.*

Bảng 10.14.1-3: Nhóm 3, các dung môi phải được giới hạn vì GMP hoặc vì các yêu cầu chất lượng khác

Acid acetic	Heptan
Aceton	Isobutyl acetat
Anisol	Isopropyl acetat
1- Butanol	Methyl acetat
2- Butanol	3- Methyl-1-butanol
Butyl acetat	Methylethylketon
Tert – Butylmethyl ether	Methylisobutylketon
Cumen	2- Methyl-1-propanol
Dimethylsulfoxid	Pentan
Ethanol	1- Pentanol
Ethyl acetat	1- Propanol
Ethyl ether	2- Propanol
Ethyl format	Propyl acetat
Acid formic	

Bảng 10.14.1-4: Các dung môi chưa có đủ thông tin về độc tính

1,1- Diethoxypropan	Methylisopropylketon
1,1- Dimethoxymethan	Methyltetrahydrofuran
2,2- Dimethoxypropan	Petroleum
Isooctan	Acid tricloracetic
Isopropyl ether	Acid trifluoroacetic

Chú thích 1: Thuật ngữ

Genotoxic carcinogens: Tác nhân gây ung thư do tác động lên gen hay chromosom.

LOEL: Viết tắt của từ "lowest-observed effect level" (mức phát hiện gây hại thấp nhất), liều thấp nhất dùng trong một thử nghiệm hay nhóm các thử nghiệm gây sự gia tăng có ý nghĩa sinh học về tần số hoặc về mức độ nghiêm trọng của bất kỳ các tác dụng nào đó trên người hay động vật bị phơi nhiễm.

Modifying factor: Hệ số hiệu chỉnh, là hệ số được chuyên gia độc chất học xác định và áp dụng cho các dữ liệu định lượng sinh học để tính các thông số an toàn cho người.

Neurotoxicity: Nhiễm độc thần kinh

NOEL: Viết tắt của từ "no-observed effect level" (mức không phát hiện gây hại), liều cao nhất của chất đã dùng mà không gây sự gia tăng có ý nghĩa sinh học về tần số hoặc về mức độ nghiêm trọng của bất kỳ các tác dụng nào đó trên người hay động vật bị phơi nhiễm.

PDE: viết tắt của từ "Permitted daily exposure"

Permitted daily exposure: Lượng cao nhất có thể dùng trong một ngày của dung môi tồn dư trong dược phẩm.

Reversible toxicity: Độc tính phục hồi được, tức là sẽ mất đi sau khi kết thúc phơi nhiễm.

Strongly suspected human carcinogen: Tác nhân nghi ngờ gây ung thư trên người, một chất không có dấu hiệu dịch tễ học là có khả năng gây ung thư nhưng lại cho kết quả dương tính về độc tính trên gen và các dấu hiệu rõ ràng về khả năng gây ung thư trên loài gặm nhấm.

Teratogenicity: Độc tính gây quái thai, sự cố gây dị tật về cấu trúc trong quá trình phát triển thai nhi khi sử dụng một chất trong thời kỳ mang thai.

Chú thích 2:

2.1 Quy chế bảo vệ môi trường đối với các dung môi hữu cơ bay hơi

Một số dung môi thường dùng trong sản xuất dược phẩm được liệt kê như các hóa chất độc trong các chuyên luận EHC (Environmental Health Criteria) và IRIS (Integrated Risk Information System). Trong các mục tiêu của các tổ chức như "Chương trình thế giới về an toàn hóa chất" (IPCS = International Programme on Chemical Safety), "Cơ quan bảo vệ môi trường Mỹ (USEPA = United States Environmental Protection Agency) và "Cơ quan quản lý thực phẩm và dược phẩm Mỹ (USFDA = United States Food and Drug Administration) có việc xác định các mức phơi nhiễm có thể chấp nhận được. Mục đích là bảo vệ sức khỏe con người và giữ gìn sự trong sạch vẹn toàn của môi trường, chống lại các tác dụng có thể có hại của các hóa chất do phơi nhiễm lâu dài tại môi trường. Các phương pháp dùng để xác định mức tối đa phơi nhiễm an toàn thường được căn cứ trên các thử nghiệm dài hạn. Khi không có các dữ liệu từ những thử nghiệm dài hạn, có thể dùng dữ liệu từ các thử nghiệm ngắn hạn với việc cải tiến cách tiếp cận như việc sử dụng các yếu tố hệ số an toàn lớn hơn. Cách tiếp cận nói ở trên đây chủ yếu liên quan tới các phơi nhiễm dài hạn hay suốt đời, đối với các cộng đồng dân cư, trong môi trường xung quanh như không khí, thức ăn, nước uống và các môi trường khác.

2.2. Dung môi tồn dư trong thuốc

Các giới hạn phơi nhiễm trong Quy định này được thiết lập căn cứ vào các phương pháp và các dữ liệu về độc tính mô tả trong các tiêu chuẩn EHC và trong các chuyên luận của EHC và IRIS. Tuy nhiên, một số giả định đặc biệt về dung môi tồn dư trong việc tổng hợp và bào chế các dược phẩm phải được tính đến khi thiết lập các giới hạn phơi nhiễm. Đó là:

1/ Những người bệnh (không phải toàn thể cộng đồng) phải sử dụng thuốc để phòng hoặc chữa bệnh.

2/ Việc giả định người bệnh bị phơi nhiễm suốt đời là không cần thiết đối với đa số các dược phẩm, song có thể thích hợp như một giả thiết nghiên cứu, nhằm giảm nguy cơ đến sức khỏe con người.

3/ Các dung môi tồn dư là những thành phần không thể tránh được trong sản xuất dược phẩm và còn thường là một phần của thuốc.

4/ Các dung môi tồn dư phải không được vượt quá các mức độ khuyến cáo, trừ những trường hợp đặc biệt.

5/ Các dữ liệu từ các nghiên cứu độc chất học dùng để xác định các mức chấp nhận được cho các dung môi tồn dư phải được thiết lập bằng cách sử dụng các quy trình thích hợp, chẳng hạn các quy trình do OECD mô tả và

sử dụng cuốn sách đỏ của Tổ chức quản lý thực phẩm và dược phẩm của Mỹ (*FDA Red book*).

Chú thích 3: Phương pháp thiết lập các giới hạn phơi nhiễm Phương pháp đánh giá nguy cơ của Gaylor - Kodell (Xem: Gaylor, D.W. và Kodell, R. L. - Thuật toán nội suy tuyến tính để đánh giá liều thấp của các chất độc. *J. Environ Pathology, 4, 305, 1980)* thích hợp với các dung môi gây ung thư thuộc Nhóm 1. Chỉ trong các trường hợp đã có các dữ liệu đáng tin cậy về tính gây ung thư thì phải áp dụng ngoại suy bằng cách dùng các mô hình toán học để thiết lập các giới hạn phơi nhiễm. Các giới hạn phơi nhiễm của các dung môi Nhóm 1 có thể được xác định với việc sử dụng một thông số an toàn lớn (từ 10 000 đến 100 000) đối với "mức không phát hiện gây hại" (NOEL). Việc phát hiện và định lượng các dung môi này phải được thực hiện bằng các kỹ thuật phân tích tiên tiến.

Các mức phơi nhiễm chấp thuận được của các dung môi Nhóm 2 ghi trong quy định này được thiết lập bằng cách tính các giá trị PDE theo các quy trình xác định giới hạn phơi nhiễm của các thuốc (xem *Pharmacopeial Forum 11-12/1989*) và theo phương pháp đã được Chương trình thế giới về an toàn hóa chất (IPCS) thừa nhận nhằm đánh giá nguy cơ đối với sức khỏe con người do hóa chất (xem *Environmental Health Criteria 170, WHO, 1994)*. Các phương pháp này tương tự như các phương pháp của Cơ quan bảo vệ môi trường Mỹ (USEPA) và của Cơ quan quản lý thực phẩm và dược phẩm Mỹ (USFDA) và các tổ chức khác nữa. Phương pháp được giới thiệu sơ lược ở đây nhằm cung cấp một hiểu biết tốt hơn nguồn gốc của các liều phơi nhiễm được phép mỗi ngày (PDE). Không nhất thiết phải thực hiện các phép tính toán này mà sử dụng ngay các giá trị PDE đã ghi trong các bảng trình bày ở Mục 4 của Quy định này.

Giới hạn PDE được tính từ "mức không phát hiện gây hại" (NOEL) hoặc từ "mức phát hiện gây hại thấp nhất" (LOEL) trong thử nghiệm trên súc vật như sau:

$$PDE = \frac{NOEL \times \text{thể trọng quy ước}}{F1 \times F2 \times F3 \times F4 \times F5}$$

Trong đó:

Thể trọng quy ước là khối lượng cơ thể người trưởng thành, không phân biệt giới tính, được quy ước để tính ở đây là 50 kg;

F là các hệ số hiệu chỉnh.

PDE thường được tính từ NOEL. Khi không thiết lập được NOEL, có thể dùng LOEL. Các hệ số hiệu chỉnh đề ra ở đây để chuyển đổi các dữ liệu thử nghiệm trên súc vật sang cho người, cũng tương tự như các "hệ số không chắc chắn" (Uncertainty factors) dùng trong "Tiêu chuẩn trong sạch của môi trường" (EHC) (Xem *Environmental Health Criteria 170, WHO, Geneva, 1994*) và "hệ số hiệu chỉnh" (modifying factors) hay "hệ số an toàn" (safety factors) dùng trong *Pharmacopeial Forum*. Giả định 100 % phơi nhiễm toàn thân được sử dụng trong tất cả các tính toán, bất kể dùng thuốc theo đường nào.

Các hệ số hiệu chỉnh

F1 là hệ số ngoại suy giữa các loài:

F1 = 2, khi ngoại suy từ thử nghiệm trên chó sang người;

F1 = 2,5, khi ngoại suy từ thử nghiệm trên thỏ sang người;

F1 = 3, khi ngoại suy từ thử nghiệm trên khỉ sang người;

F1 = 5, khi ngoại suy từ thử nghiệm trên chuột cống trắng (rat) sang người;

F1 = 10, khi ngoại suy từ thử nghiệm trên các loài động vật khác sang người;

F1 = 12, khi ngoại suy từ thử nghiệm trên chuột nhắt sang người.

F1 tính được khi so sánh tỷ lệ giữa diện tích bề mặt với khối lượng cơ thể của loài vật tham gia thử nghiệm và của người. Diện tích bề mặt (S) được tính như sau:

$$S = k.M^{0,67}$$

Trong đó:

M là khối lượng cơ thể (khối lượng cơ thể của sinh vật tham gia thử nghiệm, dùng trong công thức trên, được liệt kê trong Bảng 10.14.2.5);

k = 10

F2 là hệ số chỉ sự khác biệt giữa các cá thể;

F2 = 10, thường dùng cho tất cả các dung môi hữu cơ và dùng thống nhất trong quy định này;

F3 là một hệ số không hằng định, dùng cho các thử nghiệm phơi nhiễm ngắn hạn;

F3 = 1, cho các thử nghiệm kéo dài ít nhất bằng 1/2 đời sống của vật thí nghiệm (1 năm đối với loài gặm nhấm hoặc thỏ, 7 năm đối với chó, mèo hoặc khỉ);

F3 = 1, cho các thử nghiệm về sinh sản, kéo dài trong suốt thời gian hình thành các cơ quan phủ tạng;

F3 = 2, cho các thử nghiệm kéo dài 6 tháng, trên loài gặm nhấm hoặc 3,5 năm trên các con thú không thuộc loài gặm nhấm;

F3 = 5, cho các thử nghiệm kéo dài 3 tháng, trên loài gặm nhấm, hoặc 2 năm trên các con thú không thuộc loài gặm nhấm;

F3 = 10, cho các thử nghiệm ngắn hạn hơn.

Trong mọi trường hợp, khi thử nghiệm kéo dài trong khoảng thời gian nằm giữa 2 mốc thời gian quy định ở trên, thì ta cho F3 giá trị cao, ứng với mốc thời gian thử nghiệm ngắn. Ví dụ: F3 = 2 trong thử nghiệm kéo dài 9 tháng trên loài gặm nhấm (vì 9 tháng nằm trong mốc 1 năm và 6 tháng, do đó lấy F3 bằng F3 của mốc 6 tháng).

F4 là một hệ số áp dụng trong các trường hợp độc tính nghiêm trọng như: Gây ung thư không độc cho gen, độc tính thần kinh, độc tính gây quái thai. Trong các thử nghiệm về độc tính sinh sản, hệ số này được dùng như sau:

F4 = 1, khi gây độc trên bào thai cùng với gây độc trên mẹ;

F4 = 5, khi gây độc trên bào thai, nhưng không gây độc trên mẹ;

F4 = 5, khi gây quái thai cùng với gây độc trên mẹ;

F4 = 10, khi gây quái thai trên bào thai, nhưng không gây độc trên mẹ;

F5 là một hệ số không hằng định, áp dụng khi không thiết lập được "mức không phát hiện gây hại" (NOEL). Khi chỉ

có thể xác định được "mức gây hại thấp nhất" (LOEL), có thể cho F5 giá trị cao, có thể tới F5 = 10, tuỳ thuộc vào mức độ nghiêm trọng của độc tính.

Khối lượng cơ thể (cân nặng) quy ước cho người trưởng thành, không phân biệt giới tính ở đây là 50 kg. Khối lượng này tương đối thấp hơn khối lượng chuẩn mực (60 kg đến 70 kg) thường áp dụng trong các tính toán cùng loại (tính liều dùng thuốc) là nhằm mục đích an toàn.

Một số người bệnh có cân nặng nhẹ hơn 50 kg, những người bệnh này phải được xem xét điều chỉnh bằng cách dùng hệ số an toàn xác định PDE.

Nếu dung môi có trong một công thức dược phẩm chuyên dùng cho Nhi khoa, ta phải điều chỉnh thích hợp, vì khối lượng cơ thể của trẻ thấp.

Ví dụ áp dụng công thức tính PDE:

Hãy xét một thử nghiệm độc tính của acetonitril trên chuột nhắt, thử nghiệm này được tóm tắt trong *Pharmaeuropa Vol 9, No1, Supplement April 1997 page S 24*, "mức không phát hiện gây hại" (NOEL) là 50,7 mg/kg/ngày. PDE của acetonitril trong thử nghiệm này được tính như sau:

$$PDE = \frac{50{,}7 mg.kg^{-1}.ngày^{-1} \times 50kg}{12 \times 10 \times 5 \times 1 \times 1} = 4{,}22 \text{ mg/ngày}$$

Trong đó:

F1 = 12 là hệ số ngoại suy từ thử nghiệm trên chuột nhắt sang người;

F2 = 10 là hệ số khác biệt giữa các cá thể (thống nhất quy định là F2 = 10);

F3 = 5 khi thời gian thử nghiệm chỉ có 13 tuần (> 3 tháng);

F4 = 1 khi không thấy độc tính nghiêm trọng nào;

F5 = 1 khi "mức không phát hiện gây độc hại" (NOEL) được xác định.

Phương trình dùng cho khí lý tưởng PV = nRT được áp dụng để chuyển hàm lượng chất khí trong thử nghiệm dùng phương pháp xông (inhalation studies) từ đơn vị phần triệu thành đơn vị mg/L hay mg/m³.

Hãy xét thử nghiệm độc tính sinh sản trên chuột trắng bằng cách xông khí carbon tetraclorid (khối lượng phân tử 153,84) đã được tóm tắt trong *Pharmaeuropa Vol 9, No1, Supplement April 1997, p.S9:*

$$\frac{n}{V} = \frac{P}{RT} = \frac{300 \times 10^{-6} atm \times 153840 mg.mol^{-1}}{0{,}082 L.atm.K^{-1}.mol^{-1} \times 298K} = \frac{46{,}15 mg}{24{,}43 L}$$

Dùng công thức 1000 L = 1 m³ để suy ra hàm lượng mg/m³

Bảng 10.14.1-5: Các giá trị dùng tính toán trong tài liệu này

Cân nặng của chuột cống trắng (Rat)	425 g
Cân nặng của chuột cống trắng có thai (Pregnant rat)	330 g
Cân nặng của chuột nhắt (Mouse)	28 g
Cân nặng của chuột nhắt có thai (Pregnant mouse)	30 g
Cân nặng của chuột lang (Guinea – pig)	500 g
Cân nặng của khỉ Ấn Độ (Rhesus monkey)	25 kg
Cân nặng của thỏ (có thai hoặc không có thai)	4 kg
Cân nặng của chó săn nhỏ (Beagle dog)	11,5 kg
Dung lượng hô hấp của chuột cống trắng (Rat respiratory volume)	290 L/ngày
Dung lượng hô hấp của chuột nhắt	43 L/ngày
Dung lượng hô hấp của thỏ	1440 L/ngày
Dung lượng hô hấp của chuột lang	4301 L/ngày
Dung lượng hô hấp của người	28800 L/ngày
Dung lượng hô hấp của chó	9000 L/ngày
Dung lượng hô hấp của khỉ	1150 L/ngày
Lượng nước chuột nhắt dùng	5 ml/ngày
Lượng nước chuột trắng dùng	30 ml/ngày
Lượng thức ăn chuột trắng dùng	30 g/ngày

10.15 XÁC ĐỊNH ETHYLEN OXYD VÀ DIOXAN TỒN DƯ

Thử nghiệm này xác định ethylen oxyd và dioxan tồn dư trong các chất tan trong nước hay trong dimethylacetamid. Đối với các chất không tan hoặc tan không hoàn toàn trong các dung môi trên, việc chuẩn bị dung dịch mẫu thử và các điều kiện sắc ký khí tiêm pha hơi được qui định trong chuyên luận riêng.

Xác định bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2), kỹ thuật tiêm pha hơi *(head-space gas chromatography)*.

Phương pháp 1: Dùng cho chất thử hòa tan hay trộn đều được trong nước.

Dung dịch thử: Cân 1,00 g (M_T) chất thử vào một lọ nhỏ 10 ml (hoặc có thể tích thích hợp) và thêm 1,0 ml *nước*. Đóng nắp lọ và trộn để thu được dung dịch đồng nhất. Để yên ở 70 °C trong 45 min.

Dung dịch đối chiếu (a): Cân 1,00 g (M_C) chất thử vào một lọ nhỏ như trên, thêm 0,50 ml *dung dịch ethylen oxyd* (TT_3) và 0,50 ml *dung dịch dioxan* (TT_1). Đóng nắp lọ và trộn đều để thu được một dung dịch đồng nhất. Để yên ở 70 °C trong 45 min.

Dung dịch đối chiếu (b): Trong lọ nhỏ thể tích 10 ml, thêm vào 0,50 ml *dung dịch ethylen oxyd* (TT_3), 0,10 ml dung dịch *acetaldehyd (TT)* 0,001 % mới pha và 0,10 ml *dung dịch dioxan* (TT_1). Đóng nắp lọ và trộn để thu được dung dịch đồng nhất. Để yên ở 70 °C trong 45 min.

Phương pháp 2: Dùng cho các chất thử hòa tan hay trộn đều được trong dimethylacetamid.

Dung dịch thử: Cân 1,00 g (M_T) chất thử vào một lọ nhỏ 10 ml (hoặc có thể tích thích hợp) và thêm 1,0 ml *dimethylacetamid (TT)* và 0,2 ml *nước*. Đóng nắp lọ và trộn để thu được dung dịch đồng nhất. Để yên ở 90 °C trong 45 min.

Dung dịch đối chiếu (a): Cân 1,00 g (M_C) chất thử vào một lọ nhỏ như trên, thêm 1,0 ml *dimethylacetamid (TT)*, thêm 0,10 ml *dung dịch dioxan (TT)* và 0,10 ml *dung dịch*

ethylen oxyd (TT_2). Đóng nắp lọ và trộn để thu được một dung dịch đồng nhất. Để yên ở 90 °C trong 45 min.
Dung dịch đối chiếu (b): Trong lọ nhỏ thể tích 10 ml, thêm vào 0,10 ml *dung dịch ethylen oxyd (TT_2)*, 0,10 ml dung dịch *acetaldehyd (TT)* 0,01 % mới pha và 0,10 ml *dung dịch dioxan (TT)*. Đóng nắp lọ và trộn đều để thu được dung dịch đồng nhất. Để yên ở 70 °C trong 45 min.

Quá trình sắc ký
Điều kiện tiêm pha hơi
Nhiệt độ cân bằng: 70 °C (90 °C đối với dung dịch trong dimethylacetamid).
Thời gian cân bằng: 45 min.
Nhiệt độ dòng chảy: 75 °C (150 °C đối với dung dịch trong dimethylacetamid).
Thời gian điều áp: 1 min.
Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký khí*.
Thời gian tiêm: 12 s.
Điều kiện sắc ký
Cột thủy tinh hoặc thạch anh kích thước (30 m × 0,32 mm), mặt trong được phủ lớp *polydimethylsiloxan* dày 1,0 µm.
Khí mang: *Heli* (hoặc *nitrogen*) *dùng cho sắc ký khí*, tốc độ dòng khoảng 20 cm/s, tỷ lệ chia dòng 1 : 20.
Detector: ion hóa ngọn lửa.
Duy trì nhiệt độ cột ở 50 °C trong 5 min, sau đó tăng đến 180 °C với tốc độ 5 °C/min, sau đó lại tăng đến 230 °C với tốc độ 30 °C/min và giữ ở 230 °C trong 5 min. Nhiệt độ detector là 250 °C, nhiệt độ buồng tiêm là 150 °C.
Tiêm một lượng thích hợp pha hơi của dung dịch đối chiếu (b), chẳng hạn 1 ml. Điều chỉnh độ nhạy của hệ thống sao cho chiều cao các pic cho bởi ethylen oxyd và acetaldehyd trong sắc ký đồ đạt ít nhất 15 % thang đo. Thử nghiệm không có hiệu lực nếu hệ số phân giải giữa pic cho bởi acetaldehyd và pic cho bởi ethylen oxyd nhỏ hơn 2,0 và pic của dioxin và ethylene oxyd được phát hiện với tỷ lệ tín hiệu/nhiễu nhỏ hơn 5.
Tiêm lần lượt những lượng thích hợp pha hơi của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (a), chẳng hạn 1 ml (hoặc bằng lượng dung dịch đối chiếu (b) đã tiêm).
Tiêm lặp lại như trên thêm 2 lần nữa.
Diện tích trung bình của pic ethylen oxyd và dioxan trong sắc ký đồ cho bởi dung dịch thử không được lớn hơn một nửa (1/2) diện tích trung bình của pic tương ứng trong sắc ký đồ cho bởi dung dịch đối chiếu (a) (1 phần triệu ethylen oxyd và 50 phần triệu dioxan).
Kiểm tra độ tin cậy
Tính hiệu số của diện tích pic, theo từng cặp, cho bởi dung dịch thử và dung dịch đối chiếu (a), lần lượt ứng với ethylen oxyd và với dioxan. Thử nghiệm chỉ có hiệu lực nếu độ lệch chuẩn tương đối của ba giá trị khác biệt (3 hiệu số) ứng với ethylen oxyd không lớn hơn 15 % và độ lệch chuẩn tương đối của ba giá trị khác biệt (3 hiệu số) ứng với dioxan không lớn hơn 15 %.
Nếu lượng cân mẫu thử và chất đối chiếu nằm ngoài khoảng 0,995 g đến 1,005 g cần phải hiệu chỉnh kết quả cho thích hợp.

Hàm lượng ethylen oxyd tính theo phần triệu được tính bằng biểu thức:

$$A_T \times C / [(A_C \times M_T) - (A_T \times M_C)]$$

Trong đó:
A_T là diện tích pic tương ứng với ethylen oxyd trong sắc ký đồ cho bởi dung dịch thử;
A_C là diện tích pic tương ứng với ethylen oxyd trong sắc ký đồ cho bởi dung dịch đối chiếu (a);
M_T là khối lượng chất thử trong dung dịch thử tính theo gam;
M_C là khối lượng chất thử trong dung dịch đối chiếu (a) tính theo gam;
C là khối lượng ethylen oxyd cho vào dung dịch đối chiếu (a) tính theo microgram.
Và hàm lượng dioxan tính theo phần triệu được tính bằng biểu thức:

$$D_T \times C / [(D_C \times M_T) - (D_T \times M_C)]$$

Trong đó:
D_T là diện tích pic tương ứng với dioxan trong sắc ký đồ cho bởi dung dịch thử;
D_C là diện tích pic tương ứng với dioxan trong sắc ký đồ cho bởi dung dịch đối chiếu (a);
M_T là khối lượng chất thử trong dung dịch thử tính theo gam;
M_C là khối lượng chất thử trong dung dịch đối chiếu (a) tính theo gam;
C là khối lượng dioxan cho vào dung dịch đối chiếu (a) tính theo microgram.

10.16 ĐỊNH LƯỢNG *N,N*-DIMETHYLANILIN

Xác định bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Phương pháp 1
Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan 50 mg *N,N-diethylanilin (TT)* trong 4 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, pha loãng bằng *nước* tới 50 ml. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được tới 100 ml bằng *nước*.
Dung dịch thử: Hòa tan 0,50 g chế phẩm trong 30,0 ml *nước*, thêm 1,0 ml dung dịch chuẩn nội. Điều chỉnh nhiệt độ của dung dịch tới 26 °C đến 28 °C. Thêm 1,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 40 % (TT)*. Lắc cho tan hoàn toàn. Thêm 2,0 ml *trimethylpentan (TT)*. Lắc 2 min, để yên cho tách lớp, dùng lớp trên.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 50,0 mg *N,N-dimethylanilin (TT)* trong 4,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, pha loãng bằng *nước* tới 50,0 ml. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được tới 100,0 ml bằng *nước*. Tiếp tục pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được tới 30,0 ml bằng *nước*, thêm 1,0 ml dung dịch chuẩn nội, 1,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 40 % (TT)*, 2,0 ml *trimethylpentan (TT)*. Lắc 2 min, để yên cho tách lớp, dùng lớp trên.
Điều kiện sắc ký
Cột mao quản bằng silica nung chảy, dài 25 m, đường kính trong 0,32 mm, phủ lớp polymer liên kết mạng polymethylphenylsiloxan dày 0,52 µm.

Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký khí*, tỷ lệ chia dòng 1 : 20, áp suất đầu cột 5 kPa, lưu lượng 20 ml/min.
Detector ion hóa ngọn lửa.
Bộ chia dòng *(split-liner)* là một cột dài khoảng 1 cm, nhồi diatomit dùng cho sắc ký khí tẩm 10 % (kl/kl) polydimethylsiloxan.
Nhiệt độ: Duy trì nhiệt độ cột 150 °C trong 5 min, sau đó tăng đến 275 °C với tốc độ 20 °C/min, rồi giữ ở 275 °C trong 3 min. Nhiệt độ detector 300 °C, nhiệt độ buồng tiêm 220 °C.
Thể tích tiêm: 1 µl.
Thời gian lưu của *N,N*-dimethylanilin khoảng 3,6 min; của *N,N*-diethylanilin khoảng 5,0 min.

Phương pháp 2
Dung dịch chuẩn nội: Dung dịch *naphtalen (TT)* 0,005 % trong *cyclohexan (TT)*.
Dung dịch thử: Hòa tan 1,00 g chế phẩm với 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* trong ống thủy tinh có nút mài, thêm 1,0 ml dung dịch chuẩn nội. Đậy kín, lắc mạnh trong 1 min. Ly tâm nếu cần, dùng lớp trên.
Dung dịch đối chiếu: Thêm 2 ml *acid hydrocloric (TT)* và 20 ml *nước* vào 50,0 mg *N,N- dimethylanilin (TT)*, lắc cho tan và pha loãng bằng *nước* tới 50,0 ml. Pha loãng 5,0 ml dung dịch này tới 250,0 ml bằng *nước*. Cho 1,0 ml dung dịch thu được vào ống thủy tinh có nút mài, thêm 5 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* và 1,0 ml dung dịch chuẩn nội. Đậy kín, lắc mạnh trong 1 min, ly tâm nếu cần và dùng lớp trên.
Điều kiện sắc ký: Cột thủy tinh dài 2 m, đường kính trong 2 mm, được nhồi bằng diatomit silan hóa tẩm 3 % (kl/kl) polymethylphenylsiloxan.
Khí mang: *Nitrogen dùng cho sắc ký khí*, với lưu lượng 30 ml/min.
Detector ion hóa ngọn lửa.
Duy trì nhiệt độ cột ở 120 °C, nhiệt độ detector và buồng tiêm ở 150 °C.
Thể tích tiêm: 1 µl.

10.17 ĐỊNH LƯỢNG ACID 2-ETHYLHEXANOIC

Tiến hành phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).
Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan 100 mg *acid 3-cyclohexyl propionic (TT)* trong *cyclohexan (TT)* và pha loãng vừa đủ 100 ml với cùng dung môi.
Dung dịch thử: Thêm 4,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 33 % (tt/tt)* vào 0,300 g mẫu thử. Lắc mạnh 2 lần, mỗi lần trong 1 min với 1,0 ml dung dịch chuẩn nội. Đợi tách lớp (nếu cần thiết, có thể ly tâm để tách lớp được tốt hơn), sử dụng dịch gộp của các lớp dịch chiết ở trên.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 75,0 mg *acid 2-ethylhexanoic (TT)* trong dung dịch chuẩn nội và pha loãng vừa đủ 50,0 ml với dung dịch chuẩn nội. Thêm 4,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 33 % (tt/tt)* vào 1,0 ml dung dịch vừa pha. Lắc mạnh trong 1 min. Đợi tách lớp (nếu cần thiết, có thể ly tâm để tách lớp được tốt hơn). Gạn lấy lớp dịch chiết ở trên. Tiếp tục thêm 1,0 ml dung dịch chuẩn nội vào lớp dịch còn lại ở dưới và lắc mạnh trong 1 min. Đợi tách lớp (nếu cần thiết, có thể ly tâm để tách lớp được tốt hơn), sử dụng dịch gộp của các lớp dịch chiết ở trên.
Điều kiện sắc ký:
Cột silica nung chảy có nòng rỗng, chiều dài 10 m, đường kính trong 0,53 mm, phủ lớp pha tĩnh *macrogol 20 000 2-nitroterephtalat* (có bề dày 1,0 µm);
Khí mang: *Heli dùng cho sắc ký*, với tốc độ dòng 10 ml/min;
Detector ion hóa ngọn lửa.
Chương trình nhiệt độ như sau:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)	Tốc độ (°C/min)	Ghi chú
Cột	0 – 2	40	-	Đẳng nhiệt
	2 – 7,3	40 → 200	30	Nhiệt độ tăng đều
	7,3 – 10,3	200	-	Đẳng nhiệt
Buồng tiêm		200		
Detector		300		

Thể tích tiêm: 1 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký dung dịch thử và dung dịch đối chiếu.
Phép thử chỉ có giá trị khi độ phân giải giữa pic tương ứng với acid 2-ethylhexanoic (pic đầu tiên) và pic dung dịch chuẩn nội ít nhất là 2,0.
Hàm lượng phần trăm của acid 2-ethylhexanoic được tính theo công thức sau:

$$\frac{A_T \times I_C \times m_C \times 2}{A_C \times I_T \times m_T}$$

Trong đó:
A_T là diện tích pic tương ứng với acid 2-ethylhexanoic trên sắc ký đồ của dung dịch thử;
A_C là diện tích pic tương ứng với acid 2-ethylhexanoic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu;
I_T là diện tích pic tương ứng với chất chuẩn nội trên sắc ký đồ của dung dịch thử;
I_C là diện tích pic tương ứng với chất chuẩn nội trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu;
m_T là lượng cân mẫu thử tính bằng gam;
m_C là lượng cân acid 2-ethylhexanoic trong dung dịch đối chiếu, tính bằng gam.

10.18 XÁC ĐỊNH ACID ACETIC TRONG PEPTID TỔNG HỢP

Tiến hành phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động:
Pha động A: Hòa tan 0,7 ml *acid orthophosphoric (TT)* trong vừa đủ 1000 ml *nước*; điều chỉnh pH tới 3,0 với *dung dịch natri hydroxyd 40 % (TT)*.

Pha động B: *Methanol dùng cho sắc ký lỏng (TT).*
Dung dịch thử: Chuẩn bị như mô tả ở chuyên luận riêng.
Dung dịch đối chiếu: Pha dung dịch acid acetic 0,10 g/l từ *acid acetic băng (TT)*, sử dụng hỗn hợp 5 thể tích pha động B và 95 thể tích pha động A làm dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (250 mm × 4,6 mm), nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 210 nm.
Tốc độ dòng: 1,2 ml/min.
Thể tích tiêm: 10 µl.
Chương trình dung môi như sau:

Thời gian (min)	Pha động A (% tt/tt)	Pha động B (% tt/tt)
0 - 5	95	5
5 - 10	95 → 50	5 → 50
10 - 20	50	50
20 - 22	50 → 95	50 → 5
22 - 30	95	5

Tiến hành sắc ký dung dịch đối chiếu và dung dịch thử.
Trong các sắc ký đồ thu được, pic tương ứng với acid acetic có thời gian lưu khoảng 3 min đến 4 min. Đường nền có thể cao dần do hiện tượng rửa giải peptid.
Xác định hàm lượng acid acetic trong peptid dựa vào diện tích pic acid acetic tương ứng trong sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch đối chiếu.

10.19 ĐỐT TRONG OXYGEN

Thiết bị

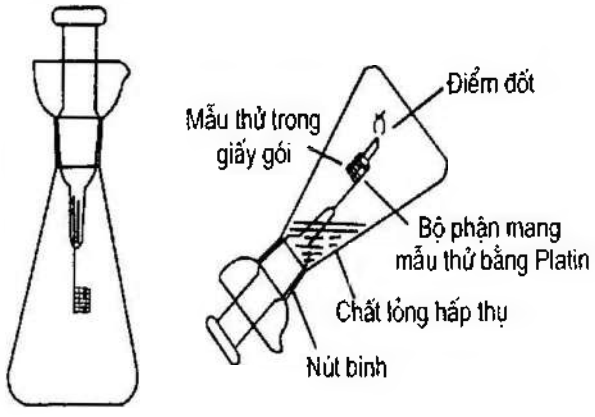
Nếu không có những qui định khác trong chuyên luận riêng, bình đốt là một bình nón bằng thủy tinh borosilicat dung tích ít nhất là 500 ml, nút thủy tinh mài có gắn một bộ phận mang mẫu thích hợp bằng platin hoặc bằng platin - iridi.

Phương pháp

Nghiền nhỏ mẫu thử. Đặt một lượng mẫu theo qui định vào giữa một mảnh giấy lọc không tro, kích thước 40 mm × 30 mm, có một dải nhỏ kích thước 10 mm × 30 mm. Nếu giấy lọc được qui định tẩm bằng lithi carbonat thì làm ẩm vùng giữa giấy lọc bằng *dung dịch bão hòa lithi carbonat (TT)* rồi sấy khô ở 100 °C đến 105 °C trước khi dùng. Gói mẫu thử vào trong giấy và cài vào bộ phận mang mẫu.
Thêm *nước* hoặc dung dịch hấp thụ như chỉ dẫn vào trong bình. Bơm khí oxygen vào bình qua một ống mà đầu cuối của nó đặt ở phía trên với khoảng cách vừa đủ so với mặt thoáng của chất lỏng hấp thụ. Làm ẩm cổ bình bằng *nước*. Nạp đầy khí oxygen vào bình. Đốt đầu tự do của dải giấy lọc hẹp bằng một dụng cụ thích hợp và cẩn thận đậy ngay nút bình lại. Giữ chắc nút. Khi bắt đầu cháy mạnh, lật ngược bình để tạo ra một lớp ngăn cách bằng nước nhưng cần chú ý ngăn không cho những sản phẩm cháy chưa hoàn toàn rơi xuống chất lỏng. Ngay sau khi đốt cháy xong, lắc bình thật mạnh để hòa tan hoàn toàn những sản phẩm đốt. Làm lạnh. Nếu không có những chỉ dẫn khác, sau khoảng 5 min, cẩn thận tháo nút ra. Rửa nút, dây, lưới platin và thành bình bằng nước rồi tiến hành tiếp như qui định trong chuyên luận riêng.
Đối với mẫu thử là chất lỏng, cho một lượng mẫu thử vào nang làm bằng methylcelulose có cỡ thích hợp đã có chứa sẵn khoảng 15 mg bột giấy lọc không tro. Đậy nắp nang, kẹp đầu cuối của dải giấy lọc hẹp vào giữa 2 phần thân và nắp. Buộc nang vào lưới platin.
Đối với mẫu thử là thuốc mỡ, cần phải bọc trong tờ giấy không thấm mỡ trước khi bọc trong giấy lọc.

Áp dụng cho những chế phẩm chứa iod

Đốt một lượng qui định mẫu thử bằng phương pháp đã mô tả ở trên, sử dụng chất lỏng hấp thụ là hỗn hợp 10 ml *nước* và 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*. Khi quá trình đốt đã hoàn thành, thêm vào bình một lượng thừa *dung dịch brom trong acid acetic (TT)* (khoảng 5 ml đến 10 ml) và để yên trong 2 min. Loại brom thừa bằng cách thêm *acid formic (TT)* (0,5 ml đến 1 ml). Rửa thành bình với nước cất. Đuổi hơi brom ở trên lớp chất lỏng bằng một luồng khí động. Thêm 1 g *kali iodid (TT)* và chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,02 N (CĐ)*, dùng chỉ thị là *dung dịch hồ tinh bột (TT)* thêm vào lúc cuối của quá trình chuẩn độ.
1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,02 N (CĐ)* tương đương với 0,4230 mg iod.



Hình 10.19 - Dụng cụ đốt trong oxygen

10.20 XÁC ĐỊNH CÁC CHẤT BẢO QUẢN KHÁNG KHUẨN

Một thành phần quan trọng của các chế phẩm thuốc tiêm đa liều là các chất làm giảm thiểu nguy cơ xâm nhập của vi khuẩn cho phần còn lại sau khi đã dùng một phần chế phẩm. Các chất này thuộc nhóm chất bảo quản kháng khuẩn. Tên và hàm lượng các chất bảo quản phải ghi trên nhãn thuốc. Các phương pháp phân tích sau đây áp dụng

cho một số chất bảo quản thông dụng nhất, nhằm kiểm tra sự có mặt của chất bảo quản với hàm lượng không được vượt quá 20 % lượng ghi trên nhãn.

Nồng độ chất bảo quản kháng khuẩn được thêm vào một thuốc tiêm đa liều hay đơn liều, một chế phẩm thuốc nhỏ tai, nhỏ mũi hay nhỏ mắt có thể bị giảm đi trong thời hạn dùng của sản phẩm. Vì thế, nhà sản xuất cần xác định mức liều thấp nhất còn tác dụng, và công thức sản xuất phải được nghiên cứu sao cho mức liều này vẫn giữ được cao hơn mức tối thiểu trong suốt thời hạn sử dụng. Tại thời điểm sản xuất, sản phẩm cần chứa một lượng chất bảo quản kháng khuẩn được công bố (trong phạm vi ± 20 % dao động cho phép trong sản xuất và kiểm nghiệm). Việc công bố về lượng trên nhãn của chất bảo quản kháng khuẩn không có nghĩa là lượng này được giữ nguyên trong thời hạn sử dụng, mà chỉ là sự khẳng định về hàm lượng được thêm vào nằm trong giới hạn của quy trình sản xuất và không vượt quá 20 %. Cách ghi hàm lượng chất bảo quản sẽ là một trị số tiếp theo là đơn vị đo, ví dụ 0,015 mg/ml hay 0,1 %.

Các chất kháng khuẩn thông dụng nhất là 2 hợp chất cơ kim thủy ngân (phenylmercuric nitrat và thimerosal), 4 ester đồng đẳng của acid p-hydroxybenzoic, phenol, benzyl alcol và clorobutanol. Phương pháp xác định 2 hợp chất cơ kim thủy ngân là phương pháp cực phổ các chất còn lại có thể xác định bằng phương pháp sắc ký khí. Ngoài ra, phương pháp thông dụng hiện nay để xác định các paraben là phương pháp sắc ký lỏng.

Phương pháp sắc ký khí

Quy trình chung ghi dưới đây có thể áp dụng để định lượng benzyl alcol, clorobutanol, phenol và các paraben (methyl, ethyl, propyl và butyl ester của acid p-hydroxybenzoic). Đối với các paraben nếu có mặt thì có thể xác định riêng từng chất một. Chuẩn bị *dung dịch chuẩn nội* và *dung dịch chuẩn* cho mỗi chất như chỉ dẫn dưới đây. Trừ khi có chỉ dẫn khác, chuẩn bị *dung dịch thử* từ những lượng đo chính xác dung dịch chuẩn nội và mẫu thử sao cho nồng độ của chất bảo quản cần phân tích và thành phần dung môi gần với nồng độ và thành phần dung môi của dung dịch chuẩn. Các thông số của máy sắc ký khí được khuyến cáo trong Bảng 10.20.1 kèm theo, khí mang có thể là khí heli hoặc nitrogen, detector ion hóa ngọn lửa.

Benzyl alcol

Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan khoảng 380 mg *phenol (TT)* trong 10 ml *methanol (TT)* trong một bình định mức 200 ml. Thêm *nước* đến vạch, lắc đều.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan khoảng 180 mg chất chuẩn benzyl alcol được cân chính xác, trong 20,0 ml *methanol (TT)* chứa trong một bình định mức 100 ml. Thêm dung dịch chuẩn nội đến vạch, lắc đều.

Cách tiến hành: Tiêm riêng biệt các thể tích bằng nhau (khoảng 5 µl) của dung dịch chuẩn và dung dịch thử vào hệ thống sắc ký, ghi lại các sắc đồ với thiết bị sắc ký đã được điều chỉnh theo các thông số ghi trong Bảng 10.20.1. Từ tỷ số diện tích pic benzyl alcol và diện tích pic phenol thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn, nồng độ chất đối chiếu benzyl alcol trong dung dịch chuẩn, tính hàm lượng benzyl alcol (C_7H_8O) trong chế phẩm.

Clorobutanol

Dung dịch chuẩn nội: Hòa tan khoảng 140 mg *benzaldehyd (TT)* trong một bình định mức 100 ml. Thêm 10 ml *methanol (TT)*, lắc nhẹ để hòa tan rồi thêm *nước* cho đến vạch, lắc đều.

Dung dịch chuẩn: Chuyển khoảng 125 mg chất chuẩn clorobutanol được cân chính xác vào một bình định mức 25 ml. Thêm 2 ml *methanol (TT)*, lắc nhẹ để hòa tan rồi pha loãng với *nước* đến vạch, lắc đều. Lấy 5,0 ml dung dịch thu được và 5,0 ml dung dịch chuẩn nội cho vào một bình định mức 25 ml, lắc đều để thu được dung dịch có nồng độ clorobutanol khoảng 2,5 mg/ml.

Bảng 10.20.1 - Các thông số của máy sắc ký

Chất cần phân tích	Kích thước cột (chiều dài × đường kính trong)	Pha tĩnh và chất mang	Tốc độ dòng (ml/min)	Nhiệt độ cột (°C)
Benzyl alcol	1,8 m × 3 mm	5 % G16/S1A	50	140
Clorobutanol	1,8 m × 2 mm	5 % G16/S1A	20	110
Phenol	1,2 m × 3 mm	5 % G16/S1A	50	145
Các paraben	1,8 m × 2 mm	5 % G2/S1A	20	150

Ghi chú:

G16: Polyethylen glycol có phân tử lượng khoảng 15000.

G2: Nhựa dimethylpolysiloxan.

S1A: Đất silic loại dùng cho sắc ký khí được nung bằng cách trộn diatomit với natri carbonat và nung ở nhiệt độ trên 900 °C.

Dung dịch thử: Pha loãng (nếu cần) một thể tích chính xác chế phẩm thử với *methanol (TT)* để thu được dung dịch chứa không quá khoảng 5,0 mg clorobutanol trong 1 ml. Trộn 3,0 ml dung dịch thu được với 3,0 ml dung dịch chuẩn nội, lắc đều.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống:

Tiêm 1 µl dung dịch chuẩn. Tiến hành sắc ký theo các điều kiện ghi trong Bảng 10.20.1. Đặt nhiệt độ buồng tiêm ở 180 °C và nhiệt độ của detector ở 220 °C. Ghi sắc ký đồ. Thời gian lưu tương đối của pic benzaldehyd là 0,8 và của pic clorobutanol là 1,0; độ phân giải giữa pic benzaldehyd và pic clorobutanol không được nhỏ hơn 2,0; độ lệch chuẩn tương đối của diện tích pic của các lần tiêm lặp lại phải không được lớn hơn 2,0 %.

Cách tiến hành: Tiêm riêng biệt các thể tích bằng nhau (khoảng 1 µl) dung dịch chuẩn và dung dịch thử vào máy sắc ký. Từ tỷ số diện tích pic clorobutanol và diện tích pic benzaldehyd thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn, nồng độ chất đối chiếu clorobutanol trong dung dịch chuẩn, tính hàm lượng clorobutanol ($C_4H_7Cl_3O$) trong chế phẩm.

Phenol

Dung dịch chuẩn nội: Hút 1,0 ml benzyl alcol chuẩn cho vào một bình định mức 500 ml, thêm *methanol (TT)* đến vạch, lắc đều.

Dung dịch chuẩn: Hòa tan khoảng 75 mg chất chuẩn phenol được cân chính xác, trong 7,5 ml *methanol (TT)* chứa trong một bình định mức 100 ml. Thêm 20,0 ml dung dịch chuẩn nội rồi thêm *nước* đến vạch, lắc đều.

Cách tiến hành: Tiêm riêng biệt các thể tích bằng nhau (khoảng 3 µl) dung dịch chuẩn và dung dịch thử vào hệ thống sắc ký, ghi lại các sắc đồ trên hệ thống sắc ký đã được điều chỉnh các thông số theo Bảng 10.20.1. Từ tỷ số diện tích pic phenol và diện tích pic benzyl alcol thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn, nồng độ chất đối chiếu phenol trong dung dịch chuẩn, tính hàm lượng phenol (C_6H_6O) trong chế phẩm.

Methylparaben và propylparaben

Dung dịch chuẩn nội: Cho khoảng 200 mg *benzophenon (TT)* vào một bình định mức 250 ml, pha loãng bằng *diethylether (TT)* đến vạch, lắc đều.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 100 mg methylparaben chuẩn và 10 mg propylparaben chuẩn vào một bình định mức 200 ml. Pha loãng bằng dung dịch chuẩn nội đến vạch, lắc đều. Hút 10,0 ml dung dịch thu được cho vào một bình nón cỡ 25 ml rồi tiến hành như chỉ dẫn ở mục Dung dịch thử bắt đầu từ "Thêm 3 ml *pyridin (TT)*...".

Dung dịch thử: Hút 10,0 ml mẫu thử và 10,0 ml dung dịch chuẩn nội cho vào một bình gạn nhỏ. Lắc mạnh, để cho phân lớp, rút lớp nước vào một bình gạn khác và chuyển lớp ether vào một bình thủy tinh nhỏ qua một phễu lọc có *natri sulfat khan (TT)*. Chiết lớp nước 2 lần, mỗi lần với 10 ml *diethylether (TT)* và lọc dịch chiết qua phễu có *natri sulfat khan (TT)*. Làm bay hơi dịch chiết ether dưới một luồng không khí khô cho đến khi còn khoảng 10 ml thì chuyển sang một bình nón 25 ml. Thêm 3 ml *pyridin (TT)* rồi làm bay hơi ether hoàn toàn và đun sôi trên bếp nóng cho đến khi còn khoảng 1 ml. Làm nguội, thêm 1 ml thuốc thử silan hóa thích hợp như bis(trimethylsilyl)- trifluoroacetamid, bis(trimethylsilyl) acetamid, hoặc hỗn hợp của hexamethyldisilazan và trimethylclorosilan (tỷ lệ 2:1 hoặc 3:1 theo thể tích). Trộn đều rồi để yên ít nhất 15 min.

Cách tiến hành: Tiêm riêng biệt các thể tích bằng nhau (2 µl) dung dịch đã được silan hóa của dung dịch chuẩn và của dung dịch thử vào hệ thống sắc ký, ghi lại các sắc đồ trên hệ thống thiết bị đã được điều chỉnh theo các thông số ghi trong Bảng 10.20.1.

Từ tỷ số diện tích pic methylparaben và diện tích pic benzophenon thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn, nồng độ chất đối chiếu methylparaben trong dung dịch chuẩn, tính hàm lượng methylparaben ($C_8H_8O_3$) trong chế phẩm.

Cũng theo cách tương tự, từ tỷ số diện tích pic propylparaben và diện tích pic benzophenon thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử và dung dịch chuẩn, nồng độ chất đối chiếu propylparaben trong dung dịch chuẩn, tính hàm lượng của propylparaben ($C_{10}H_8O_3$) trong chế phẩm. Ethylparaben và butylparaben cũng có thể được định lượng bằng cách tương tự như trên.

Phương pháp sắc ký khí sử dụng cột mao quản

Ngoài phương pháp sắc ký khí sử dụng cột nhồi như trên, các chất benzyl alcol, clorobutanol, phenol có thể được xác định bằng phương pháp sắc ký khí sử dụng cột mao quản với các điều kiện sắc ký như sau: Cột DB1 (30 m × 0,25 mm × 0,25 µm), pha tĩnh 100 % dimethylpolysiloxan, tốc độ dòng 1,2 ml/min, nhiệt độ cột là 320 °C.

Phương pháp sắc ký lỏng xác định methylparaben và propylparaben

Pha động: Nước - acetonitril (50 : 50), điều chỉnh tỷ lệ nếu cần.

Dung dịch thử: Pha loãng chính xác một thể tích dung dịch chế phẩm có chứa khoảng 0,5 mg methylparaben hoặc 0,2 mg propylparaben tới vừa đủ 20,0 ml bằng pha động. Lắc đều, lọc.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác một lượng methylparaben chuẩn và propylparaben chuẩn, hoà tan trong pha động để thu được dung dịch có nồng độ methylparaben khoảng 0,025 mg/ml và nồng độ propylparaben khoảng 0,010 mg/ml.

Điều kiện sắc ký:

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

Detector quang phổ hấp thụ tử ngoại đặt ở bước sóng 256 nm.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Cách tiến hành:

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống sắc ký: Tiến hành sắc ký đối với dung dịch chuẩn, trên sắc ký đồ, thứ tự

rửa giải lần lượt là methylparaben và propylparaben. Độ lệch chuẩn tương đối của thời gian lưu và diện tích pic methylparaben và propylparaben trong 6 lần tiêm lặp lại không được lớn hơn 2,0 %; hệ số đối xứng của các pic nhỏ hơn 2; hệ số phân giải giữa các pic lớn hơn 2,5.
Tiến hành sắc ký với dung dịch chuẩn và dung dịch thử. Tính hàm lượng của methylparaben, $C_8H_8O_3$ và propylparaben, $C_{10}H_{12}O_3$ trong chế phẩm dựa vào diện tích pic trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn và dung dịch thử, hàm lượng $C_8H_8O_3$ và $C_{10}H_{12}O_3$ trong methylparaben và propylparaben chuẩn.

Phương pháp cực phổ

Phenylmercuric nitrat

Dung dịch thử: Hút 10,0 ml mẫu thử cho vào một bình định mức 25 ml, thêm 2 ml *dung dịch kali nitrat 1 % (TT)* và 10 ml *dung dịch đệm borat kiềm pH 9,2 (TT)*, điều chỉnh đến pH 9,2 nếu cần bằng cách thêm *acid nitric 2 M (TT)*. Thêm 1,5 ml *dung dịch gelatin 0,1 % (TT)* mới pha, thêm *dung dịch đệm borat kiềm pH 9,2 (TT)* đến vạch, trộn đều.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan khoảng 100 mg phenylmercuric nitrat chuẩn được cân chính xác trong *dung dịch natri hydroxyd 0,4 % (TT)* chứa trong một bình định mức 1000 ml, làm ấm nếu cần để dễ hòa tan. Thêm *dung dịch natri hydroxyd 0,4 % (TT)* đến vạch, lắc đều. Hút 10,0 ml dung dịch thu được cho vào một bình định mức 25 ml rồi tiến hành như chỉ dẫn ở mục Dung dịch thử bắt đầu từ "Thêm 2 ml *dung dịch kali nitrat 1 %....*".
Cách tiến hành: Hút một phần dung dịch thử cho vào bình cực phổ, đuổi không khí trong dung dịch bằng dòng khí nitrogen thổi qua trong 15 min. Đặt điện cực giọt thủy ngân của máy cực phổ thích hợp và ghi lại cực phổ đồ trong khoảng điện thế từ -0,6 V đến -1,5 V so với điện cực calomel bão hòa. Xác định cường độ dòng khuếch tán của dung dịch thử, $(i_d)_U$, là hiệu số giữa cường độ dòng tổn dư và cường độ dòng giới hạn. Theo cách tương tự, xác định đồng thời cường độ dòng khuếch tán, $(i_d)_S$, của dung dịch chuẩn. Tính hàm lượng của phenylmercuric nitrat ($C_6H_5HgNO_3$) trong mẫu thử tính bằng µg/ml theo công thức sau:

$$2,5 \times C \times \frac{(i_d)_U}{(i_d)_S}$$

Trong đó:
C là nồng độ (µg/ml) của phenylmercuric nitrat trong dung dịch chuẩn.

Thimerosal

Dung dịch chuẩn: Vào ngày sử dụng, cân chính xác khoảng 25 mg thimerosal chuẩn, chuyển vào bình định mức 250 ml, thêm nước cất đến vạch, lắc đều. Tiến hành trong điều kiện tránh ánh sáng. Hút 15,0 ml dung dịch thu được cho vào một bình định mức 25 ml, thêm 1,5 ml *dung dịch gelatin 0,1 % (TT)* rồi thêm *dung dịch kali nitrat 1 % (TT)* đến vạch, lắc đều.
Dung dịch thử: Hút 15,0 ml mẫu thử cho vào một bình định mức 25 ml, thêm 1,5 ml *dung dịch gelatin 0,1 % (TT)* rồi thêm *dung dịch kali nitrat 1 % (TT)* đến vạch, lắc đều.
Cách tiến hành: Hút một phần dung dịch thử cho vào bình cực phổ, đuổi không khí bằng cách sục dòng khí nitrogen qua dung dịch đo trong 15 min. Đặt điện cực giọt thủy ngân của máy cực phổ thích hợp và ghi lại cực phổ đồ trong khoảng điện thế từ -0,2 V đến -1,4 V so sánh với điện cực calomel bão hòa. Xác định cường độ dòng khuếch tán của dung dịch thử, $(i_d)_U$, là hiệu số giữa cường độ dòng tổn dư và cường độ dòng giới hạn. Theo cách tương tự, xác định đồng thời cường độ dòng khuếch tán, $(i_d)_S$, của dung dịch chuẩn. Tính hàm lượng (µg/ml) của thimerosal ($C_6H_9HgNaO_2S$) trong mẫu thử theo công thức sau:

$$1,667 \times C \times \frac{(i_d)_U}{(i_d)_S}$$

Trong đó:
C là nồng độ (µg/ml) của thimerosal trong dung dịch chuẩn.

10.21 ĐỊNH LƯỢNG ACID OMEGA-3 TRONG DẦU CÁ

Dầu cá là sản phẩm có nguồn gốc từ các loài cá thuộc họ Cá trồng (*Engraulidae*), Cá khế (*Carangidae*), Cá trích (*Clupeidae*), Cá ốt me (*Osmeridae*), Cá Hồi (*Salmonidae*), Cá ngừ (*Scombridae*). Dầu cá có chứa acid omega-3. Acid omega-3 bao gồm acid *alpha*-linolenic (C18:3 n-3), acid moroctic (C18:4 n-3), acid eicosatetraenoic (C20:4 n-3), acid timnodonic (eicosapentaenoic) (C20:5 n-3; EPA), acid heneicosapentaenoic (C21:5 n-3), acid clupanodonic (C22:5 n-3) và acid cervonic (docosahexaenoic) (C22:6 n-3; DHA).

EPA và DHA

Phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).
Quá trình xử lý mẫu cần được tiến hành nhanh, tránh tiếp xúc với ánh sáng, các tác nhân oxy hóa, chất xúc tác quá trình oxy hóa (ví dụ: đồng, sắt) và không khí.
Phương pháp được áp dụng để phân tích dạng methyl hoặc ethyl ester của acid (all-*Z*)-eicosa-5,8,11,14,17-pentaenoic (EPA; 20:5 n-3) và acid (all-*Z*)-docosa-4,7,10,13,16,19-hexaenoic (DHA; 22:6 n-3).

Chuẩn nội: *Methyl tricosanoat (TT).*

Dung dịch thử (a)

A. Áp dụng với chế phẩm chứa acid omega-3 ở dạng ethyl ester: Hòa tan một lượng chế phẩm tương ứng trong Bảng 1 và khoảng 70,0 mg chuẩn nội bằng dung dịch *butylhydroxytoluen (TT)* 0,005 % trong *trimethylpentan (TT)* và pha loãng thành 10,0 ml với cùng dung môi. Có thể đun nóng nhẹ (tới 60 °C) để hòa tan chuẩn nội.

Bảng 1 - Khối lượng mẫu chế phẩm dùng thử nghiệm

Tổng hàm lượng EPA và DHA (%)	Khối lượng mẫu chế phẩm dùng thử nghiệm (g)
30 - 50	0,4 - 0,5
50 - 70	0,3
70 - 90	0,25

B. Áp dụng với chế phẩm chứa acid omega-3 ở dạng triglycerid: Lấy 2,0 ml dung dịch thu được ở phép thử A vào ống thủy tinh thạch anh có nắp xoáy dung tích thích hợp, bay hơi dung môi đến khô dưới dòng khí *nitrogen (TT)*. Thêm 1,5 ml *dung dịch natri hydroxyd (TT) 2 % trong methanol (TT)*, thổi khí nitrogen, nắp kín bằng nắp đậy có có bao lớp polytetrafluoroethylen, lắc đều. Đun trên cách thủy trong 7 min, để nguội. Thêm 2 ml *dung dịch boron triclorid trong methanol (TT)*, thổi khí *nitrogen (TT)*, nắp kín, lắc nhẹ. Đun trên cách thủy trong 30 min. Để nguội tới 40 - 50°C, thêm 1 ml *trimethylpentan (TT)*, nắp kín, lắc mạnh ít nhất 30 s. Ngay lập tức, thêm 5 ml *dung dịch natri clorid bão hòa (TT)*, thổi khí *nitrogen (TT)*, nắp kín, lắc kỹ trong ít nhất 15 s, ly tâm 3000 r/min trong 5 min, hoặc để tách lớp. Chuyển lớp trimethylpentan (lớp trên) sang lọ thủy tinh khác, phần còn lại (lớp dưới) được chiết với 1 ml *trimethylpentan (TT)* thêm một lần nữa. Gộp các dịch chiết trimethylpentan. Rửa dịch chiết trimethylpentan với nước hai lần, mỗi lần 1 ml, sau đó làm khô dịch chiết trimethylpentan bằng *natri sulfat khan (TT)* được dung dịch tiêm sắc ký. Chuẩn bị 3 dung dịch thử.

Dung dịch thử (b): Hòa tan 0,300 g chế phẩm bằng dung dịch *butylhydroxytoluen* (TT) 0,005 % trong *trimethylpentan* (TT) và pha loãng thành 10,0 ml bằng cùng dung môi. Tiếp tục các bước tương tự như chuẩn bị dung dịch thử (a).

Dung dịch đối chiếu (a_1): Hòa tan khoảng 70,0 mg chuẩn nội và 90,0 mg acid eicosapentaenoic ethyl ester chuẩn trong dung dịch *butylhydroxytoluen (TT)* 0,005 % *trong trimethylpentan (TT)*, pha loãng thành 10,0 ml bằng cùng dung môi. Có thể đun nóng nhẹ (tới 60 °C) để hòa tan chuẩn nội.

Dung dịch đối chiếu (a_2): Hòa tan khoảng 60,0 mg acid docosahexaenoic ethyl ester chuẩn và 70,0 mg chuẩn nội trong dung dịch *butylhydroxytoluen (TT)* 0,005 % trong *trimethylpentan (TT)*, pha loãng thành 10,0 ml bằng cùng dung môi. Có thể đun nóng nhẹ (tới 60 °C) để hòa tan chuẩn nội.

Chuẩn bị dung dịch đối chiếu (a_1) và (a_2) theo các bước như mô tả tại mục A của phần Dung dịch thử (a) nếu kiểm tra chế phẩm chứa acid omega-3 ở dạng ethyl este; tiếp tục theo các bước mô tả tại mục B của phần Dung dịch thử (a) nếu chế phẩm chứa acid omega-3 ở dạng triglycerid. Chuẩn bị 3 dung dịch đối chiếu đối với mỗi mẫu chế phẩm cần kiểm tra.

Dung dịch đối chiếu (b): Hòa tan 0,3 g *methyl palmitat (TT)*, 0,3 g *methyl stearat (TT)*, 0,3 g *methyl arachidat (TT)* and 0,3 g *methyl behenat (TT)* trong dung dịch *butylhydroxytoluen (TT)* 0,005 % trong *trimethylpentan (TT)*, pha loãng thành 10,0 ml bằng cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (c): Hòa tan khoảng 55,0 mg *acid docosahexaenoic methyl ester (TT)* và khoảng 5,0 mg *acid tetracos-15-enoic methyl ester (TT)* trong dung dịch *butylhydroxytoluen (TT)* 0,005 % trong *trimethylpentan (TT)*, pha loãng thành 10,0 ml bằng cùng dung môi.

Điều kiện sắc ký

Cột mao quản bằng silica nung chảy, chiều dài ít nhất 25 m, đường kính 0,25 mm, được phủ lớp phim macrogol 20000 dày 0,2 µm.

Khí mang: *Hydrogen (TT)* hoặc *heli* dùng cho *sắc ký khí (TT)*.

Tốc độ dòng: 1,0 ml/min.

Detector ion hóa ngọn lửa

Thể tích tiêm: 1 µl, tiêm 2 lần.

Tỷ lệ chia dòng 1: 200. Nếu hệ thống sắc ký sử dụng chế độ không chia dòng, các dung dịch thử và đối chiếu phải được pha loãng 200 lần bằng dung dịch *butylhydroxytoluen (TT)* 0,005 % trong *trimethylpentan (TT)* trước khi tiêm sắc ký.

Chương trình nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 2	170
	2 - 25,7	170 → 240
	25,7 - 28	240
Buồng tiêm		250
Detector		270

Tính phù hợp hệ thống:

Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (b), phần trăm diện tích của các pic tăng dần tương ứng với các chất sau: methyl palmitat, methyl stearat, methyl arachidat, methyl behenat. Phần trăm diện tích của pic methyl palmitat và pic methyl behenat khác nhau không quá 2,0 %.

Độ phân giải: Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (c), độ phân giải giữa pic của acid docosahexaenoat methyl ester và acid tetracos-15-enoic methyl ester không nhỏ hơn 1,2.

Trên sắc ký đồ của dung dịch thử (a), pic của methyl tricosanoat và bất kỳ pic của acid henicosapentaenoic methyl ester hoặc ethyl ester (C21:5) khi so sánh với sắc ký đồ của dung dịch thử (b) phải cho thấy sự tách biệt rõ (nếu không phải dùng hệ số hiệu chỉnh).

Tính hàm lượng phần trăm của EPA và DHA theo công thức sau:

$$A_x \times \frac{A_{x,3}}{m_{x,3}} \times \frac{m_1}{A_1} \times \frac{m_{x,2}}{A_{x,2}} \times \frac{1}{m_2} \times C \times 100$$

Trong đó:
m_1 là khối lượng chuẩn nội trong dung dịch thử (a), tính bằng mg;
m_2 là khối lượng chế phẩm trong dung dịch thử (a), tính bằng mg;
$m_{x,3}$ là khối lượng chuẩn nội trong dung dịch đối chiếu (a_1) (định lượng EPA) hoặc trong dung dịch đối chiếu (a_2) (định lượng DHA), tính bằng mg;
$m_{x,r}$ là khối lượng acid eicosapentaenoic ethyl ester chuẩn trong dung dịch đối chiếu (a_1) hoặc acid docosahexaenoic ethyl ester chuẩn trong dung dịch đối chiếu (a_2), tính bằng mg;
A_x là diện tích pic của acid eicosapentaenoic ester hoặc acid docosahexaenoic ester trong sắc ký đồ của dung dịch thử (a);
$A_{x,r}$ là diện tích pic của acid eicosapentaenoic ester trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (a_1) hoặc acid docosahexaenoic ester trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (a_2);
A_1 là diện tích pic chuẩn nội trong sắc ký đồ của dung dịch thử (a);
$A_{x,3}$ là diện tích pic chuẩn nội trong sắc ký đồ dung của dịch đối chiếu (a_1) (định lượng EPA) hoặc trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (a_2) (định lượng DHA);
C là hệ số chuyển đổi giữa dạng ethyl ester và dạng triglycerid: C = 1,00 đối với ethyl ester; C = 0,954 đối với EPA; C = 0,957 đối với DHA.

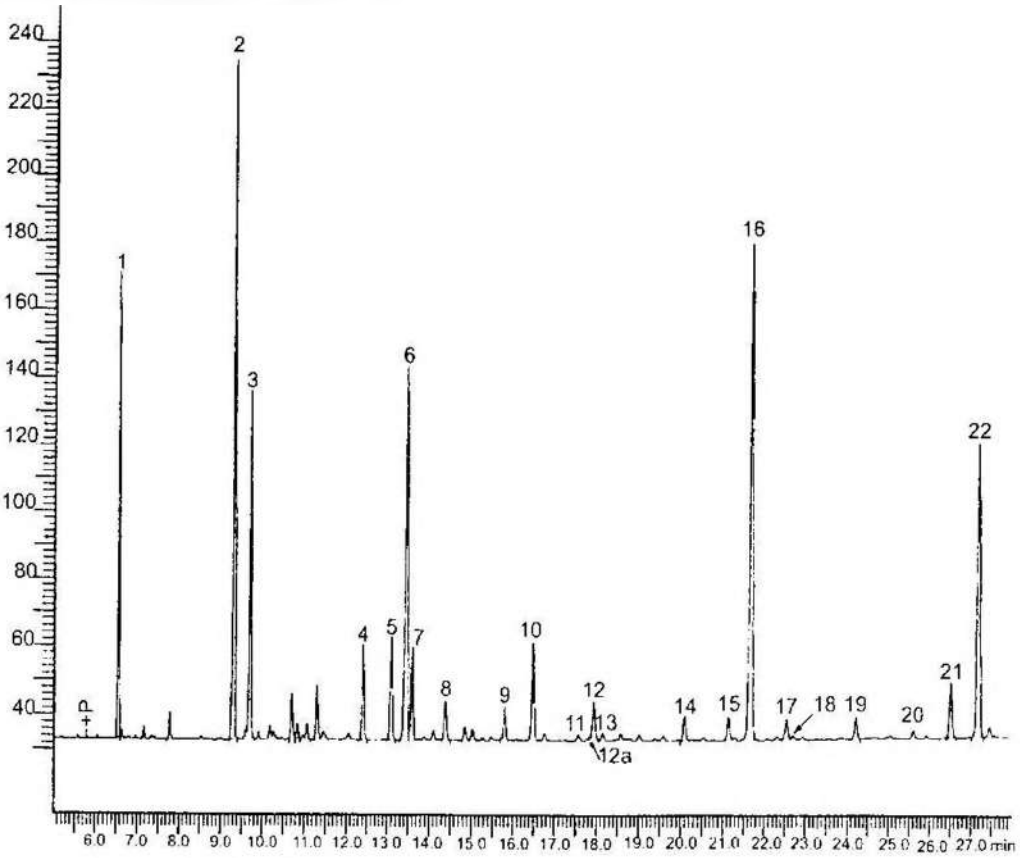
Acid omega-3 toàn phần

Xem sắc ký đồ của acid omega-3 toàn phần trong dầu cá trong Hình 10.21.

Từ kết quả định lượng EPA và DHA, tính hàm lượng phần trăm của acid omega-3 toàn phần theo công thức sau:

$$EPA+DHA+\frac{A_{n\text{-}3}(EPA+DHA)}{A_{EPA}+A_{DHA}}$$

Trong đó:
EPA là hàm lượng phần trăm của EPA;
DHA là hàm lượng phần trăm của DHA;
$A_{n\text{-}3}$ tổng diện tích của các pic C18:3 n-3, C18:4 n-3, C20:4 n-3, C21:5 n-3 and C22:5 n-3 ester trong sắc ký đồ của dung dịch thử (b);
A_{EPA} là diện tích pic của EPA ester trong sắc ký đồ của dung dịch thử (b);
A_{DHA} là diện tích pic của DHA ester trong sắc ký đồ của dung dịch thử (b).



1. C14:0	4. C16:4 n-1	7. C18:1 n-7	10. C18:4 n-3	12a. C20:1 n-11	15. C20:4 n-3	18. C22:1 n-9	21. C22:5 n-3
2. C16:0	5. C18:0	8. C18:2 n-6	11. C20:0	13. C20:1 n-7	16. C20:5 n-3	19. C21:5 n-3	22. C22:6 n-3
3. C16:1 n-7	6. C18:1 n-9	9. C18:3 n-3	12. C20:1 n-9	14. C20:4 n-6	17. C22:1 n-11	20. C22:5 n-6	

Hình 10.21 - Sắc ký đồ định lượng acid omega-3 toàn phần trong dầu cá

10.22 ĐỊNH LƯỢNG VITAMIN D

Hoạt lực của vitamin D được tính theo đơn vị quốc tế (ký hiệu IU). 1 IU vitamin D tương đương với 0,025 µg ergocalciferol hoặc cholecalciferol.

Quy trình định lượng vitamin D cần được tiến hành nhanh, hạn chế tối đa tiếp xúc với không khí và ánh sáng, tốt hơn hết là sử dụng sự che phủ của khí trơ và thủy tinh màu.

Phương pháp 1: ***Phương pháp sắc ký lỏng***

Quy trình sắc ký lỏng sau đây được áp dụng cho định lượng vitamin D dưới dạng ergocalciferol hoặc cholecalciferol trong các chế phẩm thuốc đa vitamin.

Hóa chất và thuốc thử đặc biệt

Ether (TT_1): Ether (TT) được sử dụng trong vòng 24 h sau khi mở lọ.

Hexan khan (TT_1): Được điều chế bằng sắc ký cột hấp phụ. Chuẩn bị cột sắc ký (60 cm × 8 cm) nhồi 500 g *đất silic dùng cho sắc ký (50 - 250 µm) (TT)* đã được hoạt hóa bằng cách sấy ở 150 °C trong 4 h. Cho 500 ml *hexan (TT)* qua cột và hứng dịch rửa giải vào bình nón nút mài.

Dung dịch butyl hydroxytoluen (TT): Hòa tan 1,0 g *butyl hydroxytoluen (TT)* trong *ether dầu hỏa tinh khiết sắc ký (TT)* vừa đủ 100 ml.

Dung dịch kali hydroxyd (TT_1): Hòa tan 50,0 g *kali hydroxyd (TT)* trong 50,0 ml *nước* vừa đun sôi, lắc đều và để nguội. Pha mới dung dịch hàng ngày.

Dung dịch kali hydroxyd trong ethanol 96 % (TT_1): Hòa tan 3 g *kali hydroxyd (TT)* trong 50 ml *nước* vừa đun sôi, thêm 10 ml *ethanol 96 % (TT)*, pha loãng thành 100 ml với nước vừa mới đun sôi, lắc đều và để nguội. Pha mới dung dịch hàng ngày.

Dung dịch natri ascorbat (TT): Hòa tan 3,5 g *acid ascorbic (TT)* trong 20 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 N (TT)*. Pha mới dung dịch hàng ngày.

Dung dịch natri sulfid (TT_1): Hòa tan 12 g *natri sulfid (TT)* trong 20 ml *nước*, pha loãng thành 100 ml bằng *glycerin (TT)* và lắc đều.

Phương pháp sắc ký lỏng *(Phụ lục 5.3).*

Pha động:

Pha động A: Hỗn hợp *acetonitril - methanol - nước* (25 : 25 : 1). Lượng nước và tốc độ dòng có thể thay đổi để đáp ứng yêu cầu của độ thích hợp hệ thống.

Pha động B: Hỗn hợp *alcol n-amylic - hexan khan* (3 : 997). Tỷ lệ các thành phần và tốc độ dòng có thể thay đổi để đáp ứng yêu cầu của độ thích hợp hệ thống.

Dung dịch chuẩn nội: Cân chính xác 15 mg $\Delta^{4,6}$-cholestadienol chuẩn vào bình định mức dung tích 200 ml, thêm hỗn hợp *toluen - pha động B* (10 : 90) đến vạch và lắc đều.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 25 mg ergocalciferol chuẩn hoặc cholecalciferol chuẩn vào bình định mức dung tích 50 ml, hòa tan không làm nóng trong *toluen (TT)*, pha loãng đến vạch với cùng dung môi và lắc đều. Lấy 10 ml dung dịch chuẩn gốc vào bình định mức dung tích 100 ml, pha loãng đến vạch với *toluen (TT)* và lắc đều. Pha mới dung dịch chuẩn gốc hàng ngày.

Dung dịch thử:

Đối với dung dịch dầu: Cân chính xác một lượng chế phẩm (không ít hơn 0,5 g) tương ứng với khoảng 125 µg (5000 IU) cholecalciferol hoặc ergocalciferol. Thêm 1 ml *dung dịch natri ascorbat (TT)*, 25 ml *ethanol 96 % (TT)* và 2 ml *dung dịch kali hydroxyd (TT_1)* và lắc đều.

Đối với viên nang và viên nén: Đun hồi lưu trên cách thủy không ít hơn 10 viên nang hoặc viên nén với hỗn hợp gồm 10ml *dung dịch natri ascorbat (TT)* và 2 giọt *dung dịch natri sulfid (TT_1)* trong 10 min, nghiền những mẩu rắn còn lại bằng đũa thủy tinh đầu tù và tiếp tục đun nóng trong 5 min. Làm mát, thêm 25 ml *ethanol 96 % (TT)*, 3 ml *dung dịch kali hydroxyd (TT_1)* và lắc đều.

Đối với chế phẩm khô và chế phẩm phân tán trong nước: Cân chính xác một lượng chế phẩm (không quá 0,5 g) tương ứng với khoảng 125 µg (5000 IU) cholecalciferol hoặc ergocalciferol. Thêm từng lượng nhỏ kèm theo lắc tròn nhẹ nhàng 25 ml *ethanol 96 % (TT)*, 5 ml *dung dịch natri ascorbat (TT)* và 3 ml *dung dịch kali hydroxyd (TT_1)*.

Tiến hành xà phòng hóa và chiết: Đun hồi lưu hỗn hợp được chuẩn bị từ chế phẩm trên cách thủy trong 30 min. Làm lạnh nhanh dưới vòi nước và chuyển hỗn hợp đã được xà phòng hóa vào bình gạn, tráng bình nón dùng để xà phòng hóa lần lượt với: 2 lần, mỗi lần 15 ml *nước*; 10 ml *ethanol 96 % (TT)*; 2 lần, mỗi lần 50 ml *ether (TT_1)*. Chuyển toàn bộ dịch rửa vào bình gạn trên và lắc mạnh trong 30 s, để yên tới khi cả hai lớp trong. Chuyển lớp nước vào bình gạn thứ hai, thêm hỗn hợp 10 ml *ethanol 96 % (TT)* và 50 ml *ether dầu hỏa (TT)* và lắc mạnh. Để tách lớp và chuyển lớp nước vào bình gạn thứ ba, chuyển lớp ether dầu hỏa vào bình gạn thứ nhất, tráng bình gạn thứ hai bằng *ether dầu hỏa (TT)* 2 lần, mỗi lần 10 ml, chuyển dịch rửa vào bình gạn thứ nhất. Lắc lớp nước ở bình gạn thứ ba với 50 ml *ether dầu hỏa (TT)* và chuyển lớp ether dầu hỏa vào bình gạn thứ nhất. Rửa toàn bộ dịch chiết ether - ether dầu hỏa với *dung dịch kali hydroxyd trong ethanol 96 % (TT_1)* 3 lần, mỗi lần 50 ml và tiếp tục rửa bằng lắc mạnh với *nước* mỗi lần 50 ml tới khi nước rửa trung tính với *phenolphthalein (TT)*. Làm kiệt những giọt nước còn lại của dịch chiết ether - ether dầu hỏa, thêm 2 miếng giấy lọc đường kính 9 cm, cắt thành dải vào bình gạn và lắc. Chuyển dịch chiết ether - ether dầu hỏa vào bình cầu đáy tròn, rửa bình gạn và giấy lọc bằng *ether dầu hỏa (TT)*. Gộp dịch rửa ether dầu hỏa với dịch chiết ether - ether dầu hỏa, thêm 5,0 ml dung dịch chuẩn nội và 100 µl *dung dịch butyl hydroxytoluen (TT)* và lắc đều. Bốc hơi đến khô bằng cất quay chân không ở nhiệt độ không quá 40 °C. Làm mát dưới vòi nước và đưa nitrogen vào đủ để phục hồi áp suất không khí. Hòa tan ngay cặn trong 5 ml hỗn hợp *methanol - acetonitril* (1 : 1) hoặc trong một thể tích chính xác của hỗn hợp *methanol - acetonitril* (1 : 1) để thu được dung dịch thử có nồng độ vitamin D là 25 µg/ml.

Điều kiện sắc ký:
Cột làm sạch: Cột kích thước (30 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh B (5 µm hoặc 10 µm) sử dụng pha động A.
Cột phân tích: Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh A (5 µm hoặc 10 µm) sử dụng pha động B.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 254 nm.

Cách tiến hành:
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống đối với cột làm sạch: Lấy chính xác 5,0 ml dung dịch chuẩn vào bình cầu đáy tròn nối với ống sinh hàn hồi lưu, thêm 2 hoặc 3 tinh thể *butyl hydroxytoluen (TT)*. Thay thế không khí bằng nitrogen, đun nóng trong cách thủy duy trì ở nhiệt độ 90 °C trong ánh sáng dịu dưới khí nitrogen trong 45 min để thu được dung dịch có chứa vitamin D và tiền vitamin D. Làm lạnh và thêm 10,0 ml dung dịch chuẩn nội, lắc đều và bốc hơi bằng cất quay chân không ở nhiệt độ không quá 40 °C. Làm lạnh dưới vòi nước và đưa nitrogen vào đủ để phục hồi áp suất không khí. Hòa tan ngay cặn trong 10 ml hỗn hợp *methanol - acetonitril* (1 : 1) và lắc đều.
Tiêm 500 µl dung dịch này vào cột làm sạch. Sắc ký đồ có một pic có thời gian lưu khoảng 5 min đến 9 min tương ứng với pic của hỗn hợp gồm vitamin D, tiền vitamin D và $\Delta^{4,6}$-cholestadienol được tách khỏi các chất khác. Điều chỉnh tỉ lệ nước hoặc tốc độ dòng nếu cần (xem pha động A).
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống đối với cột phân tích: Cân khoảng 100 mg *chất chuẩn thử độ thích hợp hệ thống của định lượng vitamin D* vào bình định mức dung tích 100 ml, hòa tan và pha loãng đến vạch bằng hỗn hợp *toluen - pha động B* (5 : 95) và lắc đều. Đun hồi lưu một phần dung dịch này ở 90 °C trong 45 min và làm lạnh, thu được dung dịch thử độ thích hợp hệ thống của cột phân tích.
Tiêm dung dịch thử độ thích hợp hệ thống của cột phân tích 5 lần: Thời gian lưu tương đối là khoảng 0,4 với pre-cholecalciferol, 0,5 với trans-cholecalciferol và 1,0 với cholecalciferol. Độ phân giải giữa pic trans-cholecalciferol và pre-cholecalciferol không nhỏ hơn 1,0 và độ lệch chuẩn tương đối của đáp ứng pic cholecalciferol không quá 2,0 %.
Hiệu chuẩn hệ số đáp ứng của vitamin D: Lấy chính xác 4,0 ml dung dịch chuẩn và 10,0 ml dung dịch chuẩn nội vào bình định mức dung tích 100 ml, pha loãng đến vạch với pha động B và lắc đều để thu được dung dịch chuẩn làm việc. Bảo quản dung dịch chuẩn làm việc ở nhiệt độ không quá 0 °C (giữ phần chưa dùng cho tiến hành định lượng).
Tiêm 200 µl dung dịch chuẩn làm việc vào cột phân tích và đo đáp ứng pic của vitamin D và $\Delta^{4,6}$-cholestadienol. Thời gian lưu tương đối của $\Delta^{4,6}$-cholestadienol là khoảng 1,3. Tính toán hệ số đáp ứng, F_D, bằng công thức sau:

$$F_D = \frac{C_S}{R_S \times C_R}$$

Trong đó:
C_S và C_R là nồng độ tương ứng của vitamin D và $\Delta^{4,6}$-cholestadienol trong dung dịch chuẩn làm việc (µg/ml).
R_S là tỉ số đáp ứng pic của vitamin D đối với $\Delta^{4,6}$-cholestadienol.
Hiệu chuẩn hệ số đáp ứng của tiền vitamin D: Lấy chính xác 4 ml dung dịch chuẩn vào bình cầu đáy tròn nối với ống sinh hàn hồi lưu, thêm 2 hoặc 3 tinh thể *butyl hydroxytoluen (TT)*. Thay thế không khí bằng nitrogen, đun nóng trong cách thủy duy trì ở nhiệt 90 °C trong ánh sáng dịu và dưới khí nitrogen trong 45 min để thu được dung dịch có chứa vitamin D và tiền vitamin D. Làm mát và sử dụng pha động B để chuyển toàn bộ dung dịch trên vào bình định mức dung tích 100 ml có chứa 10,0 ml dung dịch chuẩn nội, pha loãng đến vạch với pha động B và lắc đều, thu được dung dịch hỗn hợp làm việc.
Tiêm 200 µl dung dịch hỗn hợp làm việc vào cột phân tích và đo đáp ứng pic của vitamin D, tiền vitamin D và $\Delta^{4,6}$-cholestadienol. Tính toán nồng độ C'_S (µg/ml) của vitamin D trong dung dịch hỗn hợp làm việc (đã đun nóng) bằng công thức:

$$C'_S = F_D \times C_R \times R'_S$$

Trong đó:
C_R là nồng độ của $\Delta^{4,6}$-cholestadienol (µg/ml);
R'_S là tỉ số đáp ứng pic của vitamin D đối với $\Delta^{4,6}$-cholestadienol.
Tính toán nồng độ, C'_{PRE} (µg/ml), của tiền vitamin D trong dung dịch hỗn hợp làm việc bằng công thức:

$$C'_{PRE} = C_S - C'_S$$

Tính toán hệ số đáp ứng, F_{PRE}, đối với tiền vitamin D bằng công thức:

$$F_{PRE} = \frac{F_D \times R'_S \times C'_{PRE}}{R'_{PRE} \times C'_S}$$

Trong đó:
R'_{PRE} là tỉ số đáp ứng pic của tiền vitamin D đối với $\Delta^{4,6}$-cholestadienol.
(Chú ý: Giá trị của F_{PRE} được xác định trùng lặp ở những ngày khác nhau có thể sử dụng trong cả quy trình này).
Tiến hành sắc ký: Tiêm 500 µl dung dịch thử vào cột làm sạch và lấy phần rửa giải trong khoảng thời gian tương ứng 0,7 đến 1,3 thời gian lưu tương đối của pic vitamin D hỗn hợp (xem phần thử độ thích hợp hệ thống của cột làm sạch) vào một bình cầu đáy tròn. Thêm 50 µl *dung dịch butyl hydroxytoluen (TT), lắc đều và bay hơi trong chân không đến khô bằng cất quay chân không ở nhiệt độ không quá* 40 °C. Làm mát dưới vòi nước và đưa nitrogen vào đủ để phục hồi áp suất không khí. Hòa tan ngay cặn trong 5,0 ml hỗn hợp *toluen - pha động B* (5 : 95). Tiêm 200 µl dung dịch này vào cột phân tích và đo đáp ứng pic của vitamin D, tiền vitamin D và $\Delta^{4,6}$-cholestadienol. Tính toán nồng độ của cholecalciferol ($C_{27}H_{44}O$) hoặc ergocalciferol ($C_{28}H_{44}O$) bằng công thức sau:

$$(R''_D \times F_D + R''_{PRE} \times F_{PRE})C''_R$$

Trong đó:
R''_D là tỉ số của đáp ứng pic của vitamin D đối với $\Delta^{4,6}$-cholestadienol;
R''_{PRE} là tỉ số đáp ứng pic của tiền vitamin D đối với $\Delta^{4,6}$-cholestadienol;
C''_R là nồng độ của $\Delta^{4,6}$-cholestadienol trong dung dịch thử (µg/ml).

Phương pháp 2: *Phương pháp hóa học*

Quy trình sau đây được áp dụng cho định lượng vitamin D trong các chế phẩm thuốc.

Hóa chất và thuốc thử đặc biệt

Đất sét dùng cho sắc ký (TT_1): Đất sét dùng cho sắc ký (TT) có hàm lượng nước từ 8,5 % đến 9,0 % (sử dụng phương pháp mất khối lượng do làm khô).

Ether dầu hỏa (TT_1): Dùng *ether dầu hỏa (TT)*, nếu cần chưng cất lại, đáp ứng thêm yêu cầu sau đây:

Tinh khiết quang phổ: Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của chế phẩm ở bước sóng 300 nm, dùng không khí làm mẫu trắng, độ hấp thụ không được quá 0,070.

Ethylen clorid (TT_1): Ethylen clorid (TT) tinh chế qua cột silica gel (74 µm đến 850 µm).

Dung dịch butyl hydroxytoluen (TT_1): Hòa tan 10 mg *butyl hydroxytoluen (TT)* trong 100 ml *ethanol 96 % (TT)*. Pha mới dung dịch hàng ngày.

Ether (TT_2): Sử dụng *ether (TT)* mới cất, bỏ đi 10 % dịch cất đầu và cuối.

Thuốc thử tạo màu

Dung dịch A: Chuyển hết toàn bộ 113 g *antimony triclorid (TT)* tinh thể khô có chứa sẵn trong lọ mới chưa mở vào bình nón có chứa 400 ml *ethylen clorid (TT_1)*. Thêm khoảng 2 g *nhôm oxyd khan (TT)*, lắc đều và lọc qua giấy lọc vào bình định mức thủy tinh trong, dung tích 500 ml. Pha loãng thành 500 ml với *ethylen clorid (TT_1)* và lắc đều. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch này ở bước sóng 500 nm, trong cốc đo 20 mm, dùng dung dịch *ethylen clorid (TT_1)* làm mẫu trắng, độ hấp thụ đo được không được quá 0,070.

Dung dịch B: Lắc đều trong hốt 100 ml *acetyl clorid (TT)* với 400 ml *ethylen clorid (TT_1)*.

Thuốc thử tạo màu: Lắc đều 45 ml dung dịch A và 5 ml dung dịch B. Bảo quản trong lọ kín và sử dụng được trong vòng 7 ngày, nhưng nếu thuốc thử xuất hiện màu thì bỏ đi.

Phương pháp sắc ký cột

Chuẩn bị các cột sắc ký:

– Cột thứ nhất: Chuẩn bị sắc ký cột đi xuống gồm một cột sắc ký có đường kính trong 2,5 cm và dài khoảng 25 cm và được thu nhỏ lại tới đường kính 8 mm trong khoảng cách 5 cm từ đầu cuối của ống, đặt một đĩa thủy tinh xốp có lỗ xốp lớn hoặc một miếng nhỏ bông thủy tinh ngay trên điểm thắt này. Phần thu nhỏ này có thể lắp một khóa nhựa bên trong.

Cho khoảng 125 ml *isooctan (TT)* vào một chai miệng rộng, nút xoáy, thêm 25 g *đất silic dùng cho sắc ký (TT)*, lắc đến khi tạo thành bột nhão. Thêm từng giọt và lắc đều mạnh 10 ml *polyethylen glycol 600 (TT)*. Đậy nút chai và lắc mạnh trong 2 min. Rót một nửa lượng bột nhão vào cột sắc ký và để lắng. Sau đó áp dụng hút chân không nhẹ nhàng và thêm phần còn lại của bột nhão (thêm từng phần nhỏ một), nhồi từng phần bằng một ống pit tông hình đĩa 20 mm. Khi bề mặt rắn hình thành, bỏ chân không và thêm khoảng 2 ml *isooctan (TT)*.

– Cột thứ hai: Chuẩn bị một cột gồm ba phần: (1) Phần đầu phình rộng có đường kính trong 18 mm và dài khoảng 14 cm; (2) Phần giữa có đường kính trong 6 mm và dài khoảng 25 cm và (3) Phần ống ra phía dưới được thu nhỏ lại, dạng hình phễu, dài khoảng 5 cm. Đặt một miếng bông thủy tinh nhỏ phía trên phần thu nhỏ 1 cm.

Nhồi vào phần giữa của ống 3 g *đất sét dùng cho sắc ký (TT)* với hút chân không nhẹ nhàng (khoảng 125 mm thủy ngân).

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 25 mg ergocalciferol chuẩn hoặc cholecalciferol chuẩn vào bình định mức dung tích 100 ml, hòa tan trong *isooctan (TT)*, pha loãng đến vạch bằng cùng dung môi và lắc đều. Bảo quản dung dịch này trong tủ lạnh. Khi định lượng, hút 1,0 ml dung dịch này vào bình định mức dung tích 50 ml, bốc hơi dung môi bằng dòng khí nitrogen, hòa tan cặn và pha loãng đến thể tích với *ethylen clorid (TT_1)* và lắc đều.

Dung dịch thử: Cân hoặc hút chính xác một lượng chế phẩm tương đương với không ít hơn125 µg nhưng thích hợp nhất là 250 µg ergocalciferol (10000 IU). Nếu ít hoặc không có vitamin A có mặt trong chế phẩm, thêm khoảng 1,5 mg vitamin A acetat (tương đương với 3000 IU) để tạo các dải thực nghiệm cần thiết trong phần sắc ký phía sau. Đối với viên nang hoặc viên nén, đun hồi lưu ít nhất 10 viên trong 10 ml *nước* trên cách thủy khoảng 10 min, nghiền chất rắn còn lại bằng đũa thủy tinh đầu tù và đun nóng thêm 5 min.

Thêm một thể tích *dung dịch kali hydroxid 50 % (TT)* tương ứng với 2,5 ml cho mỗi g của khối lượng chế phẩm, nhưng tổng thể tích không ít hơn 3,0 ml. Thêm 10 ml *dung dịch butyl hydroxytoluen (TT_1)* và 20 ml dung dịch *ethanol 96 % (TT)*. Đun hồi lưu mạnh trên cách thủy khoảng 30 min. Làm mát và chuyển hỗn hợp xà phòng hóa vào một bình gạn, rửa bình nón xà phòng hóa 3 lần, mỗi lần 10 ml *nước* và 3 lần, mỗi lần 50 ml *ether (TT_2)*, gộp dịch rửa vào bình gạn. Thêm khoảng 4 g *natri sulfat decahydrat (TT)* vào bình gạn và chiết bằng cách lắc trong 2 min. Nếu hình thành nhũ dịch, chiết 3 lần mỗi lần 25 ml *ether (TT_2)*. Gộp dịch chiết ether và rửa nhẹ nhàng với 50 ml *nước*. Rửa nhắc lại nhiều lần bằng cách lắc mạnh, mỗi lần với 50 ml *nước* đến khi dịch rửa cuối cùng không có màu hồng khi thêm *dung dịch phenolphthalein (CT)*. Chuyển dịch chiết ether đã rửa vào bình định mức dung tích 250 ml, pha loãng đến thể tích với *ether (TT_2)* và lắc đều. Chuyển toàn bộ dung dịch hoặc lấy một thể tích chính xác có chứa khoảng 250 µg ergocalciferol vào cốc có mỏ cao thành dung tích 400 ml có chứa 5 g *natri sulfat khan (TT)*. Khuấy trong 2 min, gạn phần dung dịch vào cốc có mỏ dung tích 400 ml khác. Rửa phần natri sulfat còn lại 3 lần, mỗi lần 25 ml *ether (TT_2)*, gộp dịch rửa vào phần dung dịch. Bốc hơi trên cách thủy đến khi còn khoảng 30 ml, chuyển vào một bình cầu bốc hơi đáy tròn, nhỏ. Rửa cốc 3 lần mỗi lần 10 ml *ether (TT_2)*, gộp dịch rửa vào bình cầu. Bốc hơi bằng cất quay chân không ở nhiệt độ không quá 40 °C hoặc bằng dòng khí nitrogen ở nhiệt độ phòng để loại bỏ hoàn toàn dung môi. Hòa tan cặn trong một lượng nhỏ *ether dầu hỏa (TT)*, chuyển vào bình định mức dung tích 10 ml, pha

loãng đến thể tích với *ether dầu hỏa (TT)*, lắc đều thu được dung dịch thử.

Cách tiến hành:

– Sắc ký cột thứ nhất: Ngay khi 2 ml *isooctan (TT)* thấm hết vào trong bề mặt của cột thứ nhất, hút 2 ml dung dịch thử lên bề mặt cột. Khi mặt lõm của dung dịch thử đi tới bề mặt cột, thêm lần đầu tiên của 3 lần thêm, mỗi lần 2 ml *ether dầu hỏa (TT)*, mỗi lần thêm tiếp theo khi lần thêm trước thấm hết vào trong cột. Tiếp tục thêm *ether dầu hỏa (TT)* nhiều lần, mỗi lần 5 đến 10 ml tới khi thêm được 100 ml. Nếu cần điều chỉnh tốc độ dòng từ 3 đến 6 ml/min, bằng tạo một áp suất nhẹ nhàng lên đầu cột sắc ký.

Bỏ 20 ml dịch rửa giải đầu tiên và lấy dịch còn lại. Thỉnh thoảng, kiểm tra cột dưới ánh sáng tử ngoại trong suốt quá trình sắc ký và dừng dòng chảy khi phía trên của dải huỳnh quang tương ứng với vitamin A là khoảng 5 mm từ đáy của cột. (Đèn UV có bức xạ yếu ở vùng 300 nm. Cần sử dụng đèn có khẩu độ hoặc màn hình hẹp nhằm giảm lượng bức xạ tới mức tối thiểu để phát hiện vitamin A trên cột). Chuyển dịch rửa giải vào một bình bốc hơi thích hợp và bốc hơi dung môi ether dầu hỏa hoàn toàn trong chân không ở nhiệt độ không quá 40 °C hoặc với một luồng khí nitrogen ở nhiệt độ phòng. Hòa tan cắn trong khoảng 10 ml *ether dầu hỏa (TT)*

– Sắc ký cột thứ hai: Chuyển dung dịch ether dầu hỏa thu được ở cột thứ nhất lên bề mặt cột thứ hai. Rửa bình bốc hơi với 10 ml *ether dầu hỏa (TT)* chia thành từng phần nhỏ, thêm từng phần dịch rửa vào cột thứ hai và để chảy qua cột, bỏ dịch rửa giải. Khi còn khoảng 1 ml ether dầu hỏa phía trên bề mặt cột, thêm 75 ml *toluen (TT)*, rửa giải bằng hút chân không nhẹ nhàng (khoảng 125 mm thủy ngân), thu được dịch rửa giải. Bay hơi toluen trong chân không ở nhiệt độ không quá 40 °C hoặc với một dòng khí nitrogen ở nhiệt độ phòng.

Dung dịch định lượng: Hòa tan cắn thu được ở phần sắc ký cột thứ hai trong một lượng nhỏ *ethylen diclorid (TT_1)* chuyển vào bình định mức dung tích 10 ml, pha loãng đến vạch với *ethylen diclorid (TT_1)* và lắc đều thu được dung dịch định lượng.

Tạo màu: Lấy ba ống tạo màu đường kính trong khoảng 20 mm, đánh số thứ tự 1, 2 và 3. Thêm vào mỗi ống 1 ml dung dịch thử.

Các dung dịch	Ống 1	Ống 2	Ống 3
Dung dịch thử	1 ml	1 ml	1 ml
Dung dịch chuẩn	1 ml	-	-
Ethylen clorid (TT_1)	-	1 ml	-
Hỗn hợp *anhydrid acetic - ethylen clorid (1 : 1).*	-	-	1 ml
Thuốc thử tạo màu (thêm nhanh vào mỗi ống, tốt hơn hết là bằng một pipet tự động, lắc đều)	1 ml	1 ml	1 ml

Chính xác 45 s sau khi thêm thuốc thử tạo màu, đo độ hấp thụ của ba dung dịch (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 500 nm, dùng *ethylen clorid (TT_1)* làm mẫu trắng. Tương tự, 45 s sau lần đo thứ nhất, tiếp tục xác định độ hấp thụ của dung dịch 2 và 3 ở 550 nm trong cùng điều kiện. Ký hiệu các độ hấp thụ đo được là A^1_{500}, A^2_{500}, A^3_{500}, A^2_{550} và A^3_{550}, trong đó số được viết lên trên là số của ống còn số viết phía dưới là bước sóng đo.

Tính kết quả:

Tính hàm lượng (µg) của vitamin D trong lượng chế phẩm bằng công thức:

$$(C_S/C)/(A_U/A_S)$$

Trong đó:

C_S là nồng của vitamin D trong dung dịch chuẩn (µg/ml).

C là nồng độ của mẫu thử (tính theo g, viên nén, viên nang…) trong mỗi ml của dung dịch định lượng.

A_U là giá trị của $(A^3_{500} - A^3_{500}) - 0,67(A^2_{500} - A^3_{500})$ được xác định từ các độ hấp thụ đo được của dung dịch định lượng.

A_S là giá trị của $A^1_{500} - A^2_{500}$ được xác định từ các độ hấp thụ đo được của dung dịch chuẩn.

PHỤ LỤC 11

11.1 GIỚI HẠN CHO PHÉP VỀ THỂ TÍCH CỦA CÁC THUỐC DẠNG LỎNG

Lượng hoạt chất có trong các thuốc dạng lỏng liên quan đến thể tích của chúng. Do thực tế sai số của các dụng cụ, trang thiết bị và việc thực hiện qui trình sản xuất mà mỗi thuốc dạng lỏng được phép có một khoảng chênh lệch nhất định về thể tích so với qui định ghi trên nhãn. Đó là giới hạn cho phép về thể tích.

Trừ các thuốc có qui định đặc biệt, các thuốc dạng lỏng có giới hạn cho phép về thể tích ghi trong Bảng 11.1.

Bảng 11.1 - Giới hạn cho phép chênh lệch (%) về thể tích của các thuốc dạng lỏng

Loại thuốc		Thể tích ghi trên nhãn	Giới hạn cho phép
Thuốc tiêm đơn liều:			
- Đo thể tích thuốc từng đơn vị chế phẩm		Mọi thể tích	± 10 %
- Trong trường hợp tiến hành đo thể tích thuốc từ nhiều đơn vị chế phẩm gộp lại với thuốc tiêm có thể tích ≤ 2 ml		Tổng thể tích ghi trên nhãn của các đơn vị chế phẩm đem thử	± 15 %
Thuốc tiêm đa liều		Mọi thể tích	Không dưới thể tích ghi trên nhãn
Thuốc tiêm truyền		Tới 50 ml	− 10 %
		Trên 50 ml	+ 5 %
Thuốc dạng lỏng để uống (Dung dịch, Hỗn dịch, Nhũ dịch, Rượu, Sirô thuốc và Cao thuốc)	Đa liều	Mọi thể tích	Không dưới thể tích ghi trên nhãn
	Đơn liều	Tới 20 ml	+ 10 %
		Trên 20 ml đến 50 ml	+ 8 %
		Trên 50 ml đến 150 ml	+ 6 %
		Trên 150 ml	+ 4 %
Thuốc nhỏ mắt, Thuốc nhỏ mũi, Thuốc nhỏ tai		Mọi thể tích	Không dưới thể tích ghi trên nhãn
Thuốc dùng ngoài		Mọi thể tích	Không dưới thể tích ghi trên nhãn

CÁCH THỬ

Các dạng thuốc không thuộc dạng thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền

Chế phẩm đa liều

Lấy ngẫu nhiên 5 đơn vị chế phẩm (ống, lọ...). Xác định thể tích từng đơn vị bằng bơm tiêm chuẩn hoặc ống đong chuẩn sạch, khô, có độ chính xác phù hợp. Thể tích mỗi đơn vị phải không dưới thể tích ghi trên nhãn. Nếu có một đơn vị không đạt phải tiến hành kiểm tra lần thứ hai giống như lần đầu. Chế phẩm đạt yêu cầu nếu trong lần thử này không có đơn vị nào có thể tích dưới thể tích ghi trên nhãn.

Chế phẩm đơn liều

Lấy ngẫu nhiên 10 đơn vị chế phẩm. Xác định thể tích từng đơn vị bằng bơm tiêm chuẩn hoặc ống đong chuẩn sạch, khô, có độ chính xác phù hợp. Thể tích mỗi đơn vị phải nằm trong khoảng từ thể tích ghi trên nhãn đến giới hạn cho phép (Bảng 11.1). Nếu có một đơn vị không đạt phải tiến hành kiểm tra lần thứ hai giống như lần đầu. Chế phẩm đạt yêu cầu nếu trong lần thử này không có đơn vị nào có thể tích nằm ngoài giới hạn cho phép.

Các dạng thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền

Thuốc tiêm đơn liều

Thuốc tiêm có thể tích lớn hơn hoặc bằng 10 ml: Lấy 1 đơn vị chế phẩm để thử.

Thuốc tiêm có thể tích lớn hơn 3 ml và nhỏ hơn 10 ml: Lấy 3 đơn vị chế phẩm để thử.

Thuốc tiêm có thể tích nhỏ hơn hoặc bằng 3 ml: Lấy 5 đơn vị chế phẩm để thử.

Thuốc tiêm đem đo thể tích phải để cân bằng với nhiệt độ phòng và được phân tán đồng nhất. Dùng bơm tiêm khô, sạch, có dung tích không lớn hơn 3 lần so với thể tích cần đo, có gắn kim tiêm số 21 (21 gauge) và dài không quá 2,5 cm. Lấy toàn bộ thuốc của từng ống vào bơm tiêm, đẩy hết không khí trong bơm tiêm và kim tiêm ra ngoài. Chuyển lượng thuốc có trong bơm tiêm (để lại không bơm hết lượng thuốc còn trong kim) vào ống đong khô, sạch, có vạch chia phù hợp và được chuẩn hóa, ống đong có dung tích sao cho thể tích được đo chiếm tối thiểu 40 % thang đo của ống đong. Cũng có thể xác định thể tích (ml) thuốc tiêm bằng cách xác định khối lượng của lượng thuốc trong ống tiêm (g) rồi chia cho tỷ trọng (g/ml) của chế phẩm.

Đối với thuốc tiêm có thể tích nhỏ hơn hoặc bằng 2 ml, có thể lấy lượng thuốc từ một số lượng đơn vị chế phẩm vừa đủ và gộp lại để có được thể tích đáp ứng cho phép đo, sử dụng các bơm tiêm khô, riêng biệt cho mỗi ống. Đối với thuốc tiêm có thể tích lớn hơn hoặc bằng 10 ml, có thể xác định thể tích bằng cách chuyển thẳng lượng thuốc trong đơn vị chế phẩm vào ống đong hoặc cốc đã cân bì.

Chế phẩm dạng hỗn dịch hoặc nhũ tương phải được lắc đều trước khi rút ra để đo thể tích hoặc trước khi đo tỷ trọng. Chế phẩm nhớt hay ở dạng đầu có thể làm ấm theo hướng dẫn sử dụng ghi trên nhãn, nếu cần, và lắc kỹ ngay trước khi lấy ra để đo. Đo thể tích chế phẩm sau khi đã để nguội xuống 20 °C đến 25 °C.

Nếu tiến hành đo thể tích trên từng đơn vị chế phẩm, thể tích trong mỗi đơn vị phải nằm trong khoảng từ thể tích ghi trên nhãn đến giới hạn cho phép. Trong trường hợp đo mẫu gộp với thuốc tiêm có thể tích ≤ 2 ml, thể tích đo được phải nằm trong khoảng tổng thể tích ghi trên nhãn của các đơn vị chế phẩm lấy đem đo đến giới hạn cho phép.

Thuốc tiêm đa liều

Đối với thuốc tiêm đa liều mà trên nhãn có ghi số lượng liều và thể tích của từng liều, lấy một đơn vị chế phẩm, tiến hành lấy ra từng liều như với thuốc tiêm đơn liều, sử dụng các bơm tiêm riêng rẽ. Số lượng bơm tiêm dùng cho phép thử tương ứng với số liều ghi trên nhãn. Thể tích của mỗi liều không nhỏ hơn thể tích đơn vị liều ghi trên nhãn.

Thuốc tiêm truyền

Lấy 1 đơn vị chế phẩm. Chuyển toàn bộ lượng thuốc có trong đơn vị chế phẩm vào một ống đong khô, sạch có độ chính xác phù hợp và có dung tích sao cho thể tích được đo chiếm tối thiểu 40 % thang đo của ống đong. Thể tích đo được phải nằm trong khoảng từ thể tích ghi trên nhãn đến giới hạn cho phép.

11.2 PHÉP THỬ ĐỘ ĐỒNG ĐỀU HÀM LƯỢNG

Phép thử độ đồng đều hàm lượng của các chế phẩm đơn liều dựa trên cơ sở định lượng hàm lượng hoạt chất của từng đơn vị, để xác định mỗi hàm lượng riêng lẻ có nằm trong giới hạn cho phép so với hàm lượng trung bình hay không.

Phép thử này không áp dụng cho chế phẩm đa liều, thuốc truyền tĩnh mạch không phân liều, chế phẩm chứa vitamin, nguyên tố vi lượng và các trường hợp khác được phép miễn trừ.

Trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, phép thử độ đồng đều hàm lượng được tiến hành trên 10 đơn vị riêng lẻ lấy ngẫu nhiên. Kết quả được đánh giá theo phương pháp sau:

Phương pháp 1

Áp dụng cho thuốc nang, thuốc bột không dùng pha tiêm, thuốc cốm, thuốc đạn, thuốc trứng

Chế phẩm đạt yêu cầu phép thử, nếu có không quá một đơn vị có hàm lượng nằm ngoài giới hạn từ 85 % đến 115 % và không có đơn vị nào có hàm lượng nằm ngoài giới hạn từ 75 % đến 125 % của hàm lượng trung bình.

Chế phẩm không đạt yêu cầu phép thử, nếu có quá ba đơn vị có hàm lượng nằm ngoài giới hạn từ 85 % đến 115 %, hoặc có một hay nhiều đơn vị có hàm lượng nằm ngoài giới hạn từ 75 % đến 125 % của hàm lượng trung bình.

Nếu hai hoặc ba đơn vị có hàm lượng nằm ngoài giới hạn từ 85 % đến 115 %, nhưng ở trong giới hạn từ 75 % đến 125 % của hàm lượng trung bình, thử lại trên 20 đơn vị khác lấy ngẫu nhiên. Chế phẩm đạt yêu cầu phép thử, nếu có không quá ba trong tổng số 30 đơn vị đem thử có hàm lượng nằm ngoài giới hạn từ 85 % đến 115 % và không có đơn vị nào có hàm lượng nằm ngoài giới hạn từ 75 % đến 125 % của hàm lượng trung bình.

Phương pháp 2

Áp dụng cho thuốc viên nén, thuốc bột pha tiêm, hỗn dịch để tiêm

Chế phẩm đạt yêu cầu phép thử, nếu hàm lượng của từng đơn vị nằm trong giới hạn từ 85 % đến 115 % của hàm lượng trung bình.

Chế phẩm không đạt yêu cầu phép thử, nếu có quá một đơn vị có hàm lượng nằm ngoài giới hạn từ 85 % đến 115 %, hoặc có một đơn vị có hàm lượng nằm ngoài giới hạn từ 75 % đến 125 % của hàm lượng trung bình.

Nếu có một đơn vị có hàm lượng nằm ngoài giới hạn từ 85 % đến 115 % của hàm lượng trung bình, thử lại trên 20 đơn vị khác lấy ngẫu nhiên. Chế phẩm đạt yêu cầu phép thử, nếu có không quá một trong tổng số 30 đơn vị đem thử có hàm lượng nằm ngoài giới hạn từ 85 % đến 115 % và không có đơn vị nào có hàm lượng nằm ngoài giới hạn từ 75 % đến 125 % của hàm lượng trung bình.

Phương pháp 3

Áp dụng cho thuốc dán (hấp thu qua da)

Chế phẩm đạt yêu cầu phép thử, nếu hàm lượng trung bình của 10 đơn vị nằm trong giới hạn từ 90 % đến 110 % hàm lượng ghi trên nhãn và hàm lượng của từng đơn vị phải nằm trong giới hạn từ 75 % đến 125 % của hàm lượng trung bình.

11.3 PHÉP THỬ ĐỘ ĐỒNG ĐỀU KHỐI LƯỢNG

Phép thử độ đồng đều khối lượng dùng để xác định độ đồng đều phân liều của chế phẩm, khi không có yêu cầu thử độ đồng đều hàm lượng. Tiến hành theo phương pháp sau:

Phương pháp 1

Áp dụng cho thuốc viên nén, thuốc đạn, thuốc trứng, thuốc dán

Cân riêng biệt 20 đơn vị lấy ngẫu nhiên, tính khối lượng trung bình. Không được có quá hai đơn vị có khối lượng nằm ngoài giới hạn chênh lệch so với khối lượng trung bình quy định trong Bảng 11.3.1 và không được có đơn vị nào có khối lượng vượt gấp đôi giới hạn đó.

Phương pháp 2

Áp dụng cho thuốc nang, thuốc bột (đơn liều), thuốc cốm (không bao, đơn liều)

Cân khối lượng của một nang hay một gói (thuốc bột, thuốc cốm). Với viên nang cứng, tháo rời hai nửa vỏ nang, dùng bông lau sạch vỏ và cân khối lượng của vỏ. Với viên nang mềm, cắt mở nang, bóp hết thuốc ra, dùng ether hoặc dung môi hữu cơ thích hợp rửa vỏ nang, để khô tự nhiên cho đến khi hết mùi dung môi, cân khối lượng của vỏ nang. Với gói, cắt mở gói, lấy hết thuốc ra, dùng bông lau

Bảng 11.3.1 - Bảng quy định độ đồng đều khối lượng cho chế phẩm đơn liều

Dạng bào chế	Khối lượng trung bình (KLTB)	% chênh lệch so với KLTB
Viên nén Viên bao phim	Nhỏ hơn hoặc bằng 80 mg	10
	Lớn hơn 80 mg và nhỏ hơn 250 mg	7,5
	Bằng hoặc lớn hơn 250 mg	5
Thuốc nang; Thuốc bột (đơn liều); Thuốc cốm (không bao, đơn liều)	Nhỏ hơn 300 mg	10
	Bằng hoặc lớn hơn 300 mg	7,5
Thuốc bột để pha tiêm* (đơn liều)	Lớn hơn 40 mg	10
Viên nén bao đường	Tất cả các loại	10
Thuốc đạn Thuốc trứng Cao dán	Tất cả các loại	5

* Đối với thuốc bột để pha tiêm, khi khối lượng trung bình bằng hay nhỏ hơn 40 mg, chế phẩm không phải thử độ đồng đều khối lượng, nhưng phải thử độ đồng đều hàm lượng.

sạch bột thuốc bám ở mặt trong, cân khối lượng vỏ gói. Khối lượng thuốc trong nang hay gói là hiệu số giữa khối lượng nang thuốc hay gói và khối lượng vỏ nang hay vỏ gói. Tiến hành tương tự với 19 đơn vị khác lấy ngẫu nhiên. Tính khối lượng trung bình của thuốc trong nang hay gói. Kết quả được đánh giá dựa vào Bảng 11.3.1 giống như Phương pháp 1.

Phương pháp 3

Áp dụng cho thuốc bột để pha tiêm.

Loại bỏ hết nhãn, rửa sạch và làm khô bên ngoài. Loại bỏ hết các nút nếu có, cân ngay khối lượng cả vỏ và thuốc. Lấy hết thuốc ra, dùng bông lau sạch, nếu cần rửa với nước, sau đó với *ethanol 96 % (TT)*, sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 1 h. Nếu vỏ không chịu được nhiệt độ này, làm khô ở nhiệt độ thích hợp tới khối lượng không đổi, để nguội trong bình hút ẩm và cân. Hiệu số giữa hai lần cân là khối lượng của thuốc. Tiến hành tương tự với 19 đơn vị khác lấy ngẫu nhiên. Tính khối lượng trung bình của thuốc. Kết quả được đánh giá dựa vào Bảng 11.3.1 giống như Phương pháp 1.

Phương pháp 4

Áp dụng cho thuốc bột (đa liều), thuốc cốm (đa liều), thuốc mỡ, cao xoa, cao động vật.

Cân khối lượng của một đơn vị đóng gói nhỏ nhất. Mở đồ chứa (gói, hộp, lọ...), lấy hết thuốc ra, cắt mở đồ chứa nếu cần để dễ dàng dùng bông lau sạch thuốc bám ở mặt trong, cân khối lượng của đồ chứa. Hiệu số giữa hai lần cân là khối lượng của thuốc. Tiến hành tương tự với bốn đơn vị khác lấy ngẫu nhiên. Tất cả các đơn vị phải có khối lượng nằm trong giới hạn chênh lệch so với khối lượng ghi trên nhãn quy định trong Bảng 11.3.2. Nếu có một đơn vị có khối lượng nằm ngoài giới hạn đó, tiến hành thử lại với năm đơn vị khác lấy ngẫu nhiên. Không được có quá một đơn vị trong tổng số 10 đơn vị đem thử có khối lượng nằm ngoài giới hạn qui định.

Bảng 11.3.2 - Bảng quy định độ đồng đều khối lượng cho chế phẩm đa liều

Dạng bào chế	Khối lượng ghi trên nhãn (KLN)	% chênh lệch so với KLN
Thuốc bột (đa liều)	Nhỏ hơn hoặc bằng 0,50 g	10
	Lớn hơn 0,50 g và bằng 1,50 g	7
	Lớn hơn 1,50 g và bằng 6,00 g	5
	Lớn hơn 6,00 g	3
Thuốc cốm (đa liều)	Tất cả các loại	5
Thuốc kem, mỡ, bột nhão, gel, Cao xoa	Nhỏ hơn hoặc bằng 10,0 g	15
	Lớn hơn 10,0 g và bằng 20,0 g	10
	Lớn hơn 20,0 g và bằng 50,0 g	8
	Lớn hơn 50,0	5
Cao động vật	Nhỏ hơn hoặc bằng 100,0 g	5
	Lớn hơn 100,0 g và bằng 200,0 g	3
	Lớn hơn 200,0 g	2

11.4 PHÉP THỬ ĐỘ HÒA TAN CỦA DẠNG THUỐC RẮN PHÂN LIỀU

Phép thử này nhằm xác định sự phù hợp của chế phẩm đối với yêu cầu qui định về độ hòa tan dược chất của các dạng thuốc rắn phân liều dùng đường uống. Trong chuyên luận, một đơn vị được hiểu là 1 viên nén, 1 nang hoặc 1 lượng chế phẩm được chỉ rõ.

Thiết bị

***Thiết bị kiểu giỏ quay** (Thiết bị kiểu 1)*

Hệ thống thiết bị này bao gồm những bộ phận sau:

Một bình hình trụ dung tích 1 L có đáy hình bán cầu bằng thủy tinh hoặc bằng vật liệu trơ và trong suốt khác, miệng viền tộng có nắp đậy với những lỗ thích hợp (để cắm nhiệt

kể....). Chiều cao của bình từ 160 mm đến 210 mm, đường kính trong từ 98 mm đến 106 mm. Vật liệu chế tạo bình phải không hấp phụ, không phản ứng hoặc tương tác với mẫu thử;

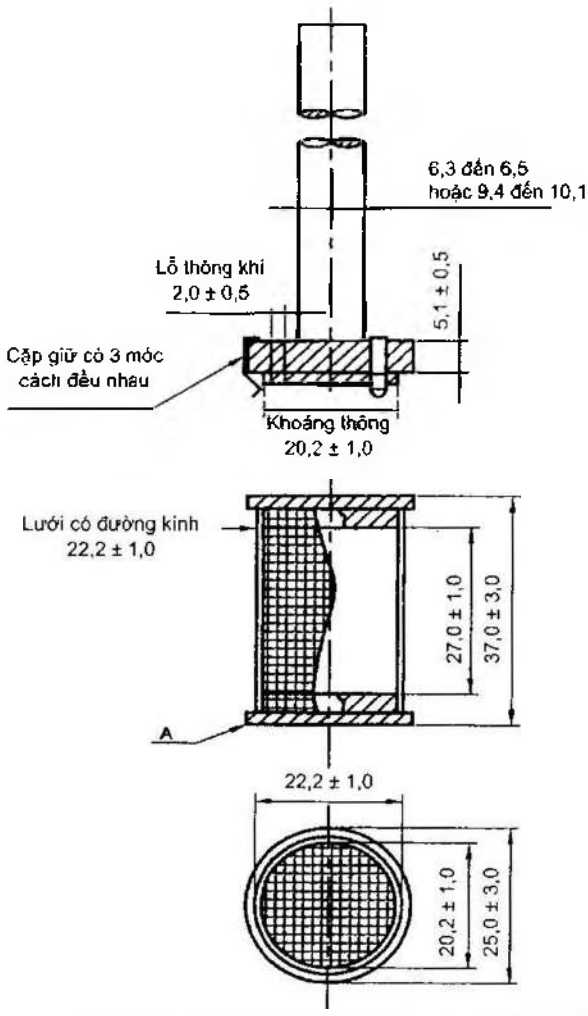
Một trục quay và một giỏ hình trụ như mô tả ở Hình 11.4.1 Các bộ phận trục và giỏ quay của thiết bị được chế tạo bằng thép không gỉ (SUS316) hoặc bằng một vật liệu trơ khác. Giỏ quay có thể được mạ một lớp vàng dày khoảng 2,5 µm. Đơn vị được đặt trong giỏ khô khi bắt đầu mỗi phép thử. Khoảng cách giữa đáy bình và đáy của giỏ luôn luôn giữ trong khoảng (25 ± 2) mm suốt quá trình thử. Trục quay được định vị sao cho trục của nó không bị lệch quá 2 mm so với trục xuyên tâm thẳng đứng của bình ở bất kỳ điểm nào;

Một động cơ có bộ phận điều tốc để duy trì tốc độ quay trong dung sai ± 4 % của tốc độ qui định. Động cơ được kết nối với một trục quay và khi vận hành thì quay nhẹ nhàng, không tạo nên sóng nước ảnh hưởng tới kết quả;

Bình được ngâm chìm một phần trong một bể cách thủy có kích thước phù hợp hoặc có thể được điều nhiệt bằng thiết bị thích hợp khác như áo nước. Bể cách thủy hay áo nước cho phép duy trì nhiệt độ bên trong bình môi trường hòa tan ở (37 ± 0,5) °C trong quá trình thử cũng như giữ cho môi trường trong bình chuyển động ổn định và nhẹ nhàng. Bất kỳ bộ phận nào của thiết bị, bao gồm cả bàn thí nghiệm hay nơi đặt thiết bị, đều không được có rung động, lắc lư đáng kể; chấp nhận những lay động rất nhẹ gây ra bởi bộ phận khuấy quay. Thiết bị được chế tạo sao cho có thể quan sát dễ dàng mẫu thử và bộ phận quay trong khi vận hành.

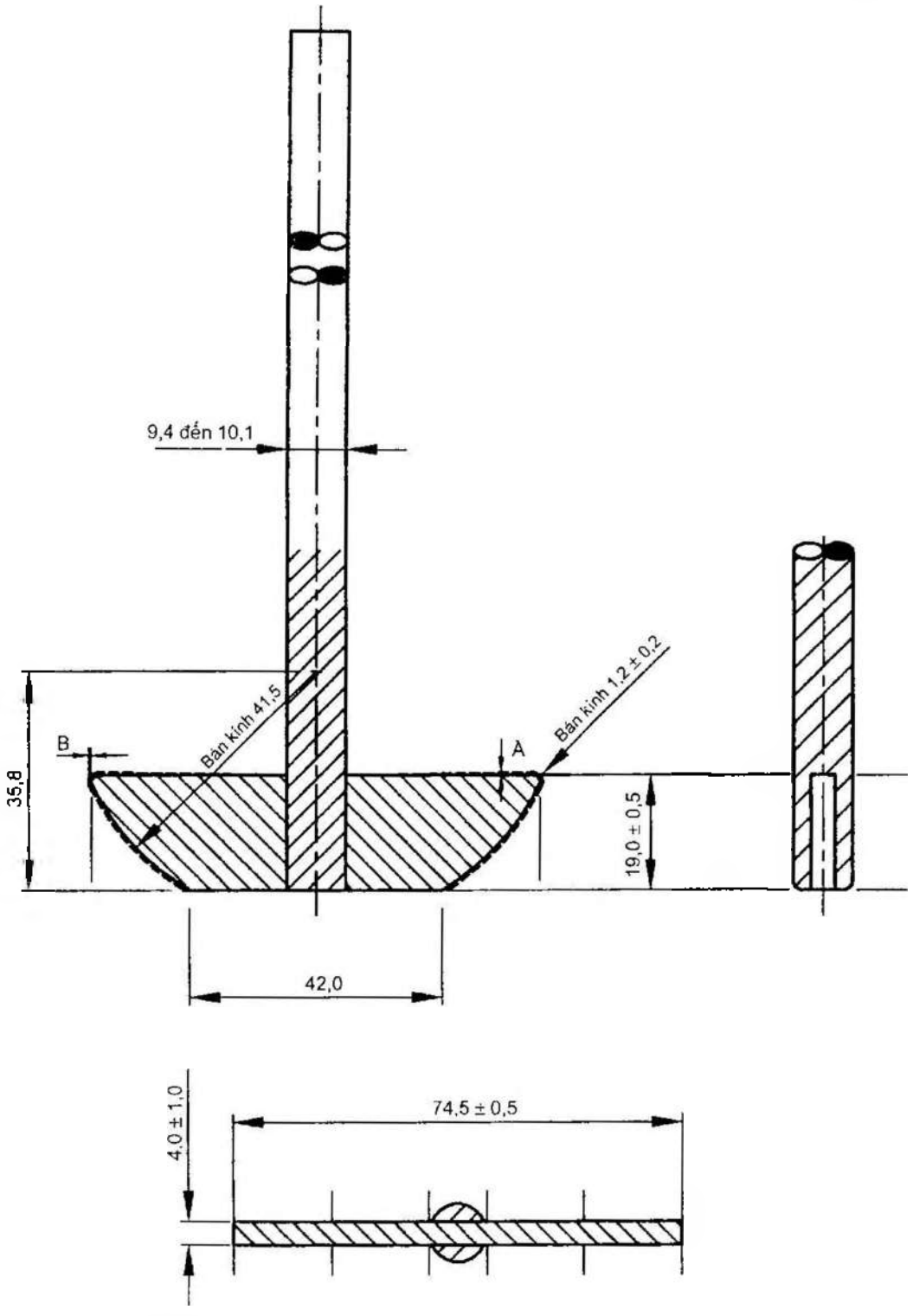
Thiết bị kiểu cánh khuấy *(Thiết bị kiểu 2)*

Thiết bị kiểu cánh khuấy giống như thiết bị kiểu 1 ngoại trừ có dùng một bộ phận khuấy, bao gồm một cánh khuấy và một trục mang nó. Trục quay được định vị sao cho trục của nó không bị lệch quá 2 mm so với trục xuyên tâm thẳng đứng của bình ở bất kỳ điểm nào. Trục này quay nhẹ nhàng, không tạo nên sóng nước ảnh hưởng tới kết quả. Đường thẳng đứng xuyên tâm của cánh khuấy cũng đi qua trục của trục quay và lắp sao cho đáy của cánh khuấy ngang bằng với đáy của trục. Cánh khuấy được mô tả trên Hình 11.4.2. Khoảng cách giữa đáy cánh khuấy và đáy bình luôn được duy trì ở 25 mm ± 2 mm trong quá trình vận hành phép thử. Trục quay và cánh khuấy được làm bằng kim loại hay vật liệu trơ thích hợp, được gắn kết thành một khối chắc chắn. Một kiểu thiết kế khác gồm 2 phần tháo lắp được cũng có thể được sử dụng miễn là 2 phần này gắn kết chắc chắn trong quá trình vận hành. Cánh khuấy và trục quay có thể được phủ một lớp mạ thích hợp để đảm bảo bề mặt hoàn toàn trơ. Đơn vị thử thường được đặt xuống đáy bình trước khi bắt đầu cho cánh khuấy quay. Có thể dùng bộ phận giữ mẫu thử, làm bằng vật liệu trơ, được mô tả trên Hình 11.4.2a, để giữ cho mẫu thử không bị nổi lên. Những bộ phận giữ mẫu thử kiểu khác cũng có thể sử dụng miễn là được thẩm định đạt yêu cầu. Nếu trong chuyên luận có chỉ định dùng bộ phận giữ mẫu thử và không có qui định khác, thì dùng bộ phận giữ mẫu thử như trong Hình 11.4.2a.



1. Lưới có mép được hàn; đường kính sợi lưới từ 0,25 đến 0,31 mm
Độ rộng mắt lưới từ 0,36 - 0,44 mm
2. Khi lắp giỏ quay vào trục quay và vận hành thì độ lệnh tối đa tại "A" là 1,0 mm

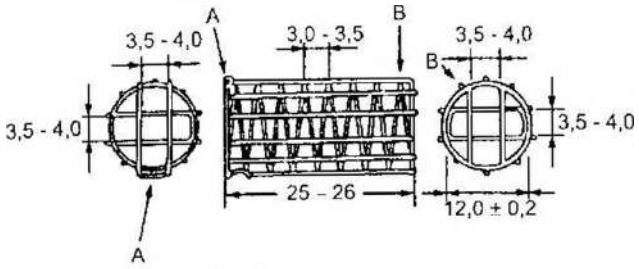
Hình 11.4.1 - Thiết bị thử độ hòa tan kiểu giỏ quay (kiểu 1)
(Kích thước tính bằng mm)



Lưu ý:

1. Kích thước A và B không thay đổi quá 0,5 mm khi quay
2. Dung sai ± 1,0 mm trừ khi có quy định khác

Hình 11.4.2 - Thiết bị thử độ hòa tan kiểu cánh khuấy (kiểu 2)
(Kích thước tính bằng mm)



Hình 11.4.2a - Một kiểu bộ phận giữ mẫu thử
(Kích thước tính bằng mm)

Thiết bị kiểu buồng dòng chảy *(Thiết bị kiểu 3)*

Thiết bị này bao gồm 1 bình chứa và 1 bơm để bơm môi trường hòa tan; 1 buồng cho môi trường hòa tan chảy qua; 1 bể cách thủy để duy trì môi trường hòa tan ở (37 ± 0,5) °C. Dùng buồng dòng chảy có kích cỡ như qui định trong chuyên luận riêng.

Bơm đẩy môi trường hòa tan đi lên qua buồng dòng chảy. Sức đẩy của bơm ở trong khoảng từ 4 đến 16 ml/min với các tốc độ dòng tiêu chuẩn là 4, 8 và 16 ml/min. Nó phải chuyển tải được một dòng chảy hằng định (dao động ± 5 % tốc độ dòng qui định); giản đồ dòng phải ở dạng hình sin với tần số xung là (120 ± 10) xung/phút. Loại bơm được khử xung cũng có thể được dùng. Qui trình thử độ hòa tan dùng buồng dòng chảy được qui định thông số đặc trưng về tốc độ dòng và tần số xung nếu có.

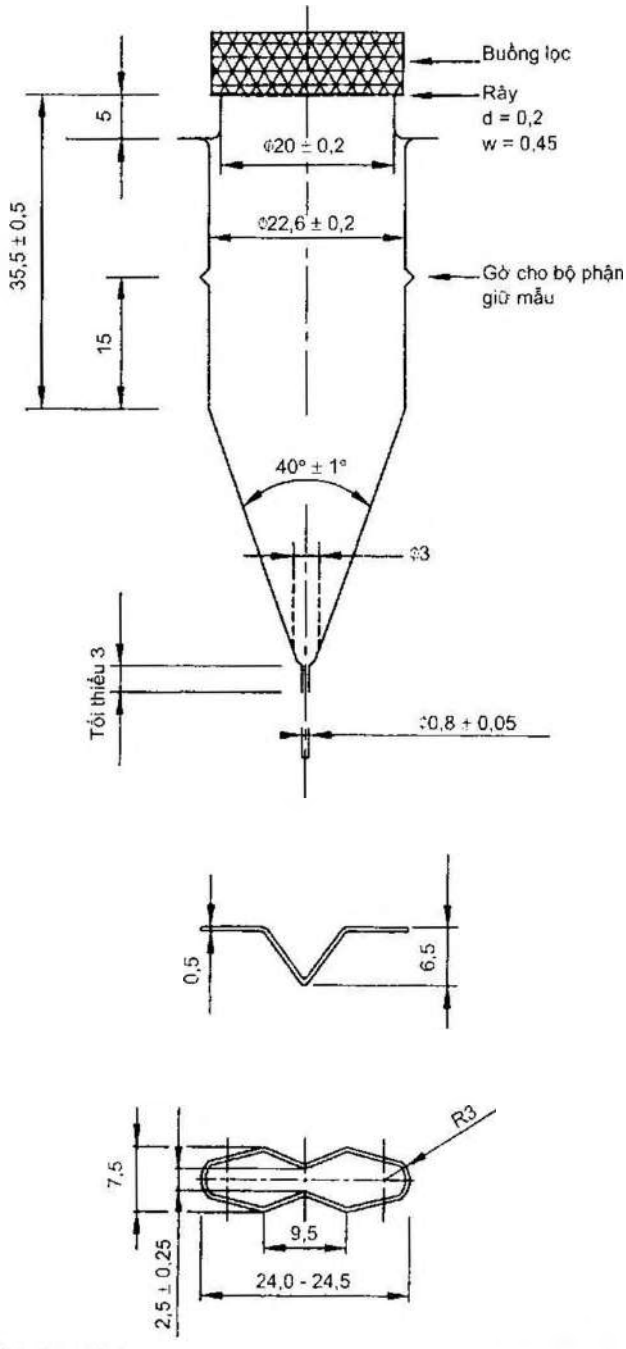
Buồng dòng chảy (xem Hình 11.4.3 và 11.4.4) được chế tạo bằng vật liệu trơ, trong suốt, lắp đặt thẳng đứng với hệ thống lọc (được qui định trong chuyên luận riêng) có khả năng ngăn ngừa những tiểu phân không hòa tan thoát ra từ mặt trên của buồng; đường kính buồng tiêu chuẩn là 12 mm và 22,6 mm; phần hình nón ngược phía dưới thường chứa đầy những hạt bi thủy tinh nhỏ có đường kính 1 mm, trong đó có 1 hạt đường kính 5 mm được định vị ở đáy để ngăn chất lỏng đi vào ống; một bộ phận giữ mẫu thử (xem Hình 11.4.3 và 11.4.4) được dùng để định vị các dạng phân liều đặc biệt. Buồng được nhúng chìm trong bể cách thủy, và được ổn nhiệt ở (37 ± 0,5) °C.

Thiết bị có 2 vòng khuyên để cặp giữ buồng dòng chảy với toàn hệ thống. Bơm được đặt tách riêng khỏi bộ phận hòa tan để giữ cho bộ phận này khỏi rung do bơm chạy. Vị trí của bơm không nên ở mức cao hơn bình chứa môi trường hòa tan. Các đoạn ống nối phải càng ngắn càng tốt. Dùng loại ống bằng vật liệu trơ thích hợp như polytetrafluoroethylen, có đường kính trong khoảng 1,6 mm và các đầu nối được viền nhẵn.

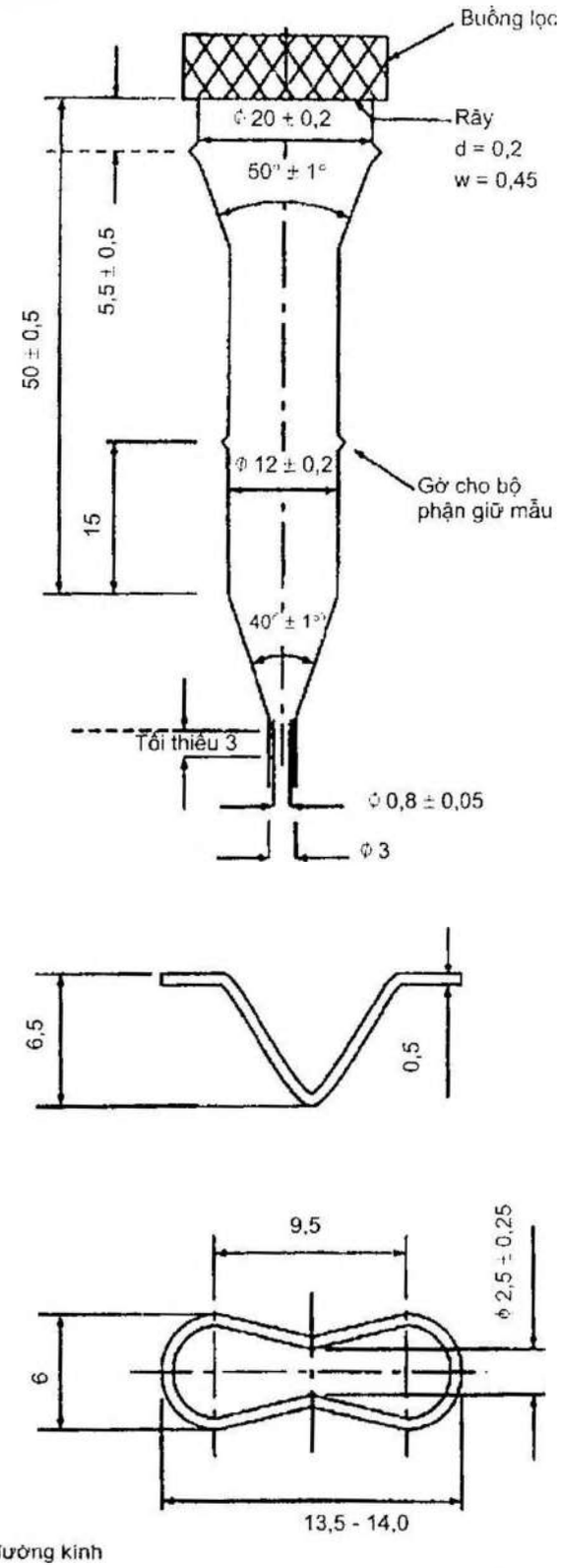
Đánh giá tính phù hợp của thiết bị

Việc xác định tính phù hợp của hệ thống thiết bị thử độ hòa tan phải bao gồm đáp ứng yêu cầu về kích thước và khoảng sai số được nêu ở trên. Những thông số quan trọng nhất của phép thử như nhiệt độ và thể tích môi trường hòa tan, tốc độ quay (Phương pháp giỏ quay và Phương pháp cánh khuấy) hay tốc độ dòng của môi trường hòa tan (Phương pháp buồng dòng chảy) cần phải theo dõi định kỳ trong quá trình thử.

Cần phải định kỳ hiệu chuẩn thiết bị thử độ hòa tan.



Hình 11.4.3 - Thiết bị thử độ hòa tan kiểu 3, loại buồng lớn (phía trên), bộ phận giữ mẫu thử (phía dưới)
(Kích thước tính bằng mm)



Φ: đường kính

Hình 11.4.4 - Thiết bị thử độ hòa tan kiểu 3, loại buồng nhỏ (phía trên), bộ phận giữ mẫu thử (phía dưới) *(Kích thước tính bằng mm)*

Phương pháp tiến hành

a. Phương pháp giỏ quay hoặc phương pháp cánh khuấy

Dạng thuốc giải phóng tức thời

Cách tiến hành: Cho một thể tích xác định môi trường hòa tan (± 1 %) vào trong bình hòa tan, lắp ghép thiết bị, cân bằng nhiệt độ môi trường hòa tan ở (37 ± 0,5) °C rồi lấy nhiệt kế ra. Cho 1 đơn vị vào thiết bị, chú ý loại bọt khí khỏi bề mặt của mẫu thử. Cho vận hành thiết bị ngay ở tốc độ được qui định. Trong khoảng thời gian qui định, hay ở mỗi thời điểm qui định, lấy một phần mẫu môi trường hòa tan ở vùng giữa bề mặt môi trường hòa tan và mặt trên của giỏ quay hay mặt trên của cánh khuấy, cách thành bình ít nhất 10 mm để thử. Nếu phép thử qui định phải lấy mẫu nhiều lần, cần cấp bù một thể tích môi trường hòa tan mới ở 37 °C bằng thể tích dịch mẫu thử đã lấy đi, hoặc nếu không cần thiết phải cấp bù môi trường hòa tan thì tiến hành hiệu chỉnh sự thay đổi thể tích trong tính toán kết quả. Đậy nắp bình hòa tan trong suốt quá trình thử và kiểm tra nhiệt độ của môi trường hòa tan ở các thời điểm thích hợp.

Mẫu thử được lọc ngay sau khi lấy trừ khi đã chứng minh được việc lọc dịch thử là không cần thiết. Cần dùng màng lọc trơ, không hấp phụ dược chất hoặc không chứa những chất bị chiết ra gây trở ngại cho việc phân tích. Tiến hành xác định lượng dược chất được hoà tan theo phương pháp qui định. Lặp lại phép thử với những đơn vị thử khác.

Nếu dùng thiết bị tự động lấy mẫu hoặc thiết bị có thay đổi khác thì cần phải chứng tỏ rằng thiết bị này cho kết quả tương đương với kết quả thu được từ thiết bị chuẩn đã được mô tả trên đây.

Môi trường hòa tan: Sử dụng một loại môi trường hòa tan thích hợp. Dong, đo thể tích môi trường qui định trong điều kiện nhiệt độ từ 20 °C đến 25 °C. Nếu môi trường hòa tan là một dung dịch đệm, cần điều chỉnh pH sao cho ở trong khoảng pH qui định ± 0,05 đơn vị. Các chất khí hòa tan có thể tạo thành bọt khí làm thay đổi kết quả phép thử. Để tránh ảnh hưởng này, cần loại khí trước khi sử dụng.

Thời gian: Nếu qui định một thời điểm lấy mẫu kiểm tra, phép thử có thể kết thúc trong khoảng thời gian ngắn hơn nếu lượng dược chất hòa tan tối thiểu đã được đáp ứng. Mẫu thử được lấy ra chỉ ở những thời điểm qui định, thời điểm lấy mẫu được phép sai số ± 2 %.

Dạng thuốc giải phóng kéo dài

Cách tiến hành: Tiến hành như mô tả trong mục Dạng thuốc giải phóng tức thời.

Môi trường hòa tan: Tiến hành như mô tả trong mục Dạng thuốc giải phóng tức thời.

Thời gian: Thường có 3 thời điểm lấy mẫu kiểm tra, được biểu thị bằng giờ.

Dạng thuốc giải phóng muộn

Cách tiến hành: Theo phương pháp A hoặc phương pháp B dưới đây.

- Phương pháp A

Giai đoạn acid: Cho 750 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M* vào bình hòa tan, lắp ráp thiết bị. Ổn định nhiệt độ môi trường hòa tan ở (37 ± 0,5) °C. Cho 1 đơn vị vào bình, đậy nắp bình rồi vận hành thiết bị với vận tốc được qui định trong chuyên luận riêng. Sau 2 h vận hành ở môi trường

dung dịch acid hydrocloric 0,1 M, lấy một một phần môi trường hoà tan để thử rồi tiến hành ngay *Giai đoạn đệm* tiếp theo. Xác định lượng dược chất được hoà tan bằng phương pháp thích hợp.

Giai đoạn đệm: Cần hoàn thành việc thêm dung dịch đệm và điều chỉnh pH trong thời gian không quá 5 min. Trong khi thiết bị vẫn đang vận hành ở vận tốc qui định, thêm vào bình hòa tan 250 ml *dung dịch trinatri phosphat 0,20 M* đã được ổn nhiệt ở (37 ± 0,5) °C. Điều chỉnh pH môi trường hòa tan đến 6,8 ± 0,05 nếu cần thiết, bằng *acid hydrocloric 2 M (TT)* hoặc bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*. Tiếp tục vận hành thiết bị 45 min nữa hoặc một khoảng thời gian theo quy định. Hết thời gian này, lấy một phần môi trường hòa tan để xác định lượng dược chất được hòa tan bằng phương pháp thích hợp.

– Phương pháp B

Giai đoạn acid: Cho 1000 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M* vào bình hòa tan, lắp ráp thiết bị. Ổn định nhiệt độ môi trường hòa tan ở (37 ± 0,5) °C. Cho 1 đơn vị vào bình, đậy nắp bình rồi vận hành thiết bị với vận tốc được qui định trong chuyên luận riêng. Sau 2 h vận hành ở môi trường *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M*, lấy một phần môi trường hoà tan để thử rồi tiến hành ngay *Giai đoạn đệm* tiếp theo. Xác định lượng dược chất hòa tan bằng phương pháp thích hợp.

Giai đoạn đệm: Dùng môi trường là dung dịch đệm đã được ổn nhiệt trước ở 37 °C ± 0,5 °C. Rút hết dung dịch acid từ bình hòa tan đi rồi thêm 1000 ml *đệm phosphat pH 6,8* được pha bằng cách trộn đều *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M* với *dung dịch trinatri phosphat 0,20 M* theo tỉ lệ 3 : 1 và điều chỉnh pH môi trường hòa tan đến 6,8 ± 0,05 nếu cần thiết, bằng *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)* hoặc bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)*. Cũng có thể thực hiện việc này bằng cách nhấc bình chứa acid ra khỏi máy, thay bằng một bình hòa tan khác chứa dung dịch đệm rồi chuyển đơn vị thử từ bình chứa acid sang bình dung dịch đệm. Tiếp tục vận hành thiết bị 45 min nữa hoặc một khoảng thời gian theo qui định. Hết thời gian này, lấy một lượng môi trường hòa tan để xác định lượng dược chất hoà tan theo phương pháp thích hợp.

Môi trường hòa tan: Tiến hành loại khí như mô tả trong mục Dạng thuốc giải phóng tức thời.

Thời gian: Các thời điểm lấy mẫu được phép sai số ± 2 %, trừ khi có qui định khác.

b. Phương pháp buồng dòng chảy

Dạng thuốc giải phóng tức thời

Cách tiến hành: Cho các viên bi thủy tinh vào buồng thử như chỉ dẫn trong chuyên luận riêng. Đặt 1 đơn vị lên trên lớp viên bi, hoặc nếu có chỉ dẫn trong chuyên luận riêng thì đơn vị thử được đặt trên bộ phận giữ mẫu. Lắp đầu phễu lọc và cố định các bộ phận của thiết bị với nhau bằng kẹp giữ thích hợp. Bơm môi trường hòa tan đã được làm ấm đến (37 ± 0,5) °C đi qua đáy của buồng để có được tốc độ dòng theo quy định và được đo với độ chính xác 5 %. Thu các phần dịch hòa tan tại mỗi thời điểm qui định. Tiến hành định lượng như hướng dẫn. Lặp lại phép thử với những đơn vị khác.

Môi trường hòa tan: Tiến hành như chỉ dẫn trong mục Dạng thuốc giải phóng tức thời của Phương pháp giỏ quay và Phương pháp cánh khuấy.

Thời gian: Tiến hành như chỉ dẫn trong mục Dạng thuốc giải phóng tức thời của Phương pháp giỏ quay và Phương pháp cánh khuấy.

Dạng thuốc giải phóng kéo dài

Cách tiến hành: Tiến hành như mô tả trong mục Dạng thuốc giải phóng tức thời của Phương pháp buồng dòng chảy.

Môi trường hòa tan: Tiến hành như mô tả trong mục Dạng thuốc giải phóng tức thời của Phương pháp buồng dòng chảy.

Thời gian: Thường có 3 thời điểm lấy mẫu, được biểu thị bằng giờ.

Dạng thuốc giải phóng muộn

Cách tiến hành: Tiến hành như mô tả trong mục Dạng thuốc giải phóng tức thời của Phương pháp buồng dòng chảy.

Môi trường hòa tan: Tiến hành như mô tả trong mục Dạng thuốc giải phóng tức thời của Phương pháp buồng dòng chảy.

Thời gian: Các thời điểm lấy mẫu được phép sai số ± 2 %, trừ khi có qui định khác.

Đánh giá kết quả

a. Dạng thuốc giải phóng tức thời

Nếu không có chỉ dẫn gì khác, mẫu thử đạt tiêu chuẩn khi lượng dược chất hòa tan từ các đơn vị đem thử đáp ứng yêu cầu ghi trong Bảng 11.4.1. Phép thử phải trải qua bước tiếp theo nếu kết quả không đạt ở bước trước đó.

Giá trị Q, là lượng dược chất hòa tan theo qui định, được biểu thị bằng phần trăm so với lượng ghi trên nhãn; các giá trị 5 %, 15 % và 25 % cũng là phần trăm của lượng dược chất ghi trên nhãn.

Bảng 11.4.1 - Tiêu chuẩn chấp nhận khi thử độ hoà tan đối với dạng thuốc giải phóng tức thời

Bước	Số đơn vị thử	Tiêu chuẩn chấp nhận
S_1	6	Lượng dược chất hòa tan từ mỗi đơn vị không thấp hơn Q + 5 %
S_2	6	Lượng dược chất hòa tan trung bình của 12 đơn vị thử (S_1 + S_2) bằng hoặc lớn hơn Q và không có viên nào có lượng dược chất hòa tan thấp hơn Q – 15 %
S_3	12	Lượng dược chất hòa tan trung bình của 24 đơn vị thử (S_1 + S_2 + S_3) bằng hoặc lớn hơn Q, không quá 2 đơn vị có lượng dược chất hòa tan thấp hơn Q – 15 % và không có đơn vị nào có lượng dược chất hòa tan thấp hơn Q – 25 %

b. Dạng thuốc giải phóng kéo dài

Nếu không có chỉ dẫn gì khác, mẫu thử đạt tiêu chuẩn khi lượng dược chất hòa tan từ các đơn vị đem thử đáp ứng yêu cầu ghi trong Bảng 11.4.2. Phép thử phải trải qua bước tiếp theo nếu kết quả không đạt ở bước trước đó. Giới hạn lượng dược chất hòa tan ở từng thời điểm được biểu thị bằng phần trăm so với lượng ghi trên nhãn. Các giới hạn này gắn với mỗi giá trị Q_i, là lượng dược chất được hòa tan ở mỗi một khoảng thời gian nhất định. Các giá trị 10 %, 20 % ghi trong Bảng 11.4.2 cũng là hàm lượng phần trăm của lượng dược chất ghi trên nhãn. Nếu có qui định từ 2 khoảng thời gian hay nhiều hơn, tiêu chuẩn chấp nhận được áp dụng cho từng khoảng thời gian.

Bảng 11.4.2 - Tiêu chuẩn chấp nhận khi thử độ hoà tan đối với dạng thuốc giải phóng kéo dài

Bước	Số đơn vị thử	Tiêu chuẩn chấp nhận
L_1	6	Không có đơn vị nào có lượng dược chất hòa tan nằm ngoài mỗi một trong các khoảng qui định và không có đơn vị nào có lượng dược chất hòa tan thấp hơn lượng dược chất hòa tan qui định tại thời điểm thử cuối cùng.
L_2	6	Lượng dược chất hòa tan trung bình của 12 đơn vị ($L_1 + L_2$) phải nằm trong mỗi khoảng qui định tương ứng và không được thấp hơn lượng dược chất hòa tan qui định ở thời điểm thử cuối cùng; không có đơn vị nào có lượng dược chất hòa tan vượt ra ngoài quá 10 % ở mỗi khoảng qui định tương ứng; không có đơn vị nào có lượng dược chất hòa tan thấp hơn quá 10 % lượng dược chất hòa tan qui định tại thời điểm thử cuối cùng.
L_3	12	Lượng dược chất hòa tan trung bình của 24 đơn vị ($L_1 + L_2 + L_3$) phải nằm trong mỗi khoảng qui định tương ứng và không được thấp hơn lượng dược chất hòa tan qui định ở thời điểm cuối cùng; không quá 2 trong 24 đơn vị có lượng dược chất hòa tan vượt ra ngoài quá 10 % ở mỗi khoảng qui định tương ứng; không quá 2 trong 24 đơn vị có lượng dược chất hòa tan thấp hơn quá 10 % lượng dược chất hòa tan qui định tại thời điểm thử cuối cùng; không có một đơn vị nào có lượng dược chất hòa tan vượt ra ngoài quá 20 ở mỗi khoảng qui định tương ứng và thấp hơn quá 20 % lượng dược chất hòa tan qui định tại thời điểm thử cuối cùng.

c. Dạng thuốc giải phóng muộn

Giai đoạn acid: Nếu không có chỉ dẫn gì khác trong chuyên luận riêng, mẫu thử đạt yêu cầu ở giai đoạn này nếu lượng dược chất hòa tan tính bằng phần trăm so với lượng ghi trên nhãn của các đơn vị được thử đáp ứng yêu cầu ghi trong Bảng 11.4.3. Phép thử phải trải qua bước tiếp theo nếu kết quả không đạt ở bước trước đó.

Bảng 11.4.3 - Tiêu chuẩn chấp nhận khi thử độ hoà tan đối với dạng thuốc giải phóng muộn

Bước	Số đơn vị thử	Tiêu chuẩn chấp nhận
A_1	6	Không có đơn vị nào có lượng dược chất hòa tan quá 10 %
A_2	6	Lượng dược chất hòa tan trung bình của 12 đơn vị thử ($A_1 + A_2$) không lớn hơn 10 % và không có viên nào có lượng dược chất hòa tan quá 25 %
A_3	12	Lượng dược chất hòa tan trung bình của 24 đơn vị thử ($A_1 + A_2 + A_3$) không lớn hơn 10 %, không có đơn vị nào có lượng dược chất hòa tan quá 25 %

Giai đoạn đệm: Nếu không có chỉ dẫn gì khác trong chuyên luận riêng, mẫu thử đạt yêu cầu khi lượng dược chất hòa tan từ các đơn vị đáp ứng yêu cầu ghi trong Bảng 11.4.4. Phép thử phải trải qua bước tiếp theo nếu kết quả không đạt ở bước trước đó. Giá trị Q trong Bảng 11.4.4 là 75 % lượng dược chất ghi trên nhãn được hòa tan, trừ khi có qui định khác trong chuyên luận riêng. Trị giá của Q là tổng lượng dược chất được hòa tan, biểu thị bằng phần trăm, của cả hai giai đoạn acid và đệm. Các giá trị 5 %, 15 % và 25 % trong Bảng 11.4.4 cũng là phần trăm của lượng dược chất ghi trên nhãn.

Bảng 11.4.4 - Tiêu chuẩn chấp nhận khi thử độ hoà tan đối với dạng thuốc giải phóng muộn

Bước	Số đơn vị thử	Tiêu chuẩn chấp nhận
B_1	6	Không có đơn vị nào có lượng dược chất hòa tan thấp hơn Q + 5 %
B_2	6	Lượng dược chất hòa tan trung bình của 12 đơn vị thử ($B_1 + B_2$) bằng hoặc lớn hơn Q và không có viên nào có lượng dược chất hòa tan thấp hơn Q - 15 %
B_3	12	Lượng dược chất hòa tan trung bình của 24 đơn vị thử ($B_1 + B_2 + B_3$) bằng hoặc lớn hơn Q, không quá 2 đơn vị có lượng dược chất hòa tan thấp hơn Q - 15 %, và không có đơn vị nào có lượng dược chất hòa tan thấp hơn Q - 25 %

Một số quy định đối với phép thử độ hòa tan của viên nén và nang

Đối với viên nén hoặc nang giải phóng tức thời, nếu không có quy định trong chuyên luận riêng thì thời gian thử là 45 min. Lấy 6 đơn vị thử, lượng dược chất hòa tan từ mỗi đơn vị so với lượng ghi trên nhãn không được thấp hơn 70 %. Nếu có 1 đơn vị không đạt yêu cầu thì lặp lại phép thử với 6 đơn vị khác, lần này cả 6 đơn vị đều phải đạt.

Khi có quy định cho hai đơn vị thử hoặc nhiều hơn vào một bình thử, cũng tiến hành thử sáu lần như vậy. Trong mỗi lần thử, nếu không có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, lượng dược chất được hòa tan tính theo mỗi đơn vị không được ít hơn 70 % lượng dược chất ghi trên nhãn. Không được phép thử lại.

Trong trường hợp vỏ nang thuốc có ảnh hưởng đến kết quả phân tích, lấy ít nhất 6 nang thuốc, loại bỏ hết phần thuốc trong nang, hòa tan vỏ nang rỗng trong một thể tích môi trường hòa tan qui định. Tiến hành phân tích bằng phương pháp như đối với dung dịch mẫu thử được qui định trong chuyên luận riêng, sau đó tính hệ số hiệu chỉnh. Hệ số hiệu chỉnh này không được lớn hơn 25 % lượng ghi trên nhãn.

MỘT SỐ HƯỚNG DẪN CHO PHÉP THỬ ĐỘ HÒA TAN CỦA DẠNG THUỐC RẮN PHÂN LIỀU

Trong việc xác định độ hòa tan dược chất của các dạng thuốc rắn phân liều cần xác định rõ các điểm sau đây:

– Loại thiết bị được sử dụng; trong trường hợp dùng thiết bị kiểu buồng dòng chảy, cần nói rõ loại buồng lớn hay buồng nhỏ;

– Thành phần, thể tích và nhiệt độ của môi trường hòa tan;

– Tốc độ quay hoặc tốc độ dòng của môi trường hòa tan;

- Thời gian, phương pháp và lượng dung dịch hòa tan lấy để thử hoặc các điều kiện để theo dõi liên tục;

– Phương pháp xác định lượng dược chất hòa tan trong mẫu thử;

– Tiêu chuẩn chấp nhận.

Việc lựa chọn loại thiết bị hòa tan được dùng tùy thuộc vào các tính chất hóa lý của dạng bào chế thuốc. Khi một lượng lớn môi trường hòa tan được chỉ định sử dụng để đảm bảo điều kiện "sink", hoặc khi sự thay đổi pH môi trường hòa tan trong quá trình thử là cần thiết, thiết bị kiểu buồng dòng chảy thường được ưu tiên sử dụng.

Các điều kiện thử

Việc dùng thiết bị kiểu giỏ quay hay thiết bị kiểu cánh khuấy, nói chung là dựa trên nguyên tắc vận hành ở điều kiện "sink", có nghĩa là ở điều kiện đó, dược chất đã hòa tan vào dung dịch không có hiệu ứng đáng kể làm thay đổi độ hòa tan của phần dược chất còn lại. Thông thường, điều kiện "sink" có được khi thể tích môi trường hòa tan ít nhất bằng từ 3 đến 10 lần thể tích cần để bão hòa lượng hoạt chất.

Nói chung, nước thường được dùng làm dung môi để chuẩn bị môi trường hòa tan. Các thành phần của môi trường hòa tan được lựa chọn trên cơ sở đặc điểm hóa lý của dược chất và các tá dược sao cho các điều kiện môi trường này gần giống với điều kiện môi trường mà thuốc tiếp xúc sau khi uống. Điều cần đặc biệt quan tâm là pH và lực ion của môi trường hòa tan.

pH của môi trường hòa tan thường ở trong khoảng từ 1 đến 8. Trong những trường hợp cần thiết được biện giải thỏa đáng, có thể dùng môi trường hòa tan ở pH cao hơn. Đối với những giá trị pH thấp hơn ở vùng acid thì thường dùng dung dịch acid hydrocloric 0,1 M. Một số môi trường hòa tan được khuyến cáo sử dụng được mô tả ở phần sau.

Nước được dùng làm môi trường hòa tan chỉ khi đã chứng minh được là sự thay đổi pH không ảnh hưởng đến đặc tính hòa tan của hoạt chất.

Trong những trường hợp đặc biệt, môi trường hòa tan có thể chứa enzym, chất hoạt động bề mặt và một số chất vô cơ hay hữu cơ khác. Để thử những chế phẩm chứa dược chất khó tan trong nước, có thể cần phải làm thay đổi môi trường hòa tan. Trong những trường hợp này, nên thêm vào môi trường hòa tan chất hoạt động bề mặt ở nồng độ thấp và tránh dùng các dung môi hữu cơ.

Không khí hòa tan trong môi trường hòa tan có thể ảnh hưởng tới kết quả của phép thử. Ảnh hưởng này càng rõ rệt đối với thiết bị buồng dòng chảy, vì thế, việc loại khí khỏi môi trường hòa tan là cần thiết nhằm tránh sự tạo thành bong bóng khí trong buồng dòng chảy. Phương pháp loại khí thích hợp như sau: Khuấy nhẹ và làm ấm môi trường lên khoảng 41 °C, lọc ngay dưới chân không, dùng màng lọc có kích thước lỗ lọc 0,45 µm hay bé hơn, đồng thời khuấy mạnh và tiếp tục khuấy trong chân không khoảng 5 min. Các kỹ thuật loại khí khác cũng có thể được sử dụng.

Khi dùng thiết bị kiểu giỏ quay hoặc kiểu cánh khuấy, thể tích môi trường hòa tan thường là 500 ml đến 1000 ml. Tốc độ khuấy thường được chọn là từ 50 r/min đến 100 r/min; tốc độ này không được vượt quá 150 r/min.

Đối với thiết bị buồng dòng chảy, tốc độ dòng của môi trường hòa tan thường đặt giữa 4 ml/min và 50 ml/min.

Môi trường hòa tan

Những môi trường sau (xem Bảng 11.4.5) có thể được sử dụng làm môi trường hòa tan.

Bảng 11.4.5 - Những ví dụ về môi trường hòa tan

pH	Môi trường hòa tan
pH 1,0	HCl
pH 1,2	NaCl, HCl
pH 1,5	NaCl, HCl
pH 4,5	Đệm acetat hoặc đệm phosphat
pH 5,5 và 5,8	Đệm acetat hoặc đệm phosphat
pH 6,8	Đệm phosphat
pH 7,2 và 7,5	Đệm phosphat

Thành phần và cách pha chế các môi trường này được chỉ ra dưới đây:

Môi trường acid hydrocloric

Dung dịch acid hydrocloric 0,2 M (TT).

Dung dịch natri clorid 0,2 M: Hòa tan 11,69 g *natri clorid (TT)* trong *nước* rồi pha loãng với *nước* đến đủ 1000,0 ml.

Để pha chế các môi trường có pH khác nhau, lấy 250 ml *dung dịch natri clorid 0,2 M* cho vào một bình định mức 1000 ml, thêm một thể tích *dung dịch acid hydrocloric 0,2 M (TT)* như ghi trong Bảng 11.4.6 rồi thêm *nước* vừa đủ đến vạch.

Bảng 11.4.6 - Môi trường acid hydrocloric

pH	HCl (ml)
1,2	425,0
1,3	336,0
1,4	266,0
1,5	207,0
1,6	162,0
1,7	130,0
1,8	102,0
1,9	81,0
2,0	65,0
2,1	51,0
2,2	39,0

Cũng có thể thay thế *natri clorid (TT)* bằng *kali clorid (TT)* trong pha chế các môi trường acid hydrocloric.

Các dung dịch đệm acetat

Dung dịch acid acetic 2 M: Hòa trộn 120,0 g *acid acetic băng (TT)* với *nước* vừa đủ 1000,0 ml.

Dung dịch đệm acetat pH 4,5: Hòa tan 2,99 g *natri acetat (TT)* trong *nước*. Thêm 14,0 ml *dung dịch acid acetic 2 M* rồi pha loãng với *nước* vừa đủ 1000,0 ml.

Dung dịch đệm acetat pH 5,5: Hòa tan 5,98 g *natri acetat (TT)* trong *nước*. Thêm 3,0 ml *dung dịch acid acetic 2 M* rồi pha loãng với *nước* vừa đủ 1000,0 ml.

Dung dịch đệm acetat pH 4,8: Hòa tan 6,23 g *natri acetat (TT)* trong *nước*. Thêm 2,1 ml *dung dịch acid acetic 2 M* rồi pha loãng với *nước* vừa đủ 1000,0 ml.

Các dung dịch đệm phosphat

Để pha chế đệm phosphat với các pH khác nhau như trong Bảng 11.4.7, lấy 250 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)* cho vào một bình định mức 1000 ml, thêm một thể tích *dung dịch natri hydroxyd 0,2 M (TT)* ghi trong bảng rồi pha loãng với nước cho đủ 1000,0 ml.

Bảng 11.4.7 - Thành phần các đệm phosphat

pH	5,8	6,0	6,2	6,4	6,6	6,9
NaOH (ml)	18,0	28,0	40,5	58,0	82,0	112,0
pH	7,0	7,2	7,4	7,6	7,8	8,0
NaOH (ml)	145,5	173,5	195,5	212,0	222,5	230,5

Các dung dịch đệm phosphat khác

Dung dịch đệm phosphat pH 4,5: Hòa tan 13,61 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 750 ml *nước*. Điều chỉnh pH nếu cần bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* hoặc bằng *acid hydrocloric 0,1 M (TT)*. Pha loãng với *nước* đủ 1000,0 ml.

Dung dịch đệm phosphat pH 5,5 (TT).

Dung dịch đệm phosphat pH 6,8 (TT).

Đệm phosphat pH 7,2 (TT).

Dung dịch đệm phosphat 0,33 M pH 7,5 (TT).

Dịch ruột giả pH 6,8

Hòa trộn 250 ml dung dịch chứa 6,8 g *kali dihydrophosphat (TT)*, 77 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,2 M (TT)* và 500 ml *nước*. Thêm 10 g *bột tuyến tụy (TT)*, trộn đều và điều chỉnh pH nếu cần. Pha loãng với *nước* đủ 1000,0 ml.

Dịch dạ dày giả

Hòa trộn tan 2,0 g *natri clorid (TT)* và 3,2 g *bột pepsin (TT)* trong *nước*. Thêm 80 ml *acid hydrocloric 1 M (TT)* rồi pha loãng với *nước* vừa đủ 1000 ml. Bột pepsin có thể không cần, nếu có yêu cầu.

Tăng dần pH

Đối với phép thử độ hòa tan với pH tăng dần, có thể áp dụng một trong các trình tự sau:

Thời gian (h)	0 - 1	1 - 2	2 - 3	3 - 4	4 - 5	5 - 6	6 - 7	7
pH	1,0							
pH	1,2				6,8			
pH	1,2	2,5	4,5		7,0		7,5	
pH	1,5		4,5			7,2		

Để đạt được sự thay đổi pH, có thể thực hiện một trong các cách sau:

Thay thế một dung dịch đệm bằng một dung dịch đệm khác (thay toàn bộ);

Rút bỏ chỉ một nửa thể tích môi trường hòa tan mỗi lần (phương pháp thay thế một nửa) rồi bù vào bằng dung dịch đệm có pH cao hơn; ví dụ: pH khởi đầu là 1,2 và dung dịch đệm thay thế là đệm phosphat pH 7,5;

Thêm vào dung dịch khởi đầu ở pH 1,5 một lượng bột hỗn hợp chứa *tris(hydroxymethyl)aminomethan (TT)* và *natri acetat khan (TT)* để thu được dung dịch pH 4,5 và một lượng lần thứ 2 để thu được dung dịch pH 7,2 như mô tả dưới đây:

Dung dịch acid hydrocloric pH 1,5: Hòa tan 2 g *natri clorid (TT)* trong *nước* thêm 31,6 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* rồi pha loãng với *nước* vừa đủ 1000 ml;

Dung dịch đệm pH 4,5: Trộn đều 2,28 g *tris(hydroxymethyl) aminomethan (TT)* và 1,77 g *natri acetat khan (TT)*. Hòa tan hỗn hợp này trong *dung dịch acid hydrocloric pH 1,5* ở trên;

Dung dịch đệm pH 7,2: Trộn đều 2,28 g *tris(hydroxymethyl) aminomethan (TT)* và 1,77 g *natri acetat khan (TT)*. Hòa tan hỗn hợp này trong *dung dịch đệm pH 4,5* ở trên.
Thiết bị buồng dòng chảy có thể được dùng thử độ hòa tan trong môi trường thay đổi liên tục pH.

Đánh giá và thẩm định
Do bản chất của phép thử độ hòa tan, chất lượng thiết kế là yếu tố đánh giá quan trọng đối với thiết bị thử độ hòa tan *in vitro*. Bất kỳ một sai lệch nào như rung động hay lắc lư quá mức do phần cơ khí không hoàn hảo đều cần phải được loại trừ.
Việc đánh giá thiết bị thử độ hòa tan cần xem xét các kích thước và dung sai của thiết bị. Những thông số quan trọng nhất của phép thử như nhiệt độ và thể tích môi trường hòa tan, tốc độ quay hay tốc độ dòng, lượng mẫu thử cần lấy và qui trình thử cần phải định kỳ theo dõi đánh giá trong các khoảng thời gian sử dụng thiết bị.
Thiết bị thử độ hòa tan có thể được theo dõi đánh giá bằng cách thử một sản phẩm đối chiếu nhạy cảm với các điều kiện thủy động học. Những phép thử này có thể được thực hiện định kỳ hoặc liên tục để so sánh với các phòng kiểm nghiệm khác.
Trong quá trình thử, cần phải quan sát và kiểm tra một cách chặt chẽ. Điều này đặc biệt quan trọng khi cần biện giải bất kỳ một kết quả nào lọt ra ngoài khoảng mong đợi.
Việc kiểm định hệ thống thử độ hòa tan tự động đối với bộ phận lấy mẫu và bộ phận phân tích, hoặc việc pha chế môi trường hòa tan và vận hành phép thử, cần phải xem xét độ chính xác, độ đúng và sự tránh nhiễm tạp do pha loãng, chuyển vận, làm sạch và các qui trình điều chế dung môi hay chuẩn bị mẫu.

Yêu cầu về độ hòa tan đối với các dạng thuốc uống
Yêu cầu về độ hòa tan được biểu thị bằng giá trị Q, là phần trăm lượng dược chất hòa tan so với lượng ghi trên nhãn trong khoảng thời gian qui định.
Dạng thuốc giải phóng tức thời (dạng quy ước)
Trong hầu hết các trường hợp, khi thử trong các điều kiện đã được khảo sát và chứng minh là phù hợp, tiêu chuẩn chấp nhận ở bước S_1 là ít nhất 80 % lượng dược chất được giải phóng trong khoảng thời gian quy định, thông thường là 45 min hoặc ít hơn. Điều này tương ứng với giá trị Q bằng 75 %, đối chiếu với Bảng 11.4.1, ở bước S_1, mỗi một giá trị của 6 đơn vị thử không được ít hơn Q + 5 % tức là không ít hơn 80 %.
Thông thường, tiêu chuẩn chấp nhận tại một thời điểm là đủ để chứng minh rằng phần lớn dược chất đã được giải phóng, tuy vậy trong một số trường hợp cần phải đánh giá thêm một thời điểm hoặc nhiều hơn để chứng minh chế phẩm đáp ứng yêu cầu về độ hòa tan.
Dạng thuốc giải phóng kéo dài
Tiêu chuẩn độ hòa tan đối với dạng thuốc thuốc giải phóng kéo dài thường bao gồm từ 3 thời điểm thử trở lên. Thời điểm thử đầu tiên nhằm kiểm tra sự giải phóng dược chất nhanh không được định trước (sự "bùng" liều). Vì thế thông thường yêu cầu lượng dược chất được giải phóng tại thời điểm này nằm trong khoảng 20 % đến 30 %. Thời điểm thử hai xác định cách thức hòa tan của chế phẩm và thường khoảng 50 % lượng dược chất được giải phóng. Thời điểm thử cuối cùng nhằm đảm bảo rằng sự giải phóng dược chất gần như hoàn tất, có nghĩa là trên 80 % lượng dược chất đã được giải phóng.
Dạng thuốc giải phóng muộn
Dạng thuốc giải phóng muộn có thể giải phóng dược chất theo nhiều phân đoạn cách quãng hay giải phóng toàn bộ một lần tùy theo thiết kế công thức bào chế khi được thử trong môi trường hòa tan khác nhau, ví dụ trong các điều kiện pH tăng dần. Tiêu chuẩn độ hòa tan, vì thế, phải được xác định cho từng trường hợp một.
Những dạng thuốc kháng dịch vị yêu cầu ít nhất 2 thời điểm thử theo trình tự trước sau và 2 tiêu chuẩn khác nhau trong một phép thử song song. Trong phép thử theo trình tự, thời điểm thử thứ nhất có một giới hạn trên và được thử sau 1 h hoặc sau 2 h trong môi trường acid, còn điểm thử sau tại khoảng thời gian định trước trong một dung dịch đệm thích hợp (thường là pH 6,8).
Trong hầu hết các trường hợp, tiêu chuẩn chấp nhận ở bước B_1 là ít nhất 80 % lượng dược chất được giải phóng. Điều này tương ứng với giá trị Q bằng 75 %, đối chiếu với Bảng 11.4.4, ở bước B_1, mỗi một giá trị của 6 đơn vị thử không được ít hơn Q + 5 % tức là không ít hơn 80 %.

11.5 PHÉP THỬ ĐỘ RÃ CỦA THUỐC ĐẠN VÀ THUỐC TRỨNG

Phép thử này xác định thuốc đạn và thuốc trứng có rã hoặc mềm đi hay không trong khoảng thời gian qui định, khi được đặt trong môi trường lỏng ở những điều kiện thử nghiệm chỉ định.

Thiết bị
a) Ống trong suốt bằng thủy tinh hay chất dẻo, cao 60 mm với đường kính bên trong 52 mm, thành dày thích hợp (Hình 11.5.1).
b) Bộ phận kim loại gồm hai đĩa kim loại không gỉ, mỗi đĩa có 39 lỗ tròn đường kính 4 mm và được phân bố như chỉ dẫn trong Hình 11.5.1. Đường kính của đĩa gần tương đương với đường kính bên trong của ống bao. Hai đĩa cách nhau khoảng 30 mm. Bộ phận kim loại được treo bằng ba móc kẹp cách đều nhau, gắn vào thành ngoài ống bao như chỉ dẫn trong Hình 11.5.1.
Khi thử độ rã của viên nén đặt âm đạo, bộ phận kim loại được gắn ở dưới với đầu móc kẹp hướng lên trên như mô tả trong Hình 11.5.2.

Cách thử
Thuốc đạn
Đặt một viên lên đĩa dưới của bộ phận kim loại, đưa bộ phận này vào ống bao và gắn chặt vào thành ống. Nếu không có chỉ dẫn khác, đặt thiết bị thử vào một bồn chứa ít

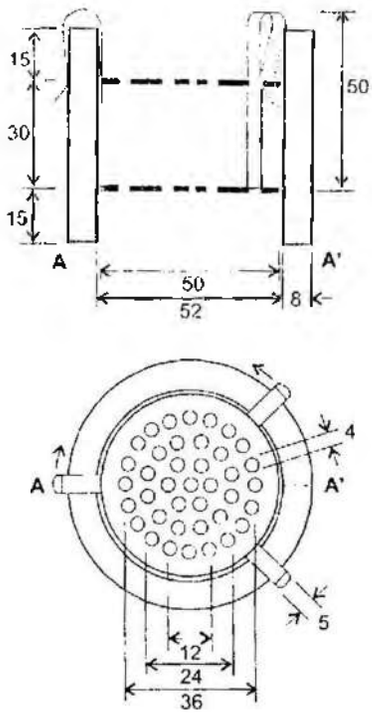
nhất 4 L nước ấm (36 °C đến 37 °C) có gắn dụng cụ khuấy chậm và giữ thiết bị thử ở vị trí thẳng đứng, ngập 90 mm so với mặt nước. Xoay ngược thiết bị thử 10 min một lần, tránh không để nhô lên khỏi mặt nước.
Lặp lại toàn bộ thử nghiệm với hai viên khác.
Thuốc được coi là rã, khi đáp ứng một trong những yêu cầu sau:
a) Tan hoàn toàn.
b) Phân tách ra các thành phần tạo thành, rồi tập trung trên bề mặt (các chất mỡ nóng chảy), chìm xuống đáy (bột không tan) hay hòa tan trong nước (các thành phần hòa tan), hoặc có thể phân tán theo một hay vài cách nêu trên.
c) Trở nên mềm, có thể biến dạng đáng kể, không nhất thiết bị phân tách hoàn toàn ra các thành phần tạo thành, nhưng không có nhân rắn chịu được sức ép của đũa thủy tinh.
Nếu không có quy định khác trong chuyên luận riêng, thời gian rã không quá 30 min đối với các thuốc đạn có tá dược thân mỡ và không quá 60 min đối với thuốc đạn tan trong nước.

Nang đặt trực tràng
Tiến hành như mô tả trong phần Thuốc đạn. Thuốc được coi là rã, khi vỏ gelatin vỡ ra, giải phóng các chất chứa bên trong.
Thời gian rã không được quá 30 min.

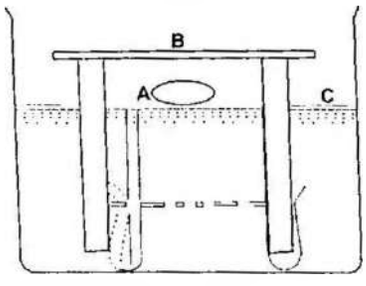
Thuốc trứng
Tiến hành và đánh giá như mô tả trong phần Thuốc đạn.
Nếu không có quy định khác trong chuyên luận riêng, thời gian rã không quá 60 min.

Nang đặt âm đạo
Tiến hành như mô tả trong phần Thuốc đạn và đánh giá như mô tả trong phần *Nang đặt trực tràng*.

Viên nén đặt âm đạo
Đặt thiết bị thử vào bồn có đường kính phù hợp, chứa nước ấm (36 °C đến 37 °C). Thêm dần nước ấm (36 °C đến 37 °C) cho đến khi mặt lỗ của đĩa kim loại vừa được phủ bằng một lớp nước. Đặt viên thuốc lên đĩa trên và đậy thiết bị bằng tấm kính để giữ các điều kiện ẩm thích hợp. Lặp lại toàn bộ thử nghiệm với hai viên khác.
Thuốc được coi là rã, khi đáp ứng một trong những yêu cầu sau:
a) Không còn cặn trên đĩa.
b) Nếu cặn vẫn còn, đấy chỉ là khối mềm hay rỗng xốp, không có nhân rắn chịu được sức ép của đũa thủy tinh.
Nếu không có quy định khác trong chuyên luận riêng, thời gian rã không quá 30 min.



Hình 11.5.1 - Thiết bị thử độ rã của thuốc đạn và thuốc trứng
(Kích thước tính bằng mm)



A - Viên nén đặt âm đạo; B - Tấm kính; C - Mặt nước.

Hình 11.5.2 - Thiết bị thử độ rã của viên nén đặt âm đạo

11.6 PHÉP THỬ ĐỘ RÃ CỦA VIÊN NÉN VÀ NANG

Phép thử này xác định viên nén hay nang có rã hay không trong khoảng thời gian quy định, khi được đặt trong môi trường lỏng ở những điều kiện thử nghiệm chỉ định.
Trong phép thử này, chế phẩm rã không có nghĩa là hòa tan hoàn toàn đơn vị chế phẩm hay thành phần hoạt chất.
Thuốc được coi là rã, khi đáp ứng một trong những yêu cầu sau:
a) Không còn cặn trên mặt lưới, trừ những mảnh vỏ bao không tan của viên nén hoặc vỏ nang trên mặt lưới; hoặc dính vào mặt dưới của đĩa, nếu sử dụng đĩa.
b) Nếu còn cặn, đấy là khối mềm không có nhân khô.

Sử dụng thiết bị A cho viên nén và nang cỡ bình thường (không dài quá 18 mm). Sử dụng thiết bị B cho viên nén và nang cỡ lớn.

Thiết bị A: Áp dụng cho viên nén và nang cỡ bình thường

Thiết bị

Thiết bị A thử độ rã viên nén và nang gồm:

a) Giá đỡ ống thử.

b) Cốc đáy bằng dung tích 1 L, chiều cao (149 ± 11) mm, và đường kính trong (109 ± 9) mm để chứa môi trường thử.

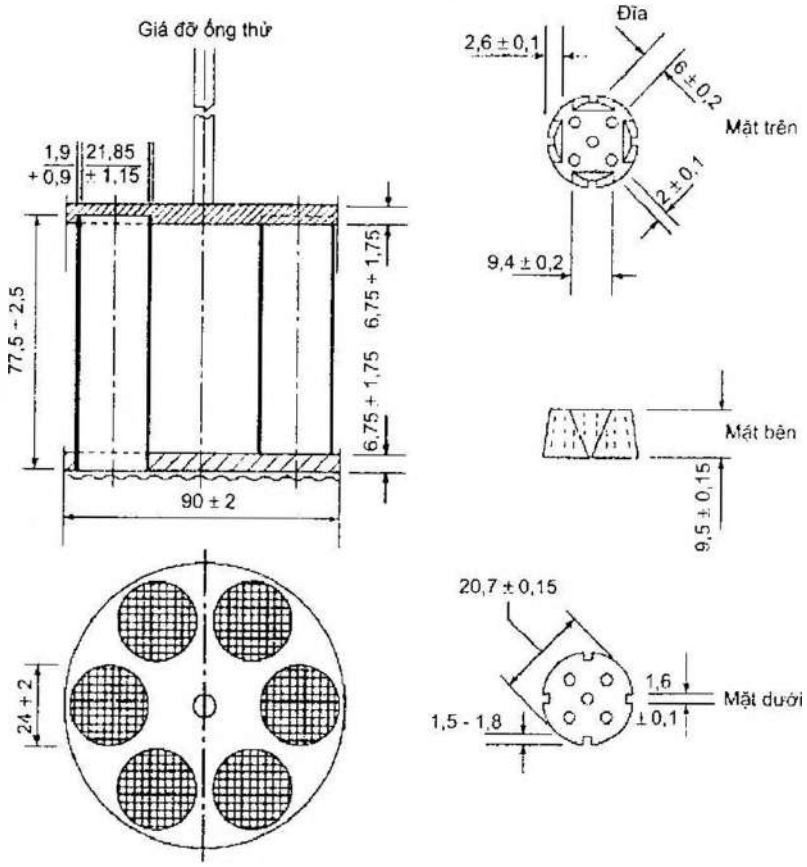
c) Bộ phận điều nhiệt để làm nóng môi trường thử trong khoảng 35 °C đến 39 °C.

d) Bộ phận cơ chuyển động lên xuống cho giá đỡ ống thử ở tần số hằng định trong khoảng 29 r/min đến 32 r/min, với biên độ (55 ± 2) mm. Thể tích môi trường thử trong cốc phải đủ, để khi giá đỡ ống thử ở vị trí cao nhất, lưới kim loại phải ngập sâu ít nhất 15 mm so với bề mặt chất lỏng, còn khi ở vị trí thấp nhất, lưới kim loại phải cách đáy cốc ít nhất 25 mm và miệng các ống thử vẫn ở trên bề mặt chất lỏng. Thời gian để giá đỡ ống thử đi lên phải bằng với thời gian giá đỡ ống thử đi xuống và sự thay đổi của hướng chuyển động phải nhẹ nhàng không được đột ngột. Giá đỡ ống thử phải chuyển động thẳng đứng theo trục của nó, không được dao động ngang hoặc di chuyển ra khỏi trục thẳng đứng.

Giá đỡ ống thử: Giá đỡ ống thử bao gồm 6 ống trong suốt hở đầu, các ống dài (77,5 ± 2,5) mm, có đường kính trong (21,85 ± 1,15) mm và thành ống dày (1,9 ± 0,9) mm. Các ống được giữ ở vị trí thẳng đứng bởi hai đĩa, có đường kính (90 ± 2) mm và dày (6,75 ± 1,75) mm; có 6 lỗ, mỗi lỗ có đường kính (24 ± 2) mm, cách đều tâm đĩa và cách đều các lỗ còn lại. Gắn vào mặt dưới của đĩa bên dưới là một lưới kim loại, dệt hình vuông, có kích thước lỗ lưới (2,0 ± 0,2) mm và đường kính dây kim loại là (0,615 ± 0,045) mm. Các bộ phận được lắp ráp và được giữ chắc chắn bằng 3 ốc vít đi qua 2 đĩa. Giá đỡ ống thử được treo phù hợp vào bộ phận chuyển động tại một điểm trên trục của nó.

Thiết kế của giá đỡ ống thử có thể thay đổi, nhưng tiêu chuẩn của ống thủy tinh và lưới kim loại phải đúng quy định. Giỏ phải có kích thước như quy định ở Hình 11.6.1.

Đĩa: Chỉ được sử dụng đĩa nếu có chỉ dẫn hoặc được cho phép trong chuyên luận riêng hoặc chuyên luận chung tương ứng. Mỗi ống thử của giá đỡ ống thử có một đĩa hình trụ, đường kính (20,7 ± 0,15) mm và dày (9,5 ± 0,15) mm. Đĩa được làm bằng chất dẻo trong suốt có tỷ trọng riêng 1,18 đến 1,20. Đĩa có 5 lỗ song song theo trục đĩa và xuyên qua đĩa, 1 lỗ ở chính giữa, 4 lỗ còn lại nằm cách đều nhau trên vòng tròn bán kính (6 ± 0,2) mm tính từ tâm, các lỗ có đường kính (2 ± 0,1) mm. Có 4 rãnh hình thang, cân xứng, trên thành của đĩa, gần như vuông góc với bề mặt



Hình 11.6.1 - Thiết bị thử độ rã của viên nén và nang cỡ bình thường
(Kích thước tính bằng mm)

đĩa, bề mặt song song của nó trùng với hai mặt của đĩa và song song với trục nối 2 lỗ cạnh nhau, cách trục đĩa 6 mm. Cạnh đáy nhỏ của hình thang trên đáy của đĩa, có chiều dài (1,6 ± 0,1) mm và trung tâm của cạnh có độ sâu 1,5 đến 1,8 mm tính từ chu vi của đĩa. Cạnh đáy lớn của hình thang ở trên đỉnh của đĩa có chiều dài (9,4 ± 0,2) mm và trung tâm của cạnh có độ sâu (2,6 + 0,1) mm tính từ chu vi của đĩa. Tất cả các mặt của đĩa phải phẳng.

Nếu sử dụng đĩa như chỉ dẫn, cho mỗi đĩa vào 1 ống và vận hành thiết bị. Đĩa phải đáp ứng kích thước như quy định ở Hình 11.6.1.

Việc sử dụng đĩa cải tiến có hệ thống phát hiện tự động có thể được sử dụng theo chỉ dẫn hoặc cho phép. Đĩa này phải đáp ứng yêu cầu về tỷ trọng và kích thước theo chuyên luận này.

Phương pháp thử

Nếu không có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, cho vào mỗi ống thử một viên nén hoặc nang. Nếu có chỉ dẫn trong chuyên luận chung tương ứng, cho một đĩa vào mỗi ống. Treo giá đỡ ống thử trong cốc có chứa môi trường theo chỉ dẫn được duy trì ở (37 ± 2) °C và vận hành thiết bị theo thời gian quy định. Lấy giá đỡ ống thử ra khỏi chất lỏng và quan sát chế phẩm thử. Mẫu thử đạt yêu cầu nếu tất cả 6 viên đều rã. Nếu có 1 đến 2 viên không rã, lặp lại phép thử với 12 viên khác. Mẫu thử đạt yêu cầu nếu không dưới 16 trong số 18 viên thử rã.

Thiết bị B: Áp dụng cho viên nén và nang cỡ lớn

Thiết bị

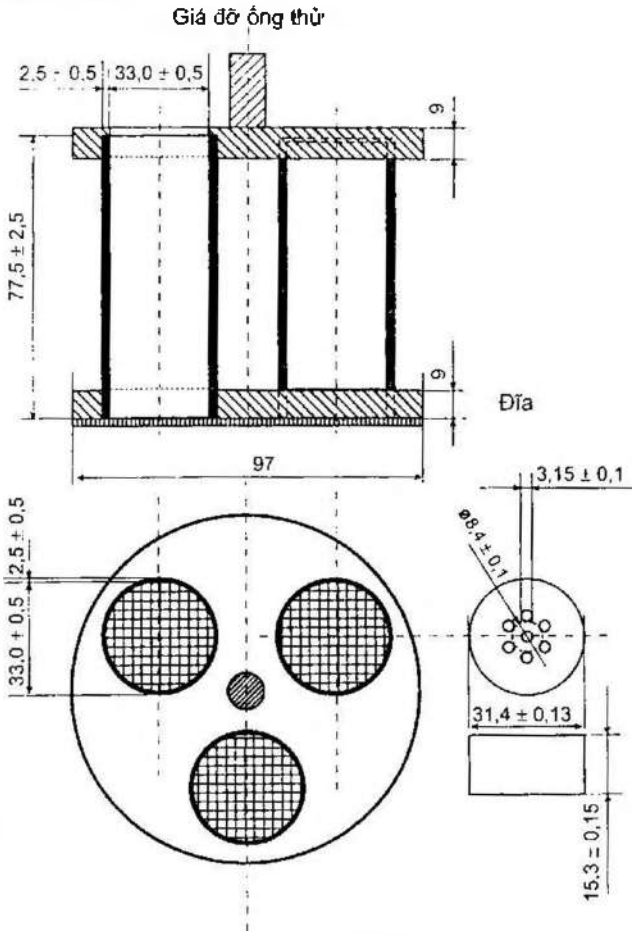
Thiết bị B có cấu tạo tương tự như thiết bị A, nhưng khác về cấu tạo của giá đỡ ống thử và đĩa.

Giá đỡ ống thử: Giá đỡ ống thử bao gồm 3 ống trong suốt hở đầu, các ống dài (77,5 ± 2,5) mm, có đường kính trong (33,0 ± 0,5) mm và thành ống dày (2,5 ± 0,5) mm. Các ống được giữ ở vị trí thẳng đứng bởi hai đĩa nhựa, có đường kính 97 mm và dày 7 mm; có 3 lỗ. Các lỗ cách đều tâm đĩa và cách đều các lỗ còn lại. Gắn vào mặt dưới của đĩa bên dưới là một lưới kim loại, dệt hình vuông, bằng dây kim loại có đường kính (0,63 ± 0,03) mm và có kích thước lỗ lưới (2,0 ± 0,2) mm. Hai đĩa được cố định cách nhau 77,5 mm bằng 3 thanh kim loại chốt thẳng đứng ở ngoại biên. Một thanh kim loại được gắn chặt vào tâm đĩa nhựa phía trên, sao cho giá đỡ ống thử lắp ráp được với bộ phận cơ có khả năng vận hành giá đỡ chuyển động lên xuống nhẹ nhàng ở tần số hằng định trong khoảng 29 đến 32 r/min, với biên độ (55 + 2) mm.

Thiết kế của giá đỡ ống thử có thể thay đổi, nhưng tiêu chuẩn của ống thủy tinh và lưới kim loại phải đúng quy định. Giá phải có kích thước như quy định ở Hình 11.6.2.

Đĩa: Chỉ được sử dụng đĩa nếu có chỉ dẫn hoặc được cho phép trong chuyên luận riêng hoặc chuyên luận chung tương ứng. Mỗi ống thử của giá đỡ ống thử có một đĩa hình trụ, đường kính (31,4 ± 0,13) mm và dày (15,3 ± 0,15) mm. Đĩa được làm bằng chất dẻo trong suốt có tỷ trọng riêng 1,18 đến 1,20. Đĩa có 7 lỗ song song theo trục đĩa và xuyên qua đĩa, các lỗ có đường kính (3,15 ± 0,1) mm. 1 lỗ ở chính giữa và 6 lỗ còn lại nằm cách đều nhau trên vòng tròn bán kính 4,2 mm tính từ tâm đĩa.

Nếu sử dụng đĩa như chỉ dẫn, cho mỗi đĩa vào 1 ống và vận hành thiết bị. Đĩa phải đáp ứng kích thước như quy định ở Hình 11.6.2.



℄: đường kính

Hình 11.6.2 - Thiết bị thử độ rã của viên nén và nang cỡ lớn *(Kích thước tính bằng mm)*

Phương pháp thử

Nếu không có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, tiến hành thử với 6 viên nén hoặc nang trên 2 giá đỡ ống thử lắp song song hoặc lặp lại phép thử trên 1 giá đỡ ống thử. Cho vào mỗi ống thử một viên nén hoặc nang. Nếu có chỉ dẫn trong chuyên luận chung tương ứng, cho một đĩa vào mỗi ống. Treo giá đỡ ống thử trong cốc có chứa môi trường theo chỉ dẫn được duy trì ở (37 ± 2) °C và vận hành thiết bị theo thời gian quy định. Lấy giá đỡ ống thử ra khỏi chất lỏng và quan sát chế phẩm thử. Mẫu thử đạt yêu cầu nếu tất cả 6 viên đều rã.

11.7 PHÉP THỬ ĐỘ RÃ CỦA VIÊN BAO TAN TRONG RUỘT

Thiết bị

Sử dụng thiết bị mô tả trong Phụ lục 11.6. Phép thử độ rã của viên nén và nang.

Phương pháp thử

Cho một viên vào mỗi ống thử, không dùng đĩa, treo giá đỡ ống thử trong cốc chứa *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (TT)*, nếu không có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, vận hành thiết bị trong 120 min. Lấy giá đỡ ống thử ra khỏi chất lỏng. Trừ các mảnh vỏ bao, không một viên nào bị rã hay có dấu hiệu bị rạn nứt khiến hoạt chất bị hoà tan.

Thay chất lỏng trong cốc bằng *đệm phosphat hỗn hợp pH 6,8 (TT)*, cho đĩa vào ống và vận hành thiết bị trong 60 min. Lấy giá đỡ ống thử ra khỏi chất lỏng. Nếu mẫu thử không đạt yêu cầu do viên bị dính vào đĩa, lặp lại phép thử với 6 viên khác và không dùng đĩa. Mẫu thử đạt yêu cầu nếu tất cả sáu viên đều rã.

11.8 XÁC ĐỊNH GIỚI HẠN TIỂU PHÂN

A. Xác định giới hạn tiểu phân không nhìn thấy bằng mắt thường

Tiểu phân trong thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền là các hạt nhỏ không hòa tan, linh động, không phải là bọt khí, có nguồn gốc ngẫu nhiên từ bên ngoài.

Để xác định giới hạn tiểu phân có hai phương pháp mô tả dưới đây, Phương pháp 1 (dùng thiết bị đếm tiểu phân) và Phương pháp 2 (dùng kính hiển vi). Khi kiểm tra tiểu phân không nhìn thấy bằng mắt thường của thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền, thường áp dụng Phương pháp 1. Tuy nhiên, đối với một số chế phẩm, phải áp dụng cả hai phương pháp để đánh giá.

Không phải tất cả các thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền đều có thể kiểm tra được giới hạn tiểu phân không nhìn thấy bằng mắt thường bằng một trong hai phương pháp, hay cả hai phương pháp. Các chế phẩm không thật trong, hay có độ nhớt tăng cao, hoặc tạo bọt khí khi đổ vào thiết bị đếm tiểu phân, tiến hành thử theo Phương pháp 2. Nếu độ nhớt của chế phẩm quá cao, cản trở phương pháp kiểm tra, pha loãng với dung môi thích hợp để có thể tiến hành được thử nghiệm.

Kết quả kiểm tra một đơn vị riêng lẻ hay nhóm các đơn vị chế phẩm không có giá trị đương nhiên đối với các đơn vị không được kiểm tra. Bởi vậy, cần xây dựng kế hoạch lấy mẫu đủ số lượng thống kê, để từ kết quả kiểm tra có thể đánh giá được giới hạn tiểu phân của cả nhóm lớn các đơn vị chế phẩm.

Phương pháp 1: Dùng thiết bị đếm tiểu phân

Quy định chung

Tiến hành thử nghiệm trong các điều kiện hạn chế được nhiễm tiểu phân, tốt nhất là trong tủ lọc khí vô khuẩn.

Rửa thật cẩn thận dụng cụ thủy tinh và dụng cụ lọc (trừ màng lọc) bằng dung dịch tẩy rửa ấm, tráng lại bằng nước cho sạch hết chất tẩy. Ngay trước khi dùng, tráng lại các dụng cụ từ trên xuống dưới, bên ngoài, sau đó là bên trong với *nước không có tiểu phân (TT)*.

Tránh tạo bọt khí trong chế phẩm đem thử, đặc biệt là khi rót vào dụng cụ để tiến hành đếm tiểu phân.

Để kiểm tra môi trường có thích hợp cho thử nghiệm, dụng cụ thủy tinh có đủ sạch và nước sử dụng có hết tiểu phân hay không, tiến hành phép thử sau:

Kiểm tra giới hạn tiểu phân của 5 mẫu *nước không có tiểu phân (TT)*, mỗi mẫu 5 ml, theo phương pháp mô tả ở dưới. Nếu trong cả 25 ml nước thử có trên 25 tiểu phân kích thước bằng 10 µm hay lớn hơn, phải tiến hành lại các bước chuẩn bị cho đến khi môi trường, dụng cụ thủy tinh và nước thích hợp cho thử nghiệm.

Dụng cụ

Sử dụng thiết bị thích hợp hoạt động theo nguyên tắc cản ánh sáng, cho phép tự động xác định kích thước tiểu phân và số lượng tiểu phân theo kích thước đã chọn.

Chuẩn hóa thiết bị bằng các hạt cầu chuẩn kích thước 10 µm đến 25 µm. Phân tán hạt chuẩn trong *nước không có tiểu phân (TT)*. Tránh kết tụ tiểu phân trong quá trình phân tán.

Cách tiến hành

Trộn đều chế phẩm bằng cách lộn đi, lộn lại nhẹ nhàng dụng cụ chứa (đồ đựng) 20 lần liên tiếp. Nếu cần, tháo bỏ phần bảo vệ ngoài nắp đậy. Dùng tia *nước không có tiểu phân (TT)* rửa bề mặt nắp và cổ dụng cụ chứa (đồ đựng), mở nắp cẩn thận, tránh nhiễm tiểu phân từ bên ngoài. Loại bọt khí bằng cách để yên 2 min hoặc siêu âm.

Đối với thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền có thể tích từ 25 ml trở lên, tiến hành thử với từng đơn vị. Đối với thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền có thể tích nhỏ hơn 25 ml, gộp dung dịch của ít nhất 10 đơn vị trong một cốc sạch cho đủ 25 ml. Khi có chỉ dẫn đặc biệt, lấy dung dịch từ một số đơn vị thích hợp, pha loãng thành 25 ml với *nước không có tiểu phân (TT)* hoặc với dung môi thích hợp không có tiểu phân, khi *nước không có tiểu phân (TT)* không thích hợp. Thuốc bột để pha tiêm được hòa tan trong *nước không có tiểu phân (TT)* hoặc dung môi thích hợp không có tiểu phân, khi *nước không có tiểu phân (TT)* không thích hợp.

Số mẫu thử phải đủ lượng thống kê. Đối với thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền có thể tích từ 25 ml trở lên, số mẫu thử có thể nhỏ hơn 10, phụ thuộc vào kế hoạch lấy mẫu đã đề ra. Lấy 4 mẫu thử, mỗi mẫu không dưới 5 ml, đưa vào máy đếm tiểu phân theo kích thước bằng 10 µm hay lớn hơn và bằng 25 µm hay lớn hơn.

Loại bỏ kết quả của mẫu đầu tiên. Tính số lượng tiểu phân trung bình của chế phẩm đã thử.

Đánh giá kết quả

Đối với thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền có thể tích lớn hơn 100 ml: Chế phẩm đạt yêu cầu phép thử, nếu trung bình trong mỗi ml có không quá 25 tiểu phân kích thước bằng 10 µm hay lớn hơn và không quá 3 tiểu phân kích thước bằng hay lớn hơn 25 µm.

Đối với thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền có thể tích nhỏ hơn hoặc bằng 100 ml: Chế phẩm đạt yêu cầu phép thử, nếu

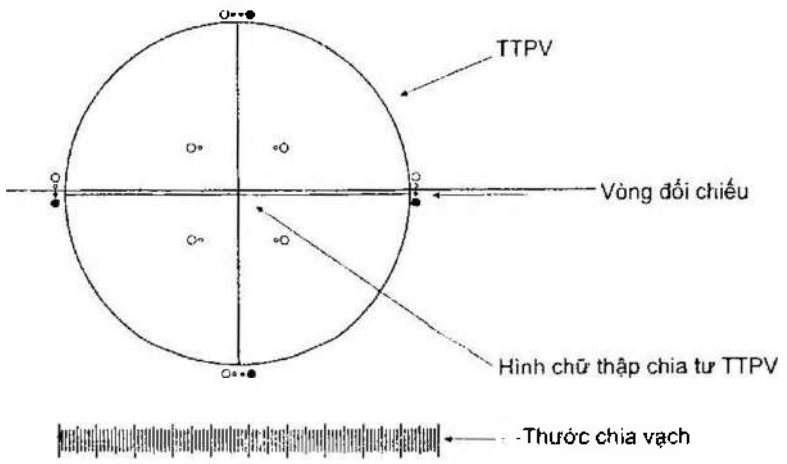
trung bình trong mỗi đơn vị đã kiểm tra có không quá 6000 tiểu phân kích thước bằng 10 µm hay lớn hơn và không quá 600 tiểu phân kích thước bằng 25 µm hay lớn hơn.
Nếu số lượng tiểu phân trung bình vượt quá giới hạn, kiểm tra chế phẩm bằng Phương pháp 2.

Phương pháp 2: Dùng kính hiển vi

Quy định chung
Tiến hành thử nghiệm trong các điều kiện hạn chế được nhiễm tiểu phân, tốt nhất là trong tủ lọc khí vô khuẩn.
Rửa thật cẩn thận dụng cụ thủy tinh và dụng cụ lọc (trừ màng lọc) bằng dung dịch tẩy rửa ấm, tráng lại bằng nước cho sạch hết chất tẩy. Ngay trước khi dùng, tráng lại các dụng cụ từ trên xuống dưới, bên ngoài, sau đó là bên trong với *nước không có tiểu phân (TT)*.
Để kiểm tra môi trường có thích hợp cho thử nghiệm, dụng cụ thủy tinh và màng lọc có đủ sạch, nước sử dụng có hết tiểu phân hay không, tiến hành phép thử sau:
Kiểm tra giới hạn tiểu phân của 50 ml *nước không có tiểu phân (TT)* theo phương pháp mô tả ở dưới. Nếu có quá 20 tiểu phân kích thước bằng 10 µm hay lớn hơn hoặc có quá 5 tiểu phân kích thước bằng 25 µm hay lớn hơn trên màng lọc, phải tiến hành lại các bước chuẩn bị cho đến khi môi trường, dụng cụ thủy tinh, màng lọc và nước thích hợp cho thử nghiệm.

Dụng cụ
Sử dụng kính hiển vi thích hợp, bộ lọc để lưu giữ các tiểu phân và màng lọc để kiểm tra.
Kính hiển vi có độ phóng đại (100 ± 10) lần, được trang bị một trắc vi thị kính hiệu chỉnh bằng một trắc vi vật kính, một bàn soi có khả năng cố định và xoay quanh toàn bộ diện tích lọc của màng lọc, hai nguồn chiếu thích hợp cấp ánh sáng phản xạ bổ sung cho ánh sáng chếch.
Trắc vi thị kính (Hình 11.8.1) bao gồm một vòng tròn lớn có hình chữ thập chia tư, các vòng đối chiếu trong suốt hay màu đen đường kính 10 µm và 25 µm ở độ phóng đại 100 lần, một thước chia vạch 10 µm đã được kiểm định theo chuẩn quốc gia hoặc quốc tế với sai số tương đối cho phép ± 2 %. Vòng tròn lớn được gọi là thị trường phân vạch (TTPV).
Trong hai nguồn chiếu sáng, một nguồn cấp trường sáng phản xạ từ trong kính hiển vi và nguồn bên ngoài bổ trợ hội tụ, có khả năng điều chỉnh để rọi sáng khúc xạ chếch ở góc 10° đến 20°.
Bộ lọc để lưu giữ các tiểu phân bao gồm màng lọc thích hợp và đế lọc bằng thủy tinh hoặc vật liệu khác thích hợp, nối với máy hút chân không.
Màng lọc kích thước thích hợp màu đen hoặc xám sẫm, với lỗ xốp bằng 1,0 µm hoặc nhỏ hơn.

Cách tiến hành
Trộn đều chế phẩm bằng cách lộn đi, lộn lại nhẹ nhàng dụng cụ chứa 20 lần liên tiếp. Nếu cần, tháo bỏ phần bảo vệ ngoài nắp đậy. Dùng tia *nước không có tiểu phân (TT)* rửa bề mặt nắp và cổ bình chứa, mở nắp cẩn thận, tránh nhiễm tiểu phân từ bên ngoài.
Đối với thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền có thể tích từ 25 ml trở lên, tiến hành thử với từng đơn vị. Đối với thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền có thể tích nhỏ hơn 25 ml, gộp dung dịch của ít nhất 10 đơn vị trong một cốc sạch cho đủ 25 ml. Khi có chỉ dẫn đặc biệt, lấy dung dịch từ một số đơn vị thích hợp, pha loãng thành 25 ml với *nước không có tiểu phân (TT)* hoặc với dung môi thích hợp không có tiểu phân, khi *nước không có tiểu phân (TT)* không thích hợp.
Thuốc bột để pha tiêm được hòa tan trong *nước không có tiểu phân (TT)* hoặc dung môi thích hợp không có tiểu phân, khi *nước không có tiểu phân (TT)* không thích hợp.
Số mẫu thử phải đủ lượng thống kê. Đối với thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền có thể tích từ 25 ml trở lên, số mẫu thử có thể nhỏ hơn 10, phụ thuộc vào kế hoạch lấy mẫu đã đề ra.
Dùng vài ml *nước không có tiểu phân (TT)* làm ẩm bên trong đế lọc đã gắn màng lọc. Chuyển toàn bộ dung dịch thử đã chuẩn bị, hay dung dịch trong một đơn vị, vào phễu lọc và hút chân không. Nếu cần, đổ từng lượng nhỏ vào phễu cho đến khi toàn bộ thể tích dung dịch thử được lọc.



Hình 11.8.1 - Trắc vi thị kính

Sau lần đổ cuối cùng, bắt đầu dùng tia *nước không có tiểu phân (TT)* rửa thành bên trong để lọc. Hút chân không cho tới khi bề mặt màng lọc không còn chất lỏng. Đặt màng lọc vào hộp lồng Petri và để khô tự nhiên bằng cách mở hé nắp hộp. Sau khi màng lọc khô, đặt hộp lồng Petri lên bàn soi của kính hiển vi và soi toàn bộ màng lọc dưới ánh sáng phản xạ từ nguồn chiếu. Đếm số tiểu phân bằng 10 µm hay lớn hơn và số tiểu phân bằng 25 µm hay lớn hơn. Hoặc, có thể đếm trên một phần của màng lọc, rồi tính số lượng trên cả màng lọc. Tính số lượng tiểu phân trung bình cho chế phẩm đem thử.

Quá trình phân loại tiểu phân được tiến hành bằng cách so sánh mỗi tiểu phân với các vòng đối chiếu 10 µm và 25 µm. Đường kính bên trong của các vòng đối chiếu trong suốt dùng để phân loại tiểu phân màu trắng và trong suốt, còn tiểu phân thẫm màu được phân loại bằng đường kính ngoài của các vòng đối chiếu màu đen.

Khi tiến hành kiểm tra theo Phương pháp 2, không phân loại hay liệt kê các chất vô định hình, nửa lỏng hoặc các chất không rõ ràng về hình thái khác, chúng có biểu hiện biến màu hay đổi màu trên màng lọc. Những chất này nhỏ, không biểu hiện rõ ràng, dạng sền sệt hay như có màng. Trong trường hợp này cần kiểm tra bổ sung bằng Phương pháp 1.

Đánh giá kết quả

Đối với thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền có thể tích lớn hơn 100 ml: Chế phẩm đạt yêu cầu phép thử, nếu trung bình trong mỗi ml có không quá 12 tiểu phân kích thước bằng 10 µm hay lớn hơn và không quá 2 tiểu phân kích thước bằng 25 µm hay lớn hơn.

Đối với thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền có thể tích nhỏ hơn hoặc bằng 100 ml: Chế phẩm đạt yêu cầu phép thử, nếu trung bình trong mỗi đơn vị đã kiểm tra có không quá 3000 tiểu phân kích thước bằng 10 µm hay lớn hơn và không quá 300 tiểu phân kích thước bằng 25 µm hay lớn hơn.

B. Xác định độ trong (Xác định tiểu phân nhìn thấy bằng mắt thường)

Tiểu phân trong thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền là các hạt nhỏ không hòa tan, linh động, không phải là bọt khí, có nguồn gốc ngẫu nhiên từ bên ngoài.

Phép thử này là qui trình đơn giản để đánh giá độ trong của thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền.

Dụng cụ

Thiết bị (Hình 11.8.2) là một bộ dụng cụ để soi bao gồm:

Bảng màu đen bề mặt mờ, kích thước thích hợp, gắn thẳng đứng.

Bảng màu trắng không lóa (không bóng), kích thước thích hợp, gắn thẳng đứng bên cạnh bảng màu đen.

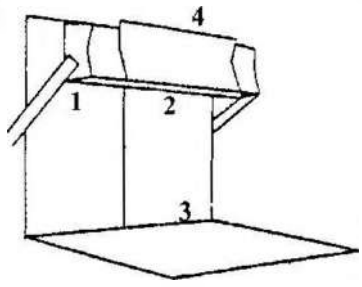
Hộp đèn có thể điều chỉnh với nguồn ánh sáng trắng được che chắn thích hợp và bộ khuếch tán ánh sáng thích hợp (như nguồn sáng bao gồm hai đèn huỳnh quang 13 W, mỗi ống dài 525 mm). Cường độ chiếu sáng tại vùng soi phải duy trì từ 2000 lux đến 3750 lux. Có thể phải sử dụng cường độ cao hơn đối với đồ chứa là thủy tinh màu hoặc plastic.

Cách tiến hành

Nếu không có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, lấy ngẫu nhiên 20 đơn vị. Loại bỏ mọi nhãn mác dán vào đồ chứa, rửa sạch và làm khô bên ngoài. Lắc nhẹ hay lộn đi, lộn lại chậm từng đơn vị, tránh không tạo thành bọt khí và quan sát khoảng 5 s trước bảng màu trắng. Tiến hành lặp lại trước bảng màu đen.

Đánh giá kết quả

Nếu có không quá một đơn vị có tiểu phân nhìn thấy bằng mắt thường, tiến hành kiểm tra lại với 20 đơn vị khác lấy ngẫu nhiên. Chế phẩm đạt yêu cầu phép thử, nếu có không quá một đơn vị trong số 40 đơn vị đem thử có tiểu phân nhìn thấy bằng mắt thường.



1. Bảng màu đen bề mặt mờ
2, 3. Bảng màu trắng không lóa
4. Hộp đèn có thể điều chỉnh

Hình 11.8.2 - Dụng cụ để soi độ trong

11.9 PHÉP THỬ ĐỘ ĐỒNG ĐỀU ĐƠN VỊ LIỀU

Để đảm bảo tính đồng nhất của các đơn vị liều, mỗi đơn vị trong một lô phải chứa một lượng dược chất nằm trong khoảng giới hạn hẹp gần với giá trị hàm lượng ghi trên nhãn. Đơn vị liều là một đơn vị chế phẩm thuốc có chứa một lượng dược chất tương ứng với một liều đơn hoặc một phần của liều đơn.

Nếu không có qui định khác, phép thử này không áp dụng cho chế phẩm đơn liều dạng hỗn dịch, nhũ dịch hoặc gel dùng ngoài da. Các chế phẩm chứa vitamin và các nguyên tố vi lượng không cần xác định độ đồng đều đơn vị liều theo phương pháp đồng đều hàm lượng.

Thuật ngữ đồng đều đơn vị liều dùng để chỉ mức độ đồng nhất về lượng dược chất giữa các đơn vị liều. Vì vậy, nếu không có chỉ dẫn khác, phép thử này áp dụng cho từng dược chất có mặt trong chế phẩm.

Phép thử có thể thực hiện bằng 1 trong 2 phương pháp: Phương pháp đồng đều hàm lượng và phương pháp chênh lệch khối lượng.

Phương pháp đồng đều hàm lượng dựa trên cơ sở định lượng hàm lượng dược chất của từng đơn vị để xác định mỗi hàm lượng riêng lẻ có nằm trong giới hạn cho phép hay không. Phương pháp này có thể được áp dụng trong mọi trường hợp.

Phương pháp chênh lệch khối lượng được áp dụng trong các trường hợp sau:
Dung dịch thuốc đóng liều đơn và dung dịch trong nang mềm
Dạng thuốc rắn (bao gồm bột, cốm, thuốc rắn vô khuẩn) đóng liều đơn chứa một dược chất mà không có thêm bất kỳ dược chất khác hay tá dược.
Dạng thuốc rắn (bao gồm thuốc rắn vô khuẩn) đóng liều đơn, có hoặc không chứa thêm dược chất khác hay tá dược, được pha chế từ các dung dịch hòa tan hoàn toàn, được đông khô trong đồ đựng cấp 1 và trên nhãn có ghi phương pháp pha chế.
Dạng thuốc nang cứng, viên nén không bao hoặc bao phim chứa từ 25 mg dược chất hoặc dược chất chiếm từ 25 % khối lượng đơn vị (trường hợp nang cứng là khối lượng thuốc trong nang) trở lên, trường hợp dược chất khác chứa trong chế phẩm với hàm lượng thấp hơn thì đáp ứng yêu cầu đồng đều hàm lượng.
Phương pháp đồng đều hàm lượng áp dụng đối với tất cả các chế phẩm đơn liều khác không đáp ứng các điều kiện trên của phương pháp chênh lệch khối lượng.

Phương pháp đồng đều hàm lượng

Lấy không ít hơn 30 đơn vị, tiến hành theo hướng dẫn dưới đây cho từng dạng bào chế. Nếu quy trình tiến hành định lượng chế phẩm khác với phép thử đồng đều hàm lượng, có thể cần phải xác định hệ số hiệu chỉnh cho phương pháp đồng đều hàm lượng.

Dạng bào chế rắn: Tiến hành định lượng riêng rẽ 10 đơn vị bằng phương pháp thích hợp. Tính giá trị chấp nhận (Xem bảng 11.9.2).

Dạng bào chế lỏng: Tiến hành định lượng riêng rẽ 10 đơn vị bằng phương pháp thích hợp. Khi tiến hành định lượng, trộn đều chế phẩm trong điều kiện bình thường. Biểu diễn kết quả tính theo đơn vị liều. Tính giá trị chấp nhận (Xem bảng 11.9.2).

Tính giá trị chấp nhận:

Giá trị chấp nhận (AV) được tính theo công thức sau:

$$|M - \bar{X}| + ks$$

Các ký hiệu trong công thức được giải thích trong Bảng 11.9.2.

Phương pháp chênh lệch khối lượng

Phương pháp chênh lệch khối lượng được áp dụng căn cứ trên giả định dược chất được phân tán đồng đều trong thuốc. Tiến hành định lượng dược chất bằng phương pháp thích hợp trên một lượng mẫu nhất định. Kết quả thu được là hàm lượng phần trăm dược chất (A) tính theo nhãn. Lấy không ít hơn 30 đơn vị và tiến hành theo hướng dẫn dưới đây cho từng dạng bào chế.

Viên nén không bao hoặc bao phim: Lấy 10 viên, cân chính xác từng viên. Tính hàm lượng phần trăm dược chất có trong từng viên dựa vào kết quả định lượng và khối lượng viên. Tính giá trị chấp nhận.

Nang cứng: Cân chính xác 10 nang riêng biệt, đánh dấu để nhận biết từng nang, lấy toàn bộ thuốc trong nang ra bằng cách thích hợp. Cân chính xác từng vỏ nang rỗng, tính khối lượng thuốc trong mỗi nang bằng cách lấy khối lượng nang ban đầu trừ đi khối lượng vỏ nang rỗng tương ứng. Tính hàm lượng phần trăm dược chất trong mỗi nang dựa vào kết quả định lượng và khối lượng thuốc trong nang. Tính giá trị chấp nhận.

Nang mềm: Cân chính xác 10 nang riêng biệt, lành lặn, đánh dấu để nhận biết từng nang. Dùng dao hoặc kéo khô, sạch để mở nang, loại bỏ toàn bộ thuốc trong nang và làm sạch bằng dung môi thích hợp. Để vỏ nang bay hết dung môi ở nhiệt độ phòng trong 30 min, chú ý tránh hiện tượng hút ẩm hay bay hơi nước của vỏ nang. Cân từng vỏ nang và tính khối lượng thuốc trong nang. Tính hàm lượng phần trăm dược chất trong mỗi nang dựa vào kết quả định lượng và khối lượng thuốc trong nang. Tính giá trị chấp nhận.

Bảng 11.9.1 - Qui định điều kiện áp dụng phương pháp đồng đều hàm lượng (CU) và chênh lệch khối lượng (MV) đối với các dạng bào chế

Dạng bào chế	Phân loại		Liều và tỷ lệ dược chất	
			≥ 25 mg và ≥ 25 %	< 25 mg và < 25 %
Viên nén	Không bao		MV	CU
	Bao	Bao phim	MV	CU
		Loại khác	CU	CU
Nang	Cứng		MV	CU
	Mềm	Hỗn dịch, nhũ dịch, gel	CU	CU
		Dung dịch	MV	MV
Chế phẩm dạng rắn đóng liều đơn	Một thành phần		MV	MV
	Nhiều thành phần	Bột đông khô từ dung dịch	MV	MV
		Loại khác	CU	CU
Dung dịch đóng liều đơn			MV	MV
Các dạng khác			CU	CU

Bảng 11.9.2 - Các yêu cầu để đánh giá kết quả

Ký hiệu	Định nghĩa	Các điều kiện	Giá trị
$\overline{X}$	Hàm lượng trung bình (x_1, x_2,... x_n) biểu thị ra phần trăm hàm lượng trên nhãn	-	-
$x_1, x_2, ..., x_n$	Hàm lượng phần trăm dược chất theo nhãn của từng đơn vị	-	-
n	Số đơn vị thử	-	-
k	Hằng số chấp nhận	n = 10 n = 30	2,4 2,0
s	Độ lệch chuẩn của mẫu	-	$\left[\frac{\sum_{i=1}^{n}(x_i - \overline{X})^2}{n-1}\right]^{1/2}$
RSD	Độ lệch chuẩn tương đối	-	$\frac{100s}{\overline{X}}$
M (TH1) Áp dụng với T ≤ 101,5	Giá trị đối chiếu	$98,5\ \% \le \overline{X} \le 101,5\ \%$ $\overline{X} < 98,5\ \%$ $\overline{X} > 101,5\ \%$	$M = \overline{X}$ $(AV = ks)$ $M = 98,5\ \%$ $(AV = 98,5\ \% - \overline{X} + ks)$ $M = 101,5\ \%$ $(AV = \overline{X} - 101,5\ \% + ks)$
M (TH2) Áp dụng với T > 101,5	Giá trị đối chiếu	$98,5\ \% \le \overline{X} \le T$ $\overline{X} < 98,5\ \%$ $\overline{X} > T$	$M = \overline{X}$ $(AV = ks)$ $M = 98,5\ \%$ $(AV = 98,5\% - \overline{X} + ks)$ $M = T\ \%$ $AV = (\overline{X} - T + ks)$
Giá trị chấp nhận *(AV)*	-	-	Công thức tổng quát: $\lvert M - \overline{X} \rvert + ks$ Cách tính trong từng trường hợp cụ thể nêu ở trên
L_1	Giá trị chấp nhận tối đa	-	L_1 = 15,0 nếu không có qui định khác
L_2	Khoảng lệch tối đa được phép cho mỗi đơn vị thử so với giá trị M	Giới hạn dưới, không đơn vị nào có kết quả nhỏ hơn 0,75M Giới hạn trên, không có đơn vị nào có kết quả lớn hơn 1,25M (tính dựa trên giá trị L_2 = 25,0)	L_2 = 25,0 nếu không có qui định khác
T	Hàm lượng phần trăm dược chất theo nhãn mà mẫu thử phải đạt được vào thời điểm sản xuất. Nếu không có qui định trong chuyên luận riêng T = 100 %.	-	-

Dạng bào chế rắn không phải viên nén hay nang cứng: Tiến hành như với nang cứng. Tính giá trị chấp nhận.

Dạng bào chế lỏng: Lấy 10 đơn vị, cân chính xác từng lượng thuốc lỏng lấy từ mỗi đơn vị trong điều kiện bình thường. Nếu cần, tính thể tích tương đương sau khi đã xác định được tỷ trọng. Tính hàm lượng phần trăm dược chất trong mỗi đơn vị dựa vào kết quả định lượng và lượng thuốc của từng đơn vị. Tính giá trị chấp nhận.

Tính giá trị chấp nhận

Tính giá trị chấp nhận (*AV*) như đối với phương pháp đồng đều hàm lượng, thay các giá trị hàm lượng của từng đơn vị bằng giá trị hàm lượng tính theo công thức dưới đây: $x_1, x_2, ..., x_n$ là hàm lượng dược chất của từng đơn vị thử. Trong đó:

$$x_i = w_i \times \frac{A}{W}$$

$w_1, w_2, ..., w_n$ là khối lượng của từng đơn vị thử.

A là hàm lượng phần trăm dược chất tính theo nhãn, xác định bằng phương pháp thích hợp (phần định lượng).

W là khối lượng trung bình của các đơn vị thử dùng trong phần định lượng.

Đánh giá kết quả

Nếu không có chỉ dẫn khác, áp dụng các yêu cầu sau để đánh giá kết quả.

Đối với dạng thuốc rắn và lỏng: Chế phẩm đạt yêu cầu phép thử đồng đều đơn vị liều nếu giá trị chấp nhận tính trên 10 đơn vị đầu tiên nhỏ hơn hoặc bằng L_1 %. Nếu giá trị chấp nhận lớn hơn L_1 % thử tiếp 20 đơn vị khác và tính giá trị chấp nhận của cả 30 đơn vị. Chế phẩm đạt yêu cầu nếu giá trị chấp nhận nhỏ hơn hoặc bằng L_1 % và không có đơn vị nào có hàm lượng nhỏ hơn $(1 - L_2 \times 0{,}01)M$ hay lớn hơn $(1 + L_2 \times 0{,}01)M$. Nếu không có quy định khác $L_1 = 15$ và $L_2 = 25$.

11.10 PHÉP THỬ ĐỘ GIẢI PHÓNG DƯỢC CHẤT CỦA THUỐC DÁN THẤM QUA DA

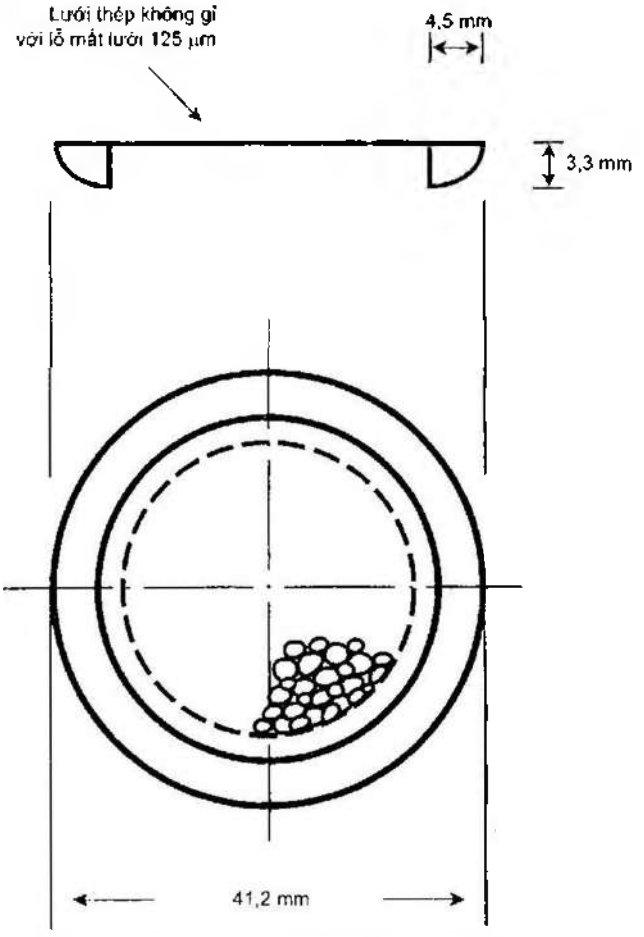
Phép thử này được dùng để xác định mức độ hòa tan các thành phần dược chất của dạng thuốc dán thấm qua da.

Phương pháp dùng thiết bị có đĩa lưới inox

Thiết bị: Dùng thiết bị thử độ hòa tan kiểu cánh khuấy như mô tả trong chuyên luận *Phép thử độ hòa tan của dạng thuốc rắn phân liều* (Phụ lục 11.4) có bổ sung thêm một bộ phận đĩa lưới inox hình tròn với lỗ mắt lưới 125 µm (Hình 11.9.1).

Bộ phận đĩa lưới inox giữ mẫu thử ở đáy của bình hòa tan và được thiết kế sao cho giảm thiểu thể tích chết giữa đĩa lưới inox và đáy bình. Bộ phận này cũng giữ cho miếng dán thử được căng phẳng, có mặt giải phóng thuốc ngửa lên trên và song song với đáy cánh khuấy. Phải luôn duy trì khoảng cách (25 ± 2) mm giữa đáy cánh khuấy và bề mặt đĩa lưới inox trong quá trình thử (Hình 11.9.2).

Nhiệt độ được giữ ổn định ở (32 ± 0,5) °C. Bình hòa tan có thể được đậy nắp để hạn chế bay hơi dung môi trong thời gian thử.



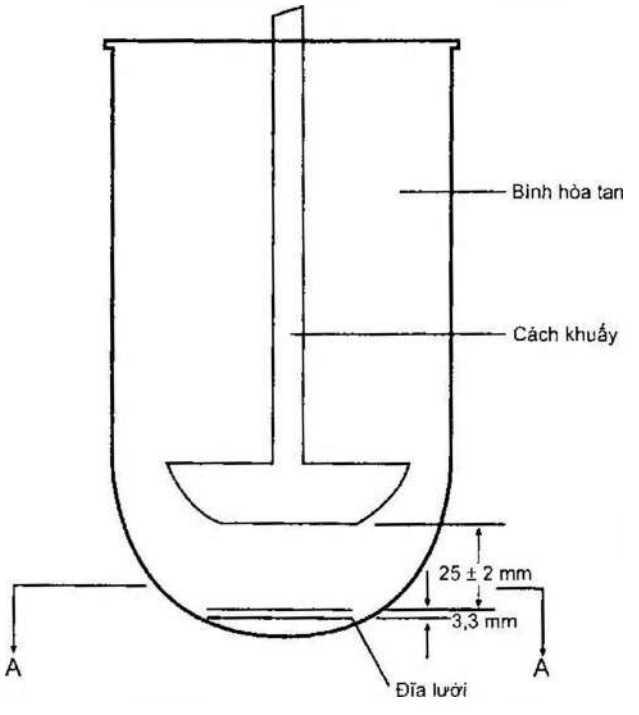
Hình 11.10.1 - Bộ phận đĩa lưới inox

Cách tiến hành

Cho một thể tích môi trường hòa tan như chỉ dẫn vào bình hòa tan và làm ổn nhiệt môi trường ở nhiệt độ quy định. Đặt miếng thuốc dán cần thử lên đĩa lưới inox, giữ sao cho bề mặt giải phóng thuốc càng phẳng càng tốt. Miếng thuốc dán có thể gắn vào đĩa inox bằng keo dính hoặc bằng một dải băng dính hai mặt. Keo dính hoặc băng dính đều phải được thử trước chứng tỏ không gây trở ngại cho phép định lượng và không hấp phụ hoạt chất thuốc. Ấn nhẹ miếng thuốc dán có bề mặt giải phóng thuốc ngửa lên trên lên mặt của đĩa lưới inox đã có chất dính. Miếng dán thử chỉ nằm trên phần lưới inox, không được phủ trùm lên vành đĩa. Để làm được điều này, khi chế phẩm thuốc đồng nhất và được trải đều lên cốt của thuốc dán, có thể đo chính xác và cắt lấy những mảnh thuốc dán có kích thước thích hợp để thử. Đặt bộ phận đĩa inox đã gắn miếng thuốc dán thử nằm ngang trên đáy bình hòa tan sao cho mặt giải phóng dược

chất ngửa lên trên. Cho vận hành ngay cánh khuấy quay ở tốc độ quy định, chẳng hạn 100 r/min. Sau từng khoảng thời gian được định trước, rút mẫu thử ở vùng giữa của bề mặt môi trường hòa tan và mặt trên của cánh khuấy, và ở chỗ cách thành bình không dưới 1 cm.

Tiến hành định lượng mỗi mẫu dung dịch thử theo phương pháp được chỉ dẫn ở chuyên luận riêng, hiệu chỉnh sự giảm thể tích môi trường hòa tan nếu thấy cần thiết. Lặp lại phép thử với những miếng dán khác.



Hình 11.10.2 - Cánh khuấy và đĩa lưới inox

Đánh giá kết quả

Mẫu thử đạt yêu cầu thử độ hòa tan nếu lượng dược chất giải phóng từ miếng thuốc dán thử, biểu thị bằng khối lượng tính trên 1 đơn vị diện tích bề mặt trong 1 đơn vị thời gian (ví dụ: $\mu g/cm^2/h$), phải nằm trong giới hạn quy định ở từng thời điểm lấy mẫu xác định.

Phương pháp dùng thiết bị ống trụ quay

Thiết bị

Dùng thiết bị thử độ hòa tan kiểu cánh khuấy như mô tả trong chuyên luận *Phép thử độ hòa tan của các dạng thuốc rắn phân liều* (Phụ lục 11.4), thay thế trục và cánh khuấy bằng một bộ phận khuấy hình ống trụ (Hình 11.9.3).

Mẫu thuốc dán đem thử được dính lên trên ống trụ khi bắt đầu mỗi phép thử. Khoảng cách giữa đáy bình hòa tan và ống trụ được duy trì ở (25 ± 2) mm trong suốt quá trình thử. Nhiệt độ được giữ ổn định ở (32 ± 0,5) °C. Bình hòa tan có thể được đậy nắp để hạn chế bay hơi dung môi trong thời gian thử.

Cách tiến hành

Cho một thể tích môi trường hòa tan như chỉ dẫn vào bình hòa tan và làm ổn nhiệt ở nhiệt độ quy định. Bỏ lớp bảo vệ miếng thuốc dán đem thử. Đặt mặt dính của miếng thuốc dán lên một màng có lỗ bằng vật liệu trơ thích hợp, màng này có kích thước lớn hơn miếng dán ít nhất 1 cm mỗi cạnh. Đặt màng mỏng có miếng thuốc dán thử lên trên một bề mặt sạch, để cho màng mỏng tiếp xúc với bề mặt này. Tiếp theo, tiến hành dán mẫu thử lên ống trụ bằng một trong hai cách sau đây:

Dùng một chất keo dính thích hợp bôi lên bờ cạnh của màng mỏng và nếu cần thiết bôi lên cả mặt sau của miếng thuốc dán thử.

Dùng một băng dính hai mặt dính vào thành ngoài của ống trụ.

Ép nhẹ mặt không có chất dính của miếng thuốc dán lên ống trụ sao cho bề mặt giải phóng thuốc tiếp xúc với môi trường hòa tan và trục dọc của dải thuốc dán bao vòng quanh ống trụ.

Keo dính hay băng dính đem dùng đều phải được thử trước chứng tỏ là không gây trở ngại cho phép định lượng và không hấp phụ dược chất.

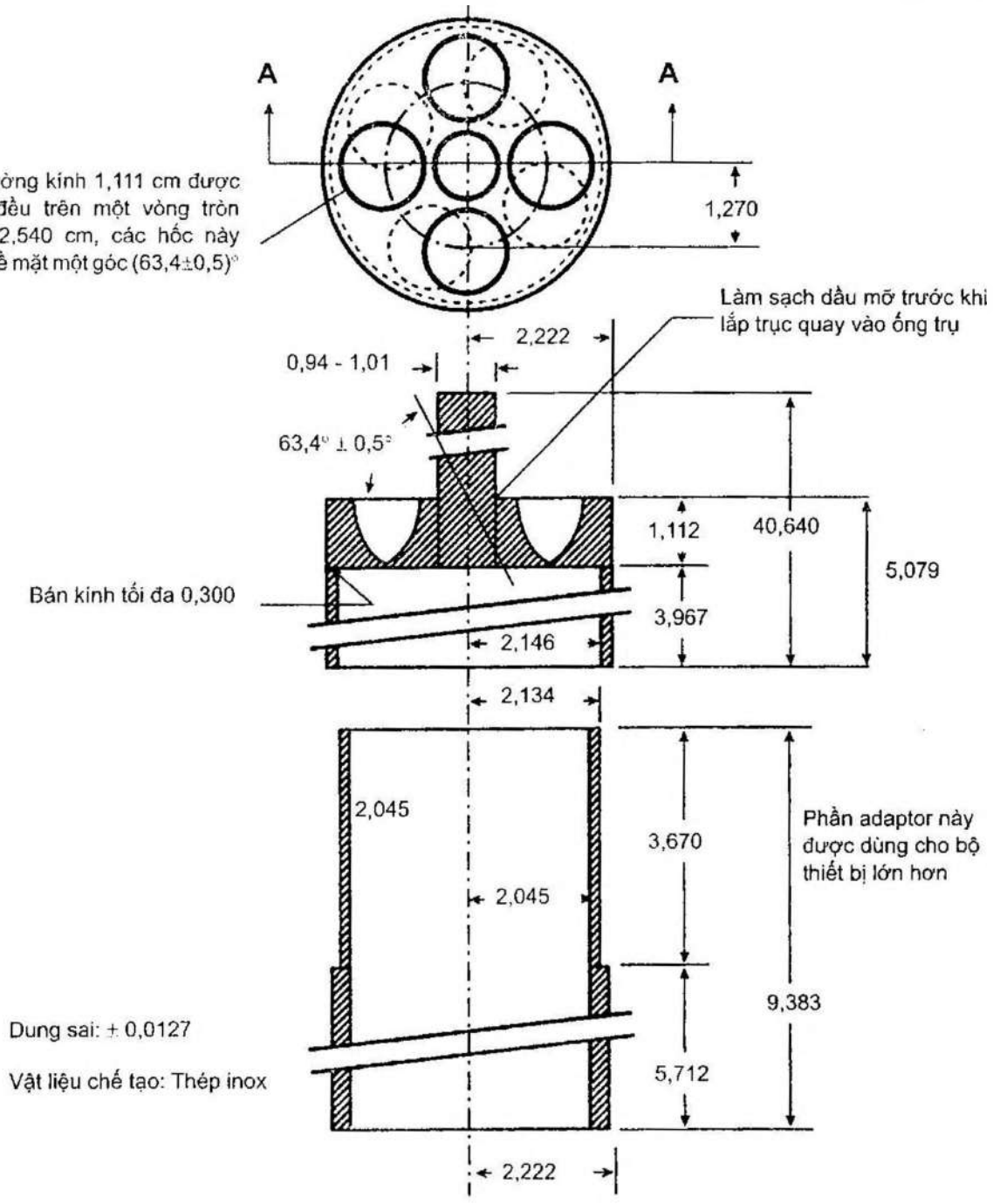
Đặt ống trụ vào thiết bị thử độ hòa tan rồi cho vận hành ngay ống trụ quay ở tốc độ quy định, chẳng hạn ở 100 r/min.

Sau từng khoảng thời gian được định trước, rút mẫu thử ở vùng giữa của bề mặt môi trường hòa tan và mặt trên của ống trụ quay, và ở chỗ cách thành bình không dưới 1 cm.

Tiến hành định lượng mỗi mẫu dung dịch như chỉ dẫn trong chuyên luận riêng, hiệu chỉnh sự giảm thể tích môi trường hòa tan nếu thấy cần thiết. Lặp lại phép thử với những miếng thuốc dán khác.

Đánh giá kết quả

Như Phương pháp dùng thiết bị có đĩa lưới inox.



Hình 11.9.3 - Bộ phận khuấy hình ống trụ
(Kích thước tính bằng cm)

PHỤ LỤC 12

12.1 LẤY MẪU DƯỢC LIỆU

Lấy mẫu dược liệu là việc lựa chọn, thu thập các mẫu dược liệu cho việc kiểm tra chất lượng.
Mức độ đại diện của các mẫu dược liệu được lấy có ảnh hưởng trực tiếp đến độ chính xác và độ đúng của việc kiểm tra.
Các yêu cầu chung về việc lấy mẫu dược liệu như sau:

Kiểm tra trước khi lấy mẫu

Kiểm tra đối chiếu tên và nguồn gốc nguyên liệu;
Kiểm tra đặc điểm và hình dạng bao gói;
Kiểm tra sự nguyên vẹn, sạch sẽ, mức độ nhiễm mốc và tạp chất lạ của bao bì.
Các bao gói không bình thường cần được kiểm tra riêng một cách kỹ càng.
Ghi chép chi tiết kết quả kiểm tra.

Cách thức lấy mẫu

Cách thức lấy mẫu
Tổng số bao gói dưới 5: Lấy mẫu từng bao gói.
Từ 5 đến dưới 100: Lấy mẫu 5 bao gói.
Từ 100 đến 1000: Lấy mẫu 5 % tổng số bao gói.
Trên 1000: Lấy 50 bao gói cộng thêm số bao gói bằng 1 % của tổng số bao gói vượt quá so với 1000 bao gói.
Dược liệu quý: Lấy mẫu từng bao gói, không kể số lượng các bao gói.
Dược liệu được lấy ở trên, giữa và cuối của mỗi bao gói bằng các phương tiện thích hợp (đối với bao gói lớn thì lấy sâu 10 cm dưới bề mặt của bao gói).
Đối với thuốc có kích thước lớn thì lấy mẫu đại diện thích hợp.
Khối lượng mẫu lấy
Nếu lượng dược liệu dưới 5 kg thì số lượng mẫu được lấy không ít hơn 3 lần số lượng đem thử nghiệm. Nếu lượng dược liệu lớn hơn 5 kg thì số lượng mẫu lấy được xác định như sau:
Thuốc thông thường: 250 g đến 500 g;
Thuốc bột: 200 g;
Thuốc quý: 5 g đến 10 g (trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng).

Tạo mẫu đồng nhất

Mẫu sau khi lấy được trộn đều để có một mẫu đồng nhất dùng cho thử nghiệm. Nếu khối lượng mẫu đồng nhất lớn hơn vài lần so với mẫu thử nghiệm thì làm một mẫu trung bình.
Nếu dược liệu có kích thước nhỏ thì lấy một mẫu trung bình bằng phương pháp chia 4 như sau: San bằng mẫu thành hình vuông, chia mẫu theo 2 đường chéo thành 4 phần bằng nhau. Lấy 2 phần đối diện và trộn đều. Làm lại thao tác chia 4 cho đến khi thu được số lượng vừa đủ để làm mẫu thử và mẫu lưu.
Trong trường hợp các dược liệu có kích thước lớn thì lấy mẫu trung bình bằng phương pháp khác thích hợp.
Khối lượng của mẫu đồng nhất hoặc mẫu trung bình không ít hơn 3 lần số lượng của mẫu đem thử nghiệm. Lượng mẫu này được chia làm 3 phần, 1/3 dùng để phân tích, 1/3 để kiểm tra và số còn lại làm mẫu lưu giữ lại ít nhất 01 năm.

12.2 NHỮNG QUY ĐỊNH CHUNG VỀ KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG DƯỢC LIỆU

Dược liệu trước khi đưa vào sử dụng đều phải đưa vào kiểm tra chất lượng và phải đạt yêu cầu chất lượng theo tiêu chuẩn đã đăng ký như tiêu chuẩn dược điển hoặc tiêu chuẩn cơ sở.
Kiểm tra chất lượng dược liệu bao gồm việc mô tả, định tính, các phép thử tinh khiết, xác định hàm lượng chất chiết được và định lượng hoạt chất trong dược liệu. Việc kiểm tra dược liệu được tiến hành theo quy định sau:
1. Lấy mẫu kiểm nghiệm (Phụ lục 12.1).
2. Sử dụng các mô tả của chuyên luận, một mẫu đối chiếu (dược liệu hay chất tinh khiết) thích hợp đã đạt yêu cầu chất lượng theo chuyên luận riêng để xác nhận kết quả kiểm nghiệm.
3. Nếu dược liệu được kiểm tra đã bị vụn nát thì dược liệu đó vẫn phải đáp ứng các yêu cầu chung, trừ yêu cầu về mô tả trong chuyên luận tương ứng.
4. Nếu dược liệu đòi hỏi phải được làm thành bột trước khi định tính, định lượng thì phải tán dược liệu đó thành bột, rây và trộn đều như được mô tả trong Phụ lục 3.5 và trong chuyên luận riêng.
5. Chỉ tiêu "Mô tả" bao gồm những mô tả về hình thái, kích thước, màu sắc, mùi vị, các đặc điểm của bề mặt, vết bẻ hay mặt cắt của dược liệu hoặc đặc điểm thể chất của dược liệu.
a. "Hình thái" là hình dạng của dược liệu khô. Thông thường dược liệu được quan sát mà không cần xử lý trước. Các loại dược liệu là lá hay hoa bị nhăn nheo, khô quắn có thể được làm ẩm, làm mềm và trải phẳng trước khi quan sát. Đối với một vài loại quả và hạt nếu cần có thể được làm mềm và loại bỏ vỏ hạt để kiểm tra đặc điểm bên trong.
b. "Kích thước" là chiều dài, đường kính và độ dày của dược liệu. Tiến hành đo trên một số mẫu. Cho phép một vài mẫu có giá trị hơi cao hơn hoặc thấp hơn giá trị đã xác định. Sử dụng thước đo chia vạch tới milimét. Đối với hạt hay vật có kích thước nhỏ, xếp 10 hạt gần nhau theo một hàng trên một tờ giấy có chia vạch tới milimét, đo và tính giá trị trung bình.
c. "Màu sắc" của dược liệu được quan sát bằng mắt thường ở ánh sáng ban ngày. Màu có thể được mô tả bằng các sắc độ như "hơi", "đậm" hay "nhạt" (ví dụ màu hơi vàng, màu vàng đậm, màu vàng nhạt). Nếu màu được mô tả là màu phối hợp của hai màu thì màu chính là màu ghi trước (ví dụ trong màu nâu vàng thì màu nâu là màu chính).
d. Đặc điểm bên ngoài, bề mặt vết bẻ hay cắt ngang của dược liệu thường được quan sát trên dược liệu chưa sơ chế. Nếu quan sát thấy những đường vân khác nhau trên mặt bẻ thì có thể cắt phẳng rồi quan sát.

e. "Mùi" của dược liệu được kiểm tra bằng cách ngửi trực tiếp hoặc sau khi bẻ gãy và vò nát. Cũng có thể ngửi sau khi làm ấm dược liệu bằng nước nóng.
f. "Vị" của dược liệu được kiểm tra bằng cách nếm trực tiếp dược liệu hoặc nếm dịch chiết nước. *Nên cẩn thận khi nếm những vị thuốc có độc.*
6. Định tính là những phương pháp dùng để nhận biết dược liệu, bao gồm các kinh nghiệm truyền thống, phương pháp vi học và các phương pháp lý hóa.
a. Nhận biết dược liệu dựa theo kinh nghiệm bằng phương pháp đơn giản và truyền thống như sự chìm hay nổi trong nước, tiếng nổ, màu của ngọn lửa hay khói và mùi khi đốt cháy dược liệu v.v...
b. Định tính dược liệu bằng phương pháp vi học là việc quan sát đặc điểm của các tế bào, các mô của lát cắt, của bột hay (trong một vài trường hợp) của bề mặt dược liệu dưới kính hiển vi. (Phụ lục 12.18.)
c. Định tính lý học là việc xác định các chỉ số như độ tan, tỉ trọng, chiết xuất, năng suất quay cực v.v... của các dược liệu (Phụ lục 6).
d. Định tính hóa học là phép thử một vài thành phần trong dược liệu bằng các phản ứng hóa học. Phương pháp tiến hành được trình bày ở các chuyên luận dược liệu cụ thể.
e. Định tính sắc ký là việc sử dụng các phương pháp sắc ký như sắc ký lớp mỏng, sắc ký khí, sắc ký lỏng hiệu năng cao... để phát hiện một số thành phần có trong dược liệu; so sánh với chất chuẩn hay thành phần trong dược liệu chuẩn. Phương pháp tiến hành được trình bày ở Phụ lục 5 và các chuyên luận dược liệu cụ thể.
f. Định tính huỳnh quang là quan sát sự phát huỳnh quang của bề mặt hay mặt cắt dược liệu hoặc của dịch chiết dược liệu ở điều kiện thường hay sau khi cho tác dụng với acid, kiềm hay thuốc thử. Trừ khi có quy định riêng trong chuyên luận, mẫu thử được quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 366 nm, cách nguồn sáng khoảng 10 cm.
g. Trừ những qui định trong chuyên luận riêng, định tính vi thăng hoa thường được tiến hành như sau: Đặt một vòng kim loại đường kính khoảng 2 cm, cao khoảng 8 mm lên một tấm kim loại mỏng có kích thước hơi lớn hơn. Trải một lớp mỏng bột dược liệu trong vòng kim loại và đậy kín bằng một phiến kính bên trên đặt một miếng bông tẩm nước lạnh. Đặt tấm kim loại đã có dược liệu này lên một lưới amiant có 1 lỗ tròn đường kính khoảng 2 cm sao cho vòng kim loại có dược liệu nằm trên lỗ này. Đun nóng nhẹ phía dưới lỗ cho đến khi bột dược liệu bị cháy xém. Nhấc phiến kính ra và để nguội. Quan sát hình dạng và màu sắc của tinh thể chất được thăng hoa đọng lại trên phiến kính bằng kính hiển vi và/hoặc tiến hành phản ứng hóa học thích hợp đối với chất đã được thăng hoa.
7. Thử tinh khiết là cách kiểm tra độ tinh khiết của dược liệu. Tùy từng dược liệu mà thử tinh khiết có thể bao gồm một số hay tất cả các chỉ tiêu dưới đây:
a. Mất khối lượng do làm khô (Phụ lục 9.6 hay 12.13).
b. Tro toàn phần và tro không tan trong acid hydrocloric (Phụ lục 9.7 và 9.8).
c. Các tạp chất hữu cơ, các bộ phận khác của dược liệu, các dược liệu bị biến màu, hư thối (Phụ lục 12.11).
d. Tỉ lệ vụn nát của dược liệu (Phụ lục 12.12).
e. Hàm lượng kim loại nặng (Phụ lục 9.4.11).
f. Dư lượng các chất bảo vệ thực vật (Phụ lục 12.17).
g. Xác định chất chiết được là xác định hàm lượng các chất trong dược liệu có thể chiết được bằng dung môi (nước, ethanol hay một dung môi khác) (Phụ lục 12.10).
8. Định lượng là việc xác định hàm lượng của một hay một số chất có trong dược liệu bằng phương pháp hóa học, lý học hoặc sinh học. Định lượng bao gồm cả việc xác định hàm lượng chất béo (Phụ lục 12.9), tinh dầu (Phụ lục 12.7) và xác định hoạt lực bằng các phép thử sinh học.

12.3 PHÉP THỬ XÁC ĐỊNH CHIẾT KIỆT ALCALOID

Các phép thử sau đây được dùng để xác định alcaloid đã được lấy kiệt hay chưa.

Các alcaloid được chiết bằng nước hoặc dung môi là ethanol - nước

Sau khi chiết ít nhất 3 lần, lấy 0,1 ml đến 0,2 ml của dịch chiết tiếp theo, acid hoá bằng *dung dịch acid hydrocloric 2 M (TT)*, thêm 0,05 ml *dung dịch kali tetraiodomercurat (TT)* (thuốc thử Mayer) hoặc thêm 0,05 ml *dung dịch kali iodobismuthat (TT)* (thuốc thử Dragendorff) đối với các alcaloid thuộc họ Cà. Không được có tủa hay tạo dung dịch đục. Trong trường hợp dung môi chiết có độ cồn lớn hơn 25 % trở lên thì sau khi acid hoá, cần bay hơi hết dung môi (bằng cách đặt khay sứ chứa dịch chiết lên nồi cách thủy nóng) rồi mới thêm thuốc thử tạo tủa.

Các alcaloid được chiết bằng dung môi hữu cơ

Sau khi chiết ít nhất 3 lần, lấy 1 ml đến 2 ml dịch chiết tiếp theo, thêm 1 ml đến 2 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, bay hơi hết dung môi hữu cơ, chuyển phần dịch lỏng còn lại vào một ống nghiệm và thêm 0,05 ml *dung dịch kali tetraiodomercurat (TT)* (thuốc thử Mayer) hoặc thêm 0,05 ml *dung dịch kali iodobismuthat (TT)* (thuốc thử Dragendorff) đối với các alcaloid thuộc họ Cà hoặc thêm 0,05 ml *dung dịch iod-kali iodid (TT)* (thuốc thử Bouchardat) đối với emetin. Không được thấy có tủa đục rõ tạo thành trong dung dịch.

12.4 ĐỊNH LƯỢNG ALDEHYD TRONG TINH DẦU

Cân chính xác khoảng 1 g tinh dầu cần xác định aldehyd vào một ống thủy tinh có nút mài (kích thước khoảng 150 mm × 25 mm), thêm 5 ml *toluen (TT)* và 15 ml *dung dịch hydroxylamin trong ethanol (TT)*, lắc mạnh và định lượng ngay với *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol 60 % (CĐ)* cho tới khi màu đỏ chuyển sang màu vàng. Tiếp tục lắc và định lượng tới khi lớp dưới có màu vàng bền vững của chỉ thị sau khi đã lắc mạnh 2 min và để yên cho tách lớp; phản ứng xảy ra hoàn toàn trong khoảng

15 min. Kết quả chuẩn độ cho một giá trị tương đối về hàm lượng aldehyd trong mẫu.

Lặp lại quy trình định lượng như trên, dùng dung dịch thử sơ bộ ở trên thêm 0,5 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 N trong ethanol 60 % (TĐ)* làm chuẩn màu cho điểm kết thúc định lượng. Tính hàm lượng aldehyd từ lần xác định thứ hai. Dùng đương lượng đã cho trong chuyên luận riêng.

12.5 ĐỊNH LƯỢNG CINEOL TRONG TINH DẦU

Cân 3,00 g mẫu thử vừa được làm khan bằng *natri sulfat khan (TT)* vào một ống nghiệm khô, thêm 2,10 g *o-cresol (TT)* đã chảy lỏng. Đặt ống nghiệm vào trong thiết bị xác định nhiệt độ đông đặc (Phụ lục 6.6) và làm lạnh, khuấy liên tục. Khi sự kết tinh bắt đầu, nhiệt độ hơi tăng lên một chút; ghi nhiệt độ cao nhất đạt được (t_1).

Làm chảy hỗn hợp trên nồi cách thủy nhưng không được để nhiệt độ vượt quá 5 °C so với nhiệt độ t_1. Đặt lại ống nghiệm vào trong thiết bị đã được duy trì ở nhiệt độ dưới t_1 5 °C.

Khi sự kết tinh lại xảy ra hoặc khi nhiệt độ của hỗn hợp hạ xuống 3 °C dưới t_1, khuấy liên tục; ghi nhiệt độ cao nhất mà hỗn hợp đông lại (t_2). Lặp lại quá trình này cho tới khi 2 giá trị cao nhất thu được (t_2) chênh nhau không quá 0,2 °C. Nếu xảy ra quá trình chậm đông, thêm 1 tinh thể nhỏ của hỗn hợp gồm 3,00 g *cineol (TT)* và 2,10 g *o-cresol (TT)* đã chảy lỏng, để tạo sự kết tinh. Nếu t_2 thấp hơn 27,4 °C, lập lại thí nghiệm sau khi thêm 5,10 g hỗn hợp này.

Bảng 12.5.1

t_2 (°C)	% cineol (kl/kl)	t_2 (°C)	% cineol (kl/kl)
24	45,5	40	67,0
25	47,0	41	68,5
26	48,5	42	70,0
27	49,5	43	72,5
28	50,5	44	74,0
29	52,0	45	76,0
30	53,5	46	78,0
31	54,5	47	80,0
32	56,0	48	82,0
33	57,0	49	84,0
34	58,5	50	86,0
35	60,0	51	88,5
36	61,0	52	91,0
37	62,5	53	93,5
38	63,5	54	96,0
39	65,0	55	99,0

Xác định phần trăm cineol (kl/kl) tương ứng với điểm đông (t_2) từ Bảng 12.5.1 và ta có các giá trị trung gian bằng phương pháp nội suy. Nếu có cho thêm 5,10 g hỗn hợp cineol và o-cresol, tính phần trăm (kl/kl) của cineol từ biểu thức 2 × (A - 50); trong đó A là giá trị tương ứng cho một điểm đông của t_2 được lấy từ Bảng 12.5.1.

12.6 ĐỊNH LƯỢNG TANINOID TRONG DƯỢC LIỆU

Có thể áp dụng 1 trong 2 phương pháp sau:

Phương pháp 1

Cân chính xác một khối lượng bột dược liệu đã rây qua rây số 355 và chứa khoảng 1 g taninoid, cho vào một bình nón, thêm 150 ml *nước* và đun trên cách thủy trong 30 min. Để nguội, chuyển hỗn hợp vào bình định mức 250 ml. Thêm *nước* vừa đủ tới vạch, để lắng, lọc phần dịch lỏng qua giấy lọc đường kính 125 mm, bỏ 50 ml dịch lọc đầu. Phần dịch lọc thu được dùng làm dung dịch thử.

Xác định chất chiết được trong nước toàn phần

Lấy chính xác 25 ml dung dịch thử đem bốc hơi đến khô, sấy cắn ở 105 °C trong 3 h. Để nguội trong bình hút ẩm chứa silica gel. Cân, được khối lượng T_1 (g).

Xác định chất chiết được trong nước không liên kết với bột da

Lấy chính xác 100 ml dung dịch thử, thêm 6 g *bột da khô*. Lắc đều trong 15 min và lọc. Lấy chính xác 25 ml dịch lọc đem bốc hơi đến khô, sấy cắn ở 105 °C trong 3 h. Để nguội trong bình hút ẩm chứa silica gel. Cân, được khối lượng T_2 (g).

Xác định bột da tan trong nước

Lấy chính xác 100 ml nước cất, thêm 6 g *bột da khô*. Lắc đều trong 15 min và lọc. Lấy chính xác 25 ml dịch lọc bốc hơi đến khô, sấy cắn ở 105 °C trong 3 h. Để nguội trong bình hút ẩm chứa silica gel. Cân, được khối lượng T_0 (g).

Hàm lượng phần trăm (%) taninoid trong dược liệu được tính theo công thức:

$$\frac{(T_1 - T_2 + T_0) \times 10}{a} \times 100$$

Trong đó:

a là khối lượng dược liệu (g).

Phương pháp 2

Tiến hành thử nghiệm trong điều kiện tránh ánh sáng.

Dung dịch chuẩn: Cân chính xác khoảng 50 mg acid galic chuẩn vào một bình định mức 100 ml màu nâu, thêm *nước* để hòa tan và vừa đủ đến vạch. Hút chính xác 5 ml dung dịch trên vào bình định mức 50 ml màu nâu, thêm *nước* vừa đủ, lắc đều (dung dịch có nồng độ acid galic khoảng 0,05 mg/ml).

Xây dựng đường chuẩn: Hút chính xác lần lượt 1,0 ml; 2,0 ml; 3,0 ml; 4,0 ml; 5,0 ml dung dịch chuẩn vào các bình định mức 25 ml riêng biệt màu nâu, thêm vào mỗi bình 1 ml *thuốc thử phosphomolybdotungstic (TT)*, sau đó thêm lần lượt 11 ml, 10 ml, 9 ml, 8 ml, 7 ml nước vào các bình tương ứng, thêm *dung dịch natri carbonat 29 %* đủ

vạch, lắc đều. Đo độ hấp thụ của các dung dịch thu được ở 760 nm (Phụ lục 4.1), chuẩn bị song song một mẫu trắng. Xây dựng đường chuẩn với độ hấp thụ là trục tung và nồng độ dung dịch là trục hoành.

Dung dịch thử: Cân chính xác một lượng bột dược liệu (theo qui định của chuyên luận riêng) vào bình định mức 250 ml màu nâu, thêm 150 ml *nước*, để qua đêm, sau đó lắc siêu âm trong 10 min, để nguội, thêm *nước* vừa đủ, lắc đều, để lắng. Lọc, bỏ 50 ml dịch lọc đầu, hút chính xác 20 ml dịch lọc vào bình định mức 100 ml màu nâu, thêm *nước* vừa đủ đến vạch, lắc đều.

Tiến hành

Hàm lượng phenol toàn phần: Hút chính xác 2 ml dung dịch thử vào bình định mức 25 ml màu nâu. Thêm 1 ml *thuốc thử phosphomolybdotungstic (TT)*, trộn đều, thêm 10 ml *nước*, thêm *dung dịch natri carbonat 29 %* đến vạch, lắc đều, đo độ hấp thụ của dung dịch thu được như phương pháp trên và tính toán hàm lượng phenol theo acid galic trong dung dịch thử dựa trên đường chuẩn đã xây dựng.

Hàm lượng polyphenol không liên kết với casein: Hút chính xác 25 ml dung dịch thử vào bình nón nút mài 100 ml đã có 0,6 g casein, đậy kín. Đặt bình trong cách thủy ở nhiệt độ 30 °C trong 1 h, lắc đều, để nguội. Lọc, loại bỏ khoảng 5 ml dịch lọc đầu tiên, hút chính xác 2 ml dịch lọc sau cho vào bình định mức 25 ml màu nâu. Thêm 1 ml *thuốc thử phosphomolybdotungstic (TT)*, trộn đều, thêm 10 ml nước và pha loãng bằng *dung dịch natri carbonat 29 %* đến vạch, lắc đều, đo độ hấp thụ của dung dịch thu được như phương pháp trên và tính toán hàm lượng phenol theo acid galic trong dung dịch dựa trên đường chuẩn đã xây dựng.

Tính kết quả

Hàm lượng taninoid tính theo acid galic trong dược liệu được tính theo công thức:

Taninoid toàn phần = (Hàm lượng phenol toàn phần) - (Hàm lượng polyphenol không liên kết với casein).

12.7 ĐỊNH LƯỢNG TINH DẦU TRONG DƯỢC LIỆU

Tinh dầu trong dược liệu được định lượng bằng cách cất kéo hơi nước trong dụng cụ cất như mô tả ở Hình 12.7. Dịch cất được hứng vào một ống chia độ, sử dụng xylen để giữ lại tinh dầu, pha nước được chảy tự động trở lại bình cất.

Dụng cụ

Dụng cụ định lượng tinh dầu bao gồm các bộ phận sau:

a) Một bình cầu thủy tinh đáy tròn có cổ ngắn với đường kính trong khoảng 29 mm.

b) Bộ phận ngưng cất (xem hình 12.7) nối kín được với bình cất, được làm từ thủy tinh có hệ số giãn nở thấp, bao gồm các bộ phận sau:

Khóa K' có một lỗ thông khí, nhánh K có một lỗ đường kính khoảng 1 mm trùng khớp với lỗ thông khí, bề mặt cuối của nhánh K là thủy tinh mài có đường kính trong 10 mm.

Bầu hình quả lê J có thể tích 3 ml.

Ống JL chia vạch đến 0,01 ml.

Bầu tròn L có thể tích khoảng 2 ml.

M là một vòi 3 nhánh.

Điểm nối B cao hơn 20 mm so với vạch chia độ trên cùng.

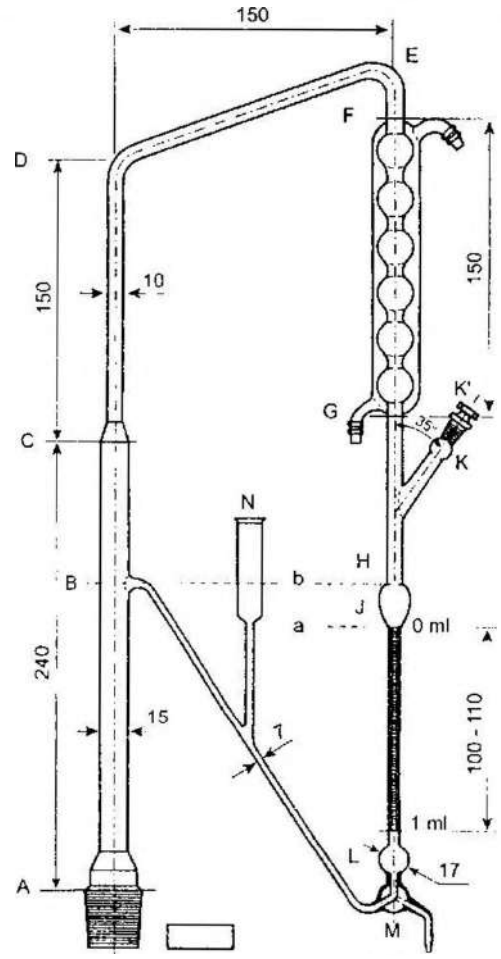
c) Bộ phận đốt nóng có thể điều chỉnh được nhiệt độ.

d) Giá đỡ thẳng đứng với vòng đỡ nằm ngang có gắn vật liệu cách điện.

Tiến hành

Cho một thể tích dung môi cất theo quy định vào bình cất, thêm vài mảnh đá bọt và lắp bộ ngưng cất vào. Thêm nước qua phễu N tới mức B. Mở khóa K', dùng pipet cho vào 1 ml *xylen (TT)* trừ khi có chỉ dẫn khác (tựa đầu pipet vào phía cuối của nhánh K). Đóng khóa K' sao cho lỗ thông trùng khớp. Đun bình cho đến sôi, sau đó nếu không có chỉ dẫn gì khác thì điều chỉnh tốc độ cất sao cho cất được 2 ml/min đến 3 ml/min.

Xác định tốc độ cất như sau: Mở vòi 3 nhánh M để hạ mức dịch cất trong ống đến vạch (a) của bầu (J), khóa vòi M lại và xác định thời gian cần thiết để cất được đến vạch (b).



Hình 12.7 - Dụng cụ cất tinh dầu
(Kích thước tính bằng mm)

Mở vòi M và tiếp tục cất, điều chỉnh nhiệt độ đun để có tốc độ cất theo quy định. Cất trong 30 min. Ngừng cất, đọc thể tích xylen trong ống hứng chia độ khi nhiệt độ ống hứng trở về nhiệt độ phòng.

Cho vào bình cất một lượng mẫu theo qui định và tiếp tục cất với thời gian và tốc độ cất như quy định của chuyên luận riêng. Ngừng cất, đọc thể tích hỗn hợp tinh dầu và xylen trong ống hứng chia độ khi nhiệt độ ống hứng trở về nhiệt độ phòng. Thể tích đọc được lần này trừ đi thể tích xylen sẽ cho thể tích tinh dầu trong lượng mẫu định lượng. Tính toán kết quả thu được biểu thị theo ml tinh dầu có trong một kg mẫu thử hoặc theo phần trăm (số ml tinh dầu trong 100 g mẫu thử).

12.8 CÁC PHÉP THỬ CỦA TINH DẦU

Dầu béo và nhựa trong tinh dầu

Nhỏ 1 giọt tinh dầu lên giấy mỏng, để khô trong gió hay hơ nóng nhẹ cho bay hết mùi tinh dầu. Không được xuất hiện vết bóng mờ hoặc vết dầu mỡ.

Ester liên quan

Đun nóng 1 ml tinh dầu với 3 ml *dung dịch kali hydroxyd 10 % trong ethanol 96 % (TT)* mới pha trên cách thủy trong 2 min. Không được xuất hiện tinh thể trong vòng 30 min kể từ lúc bắt đầu để nguội.

Cắn sau khi bay hơi

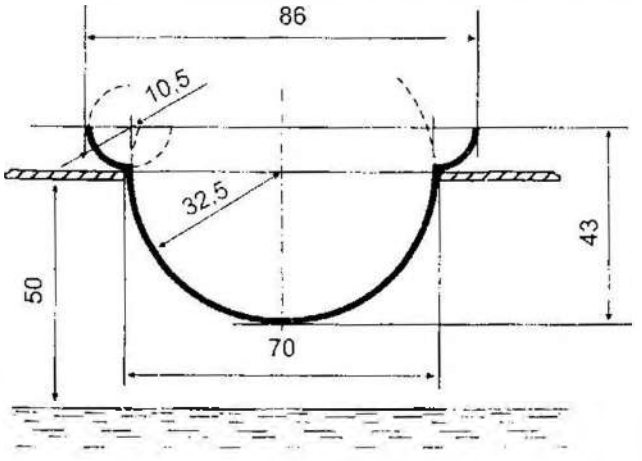
Cắn sau khi bay hơi là phần trăm khối lượng của tinh dầu còn lại sau khi bay hơi trên cách thủy ở điều kiện như sau:

Thiết bị

Nồi cách thủy có nắp đậy với những lỗ có đường kính 70 mm.
Cốc cô bằng thủy tinh chịu nhiệt, trơ về mặt hóa học.
Bình hút ẩm.

Cách tiến hành

Cân 5,00 g tinh dầu (trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận) vào một cốc cô đã được cân bì sau khi đun nóng trên cách thủy trong 1 h và làm nguội trong bình hút ẩm. Đặt cốc cô lên trên nồi cách thủy tại vị trí lỗ có đường kính 70 mm và giữ cho mực nước cách đáy mặt nồi cách thủy khoảng 50 mm trong suốt thời gian tiến hành (xem Hình 12.8). Đun sôi mạnh nước ở nồi cách thủy dưới áp suất thường. Cô tinh dầu trên nồi cách thủy sôi đến cạn trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng. Làm nguội cốc cô trong bình hút ẩm và cân khối lượng.



Hình 12.8 - Dụng cụ xác định cắn tinh dầu sau khi bay hơi *(Kích thước tính bằng mm)*

Độ tan trong ethanol

Hút chính xác 1,0 ml tinh dầu vào ống thủy tinh nút mài 25 ml hoặc 30 ml và đặt trong thiết bị ổn nhiệt duy trì ở nhiệt độ (20 ± 0,2) °C. Dùng buret có dung tích ít nhất 20 ml, thêm từng 0,1 ml ethanol có nồng độ như chỉ dẫn của chuyên luận cho đến khi tan thành dung dịch hoàn toàn, sau đó tiếp tục thêm từng 0,5 ml đến 20 ml, lắc mạnh thường xuyên. Đọc thể tích ethanol đã dùng để tạo thành dung dịch trong và nếu dung dịch bị đục hoặc có màu trắng sữa trước khi lượng ethanol thêm vào đạt 20 ml thì đọc thể tích tại thời điểm xuất hiện đục hoặc màu trắng sữa và đọc thể tích tại thời điểm hết đục hay hết màu trắng sữa.

Nếu dung dịch không trong, khi đã thêm 20 ml ethanol có nồng độ như chỉ dẫn của chuyên luận, lặp lại phép thử với ethanol có nồng độ cao hơn

Một tinh dầu được gọi là *"Tan trong v hoặc hơn thể tích ethanol có nồng độ t"* có nghĩa là khi dùng v thể tích ethanol để tạo thành dung dịch trong, dung dịch vẫn trong sau khi đã thêm ethanol cùng nồng độ đến 20 thể tích, so sánh với tinh dầu chưa pha loãng.

Một tinh dầu được gọi là *"Tan trong v thể tích ethanol có nồng độ t, chuyển thành đục khi pha loãng"* có nghĩa là khi dung dịch trong với v thể tích ethanol chuyển thành đục với v_1 thể tích (v_1 nhỏ hơn 20) và giữ nguyên tình trạng khi thêm từ từ ethanol cùng nồng độ đến 20 thể tích.

Một tinh dầu được gọi là *"Tan trong v thể tích ethanol, chuyển thành đục giữa khoảng v_1 và v_2 thể tích ethanol"* có nghĩa là khi dung dịch trong với v thể tích ethanol chuyển thành đục với v_1 thể tích (v_1 nhỏ hơn 20) và giữ nguyên tình trạng khi thêm từ từ ethanol cùng nồng độ đến v_2 thể tích và chuyển thành dung dịch trong (v_2 nhỏ hơn 20).

Một tinh dầu được gọi là *"Tan thành dung sữa"* có nghĩa là khi dung dịch trong ethanol có màu hơi xanh nhẹ tương tự như màu của hỗn hợp chuẩn đục mới pha gồm 0,5 ml *dung dịch bạc nitrat 1,7 % (kl/tt)* trộn với 0,05 ml *acid nitric (TT)*, thêm 50 ml dung dịch *natri clorid 0,0012 % (TT)*, lắc đều và để yên trong chỗ tối 5 min.

Nước

Trộn 10 giọt tinh dầu với 1 ml *carbon disulfid (TT)*, dung dịch phải trong.

12.9 DẦU BÉO

Tạp chất kiềm

Trộn 10 ml *aceton (TT)* và 0,3 ml *nước* trong ống nghiệm, thêm 0,05 ml *dung dịch xanh bromophenol 0,04 % trong ethanol 96 % (TT)*, trung hòa dung dịch (nếu cần) bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)* hoặc *dung dịch*

natri hydroxyd 0,01 M (TT). Thêm 10 ml dầu vào hỗn hợp trên, lắc và để lắng. Không quá 0,1 ml *dung dịch acid hydroclorie 0,01 M (CD)* cần thêm vào để làm chuyển màu lớp dung dịch phía trên sang màu vàng.

Định tính dầu béo bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng

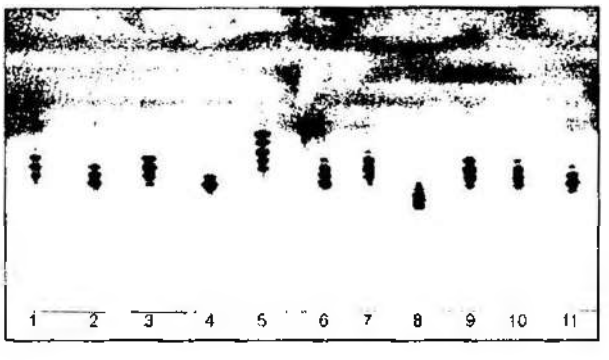
Tiến hành theo Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Chất hấp phụ là octadecylsilyl silica gel cho sắc ký lớp mỏng hiệu năng cao (HPTLC silica gel RP-18 là phù hợp).

Dung dịch thử: Hòa tan khoảng 20 mg (1 giọt) dầu cần kiểm tra trong 3 ml *dicloromethan (TT)*, trừ khi có chỉ dẫn khác.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan khoảng 20 mg (1 giọt) dầu ngô trong 3 ml *dicloromethan (TT)*.

Chấm riêng biệt lên bản mỏng 1 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký hai lần, mỗi lần 0,5 cm với dung môi khai triển là *ether (TT)*. Triển khai sắc ký hai lần nữa, mỗi lần 8 cm với dung môi khai triển là hỗn hợp *dicloromethan - acid acetic băng - aceton* (20 : 40 : 50). Để khô bản mỏng ngoài không khí và phun dung dịch *acid phosphomolybdic* 10 % trong *ethanol 96 % (TT)*. Sấy bản mỏng ở 120 °C trong khoảng 3 min và quan sát dưới ánh sáng tự nhiên. Sắc ký đồ xuất hiện các vết đặc trưng như trên hình dưới đây.



1. Dầu lạc
2. Dầu vừng
3. Dầu ngô
4. Dầu hạt cải (không có acid erucic)
5. Dầu đậu tương
6. Dầu hạt cải
7. Dầu hạt lanh
8. Dầu oliu
9. Dầu hướng dương
10. Dầu hạnh nhân
11. Dầu mầm lúa mì

Hình 12.9 - Sắc ký đồ định tính dầu béo

Phép thử các dầu tạp bằng phương pháp sắc ký lớp mỏng

Tiến hành theo Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).

Bản mỏng: Chất hấp phụ là *kieselguhr G (TT)*. Làm ẩm bản mỏng khô bằng cách đặt trong bình có lớp dung môi dày 5 mm là hỗn hợp *parafin lỏng - ether dầu hỏa (50 °C đến 70 °C)* (10 : 90). Để đến khi dung môi khai triển được ít nhất 12 cm, lấy bản mỏng ra và để khô ngoài không khí trong 5 min.

Pha động: Nước - acid acetic băng (1 : 9).

Dung dịch thử: Đun hồi lưu 2 g chế phẩm với 30 ml *dung dịch kali hydroxyd 0,5 M trong ethanol (TT)* trong 45 min, pha loãng với 50 ml *nước*, để nguội, chuyển sang bình gạn, lắc với *ether ethylic (TT)* 3 lần, mỗi lần 50 ml, loại bỏ lớp dịch chiết ether. Acid hóa lớp nước bằng *acid hydrocloric (TT)* rồi chiết bằng *ether ethylic (TT)* ba lần, mỗi lần 50 ml. Tập trung các dịch chiết ether, rửa bằng nước ba lần, mỗi lần 10 ml, làm khan dịch chiết ether bằng *natri sulfat khan (TT)* và lọc. Cô dịch chiết ether trên cách thủy, hòa tan 40 mg cặn trong 4 ml *cloroform (TT)*. Các acid béo có thể thu được từ dung dịch đã xà phòng hóa trong quá trình xác định các chất không xà phòng hóa.

Dung dịch đối chiếu: Chuẩn bị giống như dung dịch thử nhưng dùng 2 g hỗn hợp gồm 19 thể tích dầu ngô và 1 thể tích dầu hạt cải thay cho mẫu thử.

Tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 3 µl mỗi dung dịch trên. Triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 8 cm. Lấy bản mỏng ra khỏi bình, làm khô bản mỏng ở 110 °C trong 10 min trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận, đặt bản mỏng vào bình bão hòa hơi iod. Sau một thời gian, xuất hiện các vết từ màu nâu đến nâu vàng. Lấy bản mỏng ra, để yên vài phút cho đến khi màu nâu trên nền bản mỏng biến mất. Phun lên bản mỏng *dung dịch hồ tinh bột (TT)*. Các vết màu xanh xuất hiện, các vết này có thể chuyển thành màu nâu khi để khô và lại chuyển thành màu xanh sau khi phun nước. Quan sát dưới ánh sáng thường. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử luôn xuất hiện các vết với các giá trị R_f khoảng 0,5 (acid oleic) và khoảng 0,65 (acid linoleic), tương ứng với các vết trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Trên sắc ký đồ của dung dịch thử có thể có vết với giá trị R_f khoảng 0,75 (acid linolenic) nhưng không được có vết có giá trị R_f khoảng 0,25 (acid erucic), tương ứng với vết xuất hiện trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu.

Phép thử các dầu tạp bằng phương pháp sắc ký khí

Phép thử các dầu tạp được xác định bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2), dựa trên các methyl ester của acid béo có trong dầu béo.

Phương pháp A

Phương pháp này không áp dụng với các dầu béo có chứa acid béo dạng glycerid với các nhóm epoxy-, hydroepoxy-, cyclopropyl hoặc nhóm cyclopropenyl, hoặc các dầu béo có chứa tỷ lệ lớn lượng acid béo có chuỗi carbon nhỏ hơn 8 hay dầu béo có chỉ số acid lớn hơn 2,0.

Dung dịch thử: Trừ các qui định trong chuyên luận riêng, làm khan dầu béo thử trước giai đoạn methyl hóa. Cân 1,0 g chế phẩm vào bình đáy tròn 25 ml có cổ bình thủy tinh nối được với ống sinh hàn hồi lưu, cho vài viên đá bọt vào trong bình. Thêm 10 ml *methanol khan (TT)* và 0,2 ml *dung dịch kali hydroxyd 6 % trong methanol*. Lắp sinh hàn hồi lưu, cho khí nitơ chạy qua hỗn hợp với tốc độ khoảng 50 ml trong 1 min, lắc và đun sôi. Khi dung dịch trở nên trong suốt (thường sau khoảng 10 min), tiếp tục đun trong 5 min. Làm nguội bình dưới dòng nước và chuyển dung dịch sang bình gạn. Rửa bình bằng 5 ml *heptan (TT)* và chuyển dịch rửa vào bình gạn, lắc. Thêm 10 ml *dung dịch natri clorid 20 % (TT)* và lắc mạnh. Để yên cho tách lớp

và chuyển lớp dung môi sang lọ có chứa *natri sulfat khan (TT)*. Để lắng và lọc.

Dung dịch đối chiếu (a): Chuẩn bị 0,50 g hỗn hợp chuẩn với thành phần được mô tả ở một trong các Bảng 12.9 như chỉ dẫn của chuyên luận riêng (nếu chuyên luận riêng không đề cập đến, sử dụng thành phần được mô tả trong Bảng 12.9.1). Hòa tan trong *heptan (TT)* và pha loãng đến 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (b): Pha loãng 1 ml dung dịch đối chiếu (a) thành 10,0 ml bằng *heptan (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (c): Chuẩn bị 0,50 g hỗn hợp các methyl ester của acid béo[1] có thành phần tương ứng với các acid béo cần xác định của mẫu thử theo qui định của chuyên luận riêng. Hòa tan trong *heptan (TT)* và pha loãng đến 50,0 ml với cùng dung môi. Có thể sử dụng các hỗn hợp methyl ester bán sẵn.

Điều kiện sắc ký:

Cột:

Chất liệu: Silica nung chảy, thủy tinh hoặc thạch anh.

Kích cỡ: Dài 10 m đến 30 m, đường kính 0,2 mm đến 0,8 mm.

Pha tĩnh: Poly[(cyanopropyl)(methyl)][(phenyl)(methyl)] siloxan hoặc macrogol 20 000 (lớp phim dày 0,1 µm đến 0,5 µm) hoặc một số pha tĩnh thích hợp khác.

Khí mang: Khí heli dùng cho sắc ký hoặc khí hydrogen dùng cho sắc ký.

Tốc độ dòng: 1,3 ml/min (cho cột có đường kính 0,32 mm).

Tỷ lệ chia dòng: 1 : 100 hoặc ít hơn, tùy thuộc vào đường kính trong của cột sử dụng (1 : 50 khi đường kính cột là 0,32 mm).

Nhiệt độ:

Cột: 160 °C đến 200 °C, tùy thuộc vào chiều dài và loại cột sử dụng (200 °C cho cột dài 30 m và bao bằng lớp macrogol 20 000). Nếu cần hoặc theo chỉ dẫn riêng, tăng nhiệt độ của cột với tốc độ 3 °C /min từ 170 °C đến 230 °C (cho cột dùng macrogol 20 000).

Buồng tiêm: 250 °C.

Detector: 250 °C.

Phát hiện: Detector ion hóa ngọn lửa.

Thể tích tiêm: 1 µl.

Độ nhạy: Chiều cao của pic chính trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (a) từ 50 % đến 70 % toàn thang đo khi ghi sắc ký đồ.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống khi sử dụng hỗn hợp chuẩn trong các Bảng 12.9.1 hoặc 12.9.3

Độ phân giải: Không dưới 1,8 giữa pic methyl oleat và methyl stearat trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (a).

Tỷ lệ tín hiệu trên nhiễu: Không dưới 5 với pic methyl myristat trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (b).

Số đĩa lý thuyết: Không dưới 30000 tính theo pic methyl stearat trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (a).

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống khi sử dụng hỗn hợp chuẩn trong Bảng 12.9.2

Độ phân giải: Không dưới 4,0 giữa pic methyl caprylat và methyl caprat trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (a).

Tỷ lệ tín hiệu trên nhiễu: Không dưới 5 với pic methyl caproat trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (b).

Số đĩa lý thuyết: Không dưới 15 000 tính theo pic methyl caprat trong sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (a).

Đánh giá sắc đồ

Tránh điều kiện thử nghiệm có chiều hướng làm che giấu pic (sự có mặt của các thành phần khác nhau rất ít về thời gian lưu, ví dụ như acid linolenic và acid arachidic).

Phân tích định tính

Xác định các pic trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (c), các pic có thể được xác định bằng đường chuẩn với sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (a) và thông tin ghi ở các Bảng 12.9.1, 12.9.2 và 12.9.3.

a) Sử dụng điều kiện đẳng nhiệt để tính logarit của sự biến đổi thời gian lưu như một hàm của số nguyên tử carbon trong acid béo; định tính các pic dựa trên đường thẳng lập được theo cách trên và giá trị "chiều dài chuỗi carbon tương ứng" của các pic khác nhau. Đường chuẩn của các acid béo no là một đường thẳng. Logarit sự biến đổi thời gian lưu của các acid béo không no nằm trên đường thẳng này và có vị trí tương ứng với giá trị không nguyên của số nguyên tử carbon được biết từ giá trị tương ứng với chiều dài chuỗi.

b) Sử dụng chương trình nhiệt độ tuyến tính để xác định thời gian lưu dựa trên số nguyên tử carbon của acid béo, định tính bằng cách so sánh với đường chuẩn của hỗn hợp chuẩn.

Phân tích định lượng

Thông thường, sử dụng phương pháp tính phần trăm mà trong đó tổng diện tích của tất cả các pic trên sắc ký đồ ngoại trừ dung môi được tính là 100 %. Hàm lượng của mỗi thành phần được tính dựa trên tỷ lệ của diện tích pic tương ứng so với tổng diện tích của tất cả các pic thu được từ mẫu đem thử. Loại bỏ các pic có diện tích nhỏ hơn 0,05 % so với tổng diện tích pic.

Trong một vài trường hợp như sự có mặt của các acid béo từ 12 nguyên tử carbon trở xuống, hệ số hiệu chỉnh có thể được sử dụng trong các chuyên luận riêng để chuyển đổi diện tích pic thành tỷ lệ phần trăm kl/kl.

Phương pháp B

Phương pháp này không áp dụng với các dầu béo có chứa acid béo dạng glycerid với các nhóm epoxy-, hydroepoxy-, cyclopropyl, nhóm cyclopropenyl, hoặc các dầu béo có chỉ số acid lớn hơn 2,0.

Dung dịch thử:

Lấy 0,100 g chế phẩm cho vào ống ly tâm 10 ml có nắp xoáy. Hòa tan trong 1 ml *heptan (TT)* và 1 ml *dimethyl carbonat (TT)*, đun nóng nhẹ (50 °C đến 60 °C) và lắc mạnh. Thêm 1 ml *dung dịch natri (TT) 1,2 % trong methanol khan (TT)* (được pha chế hết sức cẩn thận) khi dung dịch còn ấm, lắc mạnh trong 5 min. Thêm 3 ml *nước* và lắc mạnh trong 30 s. Ly tâm trong 15 min với tốc độ 1500 r/min. Tiêm 1 µl pha hữu cơ.

Dung dịch đối chiếu và đánh giá sắc đồ: Trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, tiến hành như mô tả ở phương pháp A.

Cột:
Chất liệu: Silica nung chảy.
Kích cỡ: Dài 30 m, đường kính 0,25 mm.
Pha tĩnh: Macrogol 20 000 (lớp phim dày 0,25 µm).
Khí mang: Khí heli dùng cho sắc ký.
Tốc độ dòng: 0,9 ml/min
Tỷ lệ chia dòng: 1 : 100.
Nhiệt độ:

	Thời gian (min)	Nhiệt độ (°C)
Cột	0 - 15	100
	15 - 36	100 → 225
	36 - 61	225
Buồng tiêm		250
Detector		250

Phát hiện: Detector ion hóa ngọn lửa.
Thể tích tiêm: 1 µl.

Phương pháp C

Phương pháp này không áp dụng với các dầu béo có chứa acid béo dạng glycerid với các nhóm epoxy-, hydroepoxy-, aldehyd, keton, cyclopropyl, nhóm cyclo-propenyl, và kết hợp với các đa acid béo không no hay các nhóm acetylenic do các nhóm này bị phá hủy một phần hay toàn bộ.

Dung dịch thử: Hòa tan 0,10 g chế phẩm trong 2 ml *dung dịch natri hydroxyd 2 % trong methanol* trong bình nón 25 ml và đun sôi hồi lưu trong 30 min. Thêm 2,0 ml *dung dịch boron trifluorid (TT)* qua ống sinh hàn và tiếp tục đun sôi trong 30 min. Thêm 4 ml *heptan (TT)* qua ống sinh hàn và tiếp tục đun sôi trong 5 min. Làm nguội, thêm 10 ml *dung dịch natri clorid bão hòa (TT)*, lắc trong 15 s và thêm tiếp *dung dịch natri clorid bão hòa (TT)* cho đến khi pha dung môi trên dâng lên đến cổ bình. Lấy 2 ml pha dung môi trên, rửa bằng nước ba lần, mỗi lần 2 ml và làm khan bằng *natri sulfat khan (TT)*.

Dung dịch đối chiếu và đánh giá sắc đồ: Trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, tiến hành như mô tả ở phương pháp A.

Bảng 12.9.1 - Hỗn hợp chuẩn để lập đường chuẩn[2]

Thành phần hỗn hợp	Tỷ lệ thành phần (phần trăm kl/kl) Tương ứng với chiều dài chuỗi[3]	Đẳng nhiệt	Chương trình nhiệt độ tuyến tính
Methyl laurat	12,0	5	10
Methyl myristat	14,0	5	15
Methyl palmitat	16,0	10	15
Methyl stearat	18,0	20	20
Methyl arachidat	20,0	40	20
Methyl oleat	18,3	20	20

Bảng 12.9.2 - Hỗn hợp chuẩn để lập đường chuẩn[2]

Thành phần hỗn hợp	Tỷ lệ thành phần (phần trăm kl/kl) Tương ứng với chiều dài chuỗi[3]	Đẳng nhiệt	Chương trình nhiệt độ tuyến tính
Methyl caproat	6,0	5	10
Methyl caprylat	8,0	5	35
Methyl caprat	10,0	10	35
Methyl laurat	12,0	20	10
Methyl myristat	14,0	40	10

Bảng 12.9.3 - Hỗn hợp chuẩn để lập đường chuẩn[2]

Thành phần hỗn hợp	Tỷ lệ thành phần (phần trăm kl/kl) Tương ứng với chiều dài chuỗi[3]	Đẳng nhiệt	Chương trình nhiệt độ tuyến tính
Methyl myristat	14,0	5	15
Methyl palmitat	16,0	10	15
Methyl stearat	18,0	15	20
Methyl arachidat	20,0	20	15
Methyl oleat	18,3	20	15
Methyl eicosenoat	20,2	10	10
Methyl behenat	22,0	10	5
Methyl lignocerat	24,0	10	5

(1): Methyl ester của acid béo phải đạt quy định về chất chuẩn của Dược điển Việt Nam.
(2): Áp dụng cho hệ thống sắc ký khí với cột mao quản và buồng tiêm chia dòng, các thành phần có mạch dài nhất của hỗn hợp mẫu thử cần được thêm vào hỗn hợp chuẩn khi tiến hành phân tích định lượng sử dụng đường chuẩn.
(3): Giá trị được tính dựa trên đường chuẩn với cột macrogol 20 000.

12.10 XÁC ĐỊNH CÁC CHẤT CHIẾT ĐƯỢC TRONG DƯỢC LIỆU

Phương pháp xác định các chất chiết được bằng nước

Phương pháp chiết lạnh: Nếu không có chỉ dẫn đặc biệt trong chuyên luận riêng, cân chính xác khoảng 4,000 g bột dược liệu có cỡ bột nửa thô cho vào trong bình nón 250 ml đến 300 ml. Thêm chính xác 100,0 ml *nước*, đậy kín, ngâm lạnh, thỉnh thoảng lắc trong 6 h đầu, sau đó để yên 18 h. Lọc qua phễu lọc khô vào một bình hứng khô thích hợp. Lấy chính xác 20 ml dịch lọc cho vào một cốc thủy tinh đã cân bì trước, cô trong cách thủy đến cắn khô. Sấy cắn ở 105 °C trong 3 h, lấy ra để nguội trong bình hút ẩm 30 min, cân nhanh để xác định khối lượng cắn sau khi

sấy, tính phần trăm lượng chất chiết được bằng nước theo dược liệu khô.

Phương pháp chiết nóng: Nếu không có chỉ dẫn đặc biệt trong chuyên luận riêng, cân chính xác khoảng 2,000 g đến 4,000 g bột dược liệu có cỡ bột nửa thô cho vào bình nón 100 ml hoặc 250 ml. Thêm chính xác 50,0 ml hoặc 100,0 ml *nước*, đậy kín, cân xác định khối lượng, để yên 1 h, sau đó đun sôi nhẹ dưới hồi lưu 1 h, để nguội, lấy bình nón ra, đậy kín, cân để xác định lại khối lượng, dùng *nước* để bổ sung phần khối lượng bị giảm, lọc qua phễu lọc khô vào một bình hứng khô thích hợp. Lấy chính xác 25 ml dịch lọc vào cốc thủy tinh đã cân bì trước, cô trong cách thủy đến cắn khô, cắn thu được sấy ở 105 °C trong 3 h, lấy ra để nguội trong bình hút ẩm 30 min, cân nhanh để xác định khối lượng cắn. Tính phần trăm lượng chất chiết được bằng nước theo dược liệu khô.

Phương pháp xác định các chất chiết được bằng ethanol hoặc methanol

Dùng các phương pháp tương tự như phương pháp xác định các chất chiết được bằng nước. Tuỳ theo chỉ dẫn trong chuyên luận riêng mà dùng ethanol hoặc methanol có nồng độ thích hợp để thay nước làm dung môi chiết. Với phương pháp chiết nóng thì nên đun trong cách thủy nếu dung môi chiết có độ sôi thấp.

12.11 XÁC ĐỊNH TẠP CHẤT LẪN TRONG DƯỢC LIỆU

Tạp chất lẫn trong dược liệu bao gồm tất cả các chất ngoài quy định của dược liệu đó như: Đất, đá, rơm rạ, cây cỏ khác, các bộ phận khác của cây không quy định làm dược liệu, xác côn trùng...

Cách xác định

Cân một lượng mẫu vừa đủ theo chỉ dẫn trong chuyên luận riêng hoặc trong ghi chú dưới đây, dàn mỏng trên tờ giấy, quan sát bằng mắt thường hoặc kính lúp, khi cần có thể dùng rây để phân tách tạp chất và dược liệu.

Cân phần tạp chất và tính phần trăm như sau:

$$x\% = \frac{a}{p} \times 100$$

Trong đó:

a là khối lượng tạp chất tính bằng gam;

p là khối lượng mẫu thử tính bằng gam.

Ghi chú:

1. Trong một số trường hợp nếu tạp chất rất giống với thuốc, có thể phải làm các phản ứng định tính hoá học, phương pháp vật lý hoặc dùng kính hiển vi để phát hiện tạp chất. Tỷ lệ tạp chất được tính bao gồm cả tạp chất được phát hiện bằng phương pháp này.

2. Lượng mẫu lấy để thử nếu chuyên luận riêng không quy định thì lấy như sau:

Hạt và quả rất nhỏ (như hạt Mã đề): 10 g.

Hạt và quả nhỏ: 20 g.

Dược liệu thái thành lát: 50 g.

12.12 XÁC ĐỊNH TỶ LỆ VỤN NÁT CỦA DƯỢC LIỆU

Cân một lượng dược liệu nhất định (p gam) đã được loại tạp chất. Rây bằng rây có số rây quy định theo chuyên luận riêng hoặc chọn bằng tay những phần vụn đối với các bộ phận cây không thái nhỏ. Cân toàn bộ phần đã lọt qua rây và phần vụn đã chọn (a gam). Tính tỷ lệ vụn nát (X %) (từ kết quả trung bình của ba lần thực hiện) theo công thức:

$$X\% = \frac{a}{p} \times 100$$

Ghi chú:

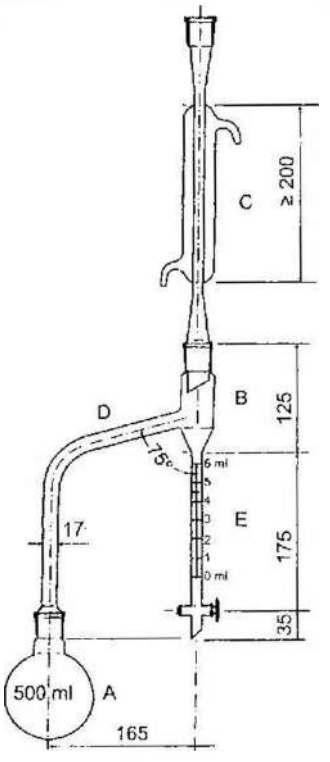
Lượng dược liệu lấy để thử (tùy theo bản chất của dược liệu) từ 100 g đến 200 g.

Đối với dược liệu mỏng manh thì chỉ lắc nhẹ, tránh làm vụn nát thêm. Phần bụi và bột vụn không phân biệt được bằng mắt thường được tính vào mục tạp chất.

12.13 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NƯỚC BẰNG PHƯƠNG PHÁP CẤT VỚI DUNG MÔI

Dụng cụ

Dụng cụ xác định hàm lượng nước (Hình 12.13) gồm có bình cầu (A) nối qua ống (D) với ống hình trụ (B); ống này gắn với ống hứng chia độ (E) ở phía dưới và lắp với ống sinh hàn ngược (C) ở phía trên. Ống hứng (E) được chia độ đến 0,1 ml để cho sai số của phép đọc thể tích không vượt quá 0,05 ml. Nguồn nhiệt thích hợp là bếp điện có biến trở hoặc đun cách dầu.



Hình 12.13 - Dụng cụ xác định hàm lượng nước bằng phương pháp cất với dung môi.
(Kích thước tính bằng mm)

Cách tiến hành

Rửa sạch ống hứng và ống sinh hàn với nước rồi làm khô. Thêm 200 ml *toluen (TT)* và khoảng 2 ml *nước* vào bình cầu khô. Cất khoảng 2 h, để nguội trong 30 min rồi đọc thể tích nước cất được ở ống hứng (V_1), chính xác đến 0,05 ml.

Thêm vào bình cầu một lượng mẫu thử đã cân chính xác tới 0,01 g có chứa khoảng 2 ml đến 3 ml *nước*. Thêm vài mảnh đá bọt. Đun nóng nhẹ trong 15 min; khi toluen bắt đầu sôi thì điều chỉnh nguồn cấp nhiệt để cất với tốc độ khoảng 2 giọt dịch cất trong 1 s. Khi đã cất được phần lớn nước sang ống hứng thì nâng tốc độ cất lên 4 giọt dịch cất trong 1 s. Tiếp tục cất cho đến khi mực nước cất được trong ống hứng không tăng lên nữa, dùng 5 ml đến 10 ml *toluen (TT)* rửa thành trong ống sinh hàn rồi cất thêm 5 min nữa. Sau đó, tách bộ cất khỏi nguồn cấp nhiệt, để cho ống hứng nguội đến nhiệt độ phòng. Nếu có những giọt nước còn đọng trên thành ống sinh hàn thì dùng 5 ml *toluen (TT)* để rửa kéo xuống. Khi lớp nước và lớp toluen đã được phân tách hoàn toàn, đọc thể tích nước trong ống hứng (V_2). Tính tỷ lệ phần trăm nước trong mẫu thử theo công thức sau:

$$\frac{100\ (V_2 - V_1)}{m}$$

Trong đó:

V_1 là số ml nước cất được sau lần cất đầu;

V_2 là số ml nước cất được sau hai lần cất;

M là số g mẫu đã cân đem thử.

12.15 CẶN KHÔ CỦA CÁC CHẤT CHIẾT ĐƯỢC TRONG DƯỢC LIỆU

Cho nhanh 2,00 g hoặc 2,0 ml mẫu thử vào một cốc đáy bằng có đường kính khoảng 50 mm và chiều cao khoảng 30 mm đã được sấy khô và xác định khối lượng. Cô đến khô cạn trên cách thủy và sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 3 h. Lấy ra để nguội trong bình hút ẩm có chất hút ẩm phosphor pentoxyd hoặc silica gel và cân. Tính kết quả theo phần trăm khối lượng hoặc theo tỷ lệ gam trên lít.

12.16 MẤT KHỐI LƯỢNG ĐO LÀM KHÔ CỦA CÁC CHẤT CHIẾT ĐƯỢC TRONG DƯỢC LIỆU

Cân nhanh 0,50 g mẫu thử đã nghiền thành bột mịn vào một cốc đáy bằng có đường kính khoảng 50 mm và chiều cao khoảng 30 mm mm đã được sấy khô và xác định khối lượng. Sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 3 h. Lấy ra để nguội trong bình hút ẩm có chất hút ẩm phosphor pentoxyd hoặc silica gel và cân. Tính toán kết quả theo phần trăm khối lượng.

12.17 DƯ LƯỢNG HÓA CHẤT BẢO VỆ THỰC VẬT

Định nghĩa

Hóa chất bảo vệ thực vật là những chất hay hỗn hợp nhiều chất được sử dụng nhằm ngăn cản, tiêu diệt hoặc kiểm soát dịch hại đối với các loài cây hoặc động vật làm thuốc mà những chất này có thể gây tổn hại hoặc ảnh hưởng đến quá trình sản xuất, chế biến, bảo quản, vận chuyển hoặc buôn bán dược liệu. Khái niệm này bao gồm cả các chất điều hòa sinh trưởng thực vật, các chất làm rụng lá hoặc làm khô, hoặc bất cứ chất nào được sử dụng trước hoặc sau thu hoạch để bảo quản dược liệu khỏi bị hỏng trong quá trình bảo quản hoặc vận chuyển.

Giới hạn

Dược liệu được kiểm tra ít nhất phải đáp ứng yêu cầu về giới hạn ghi trong Bảng 12.17.1 (trừ những chỉ dẫn trong chuyên luận riêng).

Đối với hóa chất bảo vệ thực vật không liệt kê trong Bảng 12.17.1, giới hạn (mg/kg) của nó có thể được tính theo công thức sau:

$$\frac{\text{ADI} \times \text{M}}{\text{MDD} \times 100}$$

Trong đó:

ADI (mg/kg) là liều có thể đưa vào cơ thể mỗi ngày theo quy định của *Tổ chức Lương thực Thế giới* và *Tổ chức Y tế thế giới* (*Codex Alimentarius*, FAO – WHO);

M là thể trọng của người, bằng 60 kg;

MDD là liều dùng dược liệu hàng ngày, tính bằng kg.

Lấy mẫu

Phương pháp:

Bao bì ít hơn 1 kg, trộn đều và lấy đủ lượng mẫu để phân tích. Bao bì từ 1 kg đến 5 kg, lấy những lượng tương đương và đủ để phân tích ở 3 vị trí: Phía trên, giữa và cuối bao bì. Trộn đều và lấy lượng mẫu đủ để phân tích. Bao bì lớn hơn 5 kg, lấy không ít hơn 250 g ở 3 vị trí: phía trên, giữa và cuối bao bì, trộn đều và lấy một lượng mẫu đủ để phân tích.

Số mẫu:

Nếu như số bao bì (n) ít hơn hoặc bằng 3, mỗi bao bì lấy một lượng mẫu theo phương pháp nêu trên. Nếu số bao bì lớn hơn 3, số mẫu cần lấy sẽ là $\sqrt{n+1}$, làm tròn số đến đơn vị số nguyên gần nhất.

Mẫu cần được phân tích ngay để tránh hóa chất bảo vệ thực vật có thể bị phân hủy. Nếu như không tiến hành phân tích ngay được, mẫu phải được bảo quản kín trong bao bì loại thích hợp dùng để đựng thực phẩm, ở nhiệt độ dưới 0 °C và tránh ánh sáng.

Thuốc thử

Tất cả các thuốc thử và dung môi không được nhiễm hóa chất bảo vệ thực vật. Nếu có thể, thường phải sử dụng các dung môi loại chất lượng đặc biệt, nếu không, các dung môi sử dụng cần phải mới được cất lại trong dụng cụ hoàn toàn bằng thủy tinh. Trong bất cứ trường hợp nào, cũng cần phải thực hiện kiểm tra mẫu trắng.

Dụng cụ

Rửa sạch dụng cụ, đặc biệt đối với dụng cụ thủy tinh để đảm bảo chúng sạch không có hóa chất bảo vệ thực vật, ví dụ ngâm trong dung dịch xà phòng không có phosphat ít nhất 16 h, rửa bằng nước cất nhiều lần đến sạch, tráng rửa bằng aceton và hexan hoặc heptan.

Bảng 12.17.1

Hợp chất	Giới hạn (mg/kg)
Alaclor	0,02
Tổng aldrin và dieldrin	0,05
Azinphos-methyl	1,0
Bromopropylat	3,0
Tổng *cis*-clordan, *trans*-clordan và oxyclordan	0,05
Clorfenvinphos	0,5
Cypermethrin và các đồng phân	1,0
Tổng *o,p'*-DDT, *p,p'*-DDT, *p,p'*-DDE và *p,p'*-TDE	1,0
Deltamethrin	0,5
Diazinon	0,5
Diclorvos	1,0
Dithiocarbamat (tính theo CS_2)	2,0
Tổng α-endosulfan, β-endosulfan và endosulfan sulfat	3,0
Endrin	0,05
Ethion	2,0
Fenitrothion	0,5
Fenvalerat	1,5
Fonofos	0,05
Tổng heptaclor và heptaclor epoxid	0,05
Hexaclorobenzen	0,1
Các đồng phân hexaclorocyclohexan, trừ đồng phân γ	0,3
Lindan (γ-hexaclorocyclohexan)	0,6
Malathion	1,0
Methidathion	0,2
Parathion	0,5
Parathion-methyl	0,2
Permethrin	1,0
Phosalon	0,1
Piperonyl butoxid	3,0
Pirimiphos-methyl	4,0
Tổng pyrethrin	3,0
Tổng quintozen, pentacloroanalin và methyl pentaclorophenyl sulfid	1,0

Phân tích định tính và định lượng hóa chất bảo vệ thực vật tồn dư

Quy trình phân tích áp dụng phải được kiểm định và chuẩn hóa theo quy chế hiện hành, đặc biệt, nó phải đáp ứng các yêu cầu dưới dây:

(a) Phương pháp lựa chọn, đặc biệt các bước xử lý làm sạch chất phân tích phải thích hợp đối với chất cần phân tích và không bị ảnh hưởng bởi các chất khác chiết cùng; giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng được xác định đối với mỗi hóa chất bảo vệ thực vật và dựa trên nền của mẫu phân tích.

(b) Tỷ lệ thu hồi đối với mỗi hóa chất bảo vệ thực vật phải nằm trong khoảng 70 % đến 110 %.

(c) Độ lặp lại của phương pháp không được thấp hơn các giá trị ghi trong Bảng 12.17.2.

(d) Độ tái lặp của phương pháp không được thấp hơn các giá trị ghi trong Bảng 12.17.2.

(e) Nồng độ của các dung dịch thử, dung dịch đối chiếu và các thông số phân tích cài đặt trên máy phải tương ứng với đáp ứng tuyến tính của detector phân tích.

Bảng 12.17.2

Nồng độ chất phân tích (mg/kg)	Độ lặp lại RSD (%)	Độ tái lặp (%)
0,001 - 0,010	30	60
> 0,010 - 0,100	20	60
> 0,100 - 1,000	15	30
> 1,000	10	20

Ghi chú:

Độ lặp lại (Repeatability): Độ chụm trong điều kiện các kết quả thử nghiệm độc lập với cùng một phương pháp, trên những mẫu giống hệt nhau, trong cùng phòng thí nghiệm, bởi cùng người thao tác, sử dụng cùng một thiết bị, trong khoảng thời gian ngắn.

Độ tái lập (Reproducibility): Độ chụm trong điều kiện các kết quả thử nghiệm nhận được bởi cùng một phương pháp, trên các mẫu thử giống hệt nhau trong các phòng thí nghiệm khác nhau, với những người thao tác khác nhau, sử dụng thiết bị khác nhau.

Phương pháp phân tích dưới đây nhằm cung cấp thông tin để tham khảo

Xác định dư lượng hóa chất bảo vệ thực vật nhóm clor hữu cơ, nhóm phosphor hữu cơ và nhóm pyrethroid

Phương pháp dưới đây có thể được sử dụng. Tùy theo chất cần phân tích, nếu cần thiết có thể thay đổi quy trình phân tích mô tả dưới đây. Trong mọi trường hợp, đều có thể sử dụng bổ sung một loại cột khác có độ phân cực khác hoặc phương pháp phát hiện khác (ví dụ detector khối phổ) hoặc phương pháp phân tích khác (ví dụ phương pháp hóa miễn dịch) để khẳng định kết quả thu được.

1. Chiết

Thêm 100 ml *aceton (TT)* vào 10 g mẫu thử đã được làm thành bột thô và để yên 20 min. Thêm 1 ml dung dịch có chứa *carbophenothion* 1,8 µg/ml trong *toluen (TT)*. Làm đồng nhất trong 3 min, sử dụng máy khuấy trộn tốc độ cao. Lọc và rửa cốc hai lần, mỗi lần với 25 ml *aceton (TT)*.

Gộp dịch chiết và dịch rửa, làm bay hơi dung môi ở nhiệt độ không quá 40 °C trong máy cất quay cho tới khi dung môi bị loại hầu như hoàn toàn. Thêm vào cắn vài mililit *toluen (TT)*, tiếp tục làm bay hơi đến khi dung môi bị loại bỏ hầu như hoàn toàn. Hòa tan cắn trong 8 ml *toluen (TT)*. Lọc qua màng lọc 45 µm, rửa bình, dụng cụ lọc và làm vừa đủ 10 ml bằng *toluen (TT)* (dung dịch A).

2. Làm sạch

2.1. Hóa chất bảo vệ thực vật nhóm clor hữu cơ, nhóm phosphor hữu cơ và nhóm pyrethroid

Tiến hành phương pháp sắc ký rây phân tử (Phụ lục 5.5).

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (0,30 m × 7,8 mm), pha tĩnh *copolymer styren - divinylbenzen* (5 µm) *(TT)*, sử dụng *toluen (TT)* làm pha động với tốc độ dòng 1 ml/min.

Hiệu năng của cột: Tiêm 100 µl dung dịch có chứa *đỏ methyl 0,05 % (TT)* và *oracet lam 2 R 0,05 % (TT)* trong *toluen (TT)* vào hệ thống sắc ký. Cột chỉ thích hợp khi màu của dịch rửa giải thay đổi từ màu cam sang màu xanh da trời ở thể tích rửa giải 10,3 ml. Nếu cần chuẩn hóa cột, có thể sử dụng dung dịch pha trong toluen có chứa chất phân tích ở nồng độ thích hợp là chất có phân tử lượng thấp nhất (ví dụ diclorvos) và chất có phân tử lượng cao nhất (ví dụ deltamethrin). Xác định đoạn dung môi rửa giải có chứa cả hai chất.

Làm sạch dung dịch thử: Tiêm một thể tích xác định dung dịch A (100 µl đến 500 µl) vào hệ thống và tiến hành chạy sắc ký. Thu đoạn dung môi rửa giải đã xác định ở trên (dung dịch B). Các chất nhóm phosphor hữu cơ thường được rửa giải ở đoạn từ 8,8 ml đến 10,9 ml. Các chất nhóm clor hữu cơ và nhóm pyrethroid thường được rửa giải ở đoạn 8,5 ml đến 10,3 ml.

2.2. Hóa chất bảo vệ thực vật nhóm clor hữu cơ và nhóm pyrethroid

Cho một ít bông không có chất béo vào cột sắc ký (0,10 m × 5 mm), sau đó cho 0,5 g *silica gel* đã được xử lý vào cột. Xử lý silica gel như sau: Sấy *silica gel dùng cho sắc ký* trong tủ sấy ở 150 °C trong 4 h. Để nguội và thêm vào đó từng giọt một lượng nước tương ứng với 1,5 % khối lượng silica gel đem sấy. Lắc mạnh cho đến khi không còn các cục vón, tiếp tục lắc trên máy lắc cơ học trong 2 h. Luyện cột bằng 1,5 ml *hexan (TT)*. Cột loại nhồi sẵn có chứa 500 mg silica gel loại thích hợp có thể được sử dụng, miễn là loại cột này đã được kiểm tra và chuẩn hóa trước.

Đuổi dung môi trong dung dịch B dưới luồng khí *heli (TT)* hoặc khí *nitrogen không có oxy (TT)* tới khi dung môi hầu như bị loại hoàn toàn, hòa tan cắn trong một thể tích *toluen (TT)* thích hợp (từ 200 µl đến 1 ml tùy theo thể tích dung dịch A đã tiêm ở giai đoạn thực hiện sắc ký rây phân tử). Chuyển toàn bộ dung dịch lên cột và tiến hành sắc ký, sử dụng 1,8 ml *toluen (TT)* làm pha động. Thu hồi dịch rửa giải (dung dịch C).

3. Định lượng

3.1. Hóa chất bảo vệ thực vật nhóm phosphor hữu cơ

Tiến hành phân tích sắc ký khí (Phụ lục 5.2), sử dụng *carbophenothion (TT)* làm chuẩn nội. Nếu cần thiết, có thể sử dụng một chất chuẩn nội thứ hai để phân biệt khi có ảnh hưởng với pic của carbophenothion.

Dung dịch thử: Làm bay hơi dung dịch B dưới luồng khí *heli (TT)* gần tới khô hoàn toàn và hòa tan cắn trong 100 µl *toluen (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Pha ít nhất 3 dung dịch có chứa các hóa chất bảo vệ thực vật cần xác định và carbophenothion ở nồng độ thích hợp để thiết lập đường chuẩn.

Điều kiện sắc ký:

Cột: Cột silica nung chảy (30 m × 0,32 mm) phủ lớp pha tĩnh *poly(dimethyl)siloxan (TT)* dày 0,25 µm.

Khí mang *hydrogen (TT)*, các khí mang khác như *heli (TT)* hoặc *nitrogen (TT)* cũng có thể sử dụng được, miễn là hệ thống sắc ký được chuẩn hóa một cách phù hợp.

Detector ion hóa ngọn lửa phosphor - nitrogen hoặc detector quang kế ngọn lửa.

Chương trình nhiệt độ buồng cột: Duy trì nhiệt độ 80 °C trong 1 min, tăng 30 °C/min tới 150 °C, duy trì trong 3 min, tăng 4 °C/min tới 280 °C và duy trì trong 1 min. Nhiệt độ cổng tiêm 250 °C, nhiệt độ detector 275 °C.

Thể tích tiêm: Tiêm một thể tích xác định các dung dịch. Sắc ký đồ thu được với điều kiện mô tả trên sẽ cho kết quả thời gian lưu tương đối xấp xỉ các giá trị liệt kê ở Bảng 12.17.3. Tính kết quả dựa vào diện tích pic và nồng độ của các dung dịch.

3.2. Hóa chất bảo vệ thực vật nhóm clor hữu cơ và pyrethroid

Tiến hành phân tích sắc ký khí (Phụ lục 5.2), sử dụng *carbophenothion (TT)* làm chuẩn nội. Nếu cần thiết, có thể sử dụng một chất chuẩn nội thứ hai để phân biệt khi có ảnh hưởng với pic của carbophenothion.

Dung dịch thử: Làm bay hơi dung dịch C dưới luồng khí *heli (TT)* hoặc khí *nitrogen không có oxy (TT)* gần tới khô hoàn toàn và hòa tan cắn trong 500 µl *toluen (TT)*.

Dung dịch đối chiếu: Pha ít nhất 3 dung dịch có chứa các hóa chất bảo vệ thực vật cần xác định và carbophenothion ở nồng độ thích hợp để thiết lập đường chuẩn.

Điều kiện sắc ký:

Cột silica nung chảy (30 m × 0,32 mm) phủ lớp pha tĩnh *poly(dimethyl)(diphenyl) siloxan (TT)* dày 0,25 µm.

Khí mang *hydrogen (TT)*, các khí mang khác như *heli (TT)* hoặc *nitrogen (TT)* cũng có thể sử dụng được miễn là hệ thống sắc ký được chuẩn hóa một cách phù hợp.

Detector cộng kết điện tử.

Chương trình nhiệt độ buồng cột: Duy trì nhiệt độ 80 °C trong 1 min, tăng 30 °C/min tới 150 °C, duy trì trong 3 min, tăng 4 °C/min tới 280 °C và duy trì trong 1 min. Nhiệt độ cổng tiêm 250 °C, nhiệt độ detector 275 °C.

Thể tích tiêm: Tiêm một thể tích xác định các dung dịch. Sắc ký đồ thu được với điều kiện mô tả trên sẽ cho kết quả thời gian lưu tương đối xấp xỉ các giá trị liệt kê ở Bảng 12.17.4.

Tính kết quả dựa vào diện tích pic và nồng độ các dung dịch.

Bảng 12.17.3

STT	Hợp chất	Thời gian lưu tương đối
1	Diclorvos	0,20
2	Fonofos	0,50
3	Diazinon	0,52
4	Parathion-methyl	0,59
5	Clorpyrifos-methyl	0,60
6	Pirimiphos-methyl	0,66
7	Malathion	0,67
8	Parathion	0,69
9	Clorpyrifos	0,70
10	Methidathion	0,78
11	Ethion	0,96
12	Carbophenothion	1,00
13	Azinphos-methyl	1,17
14	Phosalon	1,18

Bảng 12.17.4

STT	Hợp chất	Thời gian lưu tương đối
1	α-Hexaclorocylohexan	0,44
2	Hexaclorbenzen	0,45
3	β-Hexaclorocylohexan	0,49
4	Lindan	0,49
5	δ-Hexaclorocylohexan	0,54
6	ε-Hexaclorocylohexan	0,56
7	Heptaclor	0,61
8	Aldrin	0,68
9	*cis*-Heptaclor epoxid	0,76
10	*o,p'*-DDE	0,81
11	α-Endosulfan	0,82
12	Dieldrin	0,87
13	*p,p'*-DDE	0,87
14	*o,p'*-DDD	0,89
15	Endrin	0,91
16	β - Endosulfan	0,92
17	*o,p'*-DDT	0,95
18	Carbophenothion	1,00
19	*p,p'*-DDT	1,02
20	*cis*-Permethrin	1,29
21	*trans*-Permethrin	1,31
22	Cypermethrin	1,40
23	Fenvalerat	1,47; 1,49
24	Deltamethrin	1,54

12.18 ĐỊNH TÍNH DƯỢC LIỆU VÀ CÁC CHẾ PHẨM BẰNG KÍNH HIỂN VI

Định tính bằng kính hiển vi là phương pháp sử dụng kính hiển vi để nhận biết các đặc điểm của các mô, tế bào hoặc các chất chứa trong tế bào, ở các lát cắt, bột, các mô đã được làm rã ra, hoặc các tiêu bản bề mặt của dược liệu và các chế phẩm. Việc chọn mẫu đại diện để định tính và sự chuẩn bị tiêu bản phải phù hợp với những yêu cầu về định tính của mỗi loại mẫu cần kiểm tra. Các tiêu bản của các chế phẩm được chuẩn bị sau những xử lý thích hợp tùy theo các dạng chế phẩm khác nhau.

Tiêu bản dược liệu

Lát cắt ngang hoặc dọc

Chọn lấy một mẫu dược liệu thích hợp sao cho có đủ các đặc điểm thực vật như sau:

Thân và rễ nhỏ: Lấy một đoạn có đủ mặt cắt ngang.

Thân, rễ to và rễ củ: Lấy một phần có mặt cắt ngang hình quạt (có cấu tạo từ biểu bì đến tâm).

Vỏ thân: Lấy một phần cắt ngang hình chữ nhật (có cấu tạo từ bần đến tầng phát sinh libe-gỗ).

Lá: Lấy một đoạn gân giữa có dính mỗi bên một ít phiến lá.

Hoa: Bóc biểu bì hay cắt ngang từng bộ phận.

Quả và hạt nhỏ: Lấy nguyên cả quả và hạt.

Quả và hạt to: Lấy một phần, chọn vị trí cắt có đủ các đặc điểm.

Dùng lưỡi dao cạo, ống cắt vi phẫu cầm tay hay máy cắt vi phẫu cắt mẫu dược liệu thành từng lát mỏng 10 µm đến 20 µm. Cũng có thể kẹp mẫu trong parafin rắn, củ khoai lang, củ đậu v.v... để cắt. Trừ chỉ dẫn trong chuyên luận riêng, lát cắt có thể được soi ngay hoặc phải qua các bước xử lý sau đây trước khi đem soi kính:

Ngâm các lát cắt vào *dung dịch cloramin T 5 % (TT)* đến khi lát cắt trắng ra thì rửa sạch cloramin bằng *nước*.

Ngâm lát cắt vào *thuốc thử cloral hydrat (TT)* khoảng 10 min rồi rửa sạch bằng nước cất.

Ngâm lát cắt trong *dung dịch acid acetic 1 % (TT)* trong khoảng 2 min rồi rửa thật kỹ lại bằng nước cất.

Ngâm lát cắt trong *dung dịch lục iod (TT)* hoặc *xanh methylen (TT)* trong khoảng từ 1 s đến 5 s, rửa nhanh bằng *ethanol 60 % (TT)* rồi rửa lại bằng nước cất.

Ngâm lát cắt trong *dung dịch carmin 40 (TT)* tới khi thấy màu bắt rõ thì rửa bằng nước cất.

Tiêu bản bột

Lấy một lượng nhỏ bột (qua rây số 250), cho vào một giọt dung dịch soi (như nước, glycerin, cloral hydrat hay thuốc thử khác tùy thuộc vào mục đích soi) đã có sẵn trên lam kính, dùng kim mũi mác dàn đều cho bột thấm dung dịch, đậy lam kính, đi nhẹ lam kính rồi quan sát dưới kính.

Tiêu bản bề mặt

Làm ẩm và làm mềm mẫu (nếu cần thiết), cắt lấy 2 mẫu nhỏ khoảng 4 mm^2 (một mẫu để soi và một mẫu để đối chiếu) hoặc tước lấy một đoạn biểu bì, đặt lên một lam kính, thêm thuốc thử thích hợp rồi soi kính.

Tiêu bản mô đã làm rã

Nếu mẫu thử là mô mềm hoặc chỉ có ít, lẻ tẻ các mô gỗ thì có thể dùng phương pháp kali hydroxyd. Nếu mẫu thử cứng, có nhiều mô gỗ hoặc các mô gỗ tụ lại thành bó lớn thì dùng phương pháp acid cromic-nitric hay phương pháp kali clorat. Mẫu thử cần được cắt thành các đoạn dài 5 mm, đường kính 2 mm hoặc những mẩu nhỏ dày khoảng 1 mm trước khi làm rã.

a. Phương pháp kali hydroxyd: Cho mẫu thử vào một ống nghiệm, thêm *dung dịch kali hydroxyd 5 % (TT)* vừa đủ, đun nóng nhẹ (hoặc ngâm nóng trong cách thủy) đến khi ép bằng đũa thủy tinh thì mẫu bị vỡ ra. Gạn bỏ dung dịch kiềm, rửa sạch mẫu bằng nước rồi đặt mẫu lên lam kính. Dùng kim phẫu thuật xé mẫu ra rồi quan sát trong *glycerin (TT)*.

b. Phương pháp acid cromic-nitric: Cho mẫu thử vào một ống nghiệm, thêm vừa đủ *thuốc thử acid cromic-nitric (TT)*, ngâm đến khi ép bằng đũa thủy tinh thì mẫu bị vỡ ra. Gạn bỏ dung dịch acid, rửa bằng nước rồi làm tiếp như phương pháp a.

c. Phương pháp kali clorat: Cho mẫu thử vào trong ống nghiệm, thêm *dung dịch acid nitric 50 % (TT)* và một ít bột *kali clorat (TT)*, đun nóng đến khi giảm sủi bọt. Thêm một lượng nhỏ kali clorat đúng lúc để duy trì sủi bọt nhẹ cho đến khi mẫu bị vỡ ra khi ép bằng đũa thủy tinh. Gạn bỏ dung dịch acid, rửa sạch mẫu bằng nước rồi làm tiếp như phương pháp a.

Tiêu bản phấn hoa và bào tử

Nghiền phấn hoa, bao phấn, hoa nhỏ hoặc túi bào tử (được làm mềm trong *acid acetic băng (TT)* bằng đũa thủy tinh và lọc vào một ống ly tâm, ly tâm rồi bỏ phần nước. Thêm vào cặn 1 ml đến 3 ml hỗn hợp mới pha của *anhydrid acetic - acid sulfuric* (9 : 1), đun nóng 2 min đến 3 min trên cách thủy, ly tâm. Rửa cặn bằng *nước* 2 lần, thêm 3 giọt đến 4 giọt *dung dịch glycerin 50 % (TT)* và *dung dịch phenol 1 % (TT)*, làm tiêu bản trong fuchsin - glycerin - gelatin và soi. Có thể dùng *cloral hydrat (TT)* thay cho fuchsin - glycerin - gelatin để soi.

Tiêu bản của chế phẩm đông dược bao gồm cả thuốc bột

Để định tính các chế phẩm đông dược bao gồm cả thuốc bột, chuẩn bị tiêu bản như đã mô tả ở mục "Tiêu bản bột" ở phần trên. Lượng mẫu lấy như dưới đây được nghiền thành bột và lấy một lượng bột thích hợp, thêm từng giọt thuốc thử theo yêu cầu, khuấy kỹ để làm tách rời các tế bào hay tổ chức bị dính.

Thuốc bột hoặc bột của viên nang: Lấy một lượng bột thích hợp, nghiền nhỏ.

Viên nén: Lấy 2 đến 3 viên.

Hoàn hồ-nước, hoàn hồ, hoàn mật ong (loại bỏ lớp vỏ bao): Lấy vài viên.

Thuốc ngậm: Lấy 1 đến 2 viên.

Với hoàn mật ong có thể cắt thành lát mỏng và lấy một lượng mẫu thích hợp hoặc lấy một lượng cặn nhỏ sau khi loại bỏ mật ong và nước để làm tiêu bản.

Đo tế bào và các thành phần của tế bào

Để đo kích thước tế bào và các thành phần của tế bào dưới kính hiển vi, có thể dùng trắc vi thị kính. Trước hết, lắp trắc vi thị kính vào thị kính, sau đó định cỡ bằng bàn soi trắc vi kế. Để định cỡ, xoay thị kính và di chuyển bàn soi để cho các vạch trên 2 thang chia độ song song với những vạch "0" bên trái của chúng trùng nhau, sau đó tìm những vạch khác ở bên phải. Giá trị (µm) của một vạch trắc vi thị kính có thể được tính toán trên cơ sở những vạch chia của 2 thang chia độ giữa những dòng trùng nhau. Để đo mẫu, đem nhân số vạch đo được của trắc vi thị kính với giá trị (µm) của mỗi vạch. Nói chung, phép đo được thực hiện dưới một vật kính có độ phóng đại lớn, tuy nhiên, để đo những kích thước lớn hơn của sợi, lông v.v... thì nên dùng vật kính có độ phóng đại nhỏ. Ghi lại các giá trị cực đại và cực tiểu (µm). Cho phép có một vài giá trị cao hơn hay thấp hơn chút ít so với yêu cầu quy định trong chuyên luận dược điển.

Phát hiện màng tế bào

Màng tế bào hóa gỗ: Thêm 1 giọt đến 2 giọt *thuốc thử phloroglucinol (TT)*, để yên một lúc, thêm 1 giọt *acid hydrocloric (TT)*, vùng hóa gỗ xuất hiện màu đỏ tía.

Màng tế bào hóa bần hay hóa cutin: Thêm *thuốc thử Sudan III (TT)*, để yên một lúc hay làm ấm nhẹ, xuất hiện màu đỏ cam hay màu đỏ.

Màng celulose: Thêm *thuốc thử kẽm clorid-iod*, hoặc lúc đầu thêm *dung dịch iod 1 % (TT)* để làm ẩm, để yên 1 min rồi thêm *dung dịch acid sulfuric* [33 ml *acid sulfuric (TT)* pha với *nước cất* vừa đủ 50 ml], sẽ xuất hiện màu xanh lam hay xanh tím.

Màng tế bào silic: Không có sự thay đổi gì khi thêm *acid sulfuric (TT)*.

Phát hiện các thành phần của tế bào

Tinh bột: Thêm *dung dịch iod (TT)*, sẽ xuất hiện màu xanh lam hay xanh tím.

Đặt mẫu trong *dung dịch glycerin-acid acetic*, quan sát dưới kính hiển vi phân cực thấy hiện tượng phân cực chéo của các hạt tinh bột, hiện tượng này mất đi ở những hạt tinh bột bị hóa hồ.

Hạt aleuron: Thêm *dung dịch iod (TT)*, sẽ xuất hiện màu nâu hay màu vàng nâu.

Thêm *dung dịch thủy ngân (II) nitrat (TT)*, xuất hiện màu đỏ gạch. Nếu dược liệu có dầu béo, phải loại dầu béo bằng *ether (TT)* hay *ether dầu hỏa (TT)* trước khi thử.

Dầu béo, tinh dầu hay nhựa:

Thêm *dung dịch Sudan III (TT)*, sẽ xuất hiện màu đỏ da cam, màu đỏ hoặc đỏ tía.

Trong *ethanol 90 % (TT)*, dầu béo không hòa tan (trừ dầu thầu dầu và dầu bông), trong khi đó tinh dầu thì hòa tan được.

Inulin: Thêm dung dịch *1-naphthol 10 % trong ethanol (TT)*, sau đó thêm *acid sulfuric (TT)*, các tinh thể inulin chuyển sang màu đỏ tía và hòa tan nhanh.

Tinh thể calci oxalat:
Không hòa tan trong *dung dịch acid acetic loãng (TT)*, tan trong *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)*, không sủi bọt.
Hòa tan chậm trong *dung dịch acid sulfuric 50 % (TT)*, nhưng sau khi để yên một lúc thì tách ra những tinh thể calci sulfat.
Calci carbonat: Hòa tan trong *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* và có sủi bọt.
Silic: Không hòa tan trong *acid sulfuric (TT)*.

Các thuốc thử dùng cho phân tích vi thể

Dung dịch sắt (III) clorid: Hòa tan 1 g *sắt (III) clorid (TT)* trong nước và thêm nước vừa đủ 100 ml.
Thuốc thử cloral hydrat: Hòa tan 50 g *cloral hydrat (TT)* trong 15 ml *nước* và 10 ml *glycerin (TT)*.
Dung dịch glycerin - acid acetic: Hòa lẫn các thể tích bằng nhau của *glycerin (TT)*, *acid acetic băng (TT)* và *nước*.
Dung dịch Sudan III: Hòa tan 0,01 g *Sudan III (TT)* trong 5 ml *ethanol 90 % (TT)*, thêm 5 ml *glycerin (TT)*, lắc kỹ. Bảo quản trong lọ thủy tinh màu nâu và sử dụng trong thời gian 2 tháng.
Dung dịch đỏ rutheni: Cho một lượng vừa đủ *đỏ rutheni (TT)* vào 1 ml đến 2 ml *dung dịch natri acetat 10 % (TT)* để tạo thành màu đỏ vang. Dung dịch chỉ pha khi dùng.
Dung dịch phloroglucinol: Hòa tan 1 g *phloroglucinol (TT)* trong 100 ml *ethanol 90 % (TT)*, lọc. Bảo quản trong lọ thủy tinh màu nâu, tránh ánh nắng.
Thuốc thử acid cromic - nitric:
Hòa tan 10 ml *acid nitric (TT)* trong 100 ml *nước*.
Hòa tan 10 g *acid cromic (TT)* trong 100 ml *nước*. Trộn lẫn các thể tích bằng nhau của 2 dung dịch trên trước khi dùng.
Fuchsin-glycerin-gelatin: Lấy 1,0 g *gelatin (TT)*, thêm 6 ml *nước*, ngâm. Thêm 7 ml *glycerin (TT)*, đun nóng và khuấy nhẹ để được hỗn hợp đồng nhất. Lọc qua gạc vào một hộp lồng, thêm một lượng vừa đủ fuchsin base [lấy 0,1 g *fuchsin base (TT)*, thêm 600 ml *ethanol (TT)* và 80 ml dầu long não để hòa tan], trộn đều và để cho rắn lại.
Dung dịch 1 - naphthol: Lấy 10,5 ml *dung dịch 1 - naphthol 15 % trong ethanol (TT)*, thêm chậm 6,5 ml *acid sulfuric (TT)*, trộn đều, thêm 40,5 ml *ethanol (TT)* và 4 ml *nước*. Trộn đều.
Dung dịch thủy ngân (II) nitrat: Lấy 4,5 g *thủy ngân (TT)*, thêm 3 ml *acid nitric bốc khói (TT)*, trộn đều. Bảo quản trong lọ thủy tinh màu nâu, tránh ánh sáng.
Dung dịch kẽm clorid - iod: Lấy 8 g *kali iodid (TT)*, thêm 8,5 ml *nước* để hòa tan. Sau đó thêm 2,5 g *kẽm clorid khan (TT)*, hòa tan rồi thêm *iod (TT)* cho đến bão hòa. Bảo quản trong lọ thủy tinh màu nâu có nút mài.
Dung dịch lục iod: Hòa tan 0,3 g *lục iod (TT)* trong 100 ml *nước*, thêm 10 ml *ethanol 90 % (TT)*, trộn đều.
Dung dịch carmin 40: Hòa tan 1 g *carmin 40 (TT)*, 5 g *kali sulfat (TT)* và 0,5 g *phenol (TT)* trong 100 ml *nước*.

12.19 XÁC ĐỊNH CHỈ SỐ TRƯƠNG NỞ

Chỉ số trương nở là thể tích (ml) chiếm giữ của 1 g dược liệu, sau khi để trương nở trong nước hoặc một dung môi khác theo quy định trong 4 h, gồm tất cả các chất nhầy bám dính.
Cân chính xác khoảng 1 g dược liệu, để nguyên hoặc nghiền nhỏ ở mức độ thích hợp theo chỉ dẫn trong chuyên luận, cho vào 1 ống nghiệm thủy tinh 25 ml có nút mài, chiều cao 120 mm đến 130 mm và chia độ 0,5 ml. Trừ những chỉ dẫn khác, làm ẩm dược liệu với 1,0 ml *ethanol 96 % (TT)*, thêm 25 ml *nước* và đậy nút. Lắc kỹ 10 min một lần trong 1 h đầu, sau đó để yên 3 h. Sau khi bắt đầu thử nghiệm 1,5 h, loại bỏ những thể tích tự do của phần chất lỏng còn lại trong lớp dược liệu và những phần dược liệu nổi lên bề mặt của chất lỏng bằng cách quay ống nghiệm theo trục thẳng đứng.
Đo thể tích chiếm giữ của dược liệu bao gồm toàn bộ các chất nhầy bám dính. Mỗi mẫu tiến hành 3 lần thử nghiệm. Tính chỉ số trương nở từ kết quả trung bình của 3 lần thử nghiệm.

12.20 PHƯƠNG PHÁP CHẾ BIẾN ĐÔNG DƯỢC

Trong đông y, các vị thuốc được dùng để uống thường qua khâu chế biến như sau:
Sơ chế (Chế biến sơ bộ): Nhằm loại bỏ các bộ phận không dùng làm thuốc (Rễ con, lõi, gốc, hạch...) hoặc để ổn định dược liệu ngay từ đầu (phơi, sấy, xông diêm sinh...). Như vậy qua sơ chế, ta có nguyên liệu ban đầu được gọi là "thuốc sống", tuy nhiên phải đáp ứng được các yêu cầu nhất định về chất lượng đã đề ra.
Phức chế (Chế biến hoàn chỉnh): Quá trình chế biến phức tạp hơn, nhằm giảm bớt độc tính, tác dụng không mong muốn hoặc thay đổi tính năng, tăng sự quy kinh thuốc, nhiều khi còn ảnh hưởng đến cấu trúc của hoạt chất và tác dụng của vị thuốc đem chế. Như vậy qua phức chế ta thu được nguyên liệu mang ý nghĩa dược dụng và gọi là "thuốc chín", đáp ứng được các yêu cầu trong điều trị.

Phương pháp dùng nước

Rửa: Nhằm làm sạch dược liệu, loại bỏ tạp chất hoặc có thể để khử mùi hôi tanh của một số dược liệu (dùng nước sắc của một số dược liệu có tinh dầu). Nước dùng để rửa phải đạt tiêu chuẩn nước sạch, thời gian rửa phụ thuộc vào tính chất của các dược liệu. Dược liệu có cấu tạo mỏng manh hoặc có thành phần dễ tan trong nước, hoặc có các chất nhầy cần rửa nhanh. Dược liệu có cấu trúc rắn chắc, có mùi vị khó chịu có thể rửa kỹ. Các dược liệu dễ bị nát thì không rửa.

Ngâm: Nhằm làm mềm dược liệu, giúp cho việc bào thái dễ dàng. Ngâm để loại muối bám vào dược liệu. Ngâm để giảm tính độc, ngâm để loại nhớt, ngứa. Nước để ngâm phải đạt tiêu chuẩn nước sạch, hoặc các dung dịch muối vô cơ như: Natri clorid, magnesi clorid, natri sulfat, calci

hydroxyd, magnesi sulfat, phèn chua; hoặc nước sắc dược liệu như: Nước bồ kết, nước cam thảo, nước gạo, nước gừng... Thời gian ngâm phụ thuộc vào bản chất, kích thước dược liệu và nhiệt độ của mùa, mùa hè ngâm nhanh hơn mùa đông. Dụng cụ để ngâm dược liệu là thạp sành, bể xi măng, chậu nhựa, thùng nhựa, không dùng các dụng cụ bằng kim loại như tôn, sắt... Quá trình ngâm phải thường xuyên quấy đảo và thay nước nhiều lần.

Tẩm: Đem một phụ liệu nào đó tẩm vào dược liệu, rồi phơi khô hoặc phơi âm can đến khô.

Ủ: Nhằm làm mềm, giúp cho việc bào thái dễ dàng; để tạo dáng ngay sau thu hái; để tạo điều kiện lên men cho một số dược liệu khi chế biến, ủ để làm thơm dược liệu, ủ để phụ liệu chế ngấm vào dược liệu. Thời gian ủ phụ thuộc vào mục đích đối với từng loại dược liệu, nói chung nằm trong khoảng 30 min đến 2 h hoặc lâu hơn (12 h đến 24 h). Trong quá trình ủ, có thể dùng vải sạch hoặc bao tải sạch thấm ẩm đậy lên mặt dụng cụ đựng thuốc.

Thủy phi: Là phương pháp tán, nghiền dược liệu trong nước với mục đích thu được bột mịn, tránh nhiệt tạo ra khi tán làm hỏng thuốc, tránh làm dược liệu bị phân hủy, sinh chất độc khi nghiền tán trực tiếp. Cho dược liệu vào dụng cụ tán là sành, sứ..., không dùng dụng cụ bằng kim loại như sắt, đồng, tôn..., đổ nước ngập dược liệu, thường lượng nước gấp 10 lần lượng thuốc. Sau khi tán kỹ, hớt bỏ bụi rác bên trên, gạn lấy lớp nước bột huyền phù sang một dụng cụ khác, phần còn lại tiếp tục làm như thế nhiều lần. Gộp tất cả nước bột, để lắng, gạn bỏ lớp nước, lấy cặn đem phơi âm can hoặc sấy nhẹ đến khô. Dược liệu thường chế theo cách này như Thần sa, Chu sa, Thạch quyết minh...

Phương pháp dùng lửa (Hỏa chế)

Phương pháp sao

Dược liệu đem sao cần có sự phân chia đến kích thước thích hợp. Nếu là thuốc phiến thường có kích thước dài 3 cm đến 5 cm, dày 1 mm đến 3 mm, đồng thời phân ra to nhỏ khác nhau để khi sao đạt được sự đồng đều của thuốc và tránh cháy.

Sao không qua chất trung gian, không cho thêm phụ liệu (Thanh sao)

Vì sao: Nhằm diệt men, mốc hoặc làm khô và dậy mùi thơm đối với dược liệu có cấu tạo mỏng manh (hoa, lá...), hoặc dược liệu chứa các chất thơm, tinh dầu... Nhiệt độ sao nằm trong khoảng 50 °C đến 80 °C, sau khi làm nóng chảo, cho dược liệu vào, đảo đều đến khô hoặc có mùi thơm.

Sao vàng : Nhằm giảm bớt tính hàn, làm cho thuốc trở lên thơm, làm tăng quy kinh tỳ. Sau khi làm nóng chảo, cho dược liệu vào đảo đều, đến khi mặt ngoài của dược liệu chuyển màu vàng, nhiệt độ sao khoảng 100 °C đến 150 °C.

Sao vàng hạ thổ: Nhằm giảm bớt tính hàn của thuốc, đồng thời giảm bớt "hỏa độc" của thuốc, mặt khác làm giảm mùi khó chịu của thuốc. Sau khi sao thuốc tới vàng, nhân lúc còn nóng lấy ra đổ úp thuốc xuống nền đất đã quét sạch, đôi khi còn đào một hố sâu 10 cm, rộng 30 cm. Dụng cụ sao úp trên thuốc. Thời gian hạ thổ thường từ 10 min đến 15 min.

Sao vàng xém cạnh: Nhằm khử các mùi vị khó chịu của thuốc, tăng tác dụng tiêu thực của vị thuốc. Sau khi nóng chảo, cho dược liệu vào, đảo đều cho đến khi mặt ngoài xém cạnh là vừa, màu ruột thuốc vẫn giữ nguyên. Nhiệt độ sao vào khoảng 170 °C đến 200 °C. Thường tiến hành với các vị thuốc chua, chát hoặc tanh lợm như Binh lang, Thần khúc, Hòe giác....

Sao tồn tính (hắc sao): Nhằm tăng tác dụng tiêu thực, chỉ huyết của vị thuốc hoặc làm thay đổi tính năng của thuốc. Sau khi chảo nóng già, cho thuốc vào, đảo đều cho đến khi toàn bộ mặt ngoài bị đen đi, khi bổ ra bên trong vẫn còn màu vàng. Nhiệt độ sao khoảng 200 °C.

Sao cháy (thán sao): Nhằm tăng tác dụng chỉ huyết của vị thuốc. Sau khi chảo nóng già, cho thuốc vào, đảo đều đến khi toàn bộ mặt ngoài của thuốc cháy đen (có mùi cháy) bên trong có màu nâu. So với sao tồn tính thì mức độ cháy cao hơn. Nhiệt độ sao khoảng 200 °C đến 240 °C. Kể cả sao tồn tính và sao cháy, trước khi đổ thuốc ra thường phun vào một ít nước lạnh để trừ hỏa độc.

Tẩm sao (Chích)

Sau khi tẩm với phụ liệu (nước sắc gừng, giấm...) rồi đem sao, nhằm tăng sự qui kinh, tăng tác dụng của vị thuốc.

Tẩm rượu sao: Dùng sức nóng, tính thăng đề của rượu để dẫn thuốc lên thượng tiêu (tác dụng thăng đề), để giảm bớt tính lạnh của vị thuốc, giảm bớt mùi vị khó chịu, tăng cường bổ can thận cho vị thuốc. Dùng rượu trắng được làm từ gạo, ngô, sắn... có hàm lượng ethanol 35 % đến 40 %, với lượng 10 % đến 15 % (tt/kl). Sau khi tẩm, ủ thuốc 30 min đến 1 h, đem sao ở nhiệt độ sao vàng, khi có mùi thơm của rượu bốc lên là được.

Tẩm dấm sao (Thố chế): Nhằm tăng dẫn thuốc vào kinh can đởm, tăng cường tác dụng giảm đau, tiêu ứ huyết, giảm bớt mùi tanh của vị thuốc, làm xốp giòn vị thuốc giúp cho việc dễ tán, dễ chiết xuất. Tẩm dược liệu với 10 % đến 15 % dấm ăn (tt/kl), ủ 30 min đến 2 h, rồi sao vàng.

Tẩm nước muối sao (Diêm chế): Nhằm dẫn thuốc vào kinh thận và hạ tiêu. Tẩm dược liệu với 10 % đến 15 % dung dịch muối ăn 5 % (tt/kl). Sau khi tẩm đều, ủ 30 min đến 1 h, rồi sao vàng.

Tẩm mật sao (Mật chế): Dùng mật ong để chế thuốc. Nhằm tăng tác dụng dẫn thuốc vào kinh tỳ, tăng tác dụng bổ khí, nhuận phế và tăng tác dụng hoãn giải. Thường dùng mật ong dưới dạng mật luyện (mật ong đun sôi, lọc bỏ tạp, sáp...cô đến thể tích nhất định), thêm lượng mật được qui định trong từng chuyên luận vào dược liệu, thêm nước sạch (bằng khoảng 30 % lượng mật), tẩm đều vào dược liệu, ủ 1 h đến 6 h. Tiến hành sao nhỏ lửa, cho đến khi sờ không dính tay; dược liệu có màu vàng, mùi thơm mật, vị ngọt. Cũng có thể sao dược liệu tới khi bên ngoài có màu vàng, cho mật vào, đảo đều, tới khi không dính tay.

Tẩm nước gừng sao (Khương chế): Nhằm giảm bớt tính hàn, tăng sức phát tán, tăng khả năng tiêu thực, ôn trung. Tẩm dược liệu với 10 % đến 15 % dịch nước gừng tươi (tt/kl), ủ

30 min đến 1 h, đem sao vàng. Gừng già tươi 100 g, rửa sạch, giã nhỏ, thêm nước sạch, vắt lấy dịch đủ 100 ml.

Tẩm hoàng thổ sao: Nhằm tăng tác dụng quy tỳ vị, giảm bớt tính háo của thuốc. Lấy hoàng thổ (đất sét vàng), đất lòng bếp (Phục long can) hoặc đất lòng lò gạch, nghiền mịn, cứ 100 g đất thêm 1 L nước đun sôi, quấy đều, gạn bỏ lớp trên, bỏ cặn, lấy lớp giữa. Cứ 1 kg dược liệu tẩm với 4 L nước hoàng thổ, trộn đều, ủ 2 h đến 3 h. Sao vàng, chà sát rây bỏ hoàng thổ.

Tẩm sữa: Dùng sữa người (Nhũ nhân chế), sữa dê tươi (Dương nhũ chế) hoặc sữa bò tươi. Nhằm tăng tính dưỡng huyết, bổ âm và giảm bớt tính háo của thuốc. Dùng sữa tươi với tỷ lệ 10 % đến 15 % (tt/kl) để tẩm vào dược liệu, ủ 30 min. Vi sao tới thơm.

Tẩm nước vo gạo (Mễ cam chế): Nhằm giảm tính háo của thuốc. Dùng nước vo gạo đặc, mới vo, với tỷ lệ 10 % đến 15 % (tt/kl), tẩm đều, ủ 4 h đến 6 h, sao vàng.

Tẩm đồng tiện: Nhằm tăng tác dụng hoạt huyết, tư âm giáng hỏa. Dùng nước tiểu trẻ em khoẻ mạnh, từ 5 đến 12 tuổi, nước tiểu mới đi, bỏ đoạn đầu đoạn cuối, với lượng từ 10 % đến 15 % (tt/kl). Sau khi tẩm trộn đều, ủ 30 min đến 1 h. Sao vàng.

Tẩm nước đậu đen, nước cam thảo: Nhằm giảm bớt tính chát của thuốc (tẩm với nước đậu đen), tăng khả năng giải độc (tẩm với Cam thảo). Lấy nước sắc đậu đen (100 g cho 1 L dịch sắc), tẩm vào dược liệu với tỷ lệ 10 % đến 20 % (tt/kl). Cam thảo đem tán nhỏ, sắc lấy nước hoặc ngâm 24 h, lấy nước. Tẩm đều vào dược liệu, ủ cho ngấm khoảng 30 min. Sao khô.

Sao qua chất trung gian

Sao cám: Nhằm làm thơm thuốc, tăng quy kinh tỳ (Hoài sơn, Ý dĩ, Thần khúc, Bạch truật); giảm bớt tính háo của thuốc. Thường dùng cám gạo, với tỷ lệ giữa cám và dược liệu là 1/10 (kl/kl). Đầu tiên cho cám vào chảo đã đun nóng già, quấy đều, tới khi cám bốc khói trắng, cho dược liệu vào, đảo đều; sao đến khi bề mặt thuốc có màu vàng hoặc thâm; lấy ra, chà xát, rây bỏ cám.

Sao cách cát: Do nhiệt độ nâng cao, phá vỡ cấu trúc rắn của dược liệu, giúp cho việc bào chế (nghiền, sắc thuốc...) thuận lợi, đồng thời giảm mùi khó chịu, hoặc giảm bớt tính độc của dược liệu. Nhiệt độ sao nằm trong khoảng 250 °C đến 300 °C. Cát phải được làm sạch (đã qua rửa nhiều lần bằng cách cho nước sạch vào, quấy nhiều lần, gạn bỏ lớp nước trên, đổ ra phơi khô, sấy khô), đun nóng già, cho dược liệu vào đảo đều, đến lúc mặt ngoài phồng nứt; hoặc phồng thơm, lấy ra sàng bỏ cát.

Sao cách bột hoạt thạch hay văn cáp (vỏ hàu): Nhằm khử mùi hôi tanh khó chịu của thuốc nhất là các dược liệu có nguồn gốc động vật, đồng thời giúp cho dễ tán các dược liệu có thể chất dẻo dính. Đun nóng già bột trung gian, cho dược liệu vào đảo đều đến khi phồng giòn, xốp, sàng lấy dược liệu.

Nướng (Ôi): Nhằm tăng tính ấm và tăng khả năng dẫn thuốc vào tỳ vị. Thường dùng các phụ liệu có thể chất dẻo dính như bột gạo nếp (thêm nước làm áo bọc thuốc) hoặc giấy bản ẩm hoặc đất sét bọc thuốc, vùi vào tro nóng hay nướng trên bếp than.

Đốt

Nhằm làm sạch các lông, rễ phụ, sau khi phơi khô dược liệu, có thể đốt trực tiếp hoặc cho dược liệu lên các dàn sắt để đốt. Cũng có thể dùng nhiệt của một dụng cụ như dùi sắt đã hơ nóng đỏ, rồi đốt các lông.

Đốt rượu

Nhằm làm thơm vị thuốc, đốt cháy các lông có trên vị thuốc. Thường dùng ethanol 90 % để đốt.

Nung

Làm cho vị thuốc trở nên giòn xốp, có lợi cho việc nghiền tán bột; do ở nhiệt độ cao từ 300 °C đến 700 °C có thể phá vỡ cấu trúc rắn chắc của thuốc, đôi khi có tác dụng giảm độc tính, hoặc biến tính của dược liệu. Thường tiến hành với các dược liệu có thể chất cứng rắn như Mẫu lệ, Long xỉ, Long cốt; hoặc tăng cường tính thu sáp của các vị thuốc như Phèn chua, Bằng sa...

Nung trực tiếp: Đặt dược liệu tiếp xúc trực tiếp trong lò (nhiệt độ 800 °C đến 1000 °C), nung cho đỏ đều, lấy ra để nguội.

Nung gián tiếp: Cho dược liệu vào nồi nung sạch, đậy nắp, trát kín bằng đất sét ẩm. Nhiệt độ nung thường trong khoảng 150 °C đến 200 °C. Có khi bọc dược liệu vào đất sét, rồi nung.

Sấy

Nhằm làm khô dược liệu, để chế biến, bảo quản trong quá trình phân phối, sử dụng. Tùy theo tính chất của dược liệu để điều chỉnh nhiệt độ sấy và phương pháp sấy cho thích hợp. Với các dược liệu chứa tinh dầu thì nhiệt độ sấy thường ở 50 °C, các dược liệu khác thường sấy ở 80 °C. Các phương pháp sấy thường được sử dụng như sấy khô trong tủ sấy ở áp suất thường, sấy trên bếp hoặc lò than, sấy bằng hồng ngoại....

Phương pháp kết hợp nước-lửa

Chưng

Nhằm thay đổi tính năng, giảm bớt tác dụng phụ giúp cho việc điều trị tốt hơn. Cho dược liệu vào dụng cụ chưng thích hợp như âu sành, inox..., có thể thêm phụ liệu (Sa nhân, Gừng ...), đậy kín, đặt dụng cụ chưng này vào một dụng cụ lớn hơn, thêm nước vừa đủ để đun theo thời gian quy định cho mỗi dược liệu. Lấy dược liệu ra phơi hay sấy khô. Có trường hợp phải chưng, phơi nhiều lần (cửu chưng, cửu sái), cho đến lúc dược liệu mềm nhuận, đen bóng.

Đồ

Nhằm diệt men trong dược liệu để tránh thủy phân hoạt chất, để làm mềm cho dễ bào thái. Dược liệu được phân loại to nhỏ và xếp vào một dụng cụ thích hợp (chõ), loại to xếp dưới, loại nhỏ xếp trên. Nếu có phụ liệu thì xếp xen kẽ một lớp thuốc, một lớp phụ liệu, đậy chõ. Bắc chõ lên một nồi đáy, trát kín chỗ tiếp xúc bằng đất sét hay bột nhão của

cám và lá khoai, rồi đồ trong khoảng thời gian qui định, đến lúc dược liệu chín mềm.

Nấu

Nhằm làm mềm dược liệu, tăng tác dụng của thuốc, giảm tác dụng không mong muốn, nhiều khi nấu với phụ liệu khác. Cho dược liệu vào dụng cụ nấu có dung tích thích hợp, loại to xếp dưới, loại nhỏ xếp trên để dược liệu chín đều. Đáy dụng cụ có thể lót vỉ để tránh tiếp xúc dược liệu với đáy nồi nấu. Đổ nước sạch hay dịch phụ liệu ngập dược liệu 5 cm đến 10 cm. Đun sôi và duy trì theo thời gian quy định. Trong quá trình đun có thể gạn nước và thêm nước mới nhiều lần. Khi dược liệu chín đều, lấy ra thái mỏng, phơi hoặc sấy khô tới độ ẩm qui định.

Tôi

Nhằm làm giòn dược liệu, giúp cho việc nghiền, tán dễ dàng, đồng thời khử các mùi khó chịu của thuốc. Dược liệu được rang cách cát hoặc nung tới khi đạt yêu cầu, khi đổ ra còn đang nóng thì nhúng ngập nhanh vào nước hay vào một dung dịch phụ liệu như nước gừng, giấm hoặc nước Hoàng liên... Lấy ra phơi hoặc sấy khô.

Rán dầu

Nhằm làm giảm độc tính của dược liệu (đối với Mã tiền), làm cho dược liệu trở nên giòn, dễ tán nhỏ (đối với Xương báo). Thường rán bằng dầu lạc, dầu vừng. Đun sôi dầu, cho dược liệu vào rán cho đến khi có màu hơi vàng, dược liệu nổi lên, thể chất giòn, xốp. Vớt ra cho nhỏ hết dầu. Lượng dầu so với dược liệu thường có tỷ lệ khoảng 20 % đến 30 % (tt/kl).

12.21 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG AFLATOXIN B_1 TRONG DƯỢC LIỆU

Lưu ý: Các aflatoxin là những chất rất độc và gây ung thư. Cần thực hiện các thao tác trong tủ hút hơi độc bất cứ khi nào có thể. Phải đặc biệt lưu ý khi các độc tố này ở dạng bột khô vì chúng có tính chất hút tĩnh điện và khuynh hướng phát tán vào môi trường làm việc; trong trường hợp này nếu có thể thì thao tác trong hộp kín có găng tay. Cần tuân thủ Quy trình khử nhiễm aflatoxin cho các chất thải phòng thí nghiệm đã được Cơ quan nghiên cứu ung thư quốc tế (IARC) xây dựng.

Các aflatoxin là những độc tố vi nấm xuất hiện trong tự nhiên, chủ yếu do nấm mốc *Aspergillus flavus* và *Aspergillus parasiticus* tạo ra. Các loài nấm này khá phổ biến và phát tán trong tự nhiên, rất hay được tìm thấy khi một số loại hạt này mầm và mọc ở những điều kiện khắc nghiệt như hạn hán. Nấm mốc xuất hiện trong đất, trong thực vật đang phân hủy, trong cỏ khô và ở những hạt đang bị vi khuẩn phá hủy, sẽ tác động vào tất cả các loại cơ chất hữu cơ bất cứ khi nào hoặc ở đâu có điều kiện thuận lợi cho chúng phát triển. Những điều kiện thuận lợi đó là hàm lượng ẩm cao và nhiệt độ cao. Ít nhất đã có 13 loại aflatoxin khác nhau được tạo ra trong thiên nhiên và phần lớn trong số đó được biết là có độc tính cao và gây ung thư. Aflatoxin B_1 được xác định là chất độc nhất. Các dược liệu bị nhiễm aflatoxin phải được xác định bằng một phương pháp phân tích đã được thẩm định.

Trừ khi có chỉ dẫn khác trong chuyên luận riêng, các dược liệu chỉ được nhiễm aflatoxin B_1 không quá 2 µg/kg. Cơ quan quản lý dược cũng có thể yêu cầu một giới hạn cho phép là 4 µg/kg cho tổng lượng các aflatoxin B_1, B_2, G_1 và G_2.

Phương pháp mô tả dưới đây được nêu ra như một ví dụ, đã được chứng minh là thích hợp cho việc xác định aflatoxin trong gừng, trong quả phan tả diệp v.v... Khi áp dụng phương pháp này cho các dược liệu khác, cần phải xác định tính thích hợp của nó; nếu không, phải dùng một phương pháp được thẩm định khác.

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Các aflatoxin đều bị ánh sáng phân hủy. Cần tiến hành định lượng trong khu vực tránh ánh sáng ban ngày bằng cách dùng lá chắn tia tử ngoại trên cửa sổ kết hợp với ánh sáng dịu, hoặc dùng rèm che kết hợp với chiếu sáng nhân tạo (có thể bằng đèn tuýp huỳnh quang). Bảo quản các dung dịch chứa aflatoxin tránh ánh sáng ban ngày.

Tráng rửa dụng cụ thủy tinh trước khi dùng bằng *dung dịch acid sulfuric 10 % (theo thể tích) (TT)*, sau đó rửa cẩn thận bằng *nước cất* cho đến khi không còn vết acid.

Dung dịch thử: Dùng cột sắc ký ái lực miễn dịch chứa kháng thể đối với aflatoxin B_1 có dung lượng không ít hơn 100 ng aflatoxin B_1 và khả năng thu hồi không thấp hơn 80 % khi cho một dung dịch 5 ng aflatoxin B_1 trong hỗn hợp 12,5 ml *methanol (TT)* và 87,5 ml *nước* chảy qua. Giữ cột sắc ký ái lực miễn dịch ở nhiệt độ phòng. Lấy 5,00 g dược liệu đã tán bột (qua rây số 500), thêm 100,0 ml hỗn hợp 30 thể tích *nước* và 70 thể tích *methanol (TT)*; chiết bằng siêu âm trong 30 min. Lọc dịch chiết qua giấy lọc. Hút 10,0 ml dịch lọc trong cho vào một bình nón cỡ 150 ml. Thêm 70,0 ml nước, lắc đều. Hút 40,0 ml dung dịch cho chảy qua cột sắc ký ái lực miễn dịch với tốc độ 3 ml/min (không vượt quá 5 ml/min). Rửa cột bằng *nước* 2 lần, mỗi lần 10 ml với tốc độ không quá 5 ml/min rồi làm khô bằng cách áp một chân không nhẹ trong 5 đến 10 s, hoặc bằng cách dùng bơm tiêm thổi không khí qua cột sắc ký trong 10 s.

Cho 0,5 ml *methanol (TT)* lên cột và để chảy qua cột nhờ trọng lực. Thu dịch rửa giải vào một bình định mức cỡ 5 ml. Sau 1 min, lại cho tiếp 0,5 ml *methanol (TT)* và hứng lấy dịch rửa giải lần 2. Chờ 1 min sau lại thực hiện lần rửa giải thứ 3 nữa cũng với 0,5 ml *methanol (TT)*. Thu tối đa dịch rửa giải bằng cách nén không khí hoặc tạo một chân không nhẹ qua cột. Thêm *nước* vào bình định mức cho đủ 5 ml, lắc đều. Nếu thu được dung dịch trong thì có thể dùng ngay để phân tích. Nếu dung dịch không trong suốt thì cần lọc trước khi tiêm sắc ký. Dùng màng lọc sẵn dùng 1 lần (màng lọc polytetrafluoroethylen cỡ lỗ lọc 0,45 µm) đã được chứng minh là không gây mất aflatoxin do lưu giữ.

Dung dịch chuẩn gốc 1 aflatoxin B_1: Hòa tan *aflatoxin B_1 (TT)* trong hỗn hợp *acetonitril - toluen* (2 : 98) để có dung dịch chứa 10 µg/ml. Xác định nồng độ chính xác aflatoxin B_1 trong dung dịch này bằng cách đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) trong khoảng bước sóng giữa 330 nm và 370 nm trong cóng đo thạch anh.

Tính nồng độ aflatoxin B_1, biểu thị bằng µg/ml, bằng công thức sau:

$$\frac{A \times M \times 100}{\varepsilon \times l}$$

Trong đó:

A là độ hấp thụ đo được tại cực đại hấp thụ trong khoảng bước sóng 330 nm đến 370 nm;

M là khối lượng phân tử của aflatoxin B_1 (312 g/mol);

ε là hệ số hấp thụ phân tử gam của aflatoxin B_1 trong hỗn hợp dung môi toluen - acetonitril (1930 m^2/mol);

l là bề dày quang học của cóng đo (1 cm).

Dung dịch chuẩn gốc 2 aflatoxin B_1: Chuẩn bị một dung dịch chuẩn gốc 2 chứa 100 ng aflatoxin B_1 trong 1 ml bằng cách pha loãng dung dịch chuẩn gốc 1 aflatoxin B_1 với hỗn hợp *acetonitril - toluen* (2 : 98). Bọc kín bình chứa trong giấy nhôm và bảo quản ở nhiệt độ dưới 4 °C. Trước khi dùng, chỉ bỏ giấy bọc nhôm khi dung dịch chứa trong bình đạt tới nhiệt độ phòng. Nếu cần bảo quản dung dịch trong một thời gian dài (khoảng 1 tháng), cần cân xác định khối lượng bình chứa trước và sau mỗi lần sử dụng.

Các dung dịch chuẩn aflatoxin B_1: Lấy các thể tích dung dịch chuẩn gốc 2 aflatoxin B_1 như chỉ dẫn trong Bảng 12.21.1 cho vào mỗi bình định mức 250 ml. Thổi vào bình một luồng khí nitrogen ở nhiệt độ phòng cho đến khi vừa bay hết hơi dung môi. Thêm vào mỗi bình 75 ml *methanol (TT)*, để cho aflatoxin hòa tan rồi pha loãng với *nước* đủ 250 ml.

Bảng 12.21.1 - Các dung dịch chuẩn aflatoxin B_1

Dung dịch chuẩn	Thể tích dung dịch chuẩn gốc 2 (µl)	Nồng độ cuối cùng của dung dịch chuẩn (ng/ml)
1	125	0,05
2	250	0,1
3	500	0,2
4	750	0,3
5	1000	0,4

Thiết lập đường chuẩn

Dùng các dung dịch chuẩn aflatoxin B_1 từ số 1 đến số 5 để xây dựng đường chuẩn; đường này sẽ bao phủ một khoảng tương ứng từ 1 µg đến 8 µg aflatoxin B_1 trong 1 kg dược liệu. Kiểm tra độ tuyến tính của đường chuẩn. Nếu hàm lượng aflatoxin B_1 trong mẫu cần kiểm tra nằm ngoài khoảng tuyến tính, dung dịch thử cần phải được pha loãng đến khi hàm lượng aflatoxin thích hợp với đường chuẩn đã thiết lập.

Điều kiện sắc ký

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

Pha động A (dùng khi dẫn xuất hóa sau cột với phản ứng quang hóa hoặc với pyridinium bromid): *acetonitril - methanol - nước* (2 : 3 : 6);

Pha động B (dùng khi dẫn xuất hóa sau cột bằng brom do quá trình điện hóa tạo ra): Thêm 0,12 g *kali bromid (TT)* và 350 µl *dung dịch acid nitric loãng (TT)* vào 1 L pha động A.

Tốc độ dòng: 1 ml/min.

Detector huỳnh quang với kính lọc ánh sáng kích thích 360 nm và kính lọc tia phát xạ 420 nm, hoặc thiết bị khác tương đương. Đối với detector điều chỉnh được, chế độ cài đặt được khuyến cáo là bước sóng kích thích 366 nm và bước sóng phát xạ 435 nm.

Thể tích tiêm: 500 µl.

Dẫn xuất hóa sau cột bằng pyridinium hydrobromid perbromid (PBPB)

- bơm không có xung;
- bộ trộn chữ T có thể tích chết bằng 0;
- ống phản ứng bằng polytetrafluoroethylen, l = 0,45 m;
- Φ = 0,5 mm;
- pha động A;
- thuốc thử dẫn xuất hóa sau cột: Hòa tan 50 mg *pyridinium hydrobromid perbromid (TT)* trong 1000 ml *nước* (bảo quản tránh ánh sáng và dùng trong 4 ngày);
- tốc độ dòng thuốc thử tạo dẫn xuất: 0,4 ml/min.

Dẫn xuất hóa sau cột với phản ứng quang hóa (PHRED)

- ống phản ứng với đèn UV hơi thủy ngân áp suất thấp 254 nm (tối thiểu 8 W);
- gương hỗ trợ;
- cuộn phản ứng: Ống polytetrafluoroethylen bao chặt quanh bóng UV, l = 25 m; Φ = 0,25 mm; thể tích trống danh định 1,25 ml;
- thời gian chiếu: 2 min;
- pha động A.

Dẫn xuất hóa sau cột bằng brom mới sinh từ phản ứng điện hóa (KOBRA)

- pin KOBRA: Pin điện hóa sinh ra brom hoạt tính để tạo dẫn xuất với aflatoxin, làm tăng sự phát huỳnh quang; sẵn có trên thị trường;

nguồn điện 1 chiều cùng bộ với pin KOBRA, cung cấp một dòng không đổi khoảng 100 µA;

- ống phản ứng bằng polytetrafluoroethylen, l = 0,12 m; Φ = 0,25 mm;
- pha động B.

Thứ tự rửa giải: Aflatoxin G_2, aflatoxin G_1, aflatoxin B_2, aflatoxin B_1.

Tính kết quả

Thiết lập phương trình đường chuẩn $y = ax + b$ với nồng độ aflatoxin B_1 (ng/ml) trên trục x và tín hiệu đáp ứng (S)

trên trục y. Nồng độ aflatoxin B_1 (C) trong dung dịch đo được tính bằng biểu thức:

$$\frac{S-b}{a}$$

Tính hàm lượng aflatoxin B_1 trong dược liệu, biểu thị bằng ng/g, theo công thức sau:

$$\frac{V_1 \times V_2 \times C}{m \times V_i}$$

Trong đó:
m là khối lượng dược liệu lấy để phân tích (g).
V_1 là thể tích dung môi được dùng để chiết (ml).
V_i là thể tích dịch chiết được làm sạch bằng cột sắc ký ái lực miễn dịch (ml).
V_2 là thể tích dung dịch cuối cùng sau khi rửa giải từ cột sắc ký ái lực miễn dịch và pha loãng (ml).
C là nồng độ aflatoxin đo được từ dung dịch thử (ng/ml).
Sự có mặt aflatoxin B_1 có thể được khẳng định bằng cách ghi lại sắc ký đồ dung dịch thử không qua dẫn xuất hóa sau cột; tín hiệu đáp ứng của aflatoxin B_1 trên sắc đồ này bị giảm đi đáng kể (hơn 10 lần).

12.22 XÁC ĐỊNH ACID ARISTOLOCHIC I TRONG DƯỢC LIỆU

Acid aristolochic I là chất có độc tính cao, được cho là có khả năng gây ra suy thận và ung thư. acid aristolochic I thường được tìm thấy trong các cây thuộc họ Mộc hương (Aristolochiaceae). Do đó, các dược liệu có thể có chứa acid aristolochic I cần được kiểm tra phát hiện acid aristolochic I trước khi sử dụng.

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch đệm phosphat 0,05 M - acetonitril (11 : 9).
Dung dịch đệm phosphat 0,05 M: Hòa tan 7,8 g *natri dihydrophosphat (TT)* và 2,0 ml *acid phosphoric (TT)* trong nước và pha loãng thành 1000 ml bằng *nước*.
Dung dịch chuẩn: Hòa tan một lượng acid aristolochic chuẩn tương đương với 10,0 mg acid aristolochic I trong hỗn hợp *methanol - nước* (3 : 1) và pha loãng thành 200,0 ml với hỗn hợp *methanol - nước* (3 : 1). Hút 2,0 ml dung dịch này, pha loãng thành 10,0 ml với hỗn hợp *methanol - nước* (3 : 1).
Dung dịch thử: Cân 2,0 g bột dược liệu (qua rây số 125) vào một bình nón nút mài, thêm 50,0 ml hỗn hợp gồm *methanol - nước* (3 : 1), lắc kỹ trong 15 min, lọc.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Detector quang phổ tử ngoại khả kiến đặt ở bước sóng 400 nm.
Tốc độ dòng: 1 ml/min.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiêm lần lượt dung dịch chuẩn và dung dịch thử vào máy sắc ký, tiến hành sắc ký theo điều kiện đã mô tả, ghi lại sắc ký đồ.
Mẫu thử được chấp nhận khi trên sắc ký đồ của dung dịch thử không xuất hiện pic có cùng thời gian lưu với pic của acid aristolochic I trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn.

12.23 HƯỚNG DẪN THIẾT LẬP DẤU VÂN TAY HÓA HỌC CỦA DƯỢC LIỆU BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG HOẶC SẮC KÝ KHÍ

Dấu vân tay hóa học (DVT) là các thông tin hóa học của dược liệu được biểu thị dưới dạng sắc ký đồ, các phổ và các đồ thị ... được ghi bằng các kỹ thuật phân tích (sau đây gọi là sắc ký đồ dấu vân tay, sắc ký đồ DVT). Các kỹ thuật sắc ký (bao gồm sắc ký lỏng, sắc ký khí) thường được áp dụng khi thiết lập dấu vân tay hóa học của dược liệu.
Dấu vân tay hóa học của dược liệu được thiết lập bằng phương pháp sắc ký lỏng và sắc ký khí có ưu điểm là độ chọn lọc, độ nhạy và độ phân giải cao, thời gian phân tích ngắn, lượng mẫu dùng để phân tích nhỏ. Trong sắc ký đồ DVT được thiết lập, có pic của một hoặc nhiều chất đánh dấu hóa học hay các chất đặc trưng.

Yêu cầu thiết lập sắc ký đồ DVT
Lựa chọn mẫu dược liệu phải đảm bảo tính đại diện và bảo quản đúng quy định theo chuyên luận riêng.
Phương pháp chiết xuất và các điều kiện sắc ký phù hợp được lựa chọn và tối ưu hóa tùy thuộc thành phần hóa học hoặc các chất đánh dấu trong mỗi dược liệu. Dịch chiết dược liệu sử dụng cho phân tích là toàn phần hay nhóm chất đại diện được quy định trong từng chuyên luận riêng. Phương pháp cần đảm bảo tính chính xác, độ lặp lại và độ ổn định. Sắc ký đồ DVT cần có đầy đủ thông tin bao gồm thành phần, chất đặc trưng và nhóm hoạt chất được thể hiện qua các pic có độ phân giải tốt giúp định tính dược liệu một cách chính xác. Thời gian phân tích khi tiến hành thiết lập DVT bằng phương pháp sắc ký lỏng, hoặc sắc ký khí không nên quá 60 min.
Trong sắc ký đồ DVT của dược liệu phân tích, pic tách hoàn toàn với các pic khác và tương ứng với pic của chất đối chiếu hóa học được gọi là pic đánh dấu dùng để xác định thời gian lưu tương đối của các pic khác trong sắc ký đồ. Có thể dùng một hoặc nhiều pic đánh dấu. Trường hợp không chọn được chất đánh dấu có sẵn trong dược liệu, việc sử dụng chuẩn nội phù hợp có thể được xem như chất đánh dấu. Pic đặc trưng trong sắc ký đồ DVT là các pic tách hoàn toàn so với các pic kề bên (độ phân giải lớn hơn hoặc bằng 1,2), có diện tích đủ lớn được quy định trong từng chuyên luận riêng. Pic đặc trưng có thời gian lưu ổn định và diện tích pic lặp lại trong quá trình phân tích.
Tính phù hợp của hệ thống: Tiêm dung dịch chất đánh dấu (hoặc chất chuẩn nội) có nồng độ quy định theo từng chuyên luận riêng 5 lần. Yêu cầu về độ lệch chuẩn tương đối của diện tích và thời gian lưu của pic đánh dấu (hoặc

chuẩn nội) được quy định trong chuyên luận riêng. Hiệu lực cột được đánh giá dựa trên số đĩa lý thuyết tính theo pic của chất đánh dấu (hoặc chuẩn nội) nằm trong giới hạn quy định trong chuyên luận riêng. Độ phân giải giữa hai pic kề sát nhau trong sắc ký đồ của dung dịch thử phải lớn hơn 1,0.

Xác định thời gian lưu tương đối (RRT) của pic đặc trưng so với pic đánh dấu (hoặc pic chuẩn nội) theo công thức:

$$RRT = \frac{t_{Rc}}{t_{Rm}}$$

Trong đó:

t_{Rc} là thời gian lưu của pic đặc trưng.

t_{Rm} là thời gian lưu của pic đánh dấu (hoặc pic chuẩn nội).

Sắc ký đồ DVT đối chiếu, pic đánh dấu, pic đặc trưng và khoảng thời gian phân tích của một dược liệu được thiết lập dựa trên kết quả thu được từ ít nhất 5 lô riêng biệt, mỗi lô được phân tích 2 lần (tương ứng thu được 10 dữ liệu).

Ứng dụng sắc ký đồ dấu vân tay trong quản lý chất lượng dược liệu

Sắc ký đồ DVT được ứng dụng trong định tính và đánh giá chất lượng dược liệu.

Sắc ký đồ DVT của một dược liệu cần phân tích được thiết lập theo đúng quy trình nêu trên. Phép định tính là đúng khi sắc ký đồ của mẫu phân tích có đầy đủ các pic đặc trưng có thời gian lưu tương đối nằm trong giới hạn cho phép tương ứng với các pic trong sắc ký đồ DVT đối chiếu đã được quy định trong từng chuyên luận riêng.

12.24 LỖ KHÍ VÀ CHỈ SỐ LỖ KHÍ

Một số trường hợp, lỗ khí và chỉ số lỗ khí có ý nghĩa trong kiểm nghiệm dược liệu. Số lượng lỗ khí (số lỗ khí trên 1 cm^2 biểu bì) và chỉ số lỗ khí (tỷ lệ lỗ khí và số tế bào biểu bì trên một diện tích) thường là những đại lượng tương đối cố định đối với một loài, trong nhiều trường hợp cho phép phân biệt các loài trong cùng một chi.

Các kiểu lỗ khí

Hình ảnh một số kiểu lỗ khí cơ bản được đưa trong Hình 12.24, dựa vào hình dạng và cách sắp xếp của các tế bào xung quanh lỗ khí để phân biệt các kiểu lỗ khí, hay gặp các kiểu như sau:

(1) Kiểu hỗn bào (irregular-celled): Lỗ khí được bao bọc bởi nhiều tế bào giống như tế bào biểu bì, không có tế bào phụ (các tế bào xung quanh lỗ khí có số lượng không xác định, sắp xếp lộn xộn không theo thứ tự).

(2) Kiểu dị bào (unequal-celled): Lỗ khí được bao bọc bởi 3 tế bào phụ, trong đó có 1 tế bào nhỏ hơn 2 tế bào còn lại.

(3) Kiểu trực bào (cross-celled): Lỗ khí được bao bọc bởi 2 tế bào phụ nằm thẳng góc với trục dọc của lỗ khí (khe lỗ khí).

(4) Kiểu song bào (parallel-celled): Lỗ khí được bao bọc bởi 2 tế bào phụ nằm song song với trục dọc của lỗ khí.

Chỉ số lỗ khí

Sử dụng một trong các phương pháp sau đây để xác định số lỗ khí trên một diện tích biểu bì:

– Sao chép bề mặt biểu bì bằng nhựa colodion hoặc bóc biểu bì rồi cắt các mẫu có kích thước thích hợp (hoặc kích thước 1 cm^2 nếu cần xác định số lỗ khí trên 1 cm^2) để quan sát dưới kính hiển vi. Đếm số lỗ khí trong một diện tích hoặc 1 cm^2.

– Quan sát trực tiếp dưới kính hiển vi phản xạ các mẫu lá được cắt với kích thước thích hợp.

– Chụp ảnh một diện tích bề mặt biểu bì, đếm số lỗ khí và các loại tế bào trên ảnh.

Xác định chỉ số lỗ khí theo công thức sau:

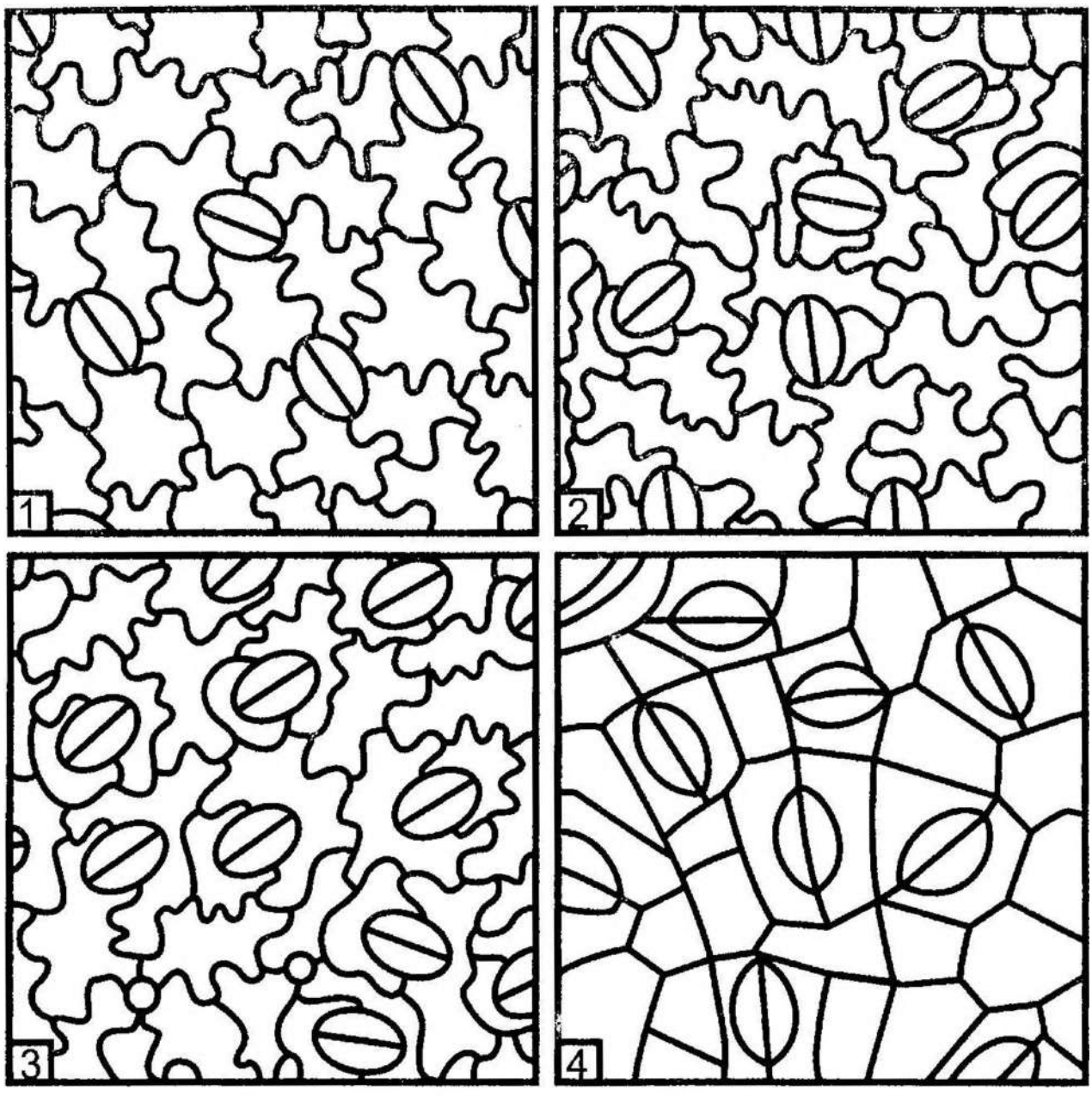
$$\text{Chỉ số lỗ khí} = \frac{100 \times S}{E + S}$$

Trong đó:

S là số lỗ khí trên một diện tích (thường tính trên một vi trường).

E là số tế bào biểu bì (bao gồm cả các loại hình thái lông) trong cùng một diện tích (thường tính trên một vi trường).

Yêu cầu: Đối với mỗi mẫu thử, chỉ số lỗ khí thu được là giá trị trung bình của ít nhất 10 lần thực hiện.



1. Lỗ khí kiểu hỗn bào; 2. Lỗ khí kiểu dị bào; 3. Lỗ khí kiểu trực bào; 4. Lỗ khí kiểu song bào

Hình 12.24 - Các kiểu lỗ khí

PHỤ LỤC 13

13.1 PHÉP THỬ HISTAMIN

Dùng chuột lang nặng 250 g đến 350 g. Để chuột nhịn đói trong 24 h, cho uống nước theo nhu cầu của chuột. Giết chuột đột ngột bằng một cú đánh mạnh vào đầu chuột.
Mổ bụng chuột, dùng kẹp, kẹp vào manh tràng, nâng lên và kéo ra phía trước, sẽ thấy hồi tràng nối vào manh tràng. Cắt lấy một đoạn hồi tràng dài khoảng 2 cm, cho vào khay đựng dung dịch B (nếu làm chậm phải sục khí carbogen). Loại bỏ các chất còn trong đoạn ruột bằng cách dùng một pipet có dung dịch B lồng vào đầu đoạn ruột rồi để cho dung dịch B trong pipet chảy tự nhiên qua đoạn ruột. Cần để pipet ở tư thế nghiêng sao cho mặt thoáng của dung dịch B không cao quá 2 cm so với đoạn ruột trong khay.
Thay dung dịch B mới vào khay. Buộc vào mỗi đầu của đoạn ruột một sợi chỉ mảnh và rạch một đường ngang nhỏ ở giữa đoạn ruột.
Cho đoạn ruột vào bình nuôi cơ quan cô lập có dung tích 10 ml đến 20 ml, chứa dung dịch B, và giữ ở nhiệt độ hằng định 34 °C đến 36 °C. Sục một hỗn hợp khí có 95 thể tích oxygen và 5 thể tích carbon dioxyd qua bình nuôi. Một đầu sợi chỉ buộc vào gần đáy bình nuôi, đầu kia nối với đầu ghi của một kymograph hoặc thiết bị thích hợp để ghi sự co bóp của ruột. Nếu dùng bút ghi trên giấy thì điều chỉnh sao cho biên độ có thể khuếch đại lên khoảng 20 lần. Sức căng của ruột nên vào khoảng 9,8 mN và điều chỉnh theo độ nhạy của ruột.
Thay dung dịch B trong bình nuôi cơ quan. Để yên 10 min. Tiếp tục thay dung dịch B 2 đến 3 lần như vậy nữa.
Thêm vào bình nuôi cơ quan, chính xác khoảng 0,2 ml đến 0,5 ml dung dịch histamin dihydroclorid có nồng độ nhất định để gây nên một đáp ứng gần tối đa có thể lặp lại được. Liều này gọi là liều "cao".
Thay dung dịch B ở bình nuôi 3 lần trước mỗi lần thêm histamin. Nên thêm histamin vào những khoảng thời gian cách đều để ruột giãn hoàn toàn giữa các lần thêm (khoảng 2 min).
Tương tự, thêm những thể tích bằng nhau của dung dịch có nồng độ histamin thấp để cho đáp ứng có biên độ bằng khoảng một nửa biên độ của liều "cao" và có thể lặp lại được. Liều này gọi là liều "thấp".
Tiếp tục thêm đều đặn các liều "cao" và liều "thấp" histamin như đã nêu ở trên và xen kẽ thêm cùng một thể tích dung dịch pha từ mẫu thử. Điều chỉnh độ pha loãng của dung dịch thử để cho sức co của ruột nhỏ hơn sức co của liều "cao".
Kiểm tra xem sức co của dung dịch thử có lặp lại không và xem đáp ứng với liều cao và liều thấp có như trước không.
Tính hoạt lực của chất thử ra microgam histamin base căn cứ vào độ pha loãng đã xác định ở trên. Lượng histamin xác định được không được vượt quá lượng ghi trong chuyên luận.
Nếu chất thử không gây co bóp ruột, pha một dung dịch khác và cho thêm một lượng histamin tối đa dung nạp được ghi trong chuyên luận và thử với dung dịch này. Theo dõi xem sự co cơ của dung dịch này có tương ứng với lượng histamin đã thêm không. Nếu dung dịch này không gây ra sự co cơ tương ứng hoặc sự co của dung dịch thử không lặp lại được, hoặc sau khi thử chất thử rồi, thử lại với histamin chuẩn liều "cao" và liều "thấp" mà đáp ứng có giảm đi thì kết quả thử là không có giá trị và phải thử chất hạ áp của thuốc theo chuyên luận "Phép thử các chất hạ áp, Phụ lục 13.3".

Dung dịch A:

Natri clorid	160 g
Kali clorid	4,0 g
Calci clorid khan	2,0 g
Magnesi clorid khan	1,0 g
Dinatri hydrophosphat	50 mg
Nước cất pha tiêm	vừa đủ 1000 ml

Dung dịch B:

Dung dịch A	50 ml
Atropin sulfat	0,5 mg
Natri hydrocarbonat	1,0 g
D - glucose	0,5 g
Nước cất pha tiêm	vừa đủ 1000 ml

Dung dịch B chỉ pha ngay trước khi dùng và phải dùng trong vòng 24 h.

13.2 PHÉP THỬ NỘI ĐỘC TỐ VI KHUẨN

Phép thử nội độc tố vi khuẩn dùng để phát hiện hoặc định lượng nội độc tố của vi khuẩn gram âm có trong mẫu thử cần kiểm tra. Phương pháp sử dụng thuốc thử lysat là dịch phân giải tế bào dạng amip có trong máu một loài sam biển, *Limulus polyphemus* hoặc *Tachypleus tridentatus*.
Hiện nay có 3 phương pháp để thực hiện phép thử này: Phương pháp tạo gel dựa trên sự tạo thành gel khi cho thuốc thử vào dung dịch có chứa nội độc tố; phương pháp đo độ đục, dựa vào sự thay đổi độ đục của thuốc thử lysat khi tạo gel; phương pháp đo màu dựa trên sự thay đổi màu của phức hợp màu - peptid.
Tùy theo điều kiện và tính chất của mẫu thử, có thể áp dụng một trong các kỹ thuật thích hợp để thực hiện phép thử. Tuy nhiên, khi có nghi ngờ hoặc tranh chấp, kết luận cuối cùng sẽ dựa vào phương pháp tạo gel trừ khi có chỉ dẫn khác.
Phép thử được thực hiện trong điều kiện tránh nhiễm khuẩn.
Thiết bị và dụng cụ:
Tất cả dụng cụ dùng trong phép thử này đều phải không có chứa nội độc tố.
Với những dụng cụ thủy tinh hoặc bằng chất liệu chịu được nhiệt, loại chất gây sốt bằng cách sấy ở 250 °C trong ít nhất 30 min. Nếu dùng các dụng cụ là chất dẻo, như các đầu hút của micropipet hay các khay lỗ để làm phản ứng,

chỉ dùng các loại có chất liệu không ảnh hưởng tới phép thử và không có chứa nội độc tố.

Nước để thử nội độc tố (nước BET): Là nước cất pha tiêm cho kết quả âm tính trong phép thử nội độc tố ở điều kiện quy định. Có thể dùng nước cất 3 lần hoặc một loại nước cất pha tiêm thu được bằng phương pháp thích hợp khác đạt yêu cầu trên.

Nếu không có chỉ dẫn gì khác, dùng nước BET làm dung môi để pha tất cả các dung dịch dùng trong phép thử.

Dung dịch acid hydrocloric 0,1 M BET và natri hydroxyd 0,1 M BET: Là dung dịch được pha từ *acid hydrocloric (TT)* hoặc *natri hydroxyd (TT)* với nước BET trong một dụng cụ không có chứa nội độc tố. Các dung dịch này đạt yêu cầu nếu sau khi điều chỉnh đến pH 6,0 đến 8,0, cho kết quả âm tính trong điều kiện của phép thử.

Nội độc tố chuẩn và dung dịch chuẩn gốc: Nội độc tố chuẩn được sử dụng trong phép thử như một chất đối chiếu. Chuẩn được thiết lập và đánh giá theo nội độc tố chuẩn quốc tế. Hoạt lực của chuẩn được biểu thị theo đơn vị quốc tế qui định bởi Tổ chức Y tế Thế giới (International Unit - IU) hoặc đơn vị nội độc tố (Endotoxin Unit - EU). 1 IU tương đương với 1 EU.

Dung dịch chuẩn gốc nội độc tố được pha theo quy định đóng gói của từng nhà sản xuất. Trên nhãn và tờ hướng dẫn sử dụng kèm theo ghi rõ cách pha, điều kiện bảo quản và số đơn vị nội độc tố có trong dung dịch chuẩn gốc sau khi pha theo hướng dẫn.

Pha dung dịch chuẩn: Pha dung dịch chuẩn gốc với nước BET để được dãy chuẩn có nồng độ thích hợp. Trước khi pha, thường yêu cầu lắc mạnh dung dịch chuẩn gốc trong ít nhất 15 min, và mỗi lần pha loãng, trộn các dung dịch pha loãng ít nhất 30 s. Dùng các dung dịch chuẩn đã pha loãng càng sớm càng tốt để tránh mất hoạt lực.

Dung dịch thử:

Chuẩn bị dung dịch thử bằng cách hòa tan hoặc pha loãng mẫu thử với nước BET đến độ pha loãng thích hợp. Một số chất hoặc chế phẩm có thể cần phải hòa tan hoặc pha loãng trong dung dịch thân nước khác. pH của hỗn hợp phản ứng phải nằm trong khoảng qui định cho mỗi loại thuốc thử, thông thường trong khoảng 6,0 đến 8,0. Do vậy, nên điều chỉnh pH của dung dịch thử cho phù hợp bằng các dung dịch acid hydrocloric 0,1 M BET, natri hydroxyd 0,1 M BET hoặc một đệm thích hợp theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử.

Phép thử không thích hợp với một số loại mẫu thử như các loại nhũ dịch, hỗn dịch... Một số chất có thể cho phản ứng dương tính hoặc âm tính giả với thuốc thử như các chế phẩm từ máu, polynucleotid; chế phẩm có chứa kim loại nặng, chất diện hoạt, nồng độ ion cao. Do vậy, cần phải khảo sát, tìm phương pháp xử lý và đánh giá trước khi áp dụng phép thử cho chế phẩm.

Độ pha loãng tối đa:

Độ pha loãng tối đa (MVD) là hệ số pha loãng lớn nhất cho phép để thu được dung dịch thử có chứa lượng nội độc tố có thể phát hiện được.

MVD được tính như sau:

$$MVD = \frac{\text{Giới hạn nội độc tố} \times \text{nồng độ dung dịch thử}}{\lambda}$$

Trong đó:

Giới hạn nội độc tố (Endotoxin Limit - EL): Giới hạn nội độc tố thường được quy định trong các chuyên luận riêng. Chế phẩm đạt yêu cầu nếu lượng nội độc tố có trong chế phẩm thấp hơn giới hạn qui định. Giới hạn nội độc tố của các chế phẩm được tính trên cơ sở liều dùng cho người theo công thức sau:

$$EL = K/M$$

Trong đó:

K là ngưỡng nội độc tố tính cho 1 kg cân nặng cơ thể người có thể chịu đựng được mà không xảy ra phản ứng độc hại; Giá trị K được tham khảo trong Bảng 13.2.1 dưới đây;

M là liều tối đa của sản phẩm tính cho 1 kg cân nặng cơ thể dùng dưới dạng đơn liều trong thời gian khoảng 1 h. Liều này được hiểu là lượng thuốc tối đa có thể được dùng trong vòng 1 h. Với các loại thuốc tiêm dưới da, tiêm bắp hoặc tiêm tĩnh mạch một lần sẽ được coi như dùng đơn liều. Với các dịch truyền tĩnh mạch trong thời gian dài, tính M theo lượng thuốc của liều có thể được truyền tối đa trong một giờ, dựa trên tốc độ truyền tiêu chuẩn nếu không có qui định riêng nào cho chế phẩm. Giá trị được dùng là liều tối đa theo khuyến cáo của nhà sản xuất, có thể mức liều đó vượt quá mức liều theo chỉ dẫn của thầy thuốc.

Nếu một sản phẩm có thể được dùng theo cả 2 đường tiêm trong màng cứng và các đường tiêm khác thì giới hạn nội độc tố cho sản phẩm được tính theo giá trị K của đường tiêm trong màng cứng vì có yêu cầu chặt chẽ hơn.

Bảng 13.2.1

Loại sản phẩm	K (tính cho 1 kg cân nặng cơ thể)
Các loại thuốc tiêm trong màng cứng	0,2
Các thuốc phóng xạ tiêm tĩnh mạch	2,5
Tất cả các thuốc tiêm trừ loại tiêm trong màng cứng hoặc thuốc phóng xạ	5,0

Trên thực tế, các nhà sản xuất thường qui định giới hạn nội độc tố cho sản phẩm thấp hơn nhiều so với giới hạn tính theo ngưỡng chịu đựng của người bệnh, để khi dùng liều tối đa sản phẩm vẫn đảm bảo an toàn cho người bệnh.

Nồng độ của dung dịch thử:

Tính bằng mg/ml nếu giới hạn nội độc tố trong chuyên luận riêng quy định theo khối lượng (EU/mg).

Tính bằng đơn vị/ml nếu giới hạn nội độc tố trong chuyên luận riêng quy định theo đơn vị hoạt lực sinh học (EU/đơn vị).

Tính bằng ml/ml nếu giới hạn nội độc tố trong chuyên luận riêng quy định theo thể tích (EU/ml).

λ là độ nhạy của thuốc thử được ghi trên nhãn (kỹ thuật tạo gel) hoặc nồng độ nội độc tố thấp nhất đã dùng để xây dựng đường cong chuẩn (phương pháp đo độ đục hoặc đo màu).

PHƯƠNG PHÁP TẠO GEL

Phương pháp tạo gel cho phép phát hiện hoặc xác định lượng nội độc tố dựa trên sự tạo gel của thuốc thử lysat với nội độc tố. Nồng độ nội độc tố yêu cầu để tạo gel với thuốc thử lysat trong điều kiện tiêu chuẩn là độ nhạy ghi trên nhãn của thuốc thử. Để đảm bảo độ chính xác và giá trị của phép thử, phải tiến hành phép thử kiểm tra để khẳng định độ nhạy ghi trên nhãn của thuốc thử lysat và kiểm tra các yếu tố ảnh hưởng theo hướng dẫn dưới đây.

Chuẩn bị thử

Kiểm tra độ nhạy của lysat:

Độ nhạy của thuốc thử lysat ghi trên nhãn là nồng độ nội độc tố thấp nhất cần thiết để tạo gel với thuốc thử trong điều kiện xác định.

Phép thử kiểm tra độ nhạy được thực hiện mỗi khi có lô thuốc thử mới hoặc khi có sự thay đổi điều kiện thí nghiệm có thể ảnh hưởng tới kết quả của phép thử.

Tiến hành:

Chuẩn bị các dung dịch nội độc tố chuẩn với ít nhất 4 nồng độ tương đương 2 λ; λ; 1/2 λ và 1/4 λ bằng cách pha loãng dung dịch chuẩn gốc với nước BET, mỗi nồng độ cần 4 ống. Trong đó λ là độ nhạy ghi trên nhãn của lysat muốn kiểm tra. Pha thuốc thử lysat với nước BET theo hướng dẫn trên nhãn. Trộn một thể tích thuốc thử với đồng lượng dung dịch chuẩn (thường dùng 0,1 ml) cho mỗi ống. Ủ các ống nghiệm có chứa hỗn hợp phản ứng trong một khoảng thời gian quy định theo khuyến cáo của nhà sản xuất thuốc thử lysat [thường ở (37 ± 1) °C trong (60 ± 2) min], tránh bị rung động mạnh.

Đọc kết quả sau một khoảng thời gian qui định. Phản ứng dương tính nếu gel tạo thành không bị chảy ra khi nhẹ nhàng dốc ngược ống nghiệm (180°). Phản ứng âm tính khi không tạo thành gel hoặc gel không đủ chắc, rất dễ bị rã khi dốc ngược ống nghiệm.

Phép thử không có giá trị nếu bất kỳ ống nào của dung dịch chuẩn nội độc tố có nồng độ thấp nhất (0,25 λ) cho phản ứng dương tính. Khi đó, cần kiểm tra kỹ lại các điều kiện thử nghiệm và lặp lại thí nghiệm.

"Điểm dừng" là ống cuối cùng có hệ số pha loãng lớn nhất trong dãy cho phản ứng dương tính.

Độ nhạy của thuốc thử được biểu thị là trung bình nhân của nồng độ điểm dừng (EU/ml), được tính như sau: Tính giá trị trung bình của các logarit nồng độ nội độc tố tại điểm dừng, sau đó lấy đối - logarit của giá trị trung bình.

Trung bình nhân nồng độ điểm dừng = anti log (Σe/f).

Trong đó:

Σe là tổng các logarit nồng độ điểm dừng của mỗi dãy đã thử;

f là số dãy chuẩn nội độc tố đã thử.

Độ nhạy ghi trên nhãn của thuốc thử được khẳng định là đúng nếu trung bình nhân nồng độ điểm dừng lớn hơn hoặc bằng 0,5 λ và nhỏ hơn hoặc bằng 2,0 λ.

Kiểm tra yếu tố ảnh hưởng:

Phép thử được tiến hành để xác định xem trong mẫu thử có chứa các yếu tố làm tăng hay ức chế phản ứng hay không. Khi có bất kỳ sự thay đổi điều kiện nào đó có thể ảnh hưởng đến kết quả thử nghiệm, cần thực hiện phép thử này.

Chuẩn bị các dung dịch A, B, C và D theo như Bảng 13.2.2. Các điều kiện thử nghiệm như nhiệt độ, thời gian ủ và đánh giá kết quả tương tự như trong phần *Kiểm tra độ nhạy của lysat*

Trung bình nhân nồng độ điểm dừng của dung dịch B và C được xác định theo hướng dẫn đã nêu trong phần *Kiểm tra độ nhạy của lysat.*

Phép thử có giá trị khi dung dịch A và D cho phản ứng âm tính và kết quả dung dịch C khẳng định đúng độ nhạy của thuốc thử.

Nếu độ nhạy của lysat tính theo dung dịch B lớn hơn 0,5 λ và nhỏ hơn 2,0 λ thì mẫu thử không chứa yếu tố ảnh hưởng và phép kiểm tra yếu tố ảnh hưởng đạt yêu cầu. Nếu không thỏa mãn các yêu cầu trên thì mẫu thử có chứa yếu tố ảnh hưởng tới phép thử.

Bảng 13.2.2 - Kiểm tra yếu tố ảnh hưởng

Dung dịch	Nồng độ nội độc tố được thêm vào mỗi dung dịch	Dung môi	Hệ số pha loãng	Nồng độ nội độc tố sau khi pha loãng	Số ống nghiệm
A	0/dung dịch thử	-	-	-	4
B	2 λ/dung dịch thử	dung dịch thử	1	2 λ	4
			2	1 λ	4
			4	0,5 λ	4
			8	0,25 λ	4
C	2 λ/nước BET	Nước BET	1	2 λ	2
			2	1 λ	2
			4	0,5 λ	2
			8	0,25 λ	2
D	0/nước BET	-	-	-	2

Trong đó:

Dung dịch A (dung dịch thử): Mẫu thử pha ở độ pha loãng ≤ MVD.

Dung dịch B (đối chứng dương tính có mẫu thử): Nội độc tố pha trong dung dịch thử để kiểm tra yếu tố ảnh hưởng.

Dung dịch C (khẳng định độ nhạy của lysat): Chuẩn nội độc tố pha trong nước BET với nồng độ khác nhau.

Dung dịch D (đối chứng âm tính): Nước BET.

Nếu mẫu thử có chứa yếu tố ảnh hưởng tới phép thử ở độ pha loãng nhỏ hơn MVD, làm lại phép thử *Kiểm tra yếu tố ảnh hưởng*, dùng dung dịch thử có độ pha loãng lớn hơn nhưng không quá MVD.

Sử dụng thuốc thử có độ nhạy cao hơn sẽ cho phép mẫu thử được pha loãng nhiều hơn, khi đó có thể hạn chế được yếu tố ảnh hưởng. Ngoài ra, có thể xử lý để loại các yếu tố ảnh hưởng bằng phương pháp thích hợp như lọc, trung hòa, thẩm tách hoặc đun nóng. Để đảm bảo phương pháp

xử lý đã chọn chắc chắn loại được yếu tố ảnh hưởng mà không làm mất nội độc tố, cần thực hiện phép thử *Kiểm tra yếu tố ảnh hưởng* với dung dịch thử sau khi xử lý và cho thêm chuẩn nội độc tố. Nếu phương pháp có hiệu quả, cần ghi vào tiêu chuẩn.

Phép thử giới hạn

Dựa trên sự tạo gel của thuốc thử lysat với nội độc tố, phương pháp này kiểm tra xem lượng nội độc tố có trong mẫu thử có lớn hơn giới hạn qui định hay không.

Tiến hành: Chuẩn bị dung dịch A, B, C và D theo Bảng 13.2.3, mỗi dung dịch 2 ống. Các điều kiện thử nghiệm như nhiệt độ, thời gian ủ và đánh giá kết quả tương tự như trong phần *Kiểm tra độ nhạy của lysat*.

Bảng 13.2.3

Dung dịch	Nồng độ nội độc tố được thêm vào mỗi dung dịch	Số ống nghiệm
A	0/dung dịch thử	2
B	2 λ/dung dịch thử	2
C	2 λ/nước BET	2
D	0/nước BET	2

Trong đó:

Dung dịch A (dung dịch thử): Mẫu thử pha ở độ pha loãng ≤ MVD.

Dung dịch B (đối chứng dương tính có mẫu thử): Nội độc tố pha trong dung dịch thử.

Dung dịch C (đối chứng dương tính): Chuẩn nội độc tố pha trong nước BET.

Dung dịch D (đối chứng âm tính): Nước BET.

Đánh giá kết quả:

Phép thử có giá trị nếu cả 2 ống của dung dịch B và C đều cho kết quả dương tính và dung dịch D âm tính.

Mẫu thử đạt yêu cầu nếu kết quả âm tính ở cả hai ống nghiệm của dung dịch A.

Mẫu thử không đạt yêu cầu nếu kết quả dương tính trên cả hai ống nghiệm của dung dịch A khi độ pha loãng bằng MVD.

Nếu hai ống của dung dịch A cho kết quả khác nhau, một ống dương tính và một ống âm tính thì làm lại phép thử. Mẫu thử đạt yêu cầu nếu ở lần thử thứ hai cả hai ống đều cho kết quả âm tính.

Phép thử bán định lượng

Phép thử này xác định lượng nội độc tố có trong dung dịch mẫu thử bằng cách thực hiện phản ứng tiến dần tới điểm dừng trong quá trình tạo gel.

Tiến hành: Chuẩn bị dung dịch A, B, C và D theo Bảng 13.2.4, mỗi dung dịch 2 ống nghiệm.

Dung dịch thử dùng cho dung dịch A và B phải không có chứa yếu tố ảnh hưởng. Các điều kiện thử nghiệm như nhiệt độ, thời gian ủ và đánh giá kết quả tương tự như trong phần *Kiểm tra độ nhạy của lysat*.

Bảng 13.2.4

Dung dịch	Nồng độ nội độc tố được thêm vào mỗi dung dịch	Dung môi	Hệ số pha loãng	Nồng độ nội độc tố sau khi pha loãng	Số ống nghiệm
A	0/dung dịch thử	-	1	-	2
			2		2
			4		2
			8		2
B	2 λ/dung dịch thử	Dung dịch thử	1	2 λ	2
C	2 λ/nước BET	Nước BET	1	2 λ	2
			2	1 λ	2
			4	0,5 λ	2
			8	0,25 λ	2
D	0/nước BET	-	-	-	2

Trong đó:

Dung dịch A (dung dịch thử): Dung dịch thử có độ pha loãng ≤ MVD, không có yếu tố ảnh hưởng. Pha mẫu thử với nước BET theo các hệ số pha loãng 1/2, 1/4, 1/8... Có thể pha loãng tiếp để có kết quả phù hợp nhưng hệ số pha loãng dung dịch thử cuối cùng phải không quá MVD.

Dung dịch B (đối chứng dương tính có mẫu thử): Nội độc tố pha trong dung dịch A, để kiểm tra yếu tố ức chế sự tạo gel.

Dung dịch C (đối chứng dương tính): 2 dãy chuẩn nội độc tố pha trong nước BET.

Dung dịch D (đối chứng âm tính): Dùng nước BET.

Tính toán và đánh giá kết quả:

Phép thử có giá trị khi thoả mãn 3 điều kiện sau:

a) Cả 2 ống của dung dịch D đều âm tính (đối chứng âm tính).

b) Cả 2 ống của dung dịch B đều dương tính (đối chứng dương tính có mẫu thử).

c) Trung bình nhân nồng độ điểm dừng của dung dịch C nằm trong khoảng 0,5 λ đến 2 λ.

Điểm dừng được xác định là ống nghiệm có hệ số pha loãng cao nhất trong dãy của dung dịch A cho phản ứng dương tính, và nồng độ nội độc tố ở điểm dừng của dung dịch A là tích số của độ pha loãng tại điểm đó nhân với hệ số λ.

Nồng độ nội độc tố trong dung dịch mẫu cần kiểm tra được xác định là trung bình nhân nồng độ điểm dừng của các dãy thử, tính trung bình nồng độ nội độc tố của 2 dãy (tương tự như phần Kiểm tra độ nhạy của lysat).

Nếu không có nồng độ nào của dung dịch A cho phản ứng dương tính, thì nồng độ nội độc tố của dung dịch A nhỏ hơn λ × hệ số pha loãng thấp nhất của dung dịch A.

Nếu tất cả các độ pha loãng đều cho phản ứng dương tính, nồng độ nội độc tố của dung dịch A là bằng hoặc lớn hơn tích của hệ số pha loãng lớn nhất của dung dịch A nhân với λ.

Có thể pha loãng tiếp để tìm được điểm dừng. Tính nồng độ nội độc tố của mẫu thử (EU/ml, EU/mg hoặc mEq hoặc EU/đơn vị), dựa trên nồng độ nội độc tố trung bình của dung dịch A. Mẫu thử đạt yêu cầu phép thử này nếu nồng độ nội độc tố có trong mẫu thử thấp hơn giới hạn nội độc tố qui định trong chuyên luận riêng.

PHƯƠNG PHÁP ĐO QUANG

Phương pháp đo độ đục

Phương pháp đo độ đục xác định lượng nội độc tố có trong dung dịch mẫu thử dựa trên đo mức độ thay đổi độ đục trong quá trình tạo gel của thuốc thử lysat. Hiện nay có 2 kỹ thuật được áp dụng: đo độ đục tại điểm dừng hoặc đo độ đục động học.

Đo độ đục tại điểm dừng dựa trên sự tương quan giữa nồng độ nội độc tố và độ đục của hỗn hợp phản ứng ở thời điểm xác định vào cuối của giai đoạn ủ.

Đo độ đục động học dựa trên sự tương quan giữa nồng độ nội độc tố và thời gian cần thiết để đạt tới độ đục định trước của hỗn hợp phản ứng hoặc tốc độ tăng độ đục của hỗn hợp.

Phép thử thường thực hiện ở (37 ± 1) °C, độ đục biểu thị bằng độ hấp thụ hay độ truyền qua.

Phương pháp đo màu

Phương pháp đo màu xác định nồng độ nội độc tố của các dung dịch mẫu thử dựa trên đo chất màu được giải phóng ra từ một cơ chất mang màu do phản ứng của nội độc tố với thuốc thử lysat.

Có 2 kỹ thuật đo: đo màu tại điểm dừng hoặc đo màu động học.

Đo màu tại điểm dừng dựa trên tương quan giữa nồng độ nội độc tố và đậm độ chất màu tạo thành của hỗn hợp phản ứng ở điểm cuối của giai đoạn ủ.

Đo màu động học dựa trên mối tương quan định lượng giữa nồng độ nội độc tố và thời gian cần thiết để hỗn hợp phản ứng đạt tới độ hấp thụ (hoặc độ truyền qua) định trước hoặc tốc độ tăng màu của hỗn hợp.

Phép thử thường thực hiện ở (37 ± 1) °C.

Chuẩn bị

Để đảm bảo độ đúng và giá trị của phương pháp đo màu hoặc đo độ đục, phải tiến hành phép thử *Kiểm tra đường chuẩn* và *Kiểm tra yếu tố ảnh hưởng* như sau:

Kiểm tra đường chuẩn: Phép thử được thực hiện với mỗi lô thuốc thử lysat mới. Dùng dung dịch nội độc tố chuẩn, pha ít nhất 3 nồng độ nội độc tố để tạo được đường chuẩn trong khoảng nồng độ nội độc tố ghi trong hướng dẫn của thuốc thử lysat đang sử dụng. Với mỗi nồng độ, phải dùng ít nhất 3 ống tùy theo điều kiện qui định cho thuốc thử lysat đang dùng (về tỷ lệ thể tích, thời gian ủ, nhiệt độ, pH...).*

Giá trị tuyệt đối của hệ số tương quan [r], phải lớn hơn hoặc bằng 0,980 cho khoảng nồng độ nội độc tố đã dùng.

Nếu phép thử không có giá trị, kiểm tra các điều kiện thử nghiệm và tiến hành lại như trên.

Phép thử *Kiểm tra đường chuẩn* phải được thực hiện mỗi khi có thay đổi một điều kiện nào đó có thể ảnh hưởng đến kết quả thử nghiệm.

Kiểm tra yếu tố ảnh hưởng: Chọn nồng độ nội độc tố vào khoảng giữa của đường chuẩn.

Chuẩn bị dung dịch A, B, C và D theo Bảng 13.2.5. Tiến hành phép thử với các dung dịch này sau khi đã chuẩn hóa các điều kiện theo qui định của loại thuốc thử lysat sử dụng (về thể tích, tỷ lệ thể tích dung dịch thử và thuốc thử lysat, thời gian ủ).

Phép thử *Kiểm tra yếu tố ảnh hưởng* phải được thực hiện mỗi khi có sự thay đổi có thể ảnh hưởng tới kết quả thử nghiệm.

Bảng 13.2.5

Dung dịch	Nồng độ nội độc tố được thêm vào mỗi dung dịch	Dung dịch được thêm nội độc tố	Số ống nghiệm hoặc lỗ phản ứng
A	0	Dung dịch thử	Không ít hơn 2
B	Nồng độ ở khoảng giữa của đường cong chuẩn	Dung dịch thử	Không ít hơn 2
C	ít nhất 3 nồng độ	Nước BET	Mỗi nồng độ không ít hơn 2
D	0	Nước BET	Không ít hơn 2

Trong đó:

Dung dịch A (dung dịch thử): Dung dịch thử có độ pha loãng không quá MVD.

Dung dịch B: Thêm dung dịch chuẩn vào dung dịch thử để có nồng độ nội độc tố vào khoảng đoạn giữa của đường cong chuẩn.

Dung dịch C (đối chứng dương tính): Dung dịch chuẩn nội độc tố có nồng độ dùng trong thẩm định phương pháp như mô tả trong phần Kiểm tra đường chuẩn.

Dung dịch D (đối chứng âm tính): Dùng nước BET.

Phép thử chỉ có giá trị khi hệ số tương quan của đường chuẩn thu được từ dung dịch C lớn hơn hoặc bằng 0,980.

Dung dịch D phải cho kết quả không vượt quá giới hạn giá trị trắng theo qui định của thuốc thử lysat đã dùng, hoặc thấp hơn giới hạn nội độc tố phát hiện của lysat đã dùng.

Khả năng tìm lại được lượng nội độc tố chuẩn thêm vào dung dịch B bằng hiệu số nồng độ đã tìm thấy trong dung dịch B trừ đi nồng độ nội độc tố tìm được trong dung dịch A. Nếu khả năng tìm lại lượng nội độc tố thêm vào nằm trong khoảng 50 % đến 200 %, dung dịch mẫu cần kiểm tra được coi là không có yếu tố ảnh hưởng.

Nếu nồng độ tìm lại được nằm ngoài khoảng qui định, dung dịch mẫu cần kiểm tra có chứa yếu tố ảnh hưởng. Khi đó, cần xử lý để loại yếu tố ảnh hưởng bằng các phương pháp thích hợp (như đã nêu trong phương pháp tạo gel). Sau đó, phải thực hiện đánh giá lại xem phương pháp xử lý có loại được yếu tố ảnh hưởng không.

Xác định lượng nội độc tố trong mẫu thử

Tiến hành: Chuẩn bị dung dịch A, B, C và D theo như Bảng 13.2.5, và theo qui trình như đã mô tả trong phần Kiểm tra yếu tố ảnh hưởng.

Tính nồng độ nội độc tố:

Tính nồng độ nội độc tố trong mỗi ống của dung dịch A theo đường chuẩn thu được từ dung dịch C. Phép thử không có giá trị trừ khi thoả mãn các yêu cầu sau:

1) Giá trị tuyệt đối của hệ số tương quan của đường chuẩn theo dung dịch C lớn hơn hoặc bằng 0,980.

2) Lượng nội độc tố tìm lại được, tức là hiệu số nồng độ nội độc tố tìm lại được trong dung dịch B trừ đi nồng độ nội độc tố trong dung dịch A, phải nằm trong khoảng 50 % đến 200 %.

3) Kết quả của dung dịch D không vượt quá giới hạn giá trị trắng của thuốc thử lysat đã dùng, hoặc phải thấp hơn giới hạn nội độc tố phát hiện của lysat đã dùng.

Đánh giá kết quả:

Mẫu thử đạt phép thử nội độc tố vi khuẩn nếu nồng độ nội độc tố có trong mẫu thử tính từ nồng độ nội độc tố trung bình của các ống dung dịch A thấp hơn giới hạn nội độc tố qui định trong chuyên luận riêng.

* Nếu tỷ số giá trị logarit đáp ứng giữa nồng độ cao nhất so với nồng độ thấp nhất trong khoảng khảo sát lớn hơn 2, thì nên thêm một số nồng độ để thu được đường chuẩn có khoảng cách giữa các giá trị log phù hợp.

13.3 PHÉP THỬ CÁC CHẤT HẠ ÁP

Thử các chất hạ áp là phương pháp sinh học dựa vào tác dụng hạ huyết áp của thuốc đem thử trên mèo đã được gây mê so với tác dụng hạ áp của thuốc histamin chuẩn.

Chuẩn bị thí nghiệm

Động vật: Mèo khoẻ mạnh, trưởng thành, đực hoặc cái (không mang thai), cân nặng từ 1,8 kg trở lên.

Nước muối heparin: Dung dịch chứa 50 đơn vị heparin trong 1 ml dung dịch natri clorid 0,9 % dùng để chống đông máu. Có thể dùng một dung dịch chống đông thích hợp khác để thay thế.

Dung dịch histamin chuẩn: Dùng histamin dihydroclorid hoặc histamin monohydrophosphat bảo quản trong lọ kín, làm khô bằng silica gel 2 h trước khi cân. Hòa tan trong *nước cất* một lượng histamin đã được cân chính xác thành dung dịch chứa 1 mg/ml histamin base. Ngay trước khi thử, pha loãng dung dịch histamin này (1 mg/ml) bằng dung dịch natri clorid 0,9 % đã tiệt trùng thành dung dịch có nồng độ 0,1 µg/ml tính theo histamin base.

Mẫu thử: Pha theo từng chuyên luận tương ứng trong dung dịch natri clorid 0,9 % đã tiệt khuẩn hoặc trong dung môi thích hợp, đến nồng độ cần thiết.

Tiến hành

Mèo được gây mê bằng cloralose hoặc một loại barbiturat thích hợp như phenobarbital v.v... để duy trì được huyết áp đồng đều trong suốt thời gian thí nghiệm. Cố định động vật trên bàn mổ, cần làm nhẹ nhàng sao cho mèo không bị kích thích. Có biện pháp giữ để thân nhiệt mèo không giảm quá giới hạn sinh lý bằng đèn hoặc lò sưởi. Thông khí quản bằng một canuyn thủy tinh. Bộc lộ động mạch cảnh, lồng canun có chứa đầy nước muối heparin (hoặc dung dịch chống đông khác) vào động mạch cảnh. Nối canuyn với huyết áp kế thủy ngân hoặc một thiết bị ghi huyết áp khác đạt yêu cầu về độ nhạy. Bộc lộ tĩnh mạch đùi, luồn vào đó một kim tiêm đầu tù có chứa nước muối heparin, buộc cố định lại để tiêm mẫu thử hoặc histamin chuẩn.

Xác định độ nhạy của động vật với histamin bằng cách tiêm tĩnh mạch các liều 1 ml (0,1 g) và 1,5 ml (0,15 µg) dung dịch histamin chuẩn cho mỗi kg thể trọng. Khoảng cách thời gian giữa các lần tiêm ít nhất là 1 min sau khi huyết áp đã trở lại mức bình thường. Bình thường một liều histamin 0,1 µg/kg thể trọng mèo làm huyết áp hạ khoảng 20 mmHg. Lặp lại liều thấp histamin chuẩn (1 ml/kg) ít nhất 2 lần. Động vật được dùng vào thí nghiệm khi sự giảm huyết áp là hằng định ở các liều 1 ml/kg và với liều 1,5 ml/kg phải có độ hạ áp lớn hơn.

Sau khi đã đạt yêu cầu thử độ nhạy với histamin, tiêm tĩnh mạch cho mỗi kg mèo 1 ml dung dịch histamin chuẩn. Tiếp theo tiêm 2 liều liên tục của mẫu thử theo chỉ dẫn của từng chuyên luận và cuối cùng lại tiêm dung dịch histamin chuẩn với liều 1 ml/kg. Thời gian giữa các lần tiêm là hằng định như đã nêu ở trên. Nhắc lại chuỗi tiêm như trên một lần nữa và kết thúc bằng 1,5 ml dung dịch histamin chuẩn cho 1 kg mèo.

Đánh giá kết quả

a) Nếu độ hạ áp của dung dịch histamin chuẩn liều 1,5 ml/kg không lớn hơn liều 1 ml/kg thì thí nghiệm không có giá trị.

b) Chế phẩm đạt yêu cầu về thử các chất hạ áp nếu đạt cả 2 điều kiện sau:

Giá trị trung bình của các độ hạ áp khi tiêm mẫu thử không lớn hơn giá trị trung bình của các độ hạ áp khi tiêm dung dịch histamin chuẩn liều 1 ml/kg thể trọng mèo.

Mức hạ áp của mỗi lần tiêm mẫu thử đều không cao hơn mức hạ áp của dung dịch histamin chuẩn liều kết thúc 1,5 ml/kg.

c) Chế phẩm không đạt yêu cầu nếu một trong 2 điều kiện trên không đạt.

Chú ý: Động vật không được dùng để thử tác dụng hạ áp nữa nếu trong quá trình thử, đã có lần mẫu thử gây hạ áp lớn hơn mức hạ áp do liều kết thúc 1,5 ml dung dịch histamin chuẩn cho 1 kg mèo, hoặc giá trị hạ áp của dung dịch histamin chuẩn ở liều kết thúc 1,5 ml/kg nhỏ hơn giá trị trung bình của các liều 1 ml/kg đã tiêm trước đó.

13.4 PHÉP THỬ CHẤT GÂY SỐT

Phép thử được xác định bằng cách đo sự tăng thân nhiệt thỏ sau khi tiêm tĩnh mạch dung dịch vô khuẩn của chất cần kiểm tra.

Lựa chọn động vật thí nghiệm

Dùng thỏ trưởng thành, khỏe mạnh, cả 2 giống, cân nặng không dưới 1,5 kg, nuôi dưỡng bằng thức ăn không có chứa kháng sinh và thỏ không có dấu hiệu giảm cân trong quá trình thử nghiệm. Không dùng để thử nghiệm nếu:

a) Thỏ mới được dùng thử chất gây sốt có kết quả âm tính trong vòng 3 ngày trước đó, hoặc

b) Thỏ đã được dùng thử chất gây sốt có kết quả dương tính trong vòng 3 tuần.

Khu vực lưu giữ động vật

Thỏ được nuôi giữ riêng từng con trong khu vực yên tĩnh, có nhiệt độ ổn định. Cho thỏ nhịn ăn từ đêm trước khi thử cho đến khi thử xong, không cho uống nước trong quá trình thử. Tiến hành phép thử trong phòng yên tĩnh, không có tiếng ồn, nhiệt độ phòng chênh lệch không quá 3 °C so với khu vực nuôi giữ, hoặc thỏ phải được lưu giữ ở điều kiện phòng thí nghiệm trong khoảng ít nhất 18 h trước khi thử nghiệm.

Dụng cụ, bơm và kim tiêm

Tất cả các dụng cụ, bơm và kim tiêm phải được rửa sạch và tráng nước cất, sấy ở nhiệt độ 250 °C trong 30 min hoặc 200 °C trong 1 h.

Hộp, giá giữ thỏ

Các hộp, giá giữ thỏ cho trường hợp đo nhiệt độ bằng thiết bị điện được thiết kế để giữ ở cố con vật nhưng không được chật quá, phần cơ thể còn lại được thoải mái để thỏ có thể ngồi ở tư thế bình thường. Không giữ thỏ bằng các loại kẹp hoặc giá có thể gây đau hoặc khó chịu cho con vật. Thỏ phải được cho vào hộp hoặc giá ít nhất 1 h trước khi thử và giữ ở đó trong suốt quá trình thử nghiệm.

Nhiệt kế

Nhiệt kế hoặc thiết bị điện dùng để ghi nhiệt độ có độ chính xác 0,1 °C và được đưa vào trực tràng của thỏ với độ sâu 5 cm. Độ sâu của nhiệt kế trong trực tràng phải giống nhau giữa các thỏ. Nếu dùng thiết bị điện, đầu đo nhiệt độ phải được đặt trong trực tràng trong suốt quá trình thử.

Thử nghiệm sơ bộ

Chỉ nên tiến hành thử sơ bộ với những thỏ lần đầu tiên được dùng để thử chất gây sốt.

Trong vòng 1 đến 3 ngày trước khi kiểm tra mẫu thử, tiêm tĩnh mạch tai 10 ml/kg thỏ dung dịch natri clorid 0,9 % không có chất gây sốt, đã làm ấm đến khoảng 38,5 °C trước khi tiêm. Ghi nhiệt độ thỏ, bắt đầu ít nhất 90 min trước khi tiêm và tiếp tục trong 3 h sau khi tiêm. Không dùng những thỏ có nhiệt độ thay đổi quá 0,6 °C vào thử nghiệm chính thức.

Thử nghiệm chính thức

Mỗi mẫu được thử trên một nhóm 3 thỏ.

Chuẩn bị và tiêm mẫu thử: Mẫu thử có thể được hòa tan trong một dung môi không có chất gây sốt, dung dịch natri clorid 0,9 % hoặc một chất lỏng được qui định trong chuyên luận riêng. Làm ấm dung dịch thử lên khoảng 38,5 °C trước khi tiêm. Tiêm chậm dung dịch thử vào tĩnh mạch tai thỏ trong khoảng thời gian không quá 4 min, trừ khi có chỉ dẫn gì khác trong chuyên luận riêng. Lượng mẫu thử được tiêm sẽ thay đổi tùy theo chế phẩm cần kiểm tra và được qui định trong chuyên luận riêng. Thể tích tiêm trong khoảng 0,5 ml/kg cân nặng đến 10 ml/kg cân nặng thỏ.

Theo dõi nhiệt độ và xác định đáp ứng:

Ghi nhiệt độ thỏ 30 min một lần, ít nhất 90 min trước khi tiêm và tiếp tục 3 h sau khi tiêm. Theo dõi nhiệt độ trước khi tiêm, không dùng vào thử nghiệm nếu:

Thỏ có chênh lệch nhiệt độ > 0,2 °C giữa 2 lần ghi liên tiếp, hoặc

Thỏ có nhiệt độ ban đầu cao hơn 39,8 °C hoặc thấp hơn 38 °C, hoặc

Nhiệt độ ban đầu của 3 thỏ trong cùng nhóm khác nhau quá 1 °C.

"Nhiệt độ ban đầu" của mỗi thỏ là trung bình cua 2 giá trị nhiệt độ ghi được cách nhau 30 min, xác định trong khoảng 40 min ngay trước khi tiêm dung dịch thử. "Nhiệt độ tối đa" của mỗi thỏ là nhiệt độ cao nhất ghi được cho thỏ đó trong vòng 3 h sau khi tiêm. Chênh lệch giữa "nhiệt độ ban đầu" và "nhiệt độ tối đa" được gọi là đáp ứng. Khi chênh lệch là âm, kết quả được coi là đáp ứng bằng 0.

Đánh giá kết quả:

Đầu tiên thử trên một nhóm 3 thỏ, tùy thuộc vào kết quả thu được, thử thêm lần lượt từng nhóm 3 thỏ khác cho đến khi tổng cộng 4 nhóm, nếu cần. Nếu tổng đáp ứng của nhóm đầu tiên không vượt quá số ghi trong cột 2 của Bảng 13.4, thì mẫu thử đạt yêu cầu. Nếu tổng đáp ứng vượt quá số ghi trong cột 2 nhưng không vượt quá số ghi trong cột 3 thì lặp lại phép thử trên nhóm khác như đã nêu ở trên. Nếu tổng các đáp ứng lớn hơn số ghi trong cột 3 thì mẫu thử không đạt yêu cầu.

Bảng 13.4

Số thỏ	Mẫu thử đạt nếu tổng đáp ứng không vượt quá	Mẫu thử không đạt nếu tổng đáp ứng vượt quá
(1)	(2)	(3)
3	1,15 °C	2,65 °C
6	2,80 °C	4,30 °C
9	4,45 °C	5,95 °C
12	6,60 °C	6,60 °C

Những thỏ có nhiệt độ tăng cao quá 1,2 °C thì loại và không bao giờ dùng lại cho phép thử chất gây sốt.

13.5 THỬ ĐỘC TÍNH BẤT THƯỜNG

Độc tính bất thường của thuốc được xác định bằng cách theo dõi số chuột chết trong thời gian 48 h sau khi cho chuột một liều thuốc qua đường dùng theo qui định.

Động vật thí nghiệm
Chuột nhắt trắng khoẻ mạnh, cân nặng 18 g đến 22 g, chưa dùng vào thí nghiệm, nếu là chuột cái phải không có thai hoặc đang cho con bú, được chăn nuôi trong điều kiện bình thường.

Chuẩn bị dung dịch thử
Nếu không có hướng dẫn gì khác, chuẩn bị dung dịch thử bằng cách hòa tan mẫu thử trong dung dịch natri clorid 0,9 % hoặc nước cất tiêm (nếu thử theo đường tiêm) hoặc phân tán đều mẫu thử trong nước cất (nếu thử theo đường uống) để thu được dung dịch hoặc hỗn dịch có chứa lượng chất cần thử phù hợp với mức liều qui định trong chuyên luận riêng.

Tiến hành thử
Dùng 5 chuột, cho mỗi con 0,5 ml dung dịch thử bằng một trong những đường dùng sau:
Tiêm tĩnh mạch: Tiêm vào tĩnh mạch đuôi của mỗi chuột với tốc độ hằng định trong 15 s đến 30 s.
Tiêm trong màng bụng: Tiêm qua lớp da bụng vào thẳng hốc bụng chuột.
Tiêm dưới da: Tiêm dưới da vào một chỗ ở lưng hoặc bụng.
Uống: Cho uống bằng một kim cong đầu tù hoặc một dụng cụ khác thích hợp, phải đảm bảo đưa thuốc vào trong thực quản hoặc dạ dày.

Đánh giá kết quả
Nếu không có hướng dẫn gì khác thì quan sát chuột 48 h sau khi dùng thuốc.
Nếu không có chuột nào chết thì mẫu thử đạt yêu cầu.
Nếu có chuột chết, làm lại thử nghiệm với 10 chuột khác, dùng chuột có cân nặng (19 ± 1) g. Sau 48 h, nếu không có chuột nào chết thì mẫu thử đạt yêu cầu.

13.6 THỬ GIỚI HẠN NHIỄM KHUẨN

1. XÁC ĐỊNH TỔNG SỐ VI SINH VẬT

Giới thiệu
Phép thử sau đây cho phép xác định số lượng khuẩn ưa nhiệt trung bình và nấm có thể phát triển được trong điều kiện hiếu khí.
Phép thử nhằm đánh giá chế phẩm thử có đáp ứng tiêu chuẩn chất lượng đã công bố về chỉ tiêu vi sinh hay không. Khi sử dụng phép thử cho mục đích này, cần tuân thủ theo chỉ dẫn dưới đây về số lượng mẫu đem thử, đánh giá kết quả.
Phép thử này không áp dụng được đối với chế phẩm thuốc có thành phần chính là vi sinh vật sống.
Có thể sử dụng qui trình kiểm tra vi sinh khác, bao gồm các phương pháp tự động nếu chứng minh được tính tương đương của chúng với phương pháp ghi trong dược điển.

Qui định chung
Tiến hành phép thử trong điều kiện đảm bảo tránh được sự tạp nhiễm vi sinh vật bên ngoài vào mẫu thử. Các biện pháp phòng tránh tạp nhiễm phải không ảnh hưởng đến bất cứ loài vi sinh vật nào có thể phát hiện được trong mẫu thử. Nếu mẫu thử có chứa chất ức chế vi sinh vật thì cần phải loại bỏ hoặc trung hòa trước khi thử nghiệm. Khi sử dụng chất bất hoạt, cần chứng minh khả năng bất hoạt của chúng và đảm bảo chất bất hoạt đó không chứa độc tố với vi sinh vật. Khi sử dụng chất diện hoạt trong quá trình chuẩn bị mẫu thử, phải đảm bảo chất diện hoạt đó không chứa độc tố với vi sinh vật và chất diện hoạt phải tương thích với chất bất hoạt khác cùng được sử dụng.

Phương pháp xác định tổng số vi sinh vật
Sử dụng phương pháp màng lọc hoặc phương pháp đĩa thạch. Phương pháp MPN (Most Probable Number) nói chung có độ chính xác thấp nhất trong số các phương pháp đếm vi sinh vật, tuy nhiên, với mẫu thử có số lượng vi sinh vật rất thấp thì đây lại là phương pháp phù hợp nhất.
Lựa chọn phương pháp thử dựa trên nhiều yếu tố như bản chất của mẫu thử và giới hạn vi sinh vật cho phép. Phương pháp được lựa chọn phải đảm bảo tiến hành trên lượng mẫu đủ để đánh giá được mẫu thử đáp ứng theo tiêu chuẩn. Cần phải xác định sự phù hợp của phương pháp đã lựa chọn.

Kiểm tra chất lượng môi trường, sự phù hợp của phương pháp đếm, chứng âm tính

Yêu cầu chung
Phải chứng minh phương pháp thử có khả năng phát hiện vi sinh vật khi có mặt mẫu thử.
Phải chứng minh sự phù hợp của phương pháp khi có sự thay đổi trong quá trình tiến hành thử nghiệm hoặc có sự thay đổi về sản phẩm làm ảnh hưởng đến kết quả của phép thử.

Chuẩn bị chủng vi sinh vật
Có thể sử dụng hỗn dịch chủng vi sinh vật ổn định đã được tiêu chuẩn hóa hoặc chuẩn bị như trình bày dưới đây. Kỹ thuật lưu giữ chủng gốc phải đảm bảo vi sinh vật được cấy truyền không quá 5 lần từ giống gốc ban đầu. Cấy các chủng vi sinh vật và nấm riêng rẽ theo Bảng 13.6.1.
Sử dụng dung dịch đệm natri clorid-pepton pH 7,0 hoặc dung dịch đệm phosphat pH 7,2 để pha hỗn dịch chủng vi sinh vật. Để pha hỗn dịch *A. niger*, thêm *polysorbat 80 (TT)* với tỷ lệ 0,05 % vào dung dịch đệm. Hỗn dịch được sử dụng trong vòng 2 h, nếu bảo quản ở 2 °C đến 8 °C thì có thể sử dụng trong vòng 24 h. Ngoài ra, đối với *A. niger* và *B. subtilis*, thay vì chuẩn bị và pha loãng hỗn dịch chủng dạng sinh dưỡng thì có thể sử dụng hỗn dịch bào tử ổn định. Hỗn dịch bào tử được bảo quản ở 2 °C đến 8 °C trong khoảng thời gian đã được thẩm định.

Chứng âm tính
Để đánh giá điều kiện thử nghiệm, tiến hành mẫu chứng âm tính bằng cách sử dụng dung dịch pha loãng thay cho mẫu thử. Mẫu chứng âm tính phải không được có vi sinh vật phát triển. Mẫu chứng âm tính cũng có thể được tiến hành cùng lúc với mẫu thử như mô tả trong phần *Cách tiến hành*. Cần phải xem xét hệ thống kỹ lưỡng khi mẫu chứng âm tính không đạt.

Kiểm tra chất lượng môi trường

Tiến hành kiểm tra chất lượng đối với mỗi lô môi trường pha chế sẵn hoặc mỗi lô môi trường được pha chế từ môi trường khô hay từ các thành phần riêng lẻ.

Cấy riêng rẽ vào môi trường thạch casein đậu tương hay môi trường lỏng casein đậu tương một lượng nhỏ vi sinh vật (không quá 100 CFU) theo chỉ dẫn trong Bảng 13.6.1. Cấy riêng rẽ vào môi trường thạch Sabouraud-dextrose một lượng nhỏ vi sinh vật (không quá 100 CFU) theo chỉ dẫn trong Bảng 13.6.1. Ủ môi trường theo điều kiện ghi trong Bảng 13.6.1.

Bảng 13.6.1- Chuẩn bị và sử dụng chủng vi sinh vật

Vi sinh vật	Chuẩn bị chủng vi sinh vật	Kiểm tra chất lượng môi trường		Sự phù hợp của phương pháp đếm khi có mặt mẫu thử	
		Đếm tổng số vi sinh vật hiếu khí	Đếm tổng số nấm	Đếm tổng số vi sinh vật hiếu khí	Đếm tổng số nấm
Staphylococcus aureus ATCC 6538 NCIMB 9518 CIP 4.83 NBRC 13276	Môi trường thạch casein đậu tương hoặc môi trường lỏng casein đậu tương 30 °C - 35 °C 18 h - 24 h	Môi trường thạch casein đậu tương và môi trường lỏng casein đậu tương ≤ 100 CFU 30 °C - 35 °C ≤ 3 ngày	-	Môi trường thạch casein đậu tương/ MPN môi trường lỏng casein đậu tương ≤ 100 CFU 30 °C - 35 °C ≤ 3 ngày	-
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027 NCIMB 8626 CIP 82.118 NBRC 13275	Môi trường thạch casein đậu tương hoặc môi trường lỏng casein đậu tương 30 °C - 35 °C 18 h - 24 h	Môi trường thạch casein đậu tương và môi trường lỏng casein đậu tương ≤ 100 CFU 30 °C - 35 °C ≤ 3 ngày	-	Môi trường thạch casein đậu tương/ MPN môi trường lỏng casein đậu tương ≤ 100 CFU 30 °C - 35 °C ≤ 3 ngày	-
Bacillus subtilis ATCC 6633 NCIMB 8054 CIP 52.62 NBRC 3134	Môi trường thạch casein đậu tương hoặc môi trường lỏng casein đậu tương 30 °C - 35 °C 18 h - 24 h	Môi trường thạch casein đậu tương và môi trường lỏng casein đậu tương ≤ 100 CFU 30 °C - 35 °C ≤ 3 ngày	-	Môi trường thạch casein đậu tương/ MPN môi trường lỏng casein đậu tương ≤ 100 CFU 30 °C - 35 °C ≤ 3 ngày	-
Candida albicans ATCC 10231 NCPF 3179 IP 48.72 NBRC 1594	Môi trường thạch Sabouraud-dextrose hoặc môi trường lỏng Sabouraud-dextrose 20 °C - 25 °C 2 - 3 ngày	Môi trường thạch casein đậu tương ≤ 100 CFU 30 °C - 35 °C ≤ 5 ngày	Môi trường thạch Sabouraud-dextrose ≤ 100 CFU 20 °C - 25 °C ≤ 5 ngày	Môi trường thạch casein đậu tương ≤ 100 CFU 30 °C - 35 °C ≤ 5 ngày MPN: không áp dụng	Môi trường thạch Sabouraud-dextrose ≤ 100 CFU 20 °C - 25 °C ≤ 5 ngày
Aspergillus niger ATCC 16404 IMI 149007 IP 1431.83 NBRC 9455	Môi trường thạch Sabouraud-dextrose hoặc môi trường thạch khoai tây dextrose 20 °C - 25 °C 5 - 7 ngày, hoặc đến khi thu được bào tử	Môi trường thạch casein đậu tương ≤ 100 CFU 30 °C - 35 °C ≤ 5 ngày	Môi trường thạch Sabouraud-dextrose ≤ 100 CFU 20 °C - 25 °C ≤ 5 ngày	Môi trường thạch casein đậu tương ≤ 100 CFU 30 °C - 35 °C ≤ 5 ngày MPN: không áp dụng	Môi trường thạch Sabouraud-dextrose ≤ 100 CFU 20 °C - 25 °C ≤ 5 ngày

Đối với môi trường thạch, số lượng vi sinh vật phát triển trên lô môi trường mới không được khác quá 2 lần so với số lượng tính được của hỗn dịch chủng đã được tiêu chuẩn hóa. Đối với chủng được pha chế khi dùng, sự phát triển của vi sinh vật trên lô môi trường mới sẽ được so sánh với sự phát triển của vi sinh vật trên lô môi trường đã đạt yêu cầu chất lượng.

Đối với môi trường lỏng, sự phát triển rõ ràng của vi sinh vật trên lô môi trường mới được so sánh với sự phát triển của vi sinh vật trên lô môi trường đã đạt yêu cầu chất lượng.

Kiểm tra sự phù hợp của phương pháp đếm khi có mặt mẫu thử

Chuẩn bị mẫu thử: Phương pháp chuẩn bị mẫu thử phụ thuộc vào tính chất vật lý của mẫu thử. Nếu không thể áp dụng cách nào trong các cách dưới đây, có thể sử dụng biện pháp khác để xử lý mẫu.

Mẫu thử tan trong nước: Hòa tan hoặc pha loãng (thường pha loãng 10 lần) mẫu thử trong dung dịch đệm natri clorid-pepton pH 7,0, dung dịch đệm phosphat pH 7,2 hoặc môi trường lỏng casein đậu tương. Điều chỉnh đến pH 6 đến 8, nếu cần. Có thể pha loãng tiếp nếu cần bằng cùng dung dịch pha loãng.

Mẫu thử có bản chất không phải chất béo, không tan trong nước: Pha loãng mẫu thử (thường pha loãng 10 lần) trong dung dịch đệm natri clorid-pepton pH 7,0, dung dịch đệm phosphat pH 7,2 hoặc môi trường lỏng casein đậu tương. Có thể thêm chất diện hoạt như *polysorbat 80 (TT)* với tỷ lệ 1 g/L để tăng khả năng thấm nước của mẫu thử. Điều chỉnh đến pH 6 đến 8, nếu cần. Có thể pha loãng tiếp nếu cần bằng cùng dung dịch pha loãng.

Mẫu thử có bản chất là chất béo: Hòa mẫu thử trong *isopropyl myristat (TT)* đã được tiệt khuẩn trước bằng cách lọc qua màng lọc hoặc trộn mẫu thử với lượng nhỏ nhất có thể *polysorbat 80 (TT)* vô khuẩn hoặc một chất diện hoạt khác không có tính ức chế, làm nóng nếu cần ở nhiệt độ không quá 40 °C, trong một số ít trường hợp có thể sử dụng nhiệt độ không quá 45 °C. Trộn cẩn thận và nếu cần có thể duy trì trong bể ổn nhiệt. Thêm vừa đủ lượng dung dịch pha loãng đã được làm ấm sẵn để thu được độ pha loãng 10 lần. Duy trì nhiệt độ trong thời gian ngắn nhất và trộn cẩn thận để thu được nhũ dịch. Có thể tiếp tục pha loãng theo cấp số 10, trong đó dung dịch pha loãng được bổ sung *polysorbat 80 (TT)* hoặc chất diện hoạt không có tính ức chế khác với nồng độ thích hợp.

Dung dịch hoặc chất rắn dưới dạng aerosol: Chuyển mẫu thử lên màng lọc trong điều kiện vô khuẩn hoặc chuyển sang bình chứa vô khuẩn để tiếp tục lấy mẫu. Có thể sử dụng toàn bộ lượng mẫu hoặc một số liều nhất định từ các đơn vị đóng gói đem thử.

Thuốc dán: Loại bỏ lớp bảo vệ bên ngoài và đặt miếng dán (mặt dính ngửa lên trên) vào bình vô khuẩn. Phủ lên bề mặt miếng dán một loại vật liệu xốp vô khuẩn, ví dụ tấm gạc vô khuẩn, để tránh cho các miếng dán dính vào nhau và cho vào miếng dán một lượng dung dịch pha loãng thích hợp có chứa chất bất hoạt như *polysorbat 80 (TT)* và/hoặc lecithin. Lắc kỹ ít nhất 30 min.

Cấy chủng và pha loãng:

Thêm vào mẫu thử đã được xử lý như mô tả ở phần *Chuẩn bị mẫu thử* của mục *Kiểm tra sự phù hợp của phương pháp đếm khi có mặt mẫu thử* và thêm vào ống chứng (không có mẫu thử) một lượng hỗn dịch vi sinh vật có chứa không quá 100 CFU. Thể tích của hỗn dịch vi sinh vật không được vượt quá 1 % thể tích mẫu thử đã được pha loãng.

Để đánh giá độ phục hồi của vi sinh vật khi có mặt mẫu thử, tiến hành pha loãng mẫu thử ít nhất có thể. Nếu không thể pha loãng ít nhất do bản thân mẫu thử có tác dụng ức chế vi sinh vật hoặc mẫu thử khó tan trong nước, cần áp dụng các biện pháp phù hợp hơn. Nếu không thể loại bỏ được tác dụng ức chế vi sinh vật của mẫu thử, nên thêm hỗn dịch vi sinh vật vào mẫu thử sau khi đã trung hòa, pha loãng hoặc lọc mẫu thử.

Trung hòa/loại bỏ tác dụng của chất ức chế:

So sánh số lượng vi sinh vật hồi phục sau khi pha loãng như mô tả trong phần *Cấy chủng và pha loãng* và ủ như qui định trong phần *Hồi phục vi sinh vật khi có mặt mẫu thử* với số lượng vi sinh vật hồi phục của ống chứng.

Nếu có sự ức chế vi sinh vật phát triển (số lượng vi sinh vật giảm quá 2 lần), thì phải thay đổi qui trình đếm số lượng vi sinh vật để khẳng định tính có giá trị của thử nghiệm. Sự thay đổi này có thể là: (1) tăng thể tích dung dịch pha loãng hoặc môi trường nuôi cấy, (2) phối hợp chất trung hòa đặc hiệu hoặc chất trung hòa phổ biến trong dung dịch pha loãng, (3) áp dụng phương pháp màng lọc, (4) phối hợp các biện pháp nêu trên.

Chất trung hòa:

Một số chất được dùng để trung hòa tác dụng của chất ức chế vi sinh vật (Bảng 13.6.2) được thêm vào dung dịch pha loãng hoặc môi trường nuôi cấy trước khi hấp tiệt khuẩn. Trước khi sử dụng, phải tiến hành một mẫu trắng có chất trung hòa, không có mẫu thử để khẳng định hoạt tính của chất trung hòa và khẳng định chất trung hòa không có độc tính đối với vi sinh vật.

Bảng 13.6.2 - Một số chất trung hòa thông dụng

Chất ức chế	Chất/phương pháp trung hòa
Glutaraldehyd, dẫn chất thủy ngân	Natri hydrosulfit (Natri bisulfit)
Dẫn chất phenol, alcohol, các aldehyd, sorbat	Pha loãng
Các aldehyd	Glycin
Dẫn chất amoni bậc 4, parahydroxybenzoat (các paraben), bis-biguanid	Lecithin
Dẫn chất amoni bậc 4, iod, các paraben	Polysorbat
Dẫn chất thủy ngân	Thioglycolat
Dẫn chất thủy ngân, các halogen, các aldehyd	Thiosulfat
EDTA (edetat)	ion Mg^{2+} hoặc ion Ca^{2+}

Nếu không tìm được phương pháp trung hòa phù hợp, có thể thấy việc không phân lập được vi sinh vật đã cấy vào mẫu thử cho thấy bản chất mẫu thử có tác dụng ức chế. Điều này cho thấy mẫu thử sẽ không có khả năng bị tạp nhiễm các vi sinh vật đã thử. Tuy nhiên, rất có thể mẫu thử chỉ ức chế một số vi sinh vật đã thử mà không ức chế vi sinh vật ngoài danh mục các vi sinh vật đã thử. Khi đó, tiến hành thử nghiệm với độ pha loãng cao nhất tương thích với sự phát triển vi sinh vật và phù hợp với giới hạn nhiễm khuẩn cho phép của mẫu thử.

Hồi phục vi sinh vật khi có mặt mẫu thử: Đối với mỗi vi sinh vật được liệt kê trong Bảng 13.6.1, tiến hành các thí nghiệm riêng rẽ. Chỉ đếm vi sinh vật được cho vào mẫu thử.

• Phương pháp màng lọc:

Sử dụng màng lọc có kích thước lỗ lọc không quá 0,45 µm. Bản chất màng lọc được lựa chọn sao cho khả năng lưu giữ vi sinh vật không bị ảnh hưởng bởi các thành phần của mẫu thử. Đối với mỗi loại vi sinh vật được ghi trong Bảng 13.6.1, sử dụng một màng lọc riêng.

Chuyển một lượng phù hợp mẫu thử (thường là lượng tương đương với 1 g hoặc 1 ml mẫu thử, hoặc lượng mẫu nhỏ hơn nếu dự đoán chứa nhiều vi sinh vật) đã được xử lý theo phần *Chuẩn bị mẫu thử, Cấy chủng và pha loãng, Trung hòa/loại bỏ tác dụng của chất ức chế* lên màng lọc, lọc ngay và rửa màng lọc với thể tích thích hợp của dung dịch pha loãng.

Để đếm tổng số vi sinh vật hiếu khí, chuyển màng lọc lên bề mặt đĩa môi trường thạch casein đậu tương. Để đếm tổng số nấm, chuyển màng lọc lên bề mặt đĩa môi trường thạch Sabouraud-dextrose. Ủ các đĩa môi trường theo điều kiện ghi ở Bảng 13.6.1. Sau đó đếm số lượng khuẩn lạc.

• Phương pháp đĩa thạch:

Với mỗi loại môi trường, tiến hành trên ít nhất 2 đĩa Petri và tính kết quả trung bình.

Phương pháp cấy trộn: Sử dụng đĩa Petri đường kính 9 cm, thêm vào mỗi đĩa 1 ml mẫu thử đã được xử lý theo phần *Chuẩn bị mẫu thử, Cấy chủng và pha loãng, Trung hòa/loại bỏ tác dụng của chất ức chế* và 15 ml đến 20 ml môi trường thạch casein đậu tương hoặc môi trường thạch Sabouraud-dextrose, cả hai môi trường có nhiệt độ không quá 45 °C. Nếu sử dụng đĩa Petri có đường kính lớn hơn, thể tích môi trường phải tăng lên cho phù hợp. Đối với mỗi loại vi sinh vật được ghi trong Bảng 13.6.1, sử dụng ít nhất 2 đĩa Petri. Ủ các đĩa môi trường theo điều kiện ghi ở Bảng 13.6.1. Tính trung bình số lượng khuẩn lạc đếm được đối với mỗi loại môi trường và từ đó tính ra số lượng vi sinh vật trong dịch cấy ban đầu.

Phương pháp cấy trải bề mặt: Sử dụng đĩa Petri đường kính 9 cm, thêm vào mỗi đĩa 15 ml đến 20 ml môi trường thạch casein đậu tương hoặc môi trường thạch Sabouraud-dextrose ở nhiệt độ khoảng 45 °C và để môi trường đông. Nếu sử dụng đĩa Petri có đường kính lớn hơn, thể tích môi trường phải tăng lên cho phù hợp. Làm khô đĩa, ví dụ trong buồng thổi khí sạch (laminar air flow) hoặc tủ ấm. Đối với mỗi loại vi sinh vật được ghi trong Bảng 13.6.1, sử dụng ít nhất 2 đĩa Petri. Trải lên bề mặt đĩa môi trường thể tích không dưới 0,1 ml mẫu thử đã được xử lý theo phần *Chuẩn bị mẫu thử, Cấy chủng và pha loãng, Trung hòa/loại bỏ tác dụng của chất ức chế*. Ủ và đếm số lượng khuẩn lạc giống mục Phương pháp cấy trộn.

• Phương pháp MPN (Most Probable Number):

Phương pháp MPN có độ chính xác và độ đúng kém hơn so với phương pháp màng lọc hoặc phương pháp đĩa thạch. Kết quả đếm tổng số nấm bằng phương pháp MPN càng cho sai số nhiều hơn. Chính vì vậy, phương pháp MPN chỉ được sử dụng khi không thể áp dụng phương pháp nào khác. Nếu sử dụng phương pháp MPN, cần tuân thủ các bước sau.

Chuẩn bị ít nhất 3 nồng độ pha loãng 10 lần của mẫu thử đã được xử lý như phần *Chuẩn bị mẫu thử, Cấy chủng và pha loãng, Trung hòa/loại bỏ tác dụng của chất ức chế*. Đối với mỗi độ pha loãng, cấy 1 g hoặc 1 ml vào 3 ống nghiệm có chứa 9 ml đến 10 ml môi trường lỏng casein đậu tương. Nếu cần, có thể thêm chất diện hoạt như *polysorbat 80 (TT)* hoặc các chất bất hoạt phù hợp khác vào môi trường. Như vậy, có tất cả 9 ống nghiệm cho 3 mức nồng độ pha loãng của mẫu thử.

Ủ tất cả các ống nghiệm trên ở 30 °C đến 35 °C trong không quá 3 ngày. Nếu không thể đọc kết quả chính xác do bản chất mẫu thử gây khó khăn cho việc quan sát sự phát triển của vi sinh vật thì cấy chuyển sang môi trường lỏng casein đậu tương hoặc môi trường thạch casein đậu tương, ủ tiếp ở nhiệt độ như trên trong 1 ngày đến 2 ngày, sau đó đọc kết quả. Xác định chỉ số MPN trong 1 g hoặc 1 ml mẫu thử theo Bảng 13.6.3.

Kết quả và đánh giá

Khi đánh giá sự phù hợp của phương pháp màng lọc hoặc phương pháp đĩa thạch, giá trị trung bình đếm được của các sinh vật thử phải không được khác quá 2 lần so với kết quả của ống chứng không chứa mẫu thử thu được theo phần *Cấy chủng và pha loãng*. Khi đánh giá sự phù hợp của phương pháp MPN, giá trị MPN phải nằm trong khoảng tin cậy 95 % của kết quả thu được của ống chứng. Nếu các yêu cầu trên không đáp ứng đối với một hoặc nhiều loại vi sinh vật đem thử ở tất cả phương pháp thử thì lựa chọn phương pháp và điều kiện thử nào có đáp ứng gần nhất yêu cầu trên.

Cách tiến hành

Lượng mẫu thử dùng cho thử nghiệm

Trừ khi có chỉ dẫn riêng, lấy 10 g hoặc 10 ml mẫu thử để tiến hành thử nghiệm trong điều kiện đảm bảo như đã đề cập ở trên. Đối với thuốc khí dung chứa dung dịch hoặc chất rắn, tiến hành thử trên 10 đơn vị đóng gói. Đối với thuốc dán, tiến hành thử trên 10 miếng dán.

Lượng mẫu thử nghiệm có thể giảm xuống tuỳ theo lượng dược chất chính được đưa vào chế phẩm trong các trường hợp sau: Khối lượng dược chất chính không quá 1 mg trong 1 đơn vị (1 viên nén, 1 nang, 1 ống hoặc lọ thuốc tiêm...) hoặc khối lượng dược chất chính trong 1 g hoặc 1 ml mẫu thử (đối với dạng chế phẩm đa liều) nhỏ hơn

1 mg. Trong những trường hợp này, lượng mẫu thử nghiệm phải không được nhỏ hơn lượng mẫu có trong 10 đơn vị đóng gói hoặc 10 g hoặc 10 ml mẫu thử.

Đối với mẫu thử là nguyên liệu nhưng có khối lượng rất hạn chế hoặc cỡ lô quá nhỏ (dưới 1000 ml hoặc 1000 g), lượng mẫu thử nghiệm bằng 1 % cỡ lô, một số trường hợp lượng mẫu thử có thể nhỏ hơn và phải có qui định cụ thể.

Đối với mẫu thử mà tổng số đơn vị trong một lô dưới 200 (ví dụ mẫu thử nghiệm lâm sàng), có thể tiến hành thử nghiệm trên 2 đơn vị, trường hợp cỡ lô nhỏ hơn 100 đơn vị, có thể tiến hành thử nghiệm trên 1 đơn vị.

Lấy mẫu nguyên liệu hoặc mẫu thử một cách ngẫu nhiên. Để thu được đủ lượng mẫu theo yêu cầu, có thể phải trộn đều mẫu thử lấy từ các đơn vị đóng gói khác nhau.

Tiến hành

Phương pháp màng lọc:

Sử dụng dụng cụ lọc được thiết kế phù hợp, cho phép có thể chuyển màng lọc vào môi trường nuôi cấy. Sử dụng phương pháp phù hợp theo mục *Kiểm tra chất lượng môi trường, sự phù hợp của phương pháp đếm, chứng âm tính* để chuẩn bị mẫu thử, và chuyển lượng mẫu thích hợp lên 2 màng lọc và tiến hành lọc ngay. Rửa màng lọc bằng qui trình phù hợp.

Để đếm tổng số vi sinh vật hiếu khí, chuyển một màng lọc lên bề mặt môi trường thạch casein đậu tương. Để đếm tổng số nấm, chuyển một màng lọc lên bề mặt môi trường thạch Sabouraud-dextrose.

Ủ đĩa chứa môi trường thạch casein đậu tương ở 30 °C đến 35 °C trong 3 ngày đến 5 ngày và ủ đĩa chứa môi trường thạch Sabouraud-dextrose ở 20 °C đến 25 °C trong 5 ngày đến 7 ngày. Tính số CFU (Colony Forming Unit) trong 1 g hoặc 1 ml mẫu thử.

Khi thử nghiệm với thuốc đán, lọc riêng rẽ 10 % thể tích mẫu thử được chuẩn bị theo phần *Chuẩn bị mẫu thử* của mục *Kiểm tra sự phù hợp của phương pháp đếm khi có mặt mẫu thử* trên 2 màng lọc vô khuẩn. Chuyển một màng lọc lên bề mặt môi trường thạch casein đậu tương để đếm tổng số vi sinh vật hiếu khí và chuyển màng lọc còn lại lên bề mặt môi trường thạch Sabouraud-dextrose để đếm tổng số nấm.

Phương pháp đĩa thạch:

a) Phương pháp cấy trộn:

Sử dụng phương pháp phù hợp theo mục *Kiểm tra chất lượng môi trường, sự phù hợp của phương pháp đếm, chứng âm tính* để chuẩn bị mẫu thử. Tiến hành với ít nhất 2 đĩa Petri cho mỗi loại môi trường ở mỗi nồng độ pha loãng. Ủ đĩa chứa môi trường thạch casein đậu tương ở 30 °C đến 35 °C trong 3 ngày đến 5 ngày và ủ đĩa chứa môi trường thạch Sabouraud-dextrose ở 20 °C đến 25 °C trong 5 ngày đến 7 ngày. Chọn các đĩa của một nồng độ pha loãng nhất định mà tại nồng độ pha loãng đó, số khuẩn lạc thu được là cao nhất và nhỏ hơn 250 đối với đĩa đếm tổng số vi sinh vật hiếu khí và nhỏ hơn 50 đối với đĩa đếm tổng số nấm. Từ đó tính giá trị trung bình đối với mỗi loại môi trường và tính số CFU trong 1 g hoặc 1 ml mẫu thử.

Bảng 13.6.3 - Số lượng vi sinh vật lớn nhất có thể có trong chế phẩm

Số ống nghiệm có sự phát triển của vi sinh vật Số g hoặc ml mẫu thử cho mỗi ống			Số lượng vi sinh vật lớn nhất có thể có trong 1 g hoặc 1 ml	Độ tin cậy 95 %
0,1	0,01	0,001		
0	0	0	<3	0 – 9,4
0	0	1	3	0,1 – 9,5
0	1	0	3	0,1 – 10
0	1	1	6,1	1,2 – 17
0	2	0	6,2	1,2 – 17
0	3	0	9,4	3,5 – 35
1	0	0	3,6	0,2 – 17
1	0	1	7,2	1,2 – 17
1	0	2	11	4 – 35
1	1	0	7,4	1,3 – 20
1	1	1	11	4 – 35
1	2	0	11	4 – 35
1	2	1	15	5 – 38
1	3	0	16	5 – 38
2	0	0	9,2	1,5 – 35
2	0	1	14	4 – 35
2	0	2	20	5 – 38
2	1	0	15	4 – 38
2	1	1	20	5 – 38
2	1	2	27	9 – 94
2	2	0	21	5 – 40
2	2	1	28	9 – 94
2	2	2	35	9 – 94
2	3	0	29	9 – 94
2	3	1	36	9 – 94
3	0	0	23	5 – 94
3	0	1	38	9 – 104
3	0	2	64	16 – 181
3	1	0	43	9 – 181
3	1	1	75	17 – 199
3	1	2	120	30 – 360
3	1	3	160	30 – 380
3	2	0	93	18 – 360
3	2	1	150	30 – 380
3	2	2	210	30 – 400
3	2	3	290	90 – 990
3	3	0	240	40 – 990
3	3	1	460	90 – 1980
3	3	2	1100	200 – 4000
3	3	3	>1100	

b) Phương pháp cấy trải bề mặt:
Sử dụng phương pháp phù hợp theo mục *Kiểm tra chất lượng môi trường, sự phù hợp của phương pháp đếm, chứng âm tính* để chuẩn bị mẫu thử. Tiến hành với ít nhất 2 đĩa Petri cho mỗi loại môi trường ở mỗi nồng độ pha loãng. Điều kiện ủ và cách tính kết quả giống phương pháp cấy trộn.
Phương pháp MPN:
Sử dụng phương pháp phù hợp theo mục *Kiểm tra chất lượng môi trường, sự phù hợp của phương pháp đếm, chứng âm tính* để chuẩn bị mẫu thử. Ủ tất cả các ống nghiệm ở 30 °C đến 35 °C trong 3 ngày đến 5 ngày. Có thể cấy chuyển nếu cần theo qui trình phù hợp. Tại mỗi nồng độ pha loãng, ghi lại số lượng ống nghiệm có vi sinh vật phát triển. Xác định số lượng vi sinh vật trong 1 g hoặc 1 ml mẫu thử theo Bảng 13.6.3.

Đánh giá kết quả
Tổng số vi sinh vật hiếu khí được coi là số khuẩn lạc đếm được trên môi trường thạch casein đậu tương. Khuẩn lạc nấm phát hiện được trên môi trường này cũng được coi là một phần của tổng số vi sinh vật hiếu khí. Tổng số nấm được coi là số khuẩn lạc đếm được trên môi trường thạch Sabouraud-dextrose. Khi tổng số nấm vượt quá giới hạn chấp nhận của mẫu thử do vi khuẩn mọc trên môi trường này, có thể thêm kháng sinh vào môi trường thạch Sabouraud-dextrose (ví dụ 50 mg cloramphenicol vào 1 L môi trường trước khi hấp tiệt khuẩn). Số lượng vi sinh vật đếm được bằng phương pháp MPN được coi là tổng số vi sinh vật hiếu khí. Nếu không thấy có khuẩn lạc mọc trên đĩa có độ pha loãng 1/10 thì kết luận chế phẩm có ít hơn 10 CFU trong 1 g hoặc 1 ml.
Dựa vào giới hạn nhiễm khuẩn cho phép, có thể đánh giá như sau:
10^1 CFU: Số lượng tối đa được chấp nhận = 20;
10^2 CFU: Số lượng tối đa được chấp nhận = 200;
10^3 CFU: Số lượng tối đa được chấp nhận = 2000 và cứ tiếp tục như vậy.
Các dung dịch và môi trường nuôi cấy được liệt kê trong mục *Dung dịch pha loãng và môi trường*.

2. XÁC ĐỊNH VI SINH VẬT GÂY BỆNH

Giới thiệu
Phép thử sau đây cho phép xác định sự không hiện diện hoặc hiện diện với số lượng hạn chế của một số vi sinh vật gây bệnh trong mẫu thử dưới những điều kiện đã qui định. Phép thử nhằm đánh giá chế phẩm thử có đáp ứng tiêu chuẩn chất lượng đã công bố về chỉ tiêu vi sinh vật hay không. Khi sử dụng phép thử cho mục đích này, cần tuân thủ theo chỉ dẫn phía dưới về số lượng mẫu đem thử, đánh giá kết quả.
Có thể sử dụng qui trình xác định vi sinh vật khác, bao gồm cả các phương pháp tự động, khi chứng minh được tính tương đương của chúng với phương pháp ghi trong dược điển.

Qui định chung
Chuẩn bị mẫu thử theo mô tả ở phần *Chuẩn bị mẫu thử*.
Nếu mẫu thử có chứa chất ức chế vi sinh vật, cần loại bỏ hoặc trung hòa chất ức chế như mô tả trong phần *Trung hòa/loại bỏ tác dụng của chất ức chế*.
Khi sử dụng chất diện hoạt trong quá trình chuẩn bị mẫu thử, phải đảm bảo chất diện hoạt đó không chứa độc tố với vi sinh vật và chất diện hoạt phải tương thích với chất bất hoạt khác cùng được sử dụng như mô tả trong phần *Trung hòa/loại bỏ tác dụng của chất ức chế*.

Kiểm tra chất lượng môi trường, sự phù hợp của phương pháp, chứng âm tính
Phải chứng minh phương pháp thử có khả năng phát hiện vi sinh vật khi có mặt mẫu thử.
Phải chứng minh sự phù hợp của phương pháp khi có sự thay đổi trong quá trình tiến hành thí nghiệm hoặc có sự thay đổi về sản phẩm làm ảnh hưởng đến kết quả của phép thử.

Chuẩn bị chủng vi sinh vật
Có thể sử dụng hỗn dịch chủng vi sinh vật ổn định đã được tiêu chuẩn hóa hoặc chuẩn bị như trình bày dưới đây. Kỹ thuật lưu giữ chủng gốc phải đảm bảo vi sinh vật được cấy truyền không quá 5 lần từ giống gốc ban đầu.
Chủng vi sinh vật hiếu khí:
Cấy chủng vi sinh vật thử nghiệm riêng rẽ trên môi trường lỏng casein đậu tương hoặc môi trường thạch casein đậu tương và ủ ở 30 °C đến 35 °C trong 18 h đến 24 h. Cấy chủng *Candida albicans* riêng rẽ trên môi trường thạch Sabouraud-dextrose hoặc môi trường lỏng Sabouraud-dextrose và ủ ở 20 °C đến 25 °C trong 2 ngày đến 3 ngày.
Staphylococcus aureus ATCC 6538, NCIMB 9518, CIP 4.83 hoặc NBRC 13276
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027, NCIMB 8626, CIP 82.118 hoặc NBRC 13275
Escherichia coli ATCC 8739, NCIMB 8545, CIP 53.126, hoặc NBRC 3972
Salmonella enterica subsp. *enterica* serovar Typhimurium ATCC 14028 hoặc có thể thay thế bằng *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Abony NBRC 100797, NCTC 6017, hoặc CIP 80.39
Candida albicans ATCC 10231, NCPF 3179, IP 48.72 hoặc NBRC 1594.
Sử dụng dung dịch đệm natri clorid-pepton pH 7,0 hoặc dung dịch đệm phosphat pH 7,2 để pha hỗn dịch chủng vi sinh vật. Hỗn dịch được sử dụng trong vòng 2 h, nếu bảo quản ở 2 °C đến 8 °C thì có thể sử dụng trong vòng 24 h.
Clostridia:
Sử dụng chủng *Clostridium sporogenes* ATCC 11437 (NBRC 14293, NCIMB 12343, CIP 100651) hoặc ATCC 19404 (NCTC 532 hoặc CIP 79.3). Cấy chủng Clostridia trên môi trường tăng sinh cho Clostridia và ủ trong điều kiện kỵ khí ở 30 °C đến 35 °C trong 24 h đến 48 h. Ngoài ra, thay vì chuẩn bị chủng *Cl. sporogenes* dạng sinh dưỡng

như ở trên, có thể sử dụng hỗn dịch bào tử ổn định. Hỗn dịch bào tử được bảo quản ở 2 °C đến 8 °C trong khoảng thời gian đã được thẩm định.

Chứng âm tính

Để đánh giá điều kiện thử nghiệm, tiến hành mẫu chứng âm tính bằng cách sử dụng dung dịch pha loãng thay cho mẫu thử. Mẫu chứng âm tính phải không được có sự phát triển của vi sinh vật. Mẫu chứng âm tính cũng có thể được tiến hành cùng lúc với mẫu thử như mô tả trong mục *Cách tiến hành*. Cần phải xem xét hệ thống kỹ lưỡng khi mẫu chứng âm tính không đạt.

Kiểm tra chất lượng môi trường

Tiến hành kiểm tra chất lượng đối với mỗi lô môi trường pha chế sẵn hoặc mỗi lô môi trường được pha chế từ môi trường khô hay từ các thành phần riêng lẻ.

Kiểm tra chất lượng môi trường theo chỉ dẫn trong Bảng 13.6.4.

Thử nghiệm kiểm tra khả năng kích thích sự phát triển vi sinh vật của môi trường lỏng:

Cấy vào môi trường lỏng một lượng nhỏ vi sinh vật phù hợp (không quá 100 CFU). Ủ ở nhiệt độ xác định trong thời gian không lâu hơn khoảng thời gian ngắn nhất mà phép thử qui định. Vi sinh vật phát triển tốt, rõ ràng trên lô môi trường mới khi so sánh với sự phát triển của vi sinh vật trên lô môi trường đã đạt yêu cầu chất lượng.

Bảng 13.6.4 - Kiểm tra chất lượng môi trường

	Môi trường	Tính chất	Chủng thử nghiệm
Vi khuẩn Gram âm dung nạp mật	Môi trường lỏng tăng sinh Enterobacteria-Mossel	Kích thích sự phát triển	*E. coli* *P. aeruginosa*
		Ức chế sự phát triển	*S. aureus*
	Môi trường thạch muối mật tím đỏ	Kích thích sự phát triển và đặc hiệu	*E. coli* *P. aeruginosa*
Escherichia coli	Môi trường lỏng MacConkey	Kích thích sự phát triển	*E. coli*
		Ức chế sự phát triển	*S. aureus*
	Môi trường thạch MacConkey	Kích thích sự phát triển và đặc hiệu	*E. coli*
Salmonella	Môi trường lỏng tăng sinh *Salmonella* Rappaport Vassiliadis	Kích thích sự phát triển	*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhimurium* hoặc *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Abony
		Ức chế sự phát triển	*S. aureus*
	Môi trường thạch Xylose Lysin Deoxycholat	Kích thích sự phát triển và đặc hiệu	*Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar *Typhimurium* hoặc *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar Abony
Pseudomonas aeruginosa	Môi trường thạch Cetrimid	Kích thích sự phát triển	*P. aeruginosa*
		Ức chế sự phát triển	*E. coli*
Staphylococcus aureus	Môi trường thạch muối Mannitol	Kích thích sự phát triển và đặc hiệu	*S. aureus*
		Ức chế sự phát triển	*E. coli*
Clostridia	Môi trường tăng sinh cho Clostridia	Kích thích sự phát triển	*Cl. sporogenes*
	Môi trường thạch Columbia	Kích thích sự phát triển	*Cl. sporogenes*
Candida albicans	Môi trường lỏng Sabouraud-dextrose	Kích thích sự phát triển	*C. albicans*
	Môi trường thạch Sabouraud-dextrose	Kích thích sự phát triển và đặc hiệu	*C. albicans*

Thử nghiệm kiểm tra khả năng kích thích sự phát triển vi sinh vật của môi trường đặc:
Dùng kĩ thuật cấy trải bề mặt, cấy vào mỗi đĩa môi trường đặc một lượng nhỏ vi sinh vật phù hợp (không quá 100 CFU). Ủ ở nhiệt độ xác định trong thời gian không lâu hơn khoảng thời gian ngắn nhất mà phép thử qui định. So sánh sự phát triển của vi sinh vật trên lô môi trường mới với sự phát triển của vi sinh vật trên lô môi trường đã đạt yêu cầu chất lượng.
Thử nghiệm kiểm tra khả năng ức chế sự phát triển vi sinh vật của môi trường lỏng và đặc:
Cấy vào môi trường loại vi sinh vật phù hợp với lượng ít nhất là 100 CFU. Ủ ở nhiệt độ xác định trong thời gian không ít hơn khoảng thời gian dài nhất mà phép thử qui định. Vi sinh vật phải không phát triển trên môi trường.
Thử nghiệm kiểm tra tính đặc hiệu của môi trường:
Dùng kĩ thuật cấy trải bề mặt, cấy vào mỗi đĩa môi trường một lượng nhỏ vi sinh vật phù hợp (không quá 100 CFU). Ủ ở nhiệt độ xác định trong thời gian mà phép thử qui định. So sánh hình thái khuẩn lạc và phản ứng đặc hiệu của vi sinh vật trên lô môi trường mới với hình thái khuẩn lạc và phản ứng đặc hiệu của vi sinh vật trên lô môi trường đã đạt yêu cầu chất lượng.

Sự phù hợp của phương pháp thử

Đối với mỗi mẫu thử, tiến hành chuẩn bị mẫu thử như mô tả trong mục *Cách tiến hành*. Cấy chủng vi sinh vật chứng vào môi trường nuôi cấy tại thời điểm trộn mẫu thử vào môi trường. Cấy các chủng vi sinh vật một cách riêng rẽ. Số lượng vi sinh vật được cấy vào mẫu thử với lượng không quá 100 CFU.
Tiến hành thử nghiệm như mô tả trong mục *Cách tiến hành* và ủ trong thời gian ngắn nhất mà phép thử qui định. Vi sinh vật gây bệnh được phát hiện bằng các phản ứng đặc hiệu được mô tả trong mục *Cách tiến hành*.
Nếu bản chất mẫu thử có tính ức chế vi sinh vật, cần thay đổi qui trình thử cho phù hợp (xem phần *Trung hòa/loại bỏ tác dụng của chất ức chế*).
Với mẫu thử có tính ức chế vi sinh vật nhưng phương pháp đã thử không thể trung hòa hoạt tính ức chế này được thì mẫu thử được coi là không bị nhiễm các vi sinh vật đã được thử nghiệm.

Cách tiến hành

Vi khuẩn Gram âm dung nạp mật

Chuẩn bị mẫu thử và tiền ủ:
Lấy không dưới 1 g hoặc 1 ml mẫu thử, pha loãng 10 lần như mô tả trong phần *Chuẩn bị mẫu thử* mục *Kiểm tra sự phù hợp của phương pháp đếm khi có mặt mẫu thử* chỉ khác là dùng môi trường lỏng casein đậu tương thay cho dung dịch pha loãng, trộn đều và ủ ở 20 °C đến 25 °C trong một thời gian thích hợp để phục hồi lại vi khuẩn mà không làm tăng số lượng vi khuẩn (thường từ 2 h đến không quá 5 h).
Phát hiện vi khuẩn:
Trừ khi có chỉ dẫn riêng, chuyển một thể tích tương đương với 1 g hoặc 1 ml mẫu thử được chuẩn bị ở phần *Chuẩn bị mẫu thử và tiền ủ* vào 100 ml môi trường lỏng tăng sinh Enterobacteria-Mossel. Ủ ở 30 °C đến 35 °C trong 24 h đến 48 h. Cấy chuyển lên môi trường thạch muối mật tím đỏ. Ủ ở 30 °C đến 35 °C trong 18 h đến 24 h.
Mẫu thử không có *Enterobacteria* nếu không thấy khuẩn lạc mọc trên môi trường.
Đánh giá số lượng:
Phân lập và cấy chuyển: Cấy lượng mẫu thử đã được chuẩn bị theo phần *Chuẩn bị mẫu thử và tiền ủ* tương ứng chứa 0,1 g; 0,01 g và 0,001 g hoặc 0,1 ml; 0,01 ml và 0,001 ml vào thể tích thích hợp môi trường lỏng tăng sinh Enterobacteria-Mossel. Ủ ở 30 °C đến 35 °C trong 24 h đến 48 h. Cấy chuyển từ mỗi ống môi trường trên sang môi trường thạch muối mật tím đỏ. Ủ ở 30 °C đến 35 °C trong 18 h đến 24 h.
Đánh giá kết quả: Khuẩn lạc mọc trên môi trường chứng tỏ kết quả dương tính. Ghi lượng nhỏ nhất của chế phẩm mà ở đó cho kết quả dương tính và lượng lớn nhất của chế phẩm mà ở đó cho kết quả âm tính. Xác định số lượng vi khuẩn theo Bảng 13.6.5.

Bảng 13.6.5 - Đánh giá kết quả

Kết quả đối với mỗi lượng sản phẩm			Số vi khuẩn có trong 1 gam hoặc 1 ml sản phẩm
0,1 g hoặc 0,1 ml	**0,01 g hoặc 0,01 ml**	**0,001 g hoặc 0,001 ml**	
+	+	+	$> 10^3$
+	+	-	$< 10^3$ và $> 10^2$
+	-	-	$< 10^2$ và > 10
-	-	-	< 10

Escherichia coli

Chuẩn bị mẫu thử và tiền ủ:
Lấy không dưới 1 g hoặc 1 ml, pha loãng 10 lần như mô tả trong phần *Chuẩn bị mẫu thử* mục *Kiểm tra sự phù hợp của phương pháp đếm khi có mặt mẫu thử*. Cấy 10 ml hoặc một lượng tương ứng với 1 g hoặc 1 ml mẫu thử vào một thể tích phù hợp môi trường lỏng casein đậu tương, trộn đều và ủ ở 30 °C đến 35 °C trong 18 h đến 24 h.
Phân lập và cấy chuyển:
Lắc bình môi trường lỏng casein đậu tương, cấy chuyển 1 ml môi trường lỏng casein đậu tương sang 100 ml môi trường lỏng MacConkey và ủ ở 42 °C đến 44 °C trong 24 h đến 48 h. Tiếp tục cấy chuyển sang dĩa môi trường thạch MacConkey và ủ ở 30 °C đến 35 °C trong 18 h đến 72 h.
Đánh giá kết quả:
Khuẩn lạc mọc trên môi trường cho thấy mẫu thử có thể có *E. coli*. Tiếp tục xác định bằng nhiều phản ứng sinh hóa khác.
Mẫu thử không có *E. coli* nếu không có khuẩn lạc mọc trên môi trường hoặc các phản ứng sinh hóa để xác định *E. coli* có kết quả âm tính.

Salmonella

Chuẩn bị mẫu thử và tiền ủ:

Lấy lượng mẫu thử đã xử lý như mô tả trong phần *Chuẩn bị mẫu thử* mục *Kiểm tra sự phù hợp của phương pháp đếm khi có mặt mẫu thử* tương ứng với 10 g hoặc 10 ml mẫu thử và cấy vào một thể tích phù hợp môi trường lỏng casein đậu tương, trộn đều và ủ ở 30 °C đến 35 °C trong 18 h đến 24 h.

Phân lập và cấy chuyển:

Cấy chuyển 0,1 ml môi trường lỏng casein đậu tương sang 10 ml môi trường tăng sinh *Salmonella* Rappaport Vassiliadis và ủ ở 30 °C đến 35 °C trong 18 h đến 24 h. Tiếp tục cấy chuyển sang đĩa môi trường thạch xylose, lysin, deoxycholat và ủ ở 30 °C đến 35 °C trong 18 h đến 48 h.

Đánh giá kết quả:

Khuẩn lạc màu đỏ, có hoặc không có trung tâm màu đen mọc trên môi trường cho thấy mẫu thử có thể có *Salmonella*. Tiếp tục xác định bằng nhiều phản ứng sinh hóa khác.

Mẫu thử không có *Salmonella* nếu không có khuẩn lạc có đặc điểm mô tả ở trên mọc trên môi trường hoặc các phản ứng sinh hóa để xác định *Salmonella* có kết quả âm tính.

Pseudomonas aeruginosa

Chuẩn bị mẫu thử và tiền ủ:

Lấy không dưới 1 g hoặc 1 ml mẫu thử, pha loãng 10 lần như mô tả trong phần *Chuẩn bị mẫu thử* mục *Kiểm tra sự phù hợp của phương pháp đếm khi có mặt mẫu thử*. Cấy 10 ml hoặc 1 lượng tương ứng với 1 g hoặc 1 ml mẫu thử vào một thể tích phù hợp môi trường lỏng casein đậu tương, trộn đều. Đối với thuốc dán, lọc một lượng mẫu thử tương đương với 1 miếng dán như mô tả trong phần *Chuẩn bị mẫu thử của mục Kiểm tra sự phù hợp của phương pháp đếm khi có mặt mẫu thử* qua màng lọc vô khuẩn và cấy vào 100 ml môi trường lỏng casein đậu tương. Ủ ở 30 °C đến 35 °C trong 18 h đến 24 h.

Phân lập và cấy chuyển:

Cấy chuyển sang đĩa môi trường thạch cetrimid và ủ ở 30 °C đến 35 °C trong 18 h đến 72 h.

Đánh giá kết quả:

Khuẩn lạc mọc trên môi trường cho thấy mẫu thử có thể có *P. aeruginosa*. Tiếp tục xác định bằng nhiều phản ứng sinh hóa khác.

Mẫu thử không có *P. aeruginosa* nếu không có khuẩn lạc mọc trên môi trường hoặc các phản ứng sinh hóa để xác định *P. aeruginosa* có kết quả âm tính.

Staphylococcus aureus

Chuẩn bị mẫu thử và tiền ủ:

Lấy không dưới 1 g hoặc 1 ml mẫu thử, pha loãng 10 lần như mô tả trong phần *Chuẩn bị mẫu thử* mục *Kiểm tra sự phù hợp của phương pháp đếm khi có mặt mẫu thử*. Cấy 10 ml hoặc 1 lượng tương ứng với 1 g hoặc 1 ml mẫu thử vào một thể tích phù hợp môi trường lỏng casein đậu tương, trộn đều. Đối với thuốc dán, lọc một lượng mẫu thử tương đương với 1 miếng dán như mô tả trong phần *Chuẩn bị mẫu thử* mục *Kiểm tra sự phù hợp của phương pháp đếm khi có mặt mẫu thử* qua màng lọc vô khuẩn và cấy vào 100 ml môi trường lỏng casein đậu tương. Ủ ở 30 °C đến 35 °C trong 18 h đến 24 h.

Phân lập và cấy chuyển:

Cấy chuyển sang đĩa môi trường thạch muối manitol và ủ ở 30 °C đến 35 °C trong 18 h đến 72 h.

Đánh giá kết quả:

Khuẩn lạc màu vàng hoặc trắng có vòng màu vàng bao quanh mọc trên môi trường cho thấy mẫu thử có thể có *S. aureus*. Tiếp tục xác định bằng nhiều phản ứng sinh hóa khác.

Mẫu thử không có *S. aureus* nếu không có khuẩn lạc có đặc điểm mô tả ở trên mọc trên môi trường hoặc các phản ứng sinh hóa để xác định *S. aureus* có kết quả âm tính.

Clostridia

Chuẩn bị mẫu thử và sốc nhiệt:

Chuẩn bị tối thiểu 20 ml mẫu thử được pha loãng 10 lần như mô tả trong phần *Chuẩn bị mẫu thử* mục *Kiểm tra sự phù hợp của phương pháp đếm khi có mặt mẫu thử* tương ứng với không dưới 2 g hoặc 2 ml mẫu thử. Chia mẫu thử thành 2 phần, mỗi phần ít nhất 10 ml. Một phần đun nóng tới 80 °C trong 10 min rồi làm lạnh ngay. Phần còn lại không được đun nóng.

Phân lập và cấy chuyển:

Cấy 10 ml hoặc lượng tương đương với 1 g hoặc 1 ml mẫu thử của cả 2 phần trên vào thể tích phù hợp môi trường tăng sinh cho *Clostridia*. Ủ cả hai mẫu ở điều kiện kỵ khí ở 30 °C đến 35 °C trong 48 h. Sau khi ủ, từ mỗi bình cấy chuyển sang môi trường thạch Columbia và tiếp tục ủ ở điều kiện kỵ khí ở 30 °C đến 35 °C trong 48 h đến 72 h.

Đánh giá kết quả:

Sự phát triển của trực khuẩn trong điều kiện kỵ khí (có hoặc không có bào tử) trên môi trường, phản ứng catalase âm tính cho thấy mẫu thử có thể có Clostridia. Tiếp tục xác định bằng nhiều phản ứng sinh hóa khác.

Mẫu thử không có Clostridia nếu không có khuẩn lạc có đặc điểm mô tả ở trên mọc trên môi trường hoặc các phản ứng sinh hóa để xác định Clostridia có kết quả âm tính.

Candida albicans

Chuẩn bị mẫu thử và tiền ủ:

Chuẩn bị mẫu thử như mô tả trong phần *Chuẩn bị mẫu thử* mục *Kiểm tra sự phù hợp của phương pháp đếm khi có mặt mẫu thử*, cấy 10 ml hoặc một lượng tương ứng với 1 g hoặc 1 ml vào 100 ml môi trường lỏng Sabouraud-dextrose, trộn đều và ủ ở 30 °C đến 35 °C trong 3 ngày đến 5 ngày.

Phân lập và cấy chuyển:

Cấy chuyển sang môi trường thạch Sabouraud-dextrose và ủ ở 30 °C đến 35 °C trong 24 h đến 48 h.

Đánh giá kết quả:

Khuẩn lạc màu trắng mọc trên môi trường cho thấy mẫu thử có thể có *C. albicans*. Tiếp tục xác định bằng nhiều phản ứng sinh hóa khác.

Mẫu thử không có *C. albicans* nếu không có khuẩn lạc có đặc điểm mô tả ở trên mọc trên môi trường hoặc các phản ứng sinh hóa để xác định *C. albicans* có kết quả âm tính.

3. DUNG DỊCH PHA LOÃNG VÀ MÔI TRƯỜNG

Các dung dịch và môi trường nuôi cấy được chuẩn bị theo cách dưới đây. Có thể sử dụng môi trường khác khi chứng minh được sự phù hợp của chúng.

Dung dịch đệm gốc

Cân 34 g *kali dihydrophosphat (TT)* và cho vào bình định mức 1000 ml, thêm 500 ml nước tinh khiết, điều chỉnh pH 7,2 ± 0,2 bằng *natri hydroxyd (TT)*. Thêm nước tinh khiết tới vạch, trộn đều. Phân chia vào các bình, tiệt khuẩn, bảo quản ở 2 °C đến 8 °C.

Dung dịch đệm phosphat pH 7,2

Pha loãng dung dịch đệm gốc với nước tinh khiết theo tỷ lệ 1 : 800 (tt/tt) và tiệt khuẩn.

Dung dịch đệm natri clorid-pepton pH 7,0

Kali dihydrophosphat	3,6 g
Dinatri hydrophosphat dihydrat	7,2 g tương ứng với 0,067 M phosphat
Natri clorid	4,3 g
Pepton (từ thịt hoặc casein)	1,0 g
Nước tinh khiết	1000 ml

Tiệt khuẩn trong nồi hấp theo quy trình đã được thẩm định

Môi trường lỏng casein đậu tương

Casein thủy phân bởi pancreatin	17,0 g
Bột đậu tương thuỷ phân bởi papain	3,0 g
Natri clorid	5,0 g
Dikali hydrophosphat	2,5 g
Glucose monohydrat	2,5 g
Nước tinh khiết	1000 ml

Điều chỉnh pH sao cho sau khi hấp tiệt khuẩn, môi trường có pH 7,3 ± 0,2 ở 25 °C. Tiệt khuẩn trong nồi hấp theo quy trình đã được thẩm định.

Môi trường thạch Sabouraud-dextrose

Dextrose	40,0 g
Casein thủy phân bởi pancreatin	5,0 g
Pepton từ mô động vật	5,0 g
Thạch	15,0 g
Nước tinh khiết	1000 ml

Điều chỉnh pH sao cho sau khi hấp tiệt khuẩn, môi trường có pH 5,6 ± 0,2 ở 25 °C. Tiệt khuẩn trong nồi hấp theo quy trình đã được thẩm định.

Môi trường thạch khoai tây dextrose

Dịch chiết từ khoai tây	200,0 g
Dextrose	20,0 g
Thạch	15,0 g
Nước tinh khiết	1000 ml

Điều chỉnh pH sao cho sau khi hấp tiệt khuẩn, môi trường có pH 5,6 ± 0,2 ở 25 °C. Tiệt khuẩn trong nồi hấp theo quy trình đã được thẩm định.

Môi trường lỏng Sabouraud-dextrose

Dextrose	20,0 g
Casein thủy phân bởi pancreatin	5,0 g
Pepton từ mô động vật	5,0 g
Nước tinh khiết	1000 ml

Điều chỉnh pH sao cho sau khi hấp tiệt khuẩn, môi trường có pH 5,6 ± 0,2 ở 25 °C. Tiệt khuẩn trong nồi hấp theo quy trình đã được thẩm định.

Môi trường lỏng tăng sinh Enterobacteriu-Mossel

Gelatin thủy phân bởi pancreatin	10,0 g
Glucose monohydrat	5,0 g
Mật bò khô	20,0 g
Kali dihydrophosphat	2,0 g
Dinatri hydrophosphat dihydrat	8.0 g
Xanh brilliant	15 mg
Nước tinh khiết	1000 ml

Điều chỉnh pH sao cho sau khi tiệt khuẩn khuẩn, môi trường có pH 7,2 + 0,2 ở 25 °C. Tiệt khuẩn bằng nhiệt ở 100 °C trong 30 min và làm lạnh ngay.

Môi trường thạch muối mật tím đỏ

Cao nấm men	3.0 g
Gelatin thủy phân bởi pancreatin	7,0 g
Muối mật	1,5 g
Natri clorid	5,0 g
Glucose monohydrat	10,0 g
Thạch	15,0 g
Đỏ trung tính	30 mg
Tím tinh thể	2 mg
Nước tinh khiết	1000 ml

Điều chỉnh pH sao cho sau khi tiệt khuẩn, môi trường có pH 7,4 ± 0,2 ở 25 °C. Tiệt khuẩn bằng cách đun sôi, không được hấp trong nồi hấp.

Môi trường lỏng MacConkey

Gelatin thủy phân bởi pancreatin	20,0 g
Lactose monohydrat	10,0 g
Mật bò khô	5,0 g
Tía bromocresol	10 mg
Nước tinh khiết	1000 ml

Điều chỉnh pH sao cho sau khi hấp tiệt khuẩn, môi trường có pH 7,3 ± 0,2 ở 25 °C. Tiệt khuẩn trong nồi hấp theo quy trình đã được thẩm định.

Môi trường thạch MacConkey

Gelatin thủy phân bởi pancreatin	17,0 g
Pepton (thịt hoặc casein)	3,0 g
Lactose monohydrat	10,0 g
Natri clorid	5,0 g
Muối mật	1,5 g
Thạch	13,5 g
Đỏ trung tính	30,0 mg
Tím tinh thể	1,0 mg
Nước tinh khiết	1000 ml

Điều chỉnh pH sao cho sau khi hấp tiệt khuẩn, môi trường có pH 7,1 ± 0,2 ở 25 °C. Đun sôi 1 min, sau đó hấp tiệt khuẩn trong nồi hấp theo quy trình đã được thẩm định.

Môi trường lỏng tăng sinh Salmonella Rappaport Vassiliadis

Pepton đậu tương	4,5 g
Magnesi clorid hexahydrat	29,0 g
Natri clorid	8,0 g
Dikali phosphat	0,4 g
Kali dihydrophosphat	0,6 g
Xanh malachit	0,036 g
Nước tinh khiết	1000 ml

Hòa tan, đun nóng nhẹ. Hấp tiệt khuẩn trong nồi hấp theo quy trình đã được thẩm định với nhiệt độ không quá 115 °C. Điều chỉnh pH sao cho sau khi hấp tiệt khuẩn, môi trường có pH 5,2 ± 0,2 ở 25 °C.

Môi trường thạch xylose, lysin, desoxycholat

Xylose	3,5 g
L-Lysin	5,0 g
Lactose monohydrat	7,5 g
Sucrose	7,5 g
Natri clorid	5,0 g
Cao nấm men	3,0 g
Đỏ phenol	80 mg
Thạch	13,5 g
Natri desoxycholat	2,5 g
Natri thiosulfat	6,8 g
Sắt amoni citrat	0,8 g
Nước tinh khiết	1000 ml

Điều chỉnh pH sao cho sau khi tiệt khuẩn, môi trường có pH 7,4 ± 0,2 ở 25 °C. Đun sôi, để nguội đến 50 °C thì rót môi trường vào đĩa Petri. Không được hấp tiệt khuẩn trong nồi hấp.

Môi trường thạch cetrimid

Gelatin thủy phân bởi pancreatin	20,0 g
Magnesi clorid	1,4 g
Dikali sulfat	10,0 g
Cetrimid	0,3 g
Thạch	13,6 g
Nước tinh khiết	1000 ml
Glycerol	10 ml

Đun sôi trong 1 min, khuấy đều. Điều chỉnh pH sao cho sau khi hấp tiệt khuẩn, môi trường có pH 7,2 ± 0,2 ở 25 °C. Tiệt khuẩn trong nồi hấp theo quy trình đã được thẩm định.

Môi trường thạch muối manitol

Casein thủy phân bởi pancreatin	5,0 g
Pepton từ mô động vật	5,0 g
Cao thịt bò	1,0 g
D-Manitol	10,0 g
Natri clorid	75,0 g
Thạch	15,0 g
Đỏ phenol	0,025 g
Nước tinh khiết	1000 ml

Đun sôi trong 1 min, lắc đều. Điều chỉnh pH sao cho sau khi hấp tiệt khuẩn, môi trường có pH 7,4 ± 0,2 ở 25 °C. Hấp tiệt khuẩn trong nồi hấp theo quy trình đã được thẩm định.

Môi trường tăng sinh cho Clostridia

Cao thịt bò	10,0 g
Pepton	10,0 g
Cao nấm men	3,0 g
Tinh bột dễ tan	1,0 g
Glucose monohydrat	5,0 g
Cystein hydroclorid	0,5 g
Natri clorid	5,0 g
Natri acetat	3,0 g
Thạch	0,5 g
Nước tinh khiết	1000 ml

Làm ẩm thạch, hòa tan các thành phần bằng cách đun nóng tới sôi, khuấy đều liên tục. Điều chỉnh pH sao cho sau khi hấp tiệt khuẩn, môi trường có pH 6,8 ± 0,2 ở 25 °C. Hấp tiệt khuẩn trong nồi hấp theo quy trình đã được thẩm định.

Môi trường thạch Columbia

Casein thủy phân bởi pancreatin	10,0 g
Pepton từ thịt	5,0 g
Tim thủy phân bởi pancreatin	3,0 g
Cao nấm men	5,0 g
Tinh bột ngô	1,0 g
Natri clorid	5,0 g
Thạch	10,0 g đến 15,0 g
Nước tinh khiết	1000 ml

Làm ẩm thạch, hòa tan bằng cách đun nóng tới sôi, khuấy đều liên tục. Điều chỉnh pH sao cho sau khi hấp tiệt khuẩn, môi trường có pH 7,3 ± 0,2 ở 25 °C. Hấp tiệt khuẩn trong nồi hấp theo quy trình đã được thẩm định. Để nguội tới 45 °C đến 50 °C, nếu cần, thêm 20 mg gentamycin base và rót vào đĩa Petri.

4. YÊU CẦU GIỚI HẠN NHIỄM KHUẨN

Nếu không có chỉ dẫn trong chuyên luận riêng thì giới hạn nhiễm khuẩn cho các loại thuốc không tiệt khuẩn trong quá trình sản xuất được ghi trong Bảng 13.6.6.

Bảng 13.6.6 - Yêu cầu giới hạn nhiễm khuẩn

Loại chế phẩm	Tổng số vi sinh vật hiếu khí (CFU/g hoặc CFU/ml)	Tổng số nấm (CFU/g hoặc CFU/ml)	Vi sinh vật gây bệnh
Thuốc dùng điều trị bỏng và các vết loét sâu	Không có vi sinh vật trong 1 g (ml)		
Nguyên liệu hóa dược	10^3	10^2	-
Thành phẩm hóa dược dùng để uống (dạng khô: viên nén, nang...)	10^3	10^2	Không có *Escherichia coli* trong 1 g (ml)
Thành phẩm hóa dược dùng để uống (dạng nước: siro, dung dịch...)	10^2	10^1	Không có *Escherichia coli* trong 1 g (ml)
Thuốc dùng theo đường trực tràng	10^3	10^2	-
Thuốc dùng theo đường niêm mạc miệng, lợi, răng, da, mũi, tai	10^2	10^1	Không có *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* trong 1 g (ml)
Thuốc dùng theo đường âm đạo	10^2	10^1	Không có *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* trong 1 g (ml)
Thuốc dán (áp dụng cho 1 miếng dán)	10^2	10^1	Không có *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* trong 1 miếng dán
Thuốc hít (bao gồm cả dạng khí dung)	10^2	10^1	Không có *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, vi khuẩn Gram âm dung nạp mật trong 1 g (ml).
Thuốc uống có nguồn gốc tự nhiên (động, thực vật, khoáng chất); cao thuốc, cồn thuốc dùng để sản xuất thuốc uống từ dược liệu	10^4	10^2	Không quá 10^2 CFU vi khuẩn Gram âm dung nạp mật trong 1 g (ml). Không có *Salmonella* trong 10 g (ml). Không có *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* trong 1 g (ml).
Thuốc từ dược liệu (thuốc thang...) được xử lý bằng ethanol thấp độ hoặc nước nóng (không sôi) trước khi dùng	10^5	10^4	Không quá 10^4 CFU vi khuẩn Gram âm dung nạp mật *trong* 1 g (ml) Không có *Salmonella* trong 10 g (ml) Không có *Escherichia coli* trong 1 g (ml)
Thuốc từ dược liệu (thuốc thang, trà...) được xử lý bằng nước sôi trước khi dùng	10^7 Số lượng tối đa được chấp nhận: 5×10^7	10^5 Số lượng tối đa được chấp nhận: 5×10^5	Không quá 10^3 CFU *Escherichia coli* trong 1 g (ml) Không có *Salmonella* trong 10 g (ml)

13.7 THỬ VÔ KHUẨN

Qui định chung

Phép thử này được áp dụng nhằm phát hiện sự có mặt của vi khuẩn, nấm trong các nguyên liệu, chế phẩm và dụng cụ mà theo Dược điển cần phải vô khuẩn. Tuy nhiên, kết quả âm tính chỉ có nghĩa là không phát hiện được vi sinh vật tạp nhiễm trong chế phẩm đã thử trong điều kiện của thử nghiệm.

Những biện pháp phòng tạp nhiễm vi sinh vật

Thử vô khuẩn phải được tiến hành trong điều kiện vô khuẩn. Để đạt được điều kiện này, khu vực thử nghiệm phải phù hợp với qui trình thử vô khuẩn được tiến hành. Các biện pháp phòng tránh tạp nhiễm phải đảm bảo không ảnh hưởng đến vi sinh vật có thể có trong mẫu thử. Khu vực thử vô khuẩn phải được đánh giá thường xuyên bằng phương pháp lấy mẫu tại khu vực làm việc hoặc bằng cách tiến hành mẫu đối chứng thích hợp.

Môi trường và nhiệt độ ủ

Có thể sử dụng môi trường được pha chế theo chỉ dẫn dưới đây hoặc sử dụng các môi trường thương mại có sẵn nếu chúng đáp ứng yêu cầu về khả năng dinh dưỡng theo mục *Kiểm tra chất lượng môi trường*. Môi trường thioglycolat

lỏng được dùng để phát hiện vi khuẩn hiếu khí và kỵ khí. Môi trường casein đậu tương lỏng được dùng để phát hiện vi khuẩn hiếu khí và nấm.

Môi trường thioglycolat lỏng

L-Cystin	0,5 g
Thạch	0,75 g
Natri clorid	2,5 g
Glucose monohydrat/khan	5,5 g/5,0 g
Cao nấm men (tan được trong nước)	5,0 g
Casein thủy phân bởi pancreatin	15,0 g
Natri thioglycolat	0,5 g
hoặc acid thioglycolic	0,3 ml
Dung dịch natri resazurin 1 g/L mới pha)	1,0 ml
Nước	1000 ml

pH sau khi tiệt khuẩn: 7,1 ± 0,2

Trộn L-Cystin, thạch, natri clorid, glucose, cao nấm men, casein thủy phân bởi pancreatin với *nước* và đun nóng đến tan hoàn toàn. Hòa tan natri thioglycolat hoặc acid thioglycolic vào dung dịch trên, thêm *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* (nếu cần) để điều chỉnh pH sao cho môi trường sau khi tiệt khuẩn có pH 7,1 ± 0,2. Nếu cần phải lọc thì đun nóng lại dung dịch (tránh đun sôi) và lọc nóng qua giấy lọc đã thấm ướt. Thêm dung dịch resazurin, trộn đều và đóng môi trường vào ống (hoặc bình) thích hợp sao cho sau khi kết thúc quá trình ủ, không quá một nửa thể tích phía trên của môi trường trong ống (hoặc bình) bị chuyển màu chỉ thị do hấp thụ oxy. Hấp tiệt khuẩn theo qui trình đã được thẩm định. Bảo quản môi trường ở nhiệt độ 2 °C đến 25 °C trong bao bì vô khuẩn, kín khí. Nếu 1/3 thể tích phía trên của ống (hoặc bình) môi trường có màu hồng, môi trường không thích hợp để thử nghiệm. Có thể phục hồi lại môi trường bằng cách đun cách thuỷ cho mất màu rồi làm lạnh nhanh, chú ý tránh tạp nhiễm không khí không vô khuẩn vào môi trường và chỉ sử dụng môi trường đã phục hồi này một lần. Không sử dụng môi trường quá thời hạn sử dụng đã thẩm định.

Ủ môi trường thioglycolat lỏng ở 30 °C đến 35 °C.

Với các chế phẩm có chứa chất bảo quản nhóm thủy phân mà không áp dụng phương pháp màng lọc được, có thể ủ môi trường thioglycolat lỏng ở 20 °C đến 25 °C thay vì sử dụng môi trường lỏng casein đậu tương và trường hợp này môi trường thioglycolat lỏng phải đạt yêu cầu về khả năng dinh dưỡng theo mục *Kiểm tra chất lượng môi trường*.

Khi được qui định hoặc chứng minh rõ ràng, có thể sử dụng môi trường thioglycolat lỏng thay thế. Chuẩn bị hỗn hợp môi trường có thành phần giống như môi trường thioglycolat lỏng ở trên nhưng không có thành phần thạch và dung dịch natri resazurin, tiệt khuẩn giống như ở trên. Môi trường sau khi tiệt khuẩn có pH 7,1 ± 0,2. Đun nóng trong nồi cách thủy trước khi sử dụng và ủ ở 30 °C đến 35 °C trong điều kiện kỵ khí.

Môi trường casein đậu tương lỏng

Casein thủy phân bởi pancreatin	17,0 g
Bột đậu tương thủy phân bởi papain	3,0 g
Natri clorid	5,0 g
Dikali hydrophosphat	2,5 g
Glucose monohydrat/khan	2,5 g/2,3 g
Nước	1000 ml
pH sau khi tiệt khuẩn:	7,3 ± 0,2

Hòa tan tất cả các chất rắn trong nước, đun nóng nhẹ để cho tan hoàn toàn. Để nguội đến nhiệt độ phòng. Thêm dung *dịch natri hydroxyd 1 M (TT)* (nếu cần) để điều chỉnh pH sao cho môi trường sau khi tiệt khuẩn có pH 7,3 ± 0,2. Lọc (nếu cần) để cho môi trường trong. Phân chia môi trường vào ống (hoặc bình) thích hợp và hấp tiệt khuẩn theo qui trình đã được thẩm định. Bảo quản môi trường ở nhiệt độ 2 °C đến 25 °C trong bao bì vô khuẩn, kín khí, trừ khi môi trường được sử dụng ngay. Không sử dụng môi trường quá thời hạn sử dụng đã thẩm định.

Ủ môi trường casein đậu tương lỏng ở 20 °C đến 25 °C.

Môi trường nuôi cấy phải đạt chất lượng theo mục *Kiểm tra chất lượng môi trường*. Có thể kiểm tra chất lượng môi trường trước hoặc song song với thử vô khuẩn mẫu thử.

Kiểm tra chất lượng môi trường

a) Độ vô khuẩn

Lấy ngẫu nhiên một vài ống (hoặc bình) môi trường mới sản xuất, đem ủ ở nhiệt độ 30 °C đến 35 °C trong 14 ngày đối với môi trường thioglycolat lỏng; ủ ở nhiệt độ 20 °C đến 25 °C trong 14 ngày đối với môi trường casein đậu tương lỏng. Các loại môi trường phải không được có vi khuẩn, nấm mọc.

b) Khả năng dinh dưỡng

Tiến hành kiểm tra khả năng dinh dưỡng đối với mỗi lô môi trường được pha chế sẵn hoặc mỗi lô môi trường được pha chế từ môi trường khô nhiều thành phần hoặc được pha chế từ các thành phần riêng lẻ. Sử dụng các chủng vi sinh vật phù hợp theo qui định trong Bảng 13.7.1.

Bảng 13.7.1 - Chủng vi sinh vật phù hợp để kiểm tra khả năng dinh dưỡng và sự phù hợp của phương pháp

Vi khuẩn hiếu khí	
Staphylococcus aureus	ATCC 6358, CIP 4.83, NCTC 10788, NCIMB 9518, NBRC 13276
Bacillus subtilis	ATCC 6633, CIP 52.62, NCIMB 8054, NBRC 3134
Pseudomonas aeruginosa	ATCC 9027, NCIMB 8626, CIP 82.118, NBRC 13275
Vi khuẩn kị khí	
Clostridium sporogenes	ATCC 19404, CIP 79.3, NCTC 532, ATCC 11437, NBRC 14293
Nấm	
Candida albicans	ATCC 10231, IP 48.72, NCPF 3179, NBRC 1594
Aspergillus brasiliensis	ATCC 16404, IP 1431.83, IMI 149007, NBRC 9455

Cấy vào môi trường thioglycolat lỏng một lượng nhỏ (không quá 100 CFU) các vi sinh vật sau, chú ý cấy riêng rẽ vi sinh vật vào các ống (hoặc bình môi trường): *Clostridium sporogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphyloccocus aureus*. Cấy vào môi trường casein đậu tương lỏng một lượng nhỏ (không quá 100 CFU) các vi sinh vật sau, chú ý cấy riêng rẽ vi sinh vật vào các ống (hoặc bình môi trường): *Aspergillus brasiliensis*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*. Ủ trong không quá 3 ngày đối với vi khuẩn và không quá 5 ngày đối với nấm.

Cần đảm bảo chủng vi sinh vật đem cấy vào môi trường không được cấy truyền quá 5 lần từ chủng gốc ban đầu.

Môi trường đạt chất lượng nếu sau thời gian ủ, vi sinh vật đều mọc tốt.

Kiểm tra sự phù hợp của phương pháp

Tiến hành qui trình tương tự hệt với thử vô khuẩn mẫu thử, chỉ khác:

Phương pháp màng lọc: Sau khi chuyển mẫu thử lên màng lọc, thêm vào phần dung dịch pha loãng cuối cùng một lượng nhỏ (không quá 100 CFU) các vi sinh vật tương ứng.

Phương pháp cấy trực tiếp: Sau khi chuyển mẫu thử vào ống (hoặc bình) môi trường, thêm vào một lượng nhỏ (không quá 100 CFU) các vi sinh vật tương ứng.

Trong cả hai trường hợp trên, sử dụng vi sinh vật theo Bảng 13.7.1. Đồng thời tiến hành kiểm tra khả năng dinh dưỡng của môi trường và các ống này được coi như mẫu đối chứng dương. Ủ tất cả các ống (hoặc bình) môi trường trong không quá 5 ngày.

Nếu sau thời gian ủ, sự phát triển của vi sinh vật trong ống môi trường chứa mẫu thử tốt, rõ ràng giống với sự phát triển của vi sinh vật trong ống đối chứng dương không chứa mẫu thử, điều đó có nghĩa mẫu thử không chứa chất ức chế vi sinh vật hoặc khả năng ức chế vi sinh vật của mẫu thử đã bị loại bỏ bởi điều kiện thí nghiệm. Lúc này có thể áp dụng qui trình thử vô khuẩn trên mẫu thử mà không cần bất cứ sự điều chỉnh nào.

Nếu sau thời gian ủ, sự phát triển của vi sinh vật trong ống môi trường chứa mẫu thử không rõ ràng như sự phát triển của vi sinh vật trong ống đối chứng dương không chứa mẫu thử, điều đó có nghĩa mẫu thử chứa chất ức chế vi sinh vật và khả năng ức chế vi sinh vật của mẫu thử không bị loại bỏ bởi điều kiện thí nghiệm. Lúc này cần thay đổi điều kiện thử nghiệm để loại bỏ tác dụng của chất ức chế và tiến hành kiểm tra lại sự phù hợp của phương pháp.

Tiến hành kiểm tra sự phù hợp của phương pháp khi:

- Tiến hành thử vô khuẩn trên một sản phẩm mới.
- Có sự thay đổi về điều kiện thử vô khuẩn.

Sự phù hợp của phương pháp có thể được tiến hành đồng thời với thử vô khuẩn mẫu thử.

Tiến hành thử vô khuẩn

Có thể tiến hành thử vô khuẩn mẫu thử bằng phương pháp màng lọc hoặc phương pháp cấy trực tiếp. Cần tiến hành các ống đối chứng âm tính. Phương pháp màng lọc ưu tiên được sử dụng, được lựa chọn khi bản chất mẫu thử cho phép có thể áp dụng phương pháp màng lọc được, ví dụ mẫu thử là dung dịch nước, dầu hay cồn, hoặc mẫu thử có thể hòa trộn hoặc hòa tan trong nước hoặc dung môi hữu cơ miễn là dung môi hữu cơ đó không ức chế vi sinh vật trong điều kiện của thử nghiệm.

Phương pháp màng lọc

Sử dụng màng lọc có kích thước lỗ lọc không quá 0,45 µm, kích thước lỗ lọc này đã được chứng minh là phù hợp trong việc lưu giữ vi sinh vật. Màng lọc cellulose nitrat được dùng cho các chế phẩm dạng nước, dạng dầu và các dung dịch cồn thấp độ. Màng lọc cellulose acetat được dùng cho các chế phẩm cồn cao độ. Có thể sử dụng loại màng lọc phù hợp cho các chế phẩm riêng biệt, ví dụ kháng sinh.

Kỹ thuật thử vô khuẩn mô tả dưới đây được áp dụng cho màng lọc có đường kính 50 mm. Nếu sử dụng màng lọc có đường kính lớn hơn, cần thay đổi thể tích dung dịch pha loãng và qui trình rửa cho phù hợp. Bộ dụng cụ lọc và màng lọc phải được tiệt khuẩn theo cách phù hợp. Bộ dụng cụ lọc phải được thiết kế sao cho có thể đưa mẫu thử và lọc mẫu thử trong điều kiện vô khuẩn, cho phép lấy màng lọc ra khỏi bộ lọc và cấy vào môi trường trong điều kiện vô khuẩn, hoặc cho phép có thể mang bộ dụng cụ đem ủ sau khi đã thêm môi trường vào bộ dụng cụ đó.

Mẫu thử là dung dịch nước:

Chuyển một lượng nhỏ dung dịch pha loãng vô khuẩn thích hợp như dung dịch pepton thịt hoặc pepton casein 1 g/L có pH 7,1 ± 0,2 lên màng lọc của bộ lọc vô khuẩn và lọc. Dung dịch pha loãng có thể chứa các các chất trung hòa và/hoặc các chất bất hoạt phù hợp trong trường hợp mẫu thử có chứa kháng sinh.

Chuyển mẫu thử lên màng lọc, nếu cần có thể pha loãng mẫu giống như đã tiến hành trong mục *Kiểm tra sự phù hợp của phương pháp* bằng dung dịch pha loãng phù hợp, chú ý lượng mẫu phải tuân thủ theo qui định trong Bảng 13.7.2. Lọc ngay. Nếu mẫu thử có khả năng kháng khuẩn, rửa màng lọc không dưới 3 lần, thể tích dung dịch pha loãng của mỗi lần rửa phải giống như thể tích dung dịch pha loãng đã tiến hành trong mục *Kiểm tra sự phù hợp của phương pháp*. Chú ý không rửa quá 5 lần, mỗi lần 100 ml dung dịch pha loãng, ngay cả trong trường hợp kết quả kiểm tra sự phù hợp của phương pháp khi áp dụng qui trình rửa này không loại trừ được hoạt tính kháng khuẩn của mẫu thử. Chuyển toàn bộ màng lọc vào môi trường nuôi cấy hoặc cắt màng lọc trong điều kiện vô khuẩn thành 2 phần tương đương và cấy mỗi nửa màng lọc vào một loại môi trường nuôi cấy. Thể tích môi trường nuôi cấy phải giống như thể tích môi trường đã tiến hành trong mục *Kiểm tra sự phù hợp của phương pháp*. Ngoài ra, có thể thay thế bằng cách cho môi trường nuôi cấy vào bộ dụng cụ chứa màng lọc. Ủ môi trường trong không dưới 14 ngày.

Mẫu thử là chất rắn có thể hòa tan được:

Chú ý lượng mẫu cho vào mỗi loại môi trường phải tuân thủ theo qui định trong Bảng 13.7.2. Hòa tan mẫu thử trong dung môi pha loãng được cung cấp kèm theo mẫu thử, nước cất pha tiêm, nước muối sinh lý hay dung dịch

pepton thịt hoặc pepton casein 1 g/L và tiếp tục tiến hành như mô tả đối với mẫu thử là dung dịch nước ở trên.

Mẫu thử dạng dầu/dung dịch dầu: Chú ý lượng mẫu cho vào mỗi loại môi trường phải tuân thủ theo qui định trong Bảng 13.7.2. Chuyển trực tiếp mẫu thử (không cần pha loãng) lên màng lọc khô nếu mẫu thử là dung dịch dầu có độ nhớt thấp. Nếu mẫu thử là dung dịch dầu rất nhớt, nên pha loãng mẫu thử trong dung dịch pha loãng vô khuẩn thích hợp như isopropyl myristat, dung môi này đã được chứng minh là không có hoạt tính kháng khuẩn. Để cho dung dịch dầu tự chảy qua màng lọc rồi sau đó tiến hành lọc với áp lực lọc đều đặn. Rửa màng lọc không dưới 3 lần, mỗi lần 100 ml dung dịch pha loãng phù hợp như dung dịch pepton thịt hoặc pepton casein 1 g/L có chứa chất diện hoạt phù hợp với nồng độ giống như nồng độ đã tiến hành trong mục *Kiểm tra sự phù hợp của phương pháp*, ví dụ có thể sử dụng polysorbat 80 ở nồng độ 10 g/L. Chuyển màng lọc vào trong môi trường hoặc ngược lại giống như đã mô tả đối với mẫu thử là dung dịch nước, ủ ở nhiệt độ và thời gian giống như trên.

Mẫu thử dạng mỡ, kem:

Chú ý lượng mẫu cho vào mỗi loại môi trường phải tuân thủ theo qui định trong Bảng 13.7.2. Nên pha loãng thuốc mỡ hoặc thuốc nhũ dịch kiểu N/D trong isopropyl myristat với tỷ lệ 1%, gia nhiệt dưới 40 °C nếu cần. Trong một số trường hợp hạn chế có thể gia nhiệt lên tới 44 °C. Tiến hành lọc nhanh và tiếp tục xử lí giống như mẫu thử dạng dầu/dung dịch dầu.

Phương pháp cấy trực tiếp

Chuyển trực tiếp lượng mẫu thử cho vào mỗi loại môi trường theo qui định trong Bảng 13.7.2. Chú ý thể tích mẫu thử không được vượt quá 10 % thể tích của môi trường, trừ khi có chỉ dẫn khác.

Nếu mẫu thử có hoạt tính kháng khuẩn, cần trung hòa hoạt tính này bằng chất trung hòa trước khi tiến hành thử vô khuẩn hoặc pha loãng mẫu thử trong một thể tích môi trường nuôi cấy đủ lớn. Khi thể tích mẫu thử lớn có thể cần phải sử dụng môi trường đặc hơn (cần phải tính đến mức độ pha loãng của mẫu thử khi xác định độ đặc của môi trường nuôi cấy). Nếu có thể, nên chuyển trực tiếp môi trường đặc vào mẫu thử.

Mẫu thử dạng dung dịch dầu: Sử dụng môi trường có bổ sung chất diện hoạt phù hợp với nồng độ giống như nồng độ đã tiến hành trong mục *Kiểm tra sự phù hợp của phương pháp*, ví dụ có thể sử dụng polysorbat 80 ở nồng độ 10 g/L.

Mẫu thử dạng mỡ, kem: Pha loãng mẫu thử theo tỷ lệ 1:10 bằng cách nhũ hóa mẫu thử trong dung dịch pha loãng như dung dịch pepton thịt hoặc pepton casein 1 g/L có chứa chất diện hoạt. Chuyển mẫu thử đã pha loãng vào môi trường nuôi cấy không chứa chất diện hoạt.

Ủ môi trường đã cấy mẫu thử trong không dưới 14 ngày. Định kỳ quan sát sự phát triển của vi sinh vật trong quá trình ủ. Hàng ngày, lắc nhẹ nhàng môi trường nuôi cấy có chứa mẫu thử dạng dầu. Tuy nhiên, nếu sử dụng môi trường thioglycolat lỏng thì hạn chế lắc tối thiểu để duy trì điều kiện kỵ khí của môi trường này.

Mẫu thử là chỉ khâu phẫu thuật và chỉ khâu dùng trong thú y: Sử dụng lượng mẫu thử cho vào mỗi loại môi trường nuôi cấy theo qui định trong Bảng 13.7.2. Mở bao bì đóng gói trong điều kiện vô khuẩn, cắt 3 đoạn của mỗi sợi chỉ khâu cho mỗi loại môi trường nuôi cấy. Tiến hành thử nghiệm trên 3 đoạn, mỗi đoạn 30 cm, cắt từ đoạn đầu, đoạn giữa và đoạn cuối của sợi chỉ khâu. Sử dụng các đoạn được cắt từ các bao gói mới mở. Chuyển từng đoạn vào môi trường nuôi cấy. Chú ý thể tích môi trường nuôi cấy phải đủ ngập mẫu thử (20 ml đến 150 ml).

Quan sát và đánh giá kết quả

Định kì trong suốt quá trình ủ và khi kết luận, kiểm tra môi trường bằng mắt thường xem có sự phát triển của vi sinh vật hay không. Nếu bản chất của mẫu thử làm đục môi trường khiến khó quan sát bằng mắt thường sự phát triển của vi sinh vật thì sau 14 ngày ủ, cấy truyền một lượng nhỏ từ môi trường đó (mỗi ống không quá 1 ml) sang loạt môi trường mới cùng loại và tiếp tục ủ cả môi trường cũ và môi trường mới cấy truyền trong không dưới 4 ngày.

Nếu không quan sát thấy sự phát triển của vi sinh vật trong các môi trường, mẫu thử đạt chỉ tiêu vô khuẩn. Nếu quan sát thấy sự phát triển của vi sinh vật trong các môi trường, mẫu thử không đạt chỉ tiêu vô khuẩn, trừ trường hợp chỉ ra rõ ràng rằng thử nghiệm không có giá trị do các nguyên nhân không liên quan gì đến mẫu thử.

Thử nghiệm được coi là không có giá trị khi:

– Các số liệu về kiểm soát vi sinh vật của khu vực thử vô khuẩn không đạt.

– Khi rà soát lại quá trình thử vô khuẩn phát hiện thấy có sai sót.

– Có sự phát triển của vi sinh vật trong ống đối chứng âm tính.

– Sau khi phân lập và định danh vi sinh vật thu được trong ống môi trường, sự phát triển của vi sinh vật này rõ ràng là do sai sót liên quan đến vật liệu hoặc kỹ thuật được áp dụng cho mẫu thử.

Nếu thử nghiệm không có giá trị, tiến hành thử vô khuẩn lại với số lượng mẫu giống như lần đầu.

Nếu không quan sát thấy sự phát triển của vi sinh vật trong các môi trường ở lần thử lặp lại, mẫu thử đạt chỉ tiêu vô khuẩn. Nếu quan sát thấy sự phát triển của vi sinh vật trong các môi trường ở lần thử lặp lại, mẫu thử không đạt chỉ tiêu vô khuẩn.

Bảng 13.7.2 - Số lượng tối thiểu mẫu thử của đơn vị đóng gói cho vào mỗi loại môi trường

Số lượng chế phẩm trong 1 đơn vị đóng gói	Số lượng tối thiểu mẫu thử của đơn vị đóng gói cho vào mỗi loại môi trường (trừ khi có qui định khác)
Chất lỏng:	
- dưới 1 ml	Toàn bộ đơn vị đóng gói
- từ 1 ml đến 40 ml	1/2 đơn vị đóng gói nhưng không dưới 1 ml
- hơn 40 ml đến không quá 100 ml	20 ml
- hơn 100 ml	10 % đơn vị đóng gói nhưng không dưới 20 ml
Chất lỏng kháng sinh	1 ml
Chế phẩm không tan, chế phẩm dạng kem, mỡ được phân tán hoặc nhũ hóa	Lấy lượng tương ứng với ít nhất 200 mg thuốc
Chất rắn:	
- dưới 50 mg	Toàn bộ đơn vị đóng gói
- từ 50 mg đến dưới 300 mg	1/2 đơn vị đóng gói nhưng không dưới 50 mg
- từ 300 mg đến 5 g	150 mg
- hơn 5 g	500 mg
- Chỉ khâu phẫu thuật và chỉ khâu dùng trong thú y	3 đoạn (mỗi đoạn dài 30 cm)
- Băng, bông, gạc phẫu thuật được đóng gói kín	100 mg mỗi gói
- Chỉ khâu phẫu thuật và các dụng cụ khác được đóng gói dùng một lần	Toàn bộ đơn vị đóng gói
- Các dụng cụ y tế khác	Toàn bộ dụng cụ, cắt nhỏ dụng cụ hoặc tháo rời dụng cụ ra

Bảng 13.7.3 - Số lượng tối thiểu đơn vị đóng gói của lô đem thử

Số lượng đơn vị đóng gói của lô*	Số lượng tối thiểu đơn vị đóng gói của lô đem thử cho mỗi loại môi trường trừ khi có qui định khác**
Thuốc tiêm:	
- Không quá 100 đơn vị đóng gói	10 % hoặc 4 đơn vị đóng gói, lấy số lớn hơn
- Trên 100 đến không quá 500 đơn vị đóng gói	10 đơn vị đóng gói
- Trên 500 đơn vị đóng gói	2 % hoặc 20 đơn vị đóng gói (đối với thuốc tiêm thể tích lớn: 10 đơn vị đóng gói), lấy số bé hơn
Thuốc nhỏ mắt và chế phẩm không tiêm:	
- Không quá 200 đơn vị đóng gói	5 % hoặc 2 đơn vị đóng gói, lấy số lớn hơn
- Trên 200 đơn vị đóng gói	10 đơn vị đóng gói
- Nếu chế phẩm được đóng gói dùng một lần, áp dụng qui định giống với thuốc tiêm	
Chỉ khâu phẫu thuật và chỉ khâu dùng trong thú y	2 % hoặc 5 đơn vị đóng gói, lấy số lớn hơn, tối đa 20 đơn vị đóng gói
Chế phẩm rắn:	
- Không quá 4 đơn vị đóng gói	Mỗi đơn vị đóng gói
- Trên 4 đến không quá 50 đơn vị đóng gói	20 % hoặc 4 đơn vị đóng gói, lấy số lớn hơn.
- Trên 50 đơn vị đóng gói	2 % hoặc 10 đơn vị đóng gói, lấy số lớn hơn.

* Nếu không rõ số lượng đơn vị đóng gói của lô, sử dụng số lượng tối đa theo qui định trong bảng.

** Nếu lượng mẫu trong một đơn vị đóng gói đủ cho 2 loại môi trường, số lượng tối thiểu đơn vị đóng gói đem thử trong cột được hiểu là tính cho cả 2 loại môi trường.

Áp dụng phép thử vô khuẩn vào thuốc tiêm, thuốc nhỏ mắt và các chế phẩm không tiêm có yêu cầu vô khuẩn
Khi sử dụng phương pháp màng lọc, lượng mẫu trong một đơn vị đóng gói ít nhất phải tuân thủ theo qui định trong Bảng 13.7.2, nếu có thể thì sử dụng toàn bộ lượng mẫu trong một đơn vị đóng gói, pha loãng nếu cần với khoảng 100 ml dung dịch pha loãng phù hợp như dung dịch pepton thịt hoặc pepton casein 1 g/L.
Khi sử dụng phương pháp cấy trực tiếp, lượng mẫu thử cho vào mỗi loại môi trường tuân theo qui định trong Bảng 13.7.2, trừ khi có chỉ dẫn khác. Nếu thể tích hoặc lượng mẫu thử trong một đơn vị đóng gói không đủ để tiến hành thử nghiệm, cần lấy mẫu thử từ 2 hoặc nhiều đơn vị đóng gói để cấy vào các môi trường khác nhau.

Số lượng tối thiểu đơn vị đóng gói đem thử
Số lượng tối thiểu đơn vị đóng gói đem thử được dựa trên cỡ lô của mẫu thử và được qui định tại Bảng 13.7.3.

13.8 XÁC ĐỊNH HIỆU QUẢ KHÁNG KHUẨN CỦA CHẤT BẢO QUẢN

Chất bảo quản là những chất được thêm vào các chế phẩm phân liều không vô trùng, nhất là các loại thuốc nước, để ngăn chặn sự phát triển của vi sinh vật có sẵn trong chế phẩm hay nhiễm vào chế phẩm trong quá trình sản xuất. Chất bảo quản cũng được thêm vào các chế phẩm vô trùng đa liều để ức chế sự phát triển của vi sinh vật nhiễm vào chế phẩm sau khi mở ra sử dụng.
Không được dùng chất bảo quản như một biện pháp thay thế cho thực hành tốt sản xuất thuốc, không được dùng chất bảo quản với mục đích duy nhất là làm giảm số lượng vi sinh vật trong chế phẩm không vô trùng hoặc để làm tăng hiệu quả của quá trình tiệt trùng đối với chế phẩm vô trùng đa liều.
Đa số các chất bảo quản là những hợp chất độc. Do đó, để bảo đảm an toàn, nồng độ chất bảo quản trong sản phẩm cuối phải thấp hơn mức có thể gây nguy hiểm cho người sử dụng. Nồng độ chất bảo quản cần dùng có thể giảm đến mức tối thiểu nếu một hay nhiều hoạt chất trong công thức pha chế có khả năng kháng khuẩn và/hoặc kháng nấm.
Chất bảo quản và nồng độ sử dụng của nó phải ghi rõ trên bao bì của sản phẩm.
Hiệu quả bảo vệ sản phẩm của chất bảo quản phải được xác định ngay từ giai đoạn nghiên cứu và phát triển sản phẩm. Phương pháp xác định hiệu quả kháng khuẩn của chất bảo quản được trình bày dưới đây.
Nguyên tắc của phương pháp là cấy một hỗn dịch vi sinh vật chỉ thị thích hợp vào chế phẩm cần thử, tốt nhất là cấy trực tiếp vào bao bì đóng gói cuối cùng của sản phẩm, nếu có thể. Ủ chế phẩm đã cấy vi sinh vật ở nhiệt độ thích hợp, sau đó lấy mẫu và đếm số lượng vi sinh vật sống còn lại trong sản phẩm sau mỗi khoảng thời gian ủ nhất định. Việc sử dụng chất bảo quản được xem là có hiệu quả nếu số lượng vi sinh vật giảm đáng kể hoặc không tăng theo thời gian.
Tiêu chuẩn để đánh giá hiệu quả kháng khuẩn của chất bảo quản tùy theo loại chế phẩm và đường dùng thuốc (xem Bảng 13.8.1).

Phân loại chế phẩm
Đối tượng của thử nghiệm xác định hiệu quả kháng khuẩn của chất bảo quản là các loại chế phẩm có thành phần chính là nước hay có sử dụng nước làm tá dược. Các chế phẩm này được chia thành 4 nhóm như Bảng 13.8.1.

Bảng 13.8.1

Loại chế phẩm	Mô tả
1	Thuốc tiêm và thuốc dùng ngoài đường tiêu hóa bao gồm nhũ dịch, thuốc nhỏ tai, thuốc nhỏ mắt và thuốc nhỏ mũi vô trùng.
2	Thuốc nhỏ mũi không vô trùng, các chế phẩm dùng cho màng nhày, các chế phẩm dùng ngoài da, bao gồm cả các nhũ dịch.
3	Các loại thuốc uống (trừ thuốc kháng acid).
4	Thuốc uống kháng acid

Vi sinh vật chỉ thị
Aspergillus niger ATCC 16404 (IP 1431.83, IMI 149 007).
Candida albicans ATCC 10231 (IP 48.72, NCPF 3179).
Pseudomonas aeruginosa ATCC 9027 (CIP 82.118, NCIMB 8626).
Staphylococcus aureus ATCC 6538 (CIP 4.83, NCTC 10788).

Môi trường nuôi cấy
Tất cả các môi trường sử dụng trong phụ lục này phải được kiểm tra khả năng dinh dưỡng, dùng các vi sinh vật chỉ thị nêu trên để thử trước khi dùng.

Chuẩn bị hỗn dịch vi sinh vật chỉ thị
Cấy riêng rẽ chủng vi sinh vật chỉ thị lên bề mặt môi trường rắn thích hợp, có thể sử dụng môi trường giới thiệu ở Bảng 13.8.2 hoặc môi trường khác có sẵn trên thị trường có cùng công dụng và có khả năng dinh dưỡng tương đương, sau đó ủ trong điều kiện như qui định ở Bảng 13.8.2 (xem Phụ lục 13.6. Thử giới hạn nhiễm khuẩn để biết thành phần của các môi trường dinh dưỡng).
Sau khi ủ, nếu cần, có thể tiếp tục cấy chuyển vi sinh vật thu được sang bề mặt môi trường dinh dưỡng mới, cho đến khi thu được vi sinh vật ở trong trạng thái phát triển tốt nhất. Tuy nhiên, số lần cấy chuyển không được quá 5 lần từ chủng gốc ban đầu.
Rửa bề mặt môi trường nuôi cấy các vi khuẩn và *C. albicans* bằng dung dịch natri clorid vô trùng 0,9 %, tập trung dịch rửa vào vật dụng thích hợp và bổ sung dung dịch natri clorid vô trùng 0,9 % để thu được hỗn dịch có khoảng 10^8 CFU. Để thu hoạch bào tử *A. niger*, cũng tiến hành như trên nhưng dùng dung dịch natri clorid vô trùng 0,9 % có chứa 0,05 % polysorbat 80, thêm dung dịch natri clorid vô trùng 0,9 % để được hỗn dịch có khoảng 10^8 CFU/ml.

Bảng 13.8.2 - Điều kiện nuôi cấy vi sinh vật

Vi sinh vật chỉ thị	Môi trường nuôi cấy	Nhiệt độ ủ	Thời gian ủ
Pseudomonas aeruginosa	Môi trường lỏng casein đậu tương Môi trường thạch casein đậu tương	30 °C đến 35 °C	18 h đến 24 h
Staphylococcus aureus	Môi trường lỏng casein đậu tương Môi trường thạch casein đậu tương	30 °C đến 35 °C	18 h đến 24 h
Candida albicans	Môi trường Sabouraud lỏng Môi trường thạch Sabouraud	20 °C đến 25 °C	44 h đến 52 h
Aspergillus niger	Môi trường Sabouraud lỏng Môi trường thạch Sabouraud	20 °C đến 25 °C	6 ngày đến 10 ngày

Ngoài ra, có thể tăng sinh chủng gốc của mỗi vi sinh vật chỉ thị trong môi trường lỏng thích hợp, ví dụ môi trường giới thiệu ở Bảng 13.8.2, thu hoạch vi sinh vật chỉ thị bằng cách ly tâm, sau đó rửa và phân tán lại trong dung dịch natri clorid vô trùng 0,9 % để được hỗn dịch có khoảng 10^8 CFU/ml.

Đếm số lượng tế bào sống của mỗi hỗn dịch thu được bằng phương pháp đĩa thạch (xem Phụ lục 13.6 Thử giới hạn nhiễm khuẩn). Kết quả đếm (CFU/ml) được dùng để xác định lượng vi sinh vật đã cấy vào chế phẩm cần thử tại thời điểm bắt đầu thử nghiệm.

Bảo quản các hỗn dịch vi sinh vật chỉ thị trong tủ lạnh nếu không dùng ngay trong vòng 2 h. Các hỗn dịch vi khuẩn và *C. albicans* phải dùng trong vòng 24 h sau khi thu hoạch, hỗn dịch *A. niger* có thể bảo quản trong tủ lạnh trong 7 ngày.

Tiến hành

Cấy riêng rẽ từng hỗn dịch chủng vi sinh vật chỉ thị đã được chuẩn bị như trên trực tiếp vào 4 đơn vị đóng gói cuối cùng của chế phẩm cần thử, lắc kỹ để trộn đều. Thể tích hỗn dịch vi sinh vật cấy vào các đơn vị đóng gói được tính toán sao cho nồng độ vi sinh vật chỉ thị trong chế phẩm cần thử ngay sau khi cấy khoảng từ 10^5 CFU/ml đến 10^6 CFU/ml đối với chế phẩm loại 1, 2 và 3, khoảng 10^3 CFU/ml đến 10^4 CFU/ml đối với chế phẩm loại 4. Thể tích hỗn dịch đem cấy không được vượt quá 1 % thể tích chế phẩm cần thử, tốt nhất là từ 0,5 % đến 1 %. Nếu không thể cấy vi sinh vật chỉ thị trực tiếp vào đơn vị đóng gói cuối cùng của sản phẩm, chuyển một thể tích đủ lớn của chế phẩm cần thử, ít nhất 20 ml, vào 4 vật chứa vô trùng có thể tích thích hợp, có nắp kín và tiếp tục tiến hành như trên.

Ủ các vật chứa đã cấy vi sinh vật chỉ thị ở nhiệt độ 20 °C đến 25 °C, tránh ánh sáng. Lấy mẫu từ mỗi vật chứa lúc 0 h và sau những khoảng thời gian ủ nhất định như qui định ở Bảng 13.8.3, lượng mẫu cần lấy thường là 1 ml hoặc 1 g. Ghi chép mọi thay đổi về mặt cảm quan của chế phẩm cần thử trong quá trình ủ. Xác định số lượng vi sinh vật tại mỗi thời điểm lấy mẫu bằng phương pháp đĩa thạch, dùng môi trường dinh dưỡng và nhiệt độ ủ như qui định ở Bảng 13.8.2, thời gian ủ từ 3 ngày đến 5 ngày đối các vi khuẩn và *C. albicans*, 3 ngày đến 7 ngày đối với *A. niger*.

Phải bảo đảm loại bỏ hoàn toàn hoạt tính kháng khuẩn và/hoặc kháng nấm của chế phẩm cần thử bằng phương pháp pha loãng, lọc, hay dùng chất trung hòa. Nếu sử dụng phương pháp pha loãng, điểm cần chú ý là độ chính xác của kết quả đếm sẽ giảm khi số lượng vi sinh vật khá nhỏ (nhỏ hơn 30 CFU/hộp đối với phương pháp hộp thạch, dùng hộp petri có đường kính từ 90 mm đến 100 mm). Nếu sử dụng chất trung hòa, phải có biện pháp kiểm tra thích hợp để bảo đảm nồng độ chất trung hòa đã dùng đủ để loại bỏ hoàn toàn hoạt tính kháng khuẩn của chế phẩm cần thử và để bảo đảm bản thân chất trung hòa không gây bất cứ ảnh hưởng bất lợi nào đến sự phát triển của vi sinh vật chỉ thị. Dùng nồng độ vi sinh vật chỉ thị, tính bằng CFU/ml, tại thời điểm bắt đầu thử nghiệm (R_o) và nồng độ vi sinh vật sống đếm được tại mỗi thời điểm lấy mẫu "t" (R_t), tính lượng giảm đi của mỗi vi sinh vật chỉ thị tại thời điểm đó (R):

$$\text{Log}_{10}\text{Reduction} = \text{Log}_{10}R_o - \text{Log}_{10}R_t$$

Nguyên tắc đánh giá hiệu quả kháng vi sinh vật của chất bảo quản

Hiệu quả kháng khuẩn của chất bảo quản hay hệ chất bảo quản được xem là đạt yêu cầu nếu kết quả thử nghiệm thỏa mãn các nguyên tắc đánh giá ở các Bảng 13.8.3 (.A/B/C/D). Số lượng vi sinh vật chỉ thị tại một thời điểm tăng không nhiều hơn 0,5 $\log_{10}$ CFU/ml so với kết quả đếm ở thời điểm gần kề trước đó thì được xem là "*không tăng*".

Bảng 13.8.3.A - Chế phẩm loại 1

	Log_{10}Reduction		
	7 ngày	14 ngày	28 ngày
Vi khuẩn	≥ 1,0	≥ 3,0	Không tăng
Nấm men, nấm mốc	Không tăng	Không tăng	Không tăng

Bảng 13.8.3.B - Chế phẩm loại 2

	Log_{10}Reduction		
	7 ngày	14 ngày	28 ngày
Vi khuẩn	-	≥ 2,0	Không tăng
Nấm men, nấm mốc	-	Không tăng	Không tăng

Bảng 13.8.3.C - Chế phẩm loại 3

	Log_{10}Reduction		
	7 ngày	14 ngày	28 ngày
Vi khuẩn	-	≥ 1,0	Không tăng
Nấm men, nấm mốc	-	Không tăng	Không tăng

Bảng 13.8.3.D - Chế phẩm loại 4

	Log_{10}Reduction		
	7 ngày	14 ngày	28 ngày
Vi khuẩn	-	Không tăng	Không tăng
Nấm men, nấm mốc	-	Không tăng	Không tăng

13.9 XÁC ĐỊNH HOẠT LỰC THUỐC KHÁNG SINH BẰNG PHƯƠNG PHÁP THỬ VI SINH VẬT

Hoạt lực kháng sinh được xác định bằng so sánh khả năng ức chế sự phát triển vi sinh vật nhạy cảm của kháng sinh thử và kháng sinh chuẩn.

Kháng sinh chuẩn được sử dụng trong thử nghiệm phải được xác định hoạt tính một cách chính xác dựa trên chất chuẩn quốc tế.

Phép thử xác định hoạt lực phải được thiết kế sao cho có thể tính toán được tính có giá trị của mô hình toán học được dùng làm cơ sở cho phương trình hoạt lực. Nếu áp dụng mô hình đường thẳng song song, hai đường logarit liều-đáp ứng của chất chuẩn và chế phẩm thử phải song song với nhau và phải tuyến tính trong khoảng liều được dùng trong tính toán. Các điều kiện đó phải được kiểm định bởi các thử nghiệm tính có giá trị của phương pháp (validity test) ở xác suất đã cho, thường là 0,05. Có thể sử dụng các mô hình toán học khác, ví dụ mô hình tỷ số độ dốc nếu chứng minh được tính có giá trị của phương pháp. Trừ trường hợp được chỉ dẫn trong chuyên luận riêng, giới hạn tin cậy (P = 0,95) của phép thử xác định hoạt lực phải không được dưới 95 % và không lớn hơn 105 % so với hoạt lực ước đoán.

Tiến hành định lượng theo phương pháp A hoặc B.

Phương pháp khuếch tán (A)

Làm lỏng môi trường phù hợp với điều kiện thử nghiệm và cấy một lượng chủng vi sinh vật nhạy cảm với kháng sinh thử vào môi trường ở nhiệt độ thích hợp, ví dụ 48 °C đến 50 °C đối với vi sinh vật dạng sinh dưỡng, sao cho có thể tạo ra được vòng vô khuẩn sắc nét, có đường kính phù hợp tại nồng độ kháng sinh sử dụng. Rót ngay môi trường đã cấy chủng vi sinh vật vào đĩa petri hoặc đĩa vuông với thể tích môi trường phù hợp để thu được lớp môi trường có bề dày đồng nhất từ 2 mm đến 5 mm. Ngoài ra, có thể dùng phương pháp tạo 2 lớp môi trường, trong đó chỉ có lớp môi trường phía trên là được cấy chủng vi sinh vật.

Bảo quản đĩa môi trường trên sao cho vi sinh vật không phát triển hoặc không bị chết trước khi đĩa môi trường được sử dụng và bề mặt của môi trường phải khô khi sử dụng.

Sử dụng dung môi và dung dịch đệm pha loãng theo Bảng 13.9.2 để chuẩn bị các dung dịch kháng sinh chuẩn và dung dịch kháng sinh thử có hoạt lực tương đương. Nhỏ các dung dịch này lên bề mặt của môi trường, ví dụ, vào các ống trụ vô khuẩn được làm bằng sứ, thép không gỉ hay vật liệu phù hợp khác, hoặc nhỏ vào các lỗ đã đục trong môi trường thạch. Phải nhỏ thể tích giống nhau vào các ống trụ hoặc vào các lỗ thạch. Ngoài ra, có thể sử dụng các khoanh giấy hấp phụ vô khuẩn có chất lượng phù hợp, đã thấm các dung dịch kháng sinh chuẩn và kháng sinh thử và đặt các khoanh giấy đó lên bề mặt của môi trường.

Để đánh giá tính có giá trị của phép thử, sử dụng ít nhất 3 nồng độ kháng sinh chuẩn và 3 nồng độ kháng sinh thử có hoạt lực tương đương nhau. Nên sử dụng các nồng độ kháng sinh theo cấp số nhân. Khi tính tuyến tính của hệ thống được khẳng định trên một số lượng đầy đủ các phép thử 3 nồng độ, thì đối với các phép thử thường ngày, có thể sử dụng phép thử 2 nồng độ. Tuy nhiên, trong trường hợp có tranh chấp, phải áp dụng phép thử 3 nồng độ.

Vị trí các dung dịch trong đĩa petri hoặc đĩa vuông được sắp xếp theo mô hình thống kê phù hợp, trường hợp sử dụng đĩa petri cỡ nhỏ không thể nhỏ quá 6 dung dịch thì phải sắp xếp các dung dịch kháng sinh chuẩn và thử một cách luân phiên để tránh các nồng độ lớn khuếch tán xen phủ nhau.

Ủ ở điều kiện nhiệt độ phù hợp trong 18 h. Thời gian khuếch tán trước khi ủ thường từ 1 h đến 4 h ở nhiệt độ phòng hoặc ở 4 °C để hạn chế tối đa sự ảnh hưởng của việc nhỏ các dung dịch kháng sinh ở các thời điểm khác nhau và cải thiện độ dốc của phương trình hồi qui.

Đo đường kính vòng vô khuẩn với độ chính xác tối thiểu là 0,1 mm hoặc đo diện tích vòng vô khuẩn với độ chính xác tương đương và tính toán hoạt lực bằng phương pháp thống kê thích hợp.

Với mỗi phép thử định lượng, sử dụng đủ số lần lặp lại của mỗi nồng độ để đảm bảo độ chính xác theo qui định. Có thể phải tiến hành lặp lại phép thử nhiều lần, tập hợp kết quả theo phương pháp thống kê để đạt được độ chính xác theo qui định nhằm khẳng định chắc chắn hoạt lực của kháng sinh thử không thấp hơn giới hạn tối thiểu.

Phương pháp đo độ đục (B)

Cấy vào môi trường thích hợp hỗn dịch chủng vi sinh vật nhạy cảm với kháng sinh thử sao cho có thể gây ra sự ức chế đủ lớn tới sự phát triển của vi sinh vật. Cấy vào môi trường lượng vi sinh vật hợp lí nhằm thu được độ đục phù hợp, có thể đo được sau thời gian ủ là 4 h.

Môi trường sau khi đã cấy chủng phải được sử dụng ngay.

Sử dụng dung môi và dung dịch đệm theo Bảng 13.9.3 để pha các dung dịch kháng sinh chuẩn và thử có hoạt lực tương đương.

Để đánh giá tính có giá trị của phép thử, sử dụng ít nhất 3 nồng độ kháng sinh chuẩn và 3 nồng độ kháng sinh thử có hoạt lực tương đương nhau. Nên sử dụng các nồng độ kháng sinh theo cấp số nhân. Để thu được sự tuyến tính theo qui định, cần lựa chọn 3 nồng độ liên tiếp từ một số lượng lớn các nồng độ, trong đó các nồng độ của dung dịch kháng sinh chuẩn và thử tương đương nhau.

Nhỏ một thể tích bằng nhau các dung dịch kháng sinh vào ống nghiệm, thêm môi trường đã cấy chủng với thể tích bằng nhau vào mỗi ống nghiệm (ví dụ 1 ml dung dịch kháng sinh và 9 ml môi trường). Với phép thử định lượng

tyrothricin thêm 0,1 ml dung dịch kháng sinh vào 9,9 ml môi trường đã cấy chủng).

Song song chuẩn bị 2 ống nghiệm đối chứng không có kháng sinh, cả 2 ống này đều chứa môi trường đã cấy chủng, thêm ngay vào 1 ống 0,5 ml *formaldehyd (TT)*. Các ống nghiệm này được dùng để chuẩn hóa thiết bị quang học dùng để đo sự phát triển của vi sinh vật.

Đặt các ống nghiệm theo phân bố ngẫu nhiên hoặc hình vuông Latin hoặc phân bố khối ngẫu nhiên trong bể điều nhiệt hoặc trong thiết bị phù hợp khác sao cho nhiệt độ của các ống nghiệm nhanh chóng đạt được nhiệt độ ủ theo qui định, duy trì các ống nghiệm ở nhiệt độ ủ trong 3 h đến 4 h, đảm bảo nhiệt độ và thời gian ủ đồng nhất giữa các ống nghiệm.

Sau thời gian ủ, làm ngừng sự phát triển của vi sinh vật bằng cách thêm 0,5 ml *formaldehyd (TT)* vào mỗi ống nghiệm hoặc bằng biện pháp xử lý nhiệt và đo độ đục bằng thiết bị quang học phù hợp cho kết quả có 3 chữ số có ý nghĩa. Ngoài ra, có thể đo độ đục của từng ống nghiệm sau các khoảng thời gian ủ hoàn toàn như nhau.

Tính toán hoạt lực dựa theo phương pháp thống kê phù hợp. Sự tuyến tính giữa liều-đáp ứng (số liệu chuyển đổi hoặc không chuyển đổi) thường chỉ đạt được trên một khoảng rất hẹp. Khoảng này phải được dùng để tính toán hoạt lực và phải gồm ít nhất 3 nồng độ liên tiếp để cho phép có thể kiểm tra lại tính tuyến tính. Khi tính tuyến tính của cả hệ thống được khẳng định trên một số lượng đầy đủ các phép thử 3 nồng độ, thì đối với các phép thử thường ngày, có thể sử dụng phép thử 2 nồng độ, và phải được cơ quan có thẩm quyền chấp thuận. Tuy nhiên, trong trường hợp có tranh chấp, phải áp dụng phép thử 3 nồng độ.

Với mỗi phép thử định lượng, sử dụng đủ số lần lặp lại của mỗi nồng độ để đảm bảo độ chính xác theo qui định. Có thể phải tiến hành lặp lại phép thử, tập hợp kết quả theo phương pháp thống kê để đạt được độ chính xác theo qui định nhằm khẳng định chắc chắn hoạt lực của kháng sinh thử không thấp hơn giới hạn tối thiểu.

Chủng vi sinh vật

Chuyên luận này giới thiệu một số chủng vi sinh vật và điều kiện sử dụng của chúng. Có thể sử dụng chủng vi sinh vật khác miễn là chúng đó nhạy cảm với kháng sinh thử, được sử dụng trong môi trường phù hợp, trong điều kiện nhiệt độ và pH phù hợp. Nồng độ của dung dịch kháng sinh phải được lựa chọn để đảm bảo có sự liên quan tuyến tính giữa logarit nồng độ với đáp ứng trong điều kiện thử nghiệm.

Chế tạo hỗn dịch cấy truyền

Bacillus cereus, Bacillus subtilis, Bacillus pumilus. Hỗn dịch bào tử được chuẩn bị như sau: Cấy chủng vi sinh vật lên bề mặt môi trường số 1 đã có sẵn *mangan sulfat (TT)* với nồng độ 0,001 g/L và ủ ở 35 °C đến 37°C trong 7 ngày. Dùng nước cất vô khuẩn để gạt vi khuẩn (chủ yếu dưới dạng bào tử). Làm nóng hỗn dịch bào tử ở 70 °C trong 30 min và pha loãng tới nồng độ thích hợp, thường là 10^7 đến 10^8 bào tử trong 1 ml. Hỗn dịch bào tử có thể sử dụng lâu dài nếu bảo quản ở nhiệt độ không quá 4 °C.

Ngoài ra, có thể chế tạo hỗn dịch bằng cách cấy chủng vi sinh vật vào môi trường số 3 và nuôi cấy ở 26 °C trong 4 ngày đến 6 ngày, sau đó, thêm lượng *mangan sulfat (TT)* phù hợp trong điều kiện vô khuẩn vào môi trường để thu được nồng độ 0,001 g/L, ủ thêm 48 h. Sử dụng kính hiển vi để kiểm tra xem bào tử có được hình thành với tỷ lệ đủ lớn trong hỗn dịch (khoảng 80 %) và li tâm. Hòa cặn trở lại trong nước cất vô khuẩn để thu được hỗn dịch có nồng độ 10^7 đến 10^8 bào tử trong 1 ml, làm nóng hỗn dịch ở 70 °C trong 30 min và bảo quản ở nhiệt độ không quá 4 °C.

Bordetella bronchiseptica. Nuôi cấy chủng vi sinh vật trong môi trường số 2 ở 35 °C đến 37 °C trong 16 h đến 18 h. Gạt chủng bằng nước cất vô khuẩn và pha loãng đến độ đục thích hợp.

Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli, Micrococcus luteus, Staphylococcus epidermidis. Chuẩn bị chủng vi sinh vật giống như mô tả đối với chủng *B. bronchiseptica*, nhưng sử dụng môi trường số 1 và điều chỉnh độ đục hỗn dịch sao cho có sự tuyến tính tốt giữa liều-đáp ứng trong thử nghiệm bằng phương pháp đo độ đục, hoặc tạo ra được vòng vô khuẩn sắc nét, có đường kính phù hợp trong thử nghiệm bằng phương pháp khuếch tán.

Saccharomyces cerevisiae, Candida tropicalis. Nuôi cấy chủng vi sinh vật trong môi trường số 6 °C ở 30 °C đến 37 °C trong 24 h. Gạt chủng bằng *dung dịch natri clorid 0,9 % (TT)* vô khuẩn. Pha loãng đến độ đục thích hợp bằng *dung dịch natri clorid 0,9 % (TT)* vô khuẩn.

Dung dịch đệm

Dung dịch đệm số 1 đến 12 có pH từ 5,8 đến 8,0 được pha chế bằng cách: Lấy 50,0 ml *dung dịch kali dihydrophosphat 0,2 M (TT)*, thêm *dung dịch natri hydroxyd 0,2 M (TT)* với lượng thể tích ghi ở Bảng 13.9.1. Thêm nước vừa đủ 200 ml.

Bảng 13.9.1- Thành phần dung dịch đệm

Số dung dịch đệm	pH (± 0,1)	Dung dịch natri hydroxyd 0,2 M (ml)
1	5,8	3,72
2	6,0	5,70
3	6,2	8,60
4	6,4	12,60
5	6,6	17,80
6	6.8	23,65
7	7,0	29,63
8	7,2	35,00
9	7,4	39,50
10	7,6	42,80
11	7,8	45,20
12	8,0	46,80

Dung dịch đệm số 13 (pH 6,8 ± 0,1): Hòa tan 6,4 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 18,9 g *dinatri hydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*.

Dung dịch đệm số 14 (pH 10,5 ± 0,1): Hòa tan 35,0 g *dikali hydrophosphat (TT)* trong 900 ml *nước*, thêm 20 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm số 15 (pH 4,5 ± 0,1): Hòa tan 13,61 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*.

Dung dịch đệm số 16 (pH 7,8 ± 0,1): Hòa tan 5,59 g *dikali hydrophosphat (TT)* và 0,41 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*.

Dung dịch đệm số 17 (pH 8,0 ± 0,1): Hòa tan 16,73 g *dikali hydrophosphat (TT)* và 0,523 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 750 ml *nước*, điều chỉnh pH 8,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* hoặc *dung dịch acid phosphoric 0,1 M (TT)* nếu cần, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm số 18 (pH 6,0 ± 0,1): Hòa tan 8,63 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 1,37 g *dinatri hydrophosphat khan (TT)* trong 750 ml *nước*, điều chỉnh pH 6,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)* hoặc *dung dịch acid phosphoric 0,1 M (TT)* nếu cần, thêm *nước* vừa đủ 1000 ml.

Dung dịch đệm số 19 (pH 6,0 ± 0,1): Hòa tan 20,0 g *dikali hydrophosphat (TT)* và 80,0 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong 1000 ml *nước*.

Dung dịch đệm số 20 (pH 5,6 ± 0,1): Hòa tan 0,908 g *kali dihydrophosphat (TT)* trong vừa đủ 100 ml *nước* (dung dịch A). Hòa tan 1,161 g *dikali hydrophosphat (TT)* trong vừa đủ 100 ml *nước* (dung dịch B). Trộn 94,4 ml dung dịch A và 5,6 ml dung dịch B. Điều chỉnh pH 5,6 bằng dung dịch A hoặc B, nếu cần.

Môi trường

Có thể dùng các loại môi trường sau hoặc thay thế bằng môi trường khác tương đương.

Môi trường số 1

Pepton	6,0 g
Casein thủy phân bởi pancreatin	4,0 g
Cao thịt bò	1,5 g
Cao nấm men	3,0 g
Glucose monohydrat	1,0 g
Thạch	15,0 g
Nước	1000 ml

Môi trường số 2

Casein thủy phân bởi pancreatin	17,0 g
Bột đậu tương thủy phân bởi papain	3,0 g
Natri clorid	5,0 g
Dikali hydrophosphat	2,5 g
Glucose monohydrat	2,5 g
Thạch	15,0 g
Polysorbat 80	10,0 g
Nước	1000 ml

Hòa tan các thành phần (trừ polysorbat 80) trong nước, đun sôi, thêm polysorbat 80 ngay trước khi thêm nước vừa đủ.

Môi trường số 3

Pepton	6,0 g
Cao thịt bò	1,5 g
Cao nấm men	3,0 g
Natri clorid	3,5 g
Glucose monohydrat	1,0 g
Dikali hydrophosphat	3,68 g
Kali dihydrophosphat	1,32 g
Nước	1000 ml

Môi trường số 4

Cao tim	1,5 g
Cao nấm men	1,5 g
Pepton - casein	5,0 g
Glucose monohydrat	1,0 g
Natri clorid	3,5 g
Dikali hydrophosphat	3,68 g
Kali dihydrophosphat	1,32 g
Kali nitrat	2,0 g
Nước	1000 ml

Môi trường số 5

Pepton	5,0 g
Cao thịt	3,0 g
Dikali hydrophosphat.12H_2O	26,9 g
Thạch	10,0 g
Nước	1000 ml

Sau khi tiệt khuẩn môi trường, thêm dikali hydrophosphat (TT) dưới dạng dung dịch vô khuẩn vào môi trường.

Môi trường số 6

Pepton	9,4 g
Cao nấm men	4,7 g
Cao thịt bò	2,4 g
Natri clorid	10,0 g
Glucose monohydrat	10,0 g
Thạch	23,5 g
Nước	1000 ml

Môi trường số 7

Glycerol	10,0 g
Pepton	10,0 g
Cao thịt	10,0 g
Natri clorid	3,0 g
Thạch	15,0 g
Nước	1000 ml

Môi trường số 8

D-glucose	10,0 g
Tryptone	6,0 g
Cao nấm men	2,0 g
Nước vừa đủ	1000 ml

Môi trường số 9

Pepton	6,0 g
Casein thủy phân bởi pancreatin	4,0 g
Cao nấm men	3,0 g
Glucose monohydrat	1,0 g
Thạch	20,0 g
Nước	1000 ml

Môi trường số 10

Pepton	6,0 g
Cao thịt bò	1,5 g
Cao nấm men	6,0 g
Glucose	1,0 g
Thạch	15,0 g - 20 g
Nước	1000 ml

Môi trường số 11

Pepton	5,0 g
Thạch	15,0 g
Cao thịt bò	3,0 g
Nước	1000 ml

Môi trường số 12

Pepton	10.0 g
Cao thịt	3,0 g
Natri clorid	30,0 g
Thạch	20.0 g
Nước	1000 ml

Môi trường số 13

Pepton	6.0 g
Cao nấm men	3,0 g
Cao thịt bò	1,5 g
Thạch	20,0 g
Nước	1000 ml

Môi trường số 14

Pepton	6,0 g
Cao nấm men	3,0 g
Cao thịt bò	1,5 g
Thạch	15,0 g
Nước	1000 ml

Bảng 13.9.2 - Điều kiện định lượng kháng sinh bằng phương pháp khuếch tán

Tên kháng sinh	Chất chuẩn	Dung môi ban đầu	Dung dịch đệm	Chủng vi sinh vật	Môi trường và pH (± 0,1)	Nhiệt độ ủ
Acetyl spiramycin	Acetyl spiramycin	Hòa tan acetyl spiramycin trong *ethanol (TT)* với tỷ lệ 5 mg trong 2 ml, sau đó thêm nước cất vừa đủ	Số 16	*Bacillus subtilis* ATCC 6633	Số 10 (pH 8,1)	35 - 37 °C
Amphotericin B	Amphotericin B	*Dimethyl sulfoxid (TT)*	Số 14	*Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763 IP 1432-83	Số 6 (pH 6,1)	35 - 37 °C
Bacitracin kẽm	Bacitracin kẽm	*Dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*	Số 7	*Micrococcus luteus* NCTC 7743 CIP 53.160 ATCC 10240	Số 1 (pH 7,0)	35 - 39 °C
Bleomycin sulfat	Bleomycin sulfat	*Nước*	Số 13	*Mycobacterium smegmatis* ATCC 607	Số 7 (pH 7,0)	35 - 37 °C
Colistimethat natri	Colistimethat natri	*Nước*	Số 2	*Bordetella bronchiseptica* NCTC 8344 CIP 53.157 ATCC 4617 *Escherichia coli* NCIB 8879 CIP 54.127 ATCC 10536	Số 2 (pH 7.3)	35 - 39 °C
Dihydrostreptomycin sulfat	Dihydrostreptomycin sulfat	*Nước*	Số 12	*Bacillus subtilis* NCTC 8236 CIP 1.83 *Bacillus subtilis* NCTC 10400 CIP 52.62 ATCC 6633	Số 1 (pH 7,9)	30 - 37 °C
Doxycyclin hydroclorid	Doxycyclin hydroclorid	*Dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*	Số 15	*Bacillus cereus* ATCC 11778	Số 9 (pH 6,0 - 7,0)	35 - 37 °C

Tên kháng sinh	Chất chuẩn	Dung môi ban đầu
Erythromycin estolat	Erythromycin	*Methanol (TT)*
Erythromycin ethyl succinat		
Erythromycin stearat		
Framycetin sulfat	Framycetin sulfat	*Nước*
Gentamycin sulfat	Gentamycin sulfat	*Nước*
Josamycin	Josamycin	Hòa 30 mg trong 5 ml *methanol (TT)*, thêm *nước* vừa đủ 100ml
Josamycin propionat	Josamycin propionat	Hòa 40 mg trong 20 ml *methanol (TT)*, thêm dung dịch đệm số 20 vừa đủ 100 ml
Kanamycin monosulfat	Kanamycin monosulfat	*Nước*
Kanamycin acid sulfat		

Dung dịch đệm	Chủng vi sinh vật	Môi trường và pH (± 0,1)	Nhiệt độ ủ
Số 12	*Bacillus pumilus* NCTC 8241 CIP 76.18 *Bacillus subtilis* NCTC 10400 CIP 52.62 ATCC 6633	Số 1 (pH 7,9)	30 - 37 °C
Số 12	*Bacillus subtilis* NCTC 10400 CIP 52.62 ATCC 6633 *Bacillus pumilus* NCTC 8241 CIP 76.18	Số 5 (pH 7,9)	30 - 37 °C
Số 12	*Bacillus pumilus* NCTC 8241 CIP 76.18 *Staphylococcus epidermidis* NCIB 8853 CIP 68.21 ATCC 12228	Số 1 (pH 7,9)	35 - 39 °C
Số 20	*Bacillus subtilis* CIP 52.62 ATCC 6633 NCTC 10400	Số 1 (pH 6,6)	35 - 37 °C
Số 20	*Bacillus subtilis* CIP 52.62 ATCC 6633 NCTC 10400	Số 1 (pH 6,6)	35 - 37 °C
Số 12	*Bacillus subtilis* NCTC 10400 CIP 52.62 ATCC 6633	Số 1 (pH 7,9)	30 - 37 °C
	Staphylococcus aureus NCTC 7447 CIP 53.156 ATCC 6538 P		35 - 39 °C

Tên kháng sinh	Chất chuẩn	Dung môi ban đầu
Kitasamycin	Kitasamycin	*Methanol (TT)*
Lymecyclin	Lymecyclin	
Neomycin sulfat	Neomycin sulfat	*Nước*
Netilmicin sulfat	Netilmicin sulfat	*Nước*
Nystatin	Nystatin	*Dimethyl formamid (TT)*
Oxytetracyclin dihydrat	Oxytetracyclin dihydrat	*Dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*
Polymycin B sulfat	Polymycin B	Dung dịch đệm số 18
Rifamycin natri	Rifamycin natri	*Methanol (TT)*
Spiramycin	Spiramycin	*Methanol (TT)*

Dung dịch đệm	Chủng vi sinh vật	Môi trường và pH (± 0,1)	Nhiệt độ u
Số 17	*Bacillus subtilis* ATCC 6633	Số 11 (pH 7,9)	30 - 37 °C
Số 1	*Bacillus pumilus* NCTC 8241 CIP 76.18	Số 1 (pH 6,6)	37 - 39 °C
Số 12	*Bacillus pumilus* NCTC 8241	Số 5 (pH 7,9)	30 - 37 °C
Số 17	*Bacillus pumilus* NCTC 8241 CIP 76.18	Số 1 (pH 8,0 - 8,1)	35 - 39 °C
Số 12	*Bacillus subtilis* NCTC 10400 CIP 52.62 ATCC 6633	Số 5 (pH 7,9)	30 - 37 °C
Số 12	*Staphylococcus aureus* ATCC 6538 P CIP 53.156	Số 1 (pH 7,9)	32 - 35 °C
Số 19	*Saccharomyces cerevisiae* ATCC 2601	Số 6 (pH 6,0)	29 - 31 °C
Số 1	*Bacillus pumilus* NCTC 8241	Số 1 (pH 6,6)	30 - 37 °C
Số 18	*Escherichia coli* ATCC 8739	Số 12 (pH 6,5 - 6,6)	32 - 37 °C
Số 7	*Micrococcus luteus* NCTC 8340 CIP 53.45 ATCC 9341	Số 1 (pH 6,6)	35 - 39 °C
Số 12	*Bacillus subtilis* NCTC 10400 CIP 52.62 ATCC 6633	Số 1 (pH 7,9)	30 - 32 °C

PHỤ LỤC 13

DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM V

Tên kháng sinh	Chất chuẩn	Dung môi ban đầu
Streptomycin sulfat	Streptomycin sulfat	*Nước*
Teicoplanin	Teicoplanin	Dung dịch đệm số 2
Tetracyclin hydroclorid	Tetracyclin hydroclorid	*Dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (TT)*
Tobramycin	Tobramycin	*Nước*
Vancomycin	Vancomycin	*Nước*
Vancomycin hydroclorid	Vancomycin hydroclorid	*Nước*
		Nước

Dung dịch đệm	Chủng vi sinh vật	Môi trường và pH (± 0,1)	Nhiệt độ ủ
Số 12	*Bacillus subtilis* NCTC 8236 CIP 1.83	Số 1 (pH 7,9)	30 - 37 °C
	Bacillus subtilis NCTC 10400 CIP 52.62 ATCC 6633		30 - 37 °C
Số 2	*Bacillus subtilis* NCTC 8236 CIP 52.62 ATCC 6633	Số 11 (pH 7,8 - 8,0)	35 - 37 °C
Số 15	*Bacillus cereus* ATCC 11778	Số 13 (pH 6,0 - 7,0)	35 - 37 °C
Số 12	*Bacillus subtilis* ATCC 6633	Số 1 (pH 7,9)	30 - 37 °C
Số 15	*Bacillus subtilis* ATCC 6633	Số 14 (pH 5,9)	30 - 32 °C
Số 12	*Bacillus subtilis* NCTC 8236 CIP 52.62 ATCC 6633	Số 1 (pH 8,0)	37 - 39 °C
Số 15	*Bacillus subtilis* ATCC 6633	Số 14 (pH 5,9)	30 - 32 °C

Bảng 13.9.3- Điều kiện định lượng kháng sinh bằng phương pháp đo độ đục

Tên kháng sinh	Chất chuẩn	Dung môi ban đầu	Dung dịch đệm	Chủng vi sinh vật	Môi trường và pH (±0,1)	Nhiệt độ ủ
Colistimethat natri	Colistimethat natri	*Nước*	Số 7	*Escherichia coli* NCIB 8666 CIP 2.83 ATCC 9637	Số 3 (pH 7,0)	35 - 37 °C
Dihydrostreptomycin succinat	Dihydrostreptomycin sulfat	*Nước*	Số 12	*Klebsiella pneumoniae* NCTC 7427 CIP 53.153 ATCC 10031	Số 3 (pH 7,0)	35 - 37 °C
Erythromycin estolat Erythromycin ethyl sucinat Erythromycin stearat	Erythromycin	*Methanol (TT)*	Số 12	*Klebsiella pneumoniae* NCTC 7427 CIP 53.153 ATCC 10031 *Staphylococcus aureus* NCTC 7447 CIP 53.156 ATCC 6538 P	Số 4 (pH 7,0) Số 3 (pH 7,0)	35 - 37 °C 35 - 37 °C
Framycetin sulfat	Framycetin sulfat	*Nước*	Số 12	*Staphylococcus aureus* NCTC 7447 CIP 53.156 ATCC 6538 P	Số 3 (pH 7,0)	35 - 37 °C
Gentamycin sulfat	Gentamycin sulfat	*Nước*	Số 7	*Staphylococcus aureus* NCTC 7447 CIP 53.156 ATCC 6538 P	Số 3 (pH 7,0)	35 - 37 °C
Gramicidin	Gramicidin	*Methanol (TT)*	Thêm vào dung dịch đệm số 7 *polysorbat 80 (TT)* với tỷ lệ 0,1 mg/ml	*Enterococcus hirae* CIP 58.55 ATCC 10541 *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 P	Số 3 (pH 7,0)	35 - 37 °C
Josamycin	Josamycin	Hòa 30 mg trong 5 ml *methanol (TT)*, thêm nước vừa đủ 100 ml	Số 20	*Staphylococcus aureus* CIP 53.156 ATCC 6538 P NCTC 7447	Số 3 (pH 8,0)	35 - 37 °C

Tên kháng sinh	Chất chuẩn	Dung môi ban đầu
Josamycin propionat	Josamycin propionat	Hòa 40 mg trong 20 ml *methanol (TT)*, thêm dung dịch đệm số 20 vừa đủ 100 ml
Kanamycin monosulfat Kanamycin acid sulfat	Kanamycin monosulfat	*Nước*
Neomycin sulfat	Neomycin sulfat	*Nước*
Rifamycin natri	Rifamycin natri	*Methanol (TT)*
Spiramycin	Spiramycin	*Methanol (TT)*
Streptomycin sulfat	Streptomycin sulfat	*Nước*
Tyrothricin	Gramycidin	*Ethanol (TT)*
Vancomycin hydroclorid	Vancomycin hydroclorid	*Nước*

Dung dịch đệm	Chủng vi sinh vật	Môi trường và pH (±0,1)	Nhiệt độ ủ
Số 20	*Staphylococcus aureus* CIP 53.156 ATCC 6538 P NCTC 7447	Số 3 (pH 8,0)	35 - 37 °C
Số 12	*Staphylococcus aureus* NCTC 7447 CIP 53.156 ATCC 6538 P	Số 3 (pH 7,0)	35 - 37 °C
Số 12	*Staphylococcus aureus* NCTC 7447 CIP 53.156 ATCC 6538 P	Số 3 (pH 7,0)	35 - 37 °C
Số 7	*Escherichia coli* NCIB 8879 CIP 54.127 ATCC 10536	Số 3 (pH 7,0)	35 - 37 °C
Số 7	*Staphylococcus aureus* NCTC 7447 CIP 53.156 ATCC 6538 P	Số 3 (pH 7,0)	35 - 37 °C
Số 12	*Klebsiella pneumoniae* NCTC 7427 CIP 53.153 ATCC 10031	Số 3 (pH 7,0)	35 - 37 °C
Ethanol (TT)	*Enterococcus hirae* ATCC 10541	Số 3 (pH 7,0)	37 °C
Số 12	*Staphylococcus aureus* CIP 53.156 ATCC 6538 P	Số 3 (pH 7,0)	37 - 39 °C

13.10 PHÂN TÍCH THỐNG KÊ KẾT QUẢ ĐỊNH LƯỢNG SINH HỌC

1. Mở đầu

Chuyên luận này hướng dẫn cách thiết kế thí nghiệm sinh học và phương pháp phân tích thống kê các kết quả thử nghiệm sinh học có trong Dược điển Việt Nam.

Có thể dùng kiểu thiết kế thí nghiệm và cách tính toán kết quả khác với phương pháp mô tả trong chuyên luận này, miễn là các phương pháp đó có độ tin cậy không kém phương pháp được mô tả ở đây.

Phương pháp sinh học được dùng để thử nghiệm các chất hay chế phẩm mà hoạt lực của chúng không thể xác định một cách chính xác bằng các phương pháp phân tích hóa - lý. Nguyên tắc của phương pháp là so sánh chế phẩm cần định lượng với một chế phẩm chuẩn để xác định lượng chế phẩm cần định lượng cho cùng tác động sinh học với lượng đã cho, tính bằng đơn vị, của chế phẩm chuẩn. Để đảm bảo độ chính xác của kết quả định lượng, các phép thử được tiến hành với chế phẩm chuẩn và chế phẩm cần định lượng phải thực hiện đồng thời và trong cùng điều kiện thí nghiệm.

Bất kỳ một định giá nào của thử nghiệm sinh học luôn luôn mắc phải sai số ngẫu nhiên do tính biến thiên vốn có của đáp ứng sinh học, do đó nếu có thể, khi tính kết quả của mỗi thử nghiệm phải tính sai số, kể cả khi dùng phương pháp chính thức. Vì vậy, trong chuyên luận này có hướng dẫn các phương pháp thiết kế thử nghiệm và cách tính sai số. Các phương pháp tính toán trình bày ở đây chỉ tính đến sai số ngẫu nhiên gây ra bởi các sinh vật thử và giả định rằng các sai số hệ thống, ví dụ sai số do cân, pha loãng,... là rất nhỏ và không ảnh hưởng đáng kể đến kết quả định lượng (do đó phải có biện pháp thích hợp để giảm sai số hệ thống đến mức có thể chấp nhận được). Trong mọi trường hợp, trước khi áp dụng một phương pháp thống kê bất kỳ, phải tiến hành thử sơ bộ một số lần thích hợp để bảo đảm chắc chắn tính khả dụng của phương pháp đó.

Độ chính xác của kết quả thử nghiệm sinh học được xác định bởi các giới hạn tin cậy, hoặc là khoảng tin cậy của hoạt lực. Giới hạn tin cậy ở xác suất 95 % thường được chọn trong các thử nghiệm sinh học, do đó cũng được chọn trong chuyên luận này. Khoảng tin cậy tính bằng các phương pháp toán thống kê giới thiệu ở đây có khả năng chứa hoạt lực thật của chế phẩm cần định lượng với xác suất 95 %. Một số chuyên luận Dược điển qui định giới hạn tin cậy phải không được vượt quá một ngưỡng nhất định, ví dụ phải nằm trong khoảng từ 95 % đến 105 % so với hoạt lực tính được, trong một số trường hợp cần phải lặp lại thử nghiệm hai hay nhiều lần để đạt được giới hạn tin cậy cho phép.

Chú giải các ký hiệu dùng trong chuyên luận này được trình bày trong bảng ở phần cuối của chuyên luận.

2. Ngẫu nhiên hóa

Việc phân bổ những xử lý (liều, nồng độ,...) khác nhau của chế phẩm chuẩn và chế phẩm thử cho các đơn vị thí nghiệm (ví dụ động vật thí nghiệm, ống nghiệm,...) phải được thực hiện một cách hoàn toàn ngẫu nhiên. Bất kỳ một sự lựa chọn nào khác về những điều kiện thí nghiệm (ví dụ chọn lựa cân nặng, tuổi của động vật thí nghiệm, điều kiện môi trường thí nghiệm,...), cũng không được phép cố ý trong thiết kế thí nghiệm mà đều phải lựa chọn ngẫu nhiên. Chọn vị trí của chuồng nuôi động vật thí nghiệm trong phòng thí nghiệm, trình tự dùng các xử lý cũng phải được thực hiện một cách ngẫu nhiên.

Ngẫu nhiên hóa có thể thực hiện bằng cách ném xúc xắc, xào các lá bài có đánh số, dùng bảng số ngẫu nhiên hay các phần mềm vi tính thích hợp.

3. Các thử nghiệm dựa trên đáp ứng định lượng

3.1 Mô hình thống kê

3.1.1 Nguyên tắc chung

Hai mô hình thống kê thường dùng trong các thử nghiệm sinh học là mô hình đường thẳng song song và mô hình tỷ lệ độ dốc. Trong chuyên luận này chỉ giới thiệu mô hình đường thẳng song song. Để tìm hiểu thêm về mô hình còn lại, xin tham khảo Dược điển châu Âu IX hay các tài liệu thống kê khác.

Chỉ có thể áp dụng mô hình thống kê đường thẳng song song nếu thử nghiệm hội đủ các điều kiện sau:

1) Các xử lý khác nhau của chế phẩm chuẩn và chế phẩm cần định lượng đã được phân bổ ngẫu nhiên cho từng đơn vị thí nghiệm;

2) Các đáp ứng của mỗi xử lý tuân theo phân phối chuẩn;

3) Độ lệch chuẩn của các đáp ứng trong mỗi nhóm xử lý của cả chế phẩm chuẩn và chế phẩm cần định lượng không khác nhau có ý nghĩa.

Khi thử nghiệm được triển khai sử dụng, nhà phân tích phải xác định xem các số liệu thu thập được từ nhiều thử nghiệm có thỏa mãn các điều kiện lý thuyết sau không:

Điều kiện 1 có thể thỏa mãn nếu thực hiện đúng theo các hướng dẫn trình bày ở mục 2 (Ngẫu nhiên hóa).

Điều kiện 2 là một giả định mà trong thực tế hầu như đều được thỏa mãn. Những sai lệch nhỏ so với giả định này nói chung không gây ảnh hưởng lớn đến kết quả, nếu mỗi xử lý được tiến hành nhiều thí nghiệm lặp lại.

Điều kiện 3 có thể được kiểm tra bằng phép thử tính đồng nhất của các phương sai, ví dụ bằng phép kiểm Bartlett hoặc phép kiểm Hartley (xem các ví dụ trong mục 3.2.8).

Nếu điều kiện 2 và/hoặc điều kiện 3 không thỏa mãn, chuyển đổi đáp ứng y bằng $\ln(y)$, $\sqrt{y}$ hay y^2 có thể cho kết quả tốt. Phép chuyển đổi y thành $\ln(y)$ rất hữu ích trong trường hợp tính đồng nhất của các phương sai không thỏa mãn. Phép chuyển đổi này cũng giúp cải thiện tính chuẩn nếu phân phối bị lệch về bên phải.

Sự chuyển đổi y thành $\sqrt{y}$ thường được dùng khi các quan sát tuân theo phân phối Poisson, ví dụ khi các quan sát thu được bằng phương pháp đếm.

3.1.2 Các thử nghiệm thường nhật

Trong các thử nghiệm thường nhật, rất khó kiểm tra một cách hệ thống các điều kiện lý thuyết mô tả ở mục 3.1.1, bởi vì trong thực tế số quan sát trong một thử nghiệm thường nhỏ do đó ảnh hưởng đến độ nhạy của các phép kiểm thống kê. Tuy nhiên, trong những thử nghiệm cân xứng (là những thử nghiệm có số xử lý của chế phẩm chuẩn bằng với số xử lý của chế phẩm cần định lượng, ví dụ: thử nghiệm 2 + 2, 3 + 3,...) những sai lệch nhỏ so với tính chuẩn hay so với tính đồng nhất của phương sai không ảnh hưởng lớn đến kết quả thử nghiệm. Do đó, chỉ cần kiểm tra lại các điều kiện lý thuyết nói trên khi một loạt các thử nghiệm liên tiếp không thỏa mãn phép kiểm tính có giá trị (xem mục 3.2.4).

Ngoài 3 điều kiện lý thuyết đã nói trên, mô hình đường thẳng song song còn yêu cầu mỗi thử nghiệm phải thỏa mãn thêm 2 điều kiện sau:

4) Đường biểu diễn mối quan hệ giữa logarit liều và đáp ứng phải tuyến tính trong khoảng liều đã dùng.

5) Đường thẳng ln(liều) - đáp ứng của chế phẩm cần định lượng phải song song với đường ln(liều) - đáp ứng của chế phẩm chuẩn.

Chỉ có thể kiểm tra điều kiện 4 và 5 nếu thử nghiệm được tiến hành với ít nhất 3 nồng độ pha loãng của mỗi chế phẩm (định lượng 3 liều hay lớn hơn). Tuy nhiên, nếu tính tuyến tính của đường logarit liều – đáp ứng, trong một khoảng liều nhất định, đã được chứng minh bởi một số lượng đủ lớn các thử nghiệm có 3 liều trở lên, có thể tiến hành thử nghiệm chỉ với 2 liều của mỗi chế phẩm (thử nghiệm 2 liều) trong các thử nghiệm hàng ngày, dùng trong khoảng liều đã cho.

Trước khi tính hoạt lực và các giới hạn tin cậy, cần phải tiến hành phân tích phương sai để kiểm tra xem thử nghiệm có đáp ứng các điều kiện 4 và 5 hay không.

Các thử nghiệm dựa trên mô hình thống kê đường thẳng song song được trình bày trong mục 3.2.

Nếu có bất cứ điều kiện nào trong 5 điều kiện nói trên không thỏa mãn, các phương pháp tính toán giới thiệu ở đây sẽ không có giá trị. Khi đó, phải tiến hành rà soát lại các kỹ thuật thử nghiệm để tìm ra nguyên nhân.

Nếu các phép kiểm thống kê cho thấy bất kỳ một điều kiện nào trong 5 điều kiện nói trên không thỏa mãn, không được chuyển ngay sang một phép chuyển đổi khác, trừ khi có đủ bằng chứng rằng nguyên nhân gây ra hiện tượng đó không phải do ngẫu nhiên mà là kết quả của một sự thay đổi có hệ thống của các điều kiện thí nghiệm. Trước khi áp dụng một phép chuyển đổi mới vào các thử nghiệm thường nhật, phải lặp lại phép kiểm thống kê đã trình bày ở mục 3.1.1.

Để thu được một kết quả thử nghiệm đáng tin cậy, có thể phải tiến hành một vài thử nghiệm độc lập, sau đó phối hợp các kết quả thử nghiệm lại với nhau (xem mục 4 - Phối hợp các kết quả thử nghiệm).

Nhằm mục đích kiểm soát chất lượng của các thử nghiệm hàng ngày, nên ghi các trị định giá về độ dốc hồi qui và sai số dư dưới dạng biểu đồ kiểm tra.

Nếu sai số dư lớn một cách bất thường, nguyên nhân đầu tiên phải nghĩ đến là có sai sót kỹ thuật nào đó. Nếu các khảo sát khẳng định có sai sót trong quá trình thử nghiệm, phải lặp lại thử nghiệm. Sai số dư cũng có thể rất lớn nếu trong dãy số liệu đó có một giá trị bất thường. Chỉ được loại bỏ giá trị nghi ngờ là bất thường nếu giá trị đó khác có ý nghĩa thống kê với các giá trị còn lại.

Một sai số dư nhỏ bất thường có thể xảy ra một lần hoặc một lúc nào đó làm cho các tỷ số F vượt quá giá trị tới hạn. Trong những trường hợp như vậy, có thể thay sai số dư định giá được của từng thử nghiệm riêng bằng một sai số dư trung bình dựa vào các số liệu trước đó trong biểu đồ kiểm tra.

3.1.3 Cách tính toán và những hạn chế

Dưới đây là 3 hạn chế áp đặt cho mỗi thử nghiệm nhằm làm đơn giản hóa việc tính toán và làm tăng độ chính xác của thử nghiệm:

a) Số nồng độ pha loãng của mỗi chế phẩm trong một thử nghiệm phải bằng nhau;

b) Tỷ lệ giữa các liều kế tiếp nhau phải là một hằng số đối với tất cả các xử lý trong một thử nghiệm, ví dụ: $S_2/S_1 = S_3/S_2 = ... = Z_2/Z_1$;

c) Số các đơn vị thí nghiệm của mỗi xử lý phải bằng nhau.

Các công thức tính toán áp dụng cho một thiết kế thử nghiệm tuân thủ đúng 3 hạn chế nêu trên được giới thiệu ở mục 3.2. Đối với các thiết kế thử nghiệm không tuân theo các hạn chế đã nêu, các công thức tính toán sẽ rất phức tạp và không được giới thiệu trong chuyên luận này.

Trong mục 3.2.8 có trình bày một số ví dụ để minh họa về phương pháp tính thống kê. Có thể dùng các số liệu trong các ví dụ đó để kiểm tra các phần mềm dùng trong phân tích thống kê kết quả thử nghiệm sinh học.

3.2 Mô hình đường thẳng song song

3.2.1 Giới thiệu

Mô hình đường thẳng song song dựa trên quan hệ tuyến tính giữa đáp ứng Y và logarit X của liều D.

$$Y = a + bX$$

Trong đó:

Y là đáp ứng mong đợi;

X là ln (liều) = ln(D);

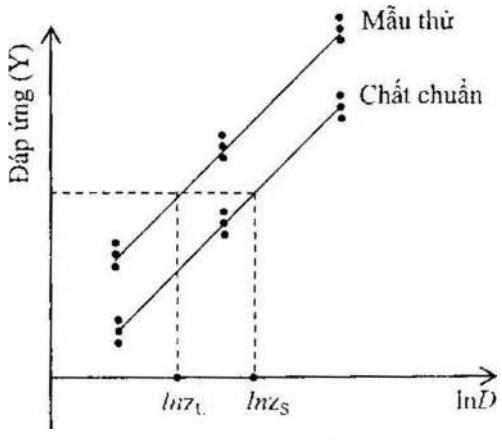
a và b là các hằng số.

Mô hình đường thẳng song song có thể được minh họa bởi đồ thị trong Hình 13.10.1. Trên đồ thị, trục hoành biểu diễn các logarit liều với nồng độ thấp ở bên trái và nồng độ cao ở bên phải, trục tung biểu diễn các đáp ứng đo được. Các đáp ứng riêng của mỗi xử lý được biểu thị bằng các chấm đen. Hai đường trên đồ thị biểu diễn mối quan hệ giữa logarit liều và đáp ứng tính được của chế phẩm chuẩn và chế phẩm cần định lượng.

Từ trục tung kẻ một đường thẳng bất kỳ song song với trục hoành, cắt hai đường ln(liều) - đáp ứng tại hai điểm có hoành độ là $\ln z_S$ và $\ln z_U$, đây là hai logarit nồng độ hoặc logarit liều của chế phẩm chuẩn và chế phẩm thử cho cùng đáp ứng sinh học.

Để cho thử nghiệm thỏa mãn, hoạt lực giả định của chế phẩm thử phải gần với hoạt lực thực. Dựa vào hoạt lực giả định này và hoạt lực ấn định của chế phẩm chuẩn, pha các độ pha loãng có hoạt lực tương đương sao cho hoạt lực Z_U của chế phẩm thử U bằng hoạt lực Z_S của chế phẩm chuẩn S.

Khoảng cách nằm ngang giữa 2 đường thẳng: $\ln(z_S) - \ln(z_U)$ là hoạt lực thực của chế phẩm thử so với hoạt lực giả định của nó. Nếu đường thẳng của chế phẩm thử ở bên phải của chế phẩm chuẩn, hoạt lực giả định đã được định giá quá cao và việc tính toán sẽ cho hoạt lực định giá được thấp hơn hoạt lực giả định; cũng tương tự nếu đường thẳng của chế phẩm thử ở bên trái của chế phẩm chuẩn, hoạt lực giả định đã được định giá quá thấp và việc tính toán sẽ cho hoạt lực định giá được cao hơn hoạt lực giả định. Trong một thử nghiệm, nếu đoạn thẳng $\ln(z_S) - \ln(z_U)$ càng nhỏ, hoạt lực giả định của chế phẩm cần thử nghiệm càng gần với hoạt lực thật của nó và kết quả thử nghiệm sẽ càng chính xác.



Hình 13.10.1 - Mô hình đường thẳng song song của một thử nghiệm 3 + 3.

Chú ý: Logarit tự nhiên ln (hay $\log_e$) được sử dụng xuyên suốt trong chuyên luận này, do đó, antilogarit tương đương với e^x. Tuy vậy, nếu muốn, hoàn toàn có thể dùng logarit cơ số 10 (hay $\log_{10}$) thay cho ln, khi đó, antilogarit tương ứng với 10^x.

3.2.2 Thiết kế thử nghiệm

Các thử nghiệm sinh học có thể được thiết kế theo một số cách khác nhau như trình bày dưới đây.

3.2.2.1 Thiết kế ngẫu nhiên hoàn toàn

Nếu toàn bộ các đơn vị thí nghiệm (động vật, ống nghiệm,...) tương đối đồng nhất, việc phân chia các đơn vị thí nghiệm cho các xử lý khác nhau phải được tiến hành một cách ngẫu nhiên, ví dụ dùng bảng hoán vị ngẫu nhiên.

Nếu chia các đơn vị thí nghiệm thành các phân nhóm, ví dụ theo vị trí vật lý hay theo ngày thí nghiệm, nên chia theo cách tính đồng nhất hơn là chỉ xét đến số lượng các đơn vị thí nghiệm, ta có thể tăng độ chính xác của thử nghiệm bằng cách áp dụng một hoặc nhiều hạn chế trong cách thiết kế thí nghiệm. Sự phân chia các đơn vị thí nghiệm theo các hạn chế đó cho phép loại bỏ những nguồn gây sai số không liên quan.

3.2.2.2 Thiết kế ngẫu nhiên theo khối

Trong kiểu thiết kế thí nghiệm này, có thể tách các nguồn biến thiên ra khỏi sai số toàn phần, ví dụ biến thiên do sự nhạy cảm giữa các lứa động vật thí nghiệm hoặc biến thiên giữa các hộp Petri trong định lượng vi sinh vật bằng phương pháp khuếch tán. Thiết kế thí nghiệm ngẫu nhiên theo khối đòi hỏi mỗi khối (lứa động vật hoặc hộp Petri) phải có số xử lý bằng nhau và chỉ thích hợp nếu khối đủ lớn để có thể chứa tất cả các xử lý của thử nghiệm.

Bảng 13.10.6 trình bày công thức tính toán áp dụng cho các thử nghiệm thiết kế thí nghiệm ngẫu nhiên theo khối, trong đó mỗi xử lý chỉ xuất hiện một lần duy nhất trong mỗi khối (thiết kế thí nghiệm ngẫu nhiên theo khối không lặp). Ví dụ minh họa cho kiểu thiết kế thí nghiệm này được trình bày trong ví dụ 3.2.8.2.

3.2.2.3 Thiết kế hình vuông Latin

Kiểu thiết kế thí nghiệm này thích hợp với những thử nghiệm mà đáp ứng chịu ảnh hưởng của 2 nguồn biến thiên khác nhau, trong đó mỗi nguồn biến thiên có k mức hay k vị trí khác nhau. Ví dụ, trong định lượng kháng sinh bằng phương pháp khuếch tán, các xử lý có thể được sắp xếp thành $k \times k$ dãy trên một khay lớn, mỗi xử lý chỉ xuất hiện một lần duy nhất trong mỗi hàng và mỗi cột. Chỉ có thể áp dụng kiểu thiết kế thí nghiệm hình vuông Latin khi số hàng, số cột và số xử lý của mỗi chế phẩm đều phải bằng nhau.

Các đáp ứng được ghi vào một bảng hình vuông gọi là hình vuông Latin. Biến thiên do sự khác nhau về đáp ứng giữa k hàng và giữa k cột sẽ được tách khỏi biến thiên toàn phần, do đó làm giảm sai số của định lượng.

Bảng 13.10.6 trình bày công thức tính toán áp dụng cho các thử nghiệm hình vuông Latin, trong đó mỗi xử lý chỉ xuất hiện một lần duy nhất trong mỗi hàng và mỗi cột. Ví dụ minh họa cho kiểu thiết kế thí nghiệm này được trình bày trong ví dụ 3.2.8.3.

3.2.2.4 Thiết kế chéo

Kiểu thiết kế thí nghiệm này được áp dụng trong trường hợp thí nghiệm có thể chia thành các khối, nhưng mỗi khối chỉ có thể nhận hai xử lý, ví dụ một khối là một đơn vị thí nghiệm được thử hai lần vào hai thời điểm khác nhau. Mục đích của kiểu thiết kế chéo là làm tăng độ chính xác của thử nghiệm bằng cách loại trừ ảnh hưởng do sự khác nhau giữa các đơn vị thí nghiệm. Nếu thử nghiệm tiến hành với 2 liều của chế phẩm chuẩn và 2 liều của chế phẩm cần định lượng, ta có kiểu thí nghiệm chéo đôi.

Bảng 13.10.1 - Cách sắp xếp các liều trong thiết kế thí nghiệm chéo

Nhóm các đơn vị thí nghiệm	Giai đoạn I	Giai đoạn II
1	s_1	u_2
2	s_2	u_1
3	u_1	s_2
4	u_2	s_1

Trong thiết kế chéo đôi, thử nghiệm được chia thành hai giai đoạn, mỗi giai đoạn tiến hành vào những thời điểm khác nhau. Các đơn vị thí nghiệm được chia thành bốn nhóm, mỗi nhóm nhận một trong bốn xử lý ở giai đoạn đầu của thí nghiệm. Đơn vị nhận một chế phẩm trong giai đoạn đầu sẽ nhận chế phẩm khác trong giai đoạn sau, và các đơn vị nhận liều thấp trong giai đoạn đầu sẽ nhận liều cao trong giai đoạn sau. Cách sắp xếp các liều cho ở Bảng 13.10.1. Ví dụ minh họa cho kiểu thiết kế thí nghiệm này được trình bày trong Ví dụ 3.2.8.4.

3.2.3 Phân tích phương sai

Mục này trình bày các công thức cần thiết để phân tích phương sai. Người đọc sẽ dễ hiểu hơn khi tham khảo thêm các ví dụ ở mục 3.2.8 và Bảng ghi chú các ký hiệu ở mục 6.

Các công thức trình bày ở đây có thể áp dụng cho các định lượng đối xứng trong đó một hay nhiều chế phẩm cần thử (U, ..., Z) được so sánh với cùng một chế phẩm chuẩn S, với điều kiện thử nghiệm phải đáp ứng được các điều kiện sau: 1) tỷ lệ giữa các liều kế tiếp nhau của tất cả các chế phẩm phải là một hằng số;

2) số xử lý của mỗi chế phẩm và 3) số đơn vị thí nghiệm (số thử nghiệm lặp lại) trong mỗi xử lý phải bằng nhau (xem mục 3.1.3).

Ngoại trừ một vài khác biệt nhỏ trong cách tính sai số dư, phương pháp phân tích các số liệu của mỗi thử nghiệm sinh học về cơ bản là giống nhau đối với các kiểu thiết kế thí nghiệm ngẫu nhiên hoàn toàn, ngẫu nhiên theo khối và hình vuông Latin. Thiết kế thí nghiệm chéo có công thức tính hoàn toàn khác và do đó được trình bày trực tiếp trong Ví dụ 3.2.8.4.

Để chuẩn bị số liệu cho phân tích phương sai, đầu tiên phải tính tổng đáp ứng của mỗi liều, tổng đáp ứng và tương phản tuyến tính (*linear contrast*) của mỗi chế phẩm; đối với các định lượng có nhiều hơn hai liều của mỗi chế phẩm, cần tính thêm tương phản bậc hai (*quadratic contrast*). Các Bảng 13.10.2, 13.10.3 và 13.10.4 trình bày các công thức tính đó.

Bảng 13.10.2 - Công thức tính toán cho các thử nghiệm hai liều đa chế phẩm

	Chế phẩm chuẩn S	**Chế phẩm thử thứ nhất U**	**Chế phẩm thử thứ (h – 1) Z**
Tổng đáp ứng của liều thấp	S_1	U_1	Z_1
Tổng đáp ứng của liều cao	S_2	U_2	Z_2
Tổng đáp ứng của chế phẩm	$S_1 + S_2 = S$	$U_1 + U_2 = U$	$Z_1 + Z_2 = Z$
Tương phản tuyến tính	$S_2 - S_1 = L_S$	$U_2 - U_1 = L_U$	$Z_2 - Z_1 = L_Z$

Bảng 13.10.3 - Công thức tính toán cho các thử nghiệm ba liều đa chế phẩm

	Chế phẩm chuẩn S	**Chế phẩm thử thứ nhất U**	**Chế phẩm thử thứ (h – 1) Z**
Tổng đáp ứng của liều thấp	S_1	U_1	Z_1
Tổng đáp ứng của liều trung gian	S_2	U_2	Z_2
Tổng đáp ứng của liều cao	S_3	U_3	Z_3
Tổng đáp ứng của chế phẩm	$S_1 + S_2 + S_3 = S$	$U_1 + U_2 + U_3 = U$	$Z_1 + Z_2 + Z_3 = Z$
Tương phản tuyến tính	$S_3 - S_1 = L_S$	$U_3 - U_1 = L_U$	$Z_3 - Z_1 = L_Z$
Tương phản bậc hai	$S_1 - 2S_2 + S_3 = Q_S$	$U_1 - 2U_2 + U_3 = Q_U$	$Z_1 - 2Z_2 + Z_3 = Q_Z$

Bảng 13.10.4 - Công thức tính toán cho các thử nghiệm bốn liều đa chế phẩm

	Chế phẩm chuẩn S	**Chế phẩm thử thứ nhất U**	**Chế phẩm thử thứ (h – 1) Z**
Tổng đáp ứng của liều thấp nhất	S_1	U_1	Z_1
Tổng đáp ứng của liều thứ hai	S_2	U_2	Z_2
Tổng đáp ứng của liều thứ ba	S_3	U_3	Z_3
Tổng đáp ứng của liều cao nhất	S_4	U_4	Z_4
Tổng đáp ứng của chế phẩm	$S_1 + S_2 + S_3 + S_4 = S$	$U_1 + U_2 + U_3 + U_4 = U$	$Z_1 + Z_2 + Z_3 + Z_4 = Z$
Tương phản tuyến tính	$3S_4 + S_3 - S_2 - 3S_1 = L_S$	$3U_4 + U_3 - U_2 - 3U_1 = L_U$	$3Z_4 + Z_3 - Z_2 - 3Z_1 = L_Z$
Tương phản bậc hai	$S_1 - S_2 - S_3 + S_4 = Q_S$	$U_1 - U_2 - U_3 + U_4 = Q_U$	$Z_1 - Z_2 - Z_3 + Z_4 = Q_Z$
Tương phản bậc ba	$3S_2 - S_1 + S_4 - 3S_3 = J_S$	$3U_2 - U_1 + U_4 - 3U_3 = J_U$	$3Z_2 - Z_1 + Z_4 - 3Z_3 = J_Z$

Trong bước kế tiếp, biến thiên toàn phần của thử nghiệm, còn gọi là sai số chung, được phân tích thành các biến thiên riêng phần như trình bày ở Bảng 13.10.5, các tổng các bình phương được tính từ các giá trị thu được ở các Bảng 13.10.2, 13.10.3 và 13.10.4.

Bảng 13.10.5 - Phép thử tính có giá trị của thử nghiệm

Nguồn biến thiên	**Bậc tự do (*f*)**	**Tổng các bình phương**		
		2 liều/chế phẩm	**3 liều/chế phẩm**	**4 liều/chế phẩm**
Chế phẩm	h - 1	$\frac{S^2+U^2+\ldots+Z^2}{2n} - K$	$\frac{S^2+U^2+\ldots+Z^2}{3n} - K$	$\frac{S^2+U^2+\ldots+Z^2}{4n} - K$
Hồi qui tuyến tính	1	$\frac{(L_S+L_U+\ldots+L_Z)^2}{2nh} = E$	$\frac{(L_S+L_U+\ldots+L_Z)^2}{2nh} = E$	$\frac{(L_S+L_U+\ldots+L_Z)^2}{20nh} = E$
Tính không song song	h - 1	$\frac{L_S^2+L_U^2+\ldots+L_Z^2}{2n} - E$	$\frac{L_S^2+L_U^2+\ldots+L_Z^2}{2n} - E$	$\frac{L_S^2+L_U^2+\ldots+L_Z^2}{20n} - E$
Tính không tuyến tính (Độ cong)	h (3 liều) 2h (4 liều)		$\frac{Q_S^2+Q_U^2+\ldots+Q_Z^2}{6n}$	$\frac{Q_S^2+Q_U^2+\ldots+Q_Z^2}{4n} + \frac{J_S^2+J_U^2+\ldots+J_Z^2}{20n}$

Tính sai số dư (*residual error*) bằng cách lấy sai số toàn phần của thử nghiệm trừ đi các sai số riêng của các nguồn biến thiên khác nhau (Bảng 13.10.6), nguồn biến thiên có thể nhận dạng được tùy theo kiểu thiết kế thí nghiệm trong Bảng 13.10.6, $\sum y^2$ là tổng bình phương của tất cả các đáp ứng đo được trong thử nghiệm, K là đại lượng để hiệu chỉnh:

$$K = \frac{(\sum y)^2}{N}$$

Kết thúc phân tích phương sai bằng cách chia các tổng các bình phương tính được từ Bảng 13.10.5 cho bậc tự do tương ứng để được các bình phương trung bình.

Bình phương trung bình của sai số dư cũng được tính theo cách tương tự, dùng số liệu tương ứng ở Bảng 13.10.6.

Bình phương trung bình của mỗi biến số cần kiểm tra sẽ được biểu diễn dưới dạng một tỷ số với sai số dư s^2, gọi là tỷ số F. Đánh giá mức ý nghĩa của các tỷ số F bằng cách so sánh F tính được (viết tắt là F_{cal}) với giá trị F tới hạn (viết tắt là F_{crit}) tra từ Bảng 13.10.7 hay bằng cách dùng các phần mềm vi tính thích hợp. Nếu dùng bảng tra cứu, đọc F_{crit} từ Bảng 13.10.7 tại giao điểm giữa cột tương ứng với bậc tự do của bình phương trung bình của biến số cần kiểm tra (f_1) và hàng tương ứng với bậc tự do của s^2 (f_2). Biến số cần kiểm tra được coi là có ý nghĩa nếu $F_{cal} > F_{crit}$ ở xác suất $P = 0,05$ hay rất có ý nghĩa nếu $F_{cal} > F_{crit}$ ở xác suất $P = 0,01$.

Bảng 13.10.6 - Định giá của sai số dư

Nguồn biến thiên	Bậc tự do (f)	Tổng các bình phương Ngẫu nhiên hoàn toàn	Ngẫu nhiên theo khối	Hình vuông Latin
Giữa các xử lý	k – 1	$\frac{S_1^2 + S_2^2 + \ldots + Z_d^2}{n} - K$	$\frac{S_1^2 + S_2^2 + \ldots + Z_d^2}{n} - K$	$\frac{S_1^2 - S_2^2 + \ldots + Z_d^2}{n} - K$
Giữa các khối (hàng)	n – 1	-	$\frac{R_1^2 + R_2^2 + \ldots + R_n^2}{k} - K$	$\frac{R_1^2 + R_2^2 + \ldots + R_n^2}{k} - K$
Giữa các khối (cột)	n – 1	-	-	$\frac{C_1^2 + C_2^2 + \ldots + C_r^2}{k} - K$
Sai số dư	Hiệu số	*	*	*
Sai số toàn phần	N – 1	$\sum y^2 - K$	$\sum y^2 - K$	$\sum y^2 - K$

** Lấy sai số toàn phần trừ đi các tổng các bình phương tương ứng của mỗi phương pháp thiết kế thí nghiệm.*

Bảng 13.10.7 - Giá trị tới hạn của tỷ số F

		f_1									
		1	2	3	4	5	6	7	8	20	∞
f_2	12	4,75	3,89	3,49	3,26	3,11	3,00	2,91	2,85	2,54	2,30
		9,33	6,93	5,95	5,41	5,06	4,82	4,64	4,50	3,86	3,36
	15	4,54	3,68	3,29	3,06	2,90	2,79	2,71	2,64	2,33	2,07
		8,68	6,36	5,42	4,89	4,56	4,32	4,14	4,00	3,37	2,87
	20	4,35	3,49	3,10	2,87	2,71	2,60	2,51	2,45	2,12	1,84
		8,10	5,85	4,94	4,43	4,10	3,87	3,70	3,56	2,94	2,42
	25	4,24	3,39	2,99	2,76	2,60	2,49	2,40	2,34	2,01	1,71
		7,77	5,57	4,68	4,18	3,85	3,63	3,46	3,32	2,70	2,17
	30	4,17	3,32	2,92	2,69	2,53	2,42	2,33	2,27	1,93	1,62
		7,56	5,39	4,51	4,02	3,70	3,47	3,30	3,17	2,55	2,01
	40	4,08	3,23	2,84	2,61	2,45	2,34	2,25	2,18	1,84	1,51
		7,31	5,18	4,31	3,83	3,51	3,29	3,12	2,99	2,37	1,80
	60	4,00	3,15	2,76	2,53	2,37	2,25	2,17	2,10	1,75	1,39
		7,08	4,98	4,13	3,65	3,34	3,12	2,95	2,82	2,20	1,60
	∞	3,84	3,00	2,60	2,37	2,21	2,10	2,01	1,94	1,57	1,00

** Nếu F tính được > F tới hạn, biến số cần kiểm tra được coi là có ý nghĩa (dòng trên, p = 0,05) hay rất có ý nghĩa (dòng dưới, p = 0,01). f_1 là bậc tự do của tử số, f_2 là bậc tự do của mẫu số.*

3.2.4. Phép thử tính có giá trị của thử nghiệm

Kết quả thử nghiệm được coi là có giá trị thống kê (*statistically valid*) nếu:

1) Đại lượng hồi qui tuyến tính rất có ý nghĩa, $F_{cal} > F_{crit}$ ở xác suất $P = 0,01$ ($P < 0,01$), chứng tỏ độ dốc của đường ln(liều) - đáp ứng rất khác 0.

2) Đại lượng không tuyến tính (*non-linearity*) phải không có ý nghĩa, $F_{cal} < F_{crit}$ ở xác suất 0,05 ($P > 0,05$), chứng tỏ thoả mãn điều kiện 4, tức là các đường ln(liều) - đáp ứng của chế phẩm chuẩn S và các chế phẩm thử (U,...,Z) thẳng.

3) Đại lượng không song song (*non-parallelism*) phải không có ý nghĩa, $F_{cal} < F_{crit}$ ở xác suất 0,05 ($P > 0,05$), chứng tỏ thử nghiệm đáp ứng điều kiện 5, hay nói cách khác các đường ln(liều) - đáp ứng của các chế phẩm thử (U,...,Z) song song với đường ln(liều) - đáp ứng của chế phẩm chuẩn S.

Nếu đại lượng không song song có ý nghĩa trong một thử nghiệm có h chế phẩm, kể cả chế phẩm chuẩn, một trong số các chế phẩm cần thử có thể có độ dốc của đường ln(liều) - đáp ứng khác với các chế phẩm còn lại. Tính t' (phép kiểm Dunnett) của mỗi chế phẩm cần định lượng (U, ... Z) theo công thức:

$$t' = \frac{L_S - L_U}{2\sqrt{ns^2}} \qquad (3.2.4.-1)$$

Đối với các thử nghiệm có bốn liều đơn chế phẩm, tính t' theo công thức:

$$t' = \frac{L_S - L_U}{2\sqrt{10ns^2}}$$

So sánh mỗi t' tính được với giá trị tới hạn đọc từ Bảng 13.10.8, với $f_1 = h - 1$, f_2 là bậc tự do của s^2. Nếu t' có ý nghĩa thống kê với một chế phẩm bất kỳ, loại bỏ tất cả các số liệu liên quan đến chế phẩm đó và lặp lại từ đầu phép kiểm tính có giá trị với các chế phẩm còn lại.

Bảng 13.10.8 - Giá trị tới hạn của t'

	$f_1 = (h - 1)$ = số chế phẩm cần định lượng								
f_2	1	2	3	4	5	6	7	8	9
5	2,57	3,03	3,29	3,48	3,62	3,73	3,82	3,90	3,97
6	2,45	2,86	3,10	3,26	3,39	3,49	3,57	3,64	3,71
7	2,36	2,75	2,97	3,12	3,24	3,33	3,41	3,47	3,53
8	2,31	2,67	2,88	3,02	3,13	3,22	3,29	3,35	3,41
9	2,26	2,61	2,81	2,95	3,05	3,14	3,20	3,26	3,32
10	2,23	2,57	2,76	2,89	2,99	3,07	3,14	3,19	3,24
11	2,20	2,53	2,72	2,84	2,94	3,02	3,08	3,14	3,19
12	2,18	2,50	2,68	2,81	2,90	2,98	3,04	3,09	3,14
13	2,16	2,48	2,65	2,78	2,87	2,94	3,00	3,06	3,10
14	2,14	2,46	2,63	2,75	2,84	2,91	2,97	3,02	3,07
15	2,13	2,44	2,61	2,73	2,82	2,89	2,95	3,00	3,04
16	2,12	2,42	2,59	2,71	2,80	2,87	2,92	2,97	3,02
17	2,11	2,41	2,58	2,69	2,78	2,85	2,90	2,95	3,00
18	2,10	2,40	2,56	2,68	2,76	2,83	2,89	2,94	2,98
19	2,09	2,39	2,55	2,66	2,75	2,81	2,87	2,92	2,96
20	2,09	2,38	2,54	2,65	2,73	2,80	2,86	2,90	2,95
24	2,06	2,35	2,51	2,61	2,70	2,76	2,81	2,86	2,90
30	2,04	2,32	2,47	2,58	2,66	2,72	2,77	2,82	2,86
40	2,02	2,29	2,44	2,54	2,62	2,68	2,73	2,77	2,81
60	2,00	2,27	2,41	2,51	2,58	2,64	2,69	2,73	2,77
120	1,98	2,24	2,38	2,47	2,55	2,60	2,65	2,69	2,73
∞	1,96	2,21	2,35	2,44	2,51	2,57	2,61	2,65	2,69

Biến thiên do chế phẩm không được dùng trong phép thử tính có giá trị của thử nghiệm, tuy nhiên, trong những thử nghiệm mà sai số dư lớn một cách bất thường và tỷ số F của nguồn biến thiên do chế phẩm cao rất có ý nghĩa, hoạt lực giả định của chế phẩm cần định lượng rất khác với hoạt lực thật của nó, cần phải lặp lại thử nghiệm dùng hoạt lực tính được làm hoạt lực giả định.

Nếu thử nghiệm thỏa mãn phép thử tính có giá trị, hay nói cách khác, thử nghiệm có giá trị thống kê, hoạt lực và các giới hạn tin cậy có thể được định giá bằng các phương pháp mô tả trong mục kế tiếp.

3.2.5 Định giá hoạt lực và các giới hạn tin cậy

Để định giá hoạt lực và các giới hạn tin cậy, trước hết phải tính đáp ứng trung bình của mỗi chế phẩm ($\bar{y}_S$, $\bar{y}_U$, ..., $\bar{y}_Z$):

$$\bar{y}_S = \frac{S}{N_S} \qquad (3.2.5.-1)$$

Tiến hành tương tự như vậy với các chế phẩm khác.

Gọi I là khoảng cách giữa ln các liều kế tiếp nhau của một chế phẩm bất kỳ (I là hằng số trong một thử nghiệm), ví dụ $I = \ln(S_2) - \ln(S_1)$, độ dốc chung (b) của một thử nghiệm bao gồm h chế phẩm, mỗi chế phẩm có d liều khác nhau được tính theo công thức:

$$b = \frac{L_S + L_U + ... + L_Z}{(d-1)Inh} \qquad (3.2.5.-2)$$

Đối với các thử nghiệm bốn liều đơn chế phẩm, tính b theo công thức:

$$b = \frac{L_S + L_U + ... + L_Z}{10Inh}$$

ln(tỷ lệ hoạt lực) của chế phẩm cần định lượng U được tính theo công thức:

$$M'_U = \frac{\bar{y}_U - \bar{y}_S}{b} \qquad (3.2.5.-3)$$

Gọi A_U là hoạt lực giả định của chế phẩm U, logarit hoạt lực của U (M_U) sẽ bằng:

$$M_U = M'_U + \ln(A_U) \qquad (3.2.5.-4)$$

Hoạt lực tính được là ước lượng của hoạt lực thật của mỗi chế phẩm cần định lượng. Các giới hạn tin cậy của hoạt lực tính được là khoảng chứa hoạt lực thật của chế phẩm cần định lượng với xác suất 95 %. Logarit của các giới hạn tin cậy được tính theo công thức sau:

$$\ln(A_U) + CM'_U \pm \frac{st\sqrt{C}}{b}\sqrt{\frac{1}{N_S} + \frac{1}{N_U} + \frac{(\bar{y}_S - \bar{y}_U)^2}{E - s^2t^2}} \qquad (3.2.5.-5)$$

với: $$C = \frac{E}{E - s^2t^2} \qquad (3.2.5.-6)$$

E là giá trị tính được từ Bảng 13.10.5, tính s^2 bằng cách chia tổng các bình phương của biến số sai số dư trong Bảng 13.10.6 cho bậc tự do tương ứng của nó, t là giá trị đọc được từ Bảng 13.10.28 với xác suất $P = 0,95$ và f là bậc tự do của s^2.

Trong những thử nghiệm đối xứng, công thức tính các giới hạn tin cậy có thể đơn giản hóa thành:

$$\ln(A_U) + CM'_U \pm \sqrt{(C-1)\left(CM'^2_U + 2H\right)} \qquad (3.2.5.-7)$$

với: $$H = \frac{E}{b^2dn}$$

Trong đó:

C là tiêu chí đánh giá ý nghĩa của đường hồi qui. Trong một thử nghiệm có độ dốc đạt yêu cầu, giá trị của C rất gần với 1. Nếu $C < 0$ hồi qui tuyến tính không có ý nghĩa.

Tính định giá hoạt lực của chế phẩm U (R_U) và các giới hạn tin cậy của nó bằng cách lấy antilogarit các giá trị tính được từ các công thức 3.2.5.-4 và 3.2.5.-7.

$$R_U = anti\ln(M_U) \qquad (3.2.5.-8)$$

$$FL_U = anti\ln\left(\ln(A_U) + CM_U \times \sqrt{(C-1)\left(CM_U^2 + 2H\right)}\right) \qquad (3.2.5.-9)$$

$$FL_L = anti\ln\left(\ln(A_U) + CM_U - \sqrt{(C-1)\left(CM_U^2 + 2H\right)}\right) \qquad (3.2.5.-10)$$

FL_U là giới hạn tin cậy trên và FL_L là giới hạn tin cậy dưới của hoạt lực tính được R_U.

Nếu nồng độ dung dịch gốc của chế phẩm chuẩn và các chế phẩm thử không hoàn toàn bằng nhau, phải hiệu chỉnh hoạt lực tính được và các giới hạn tin cậy với một hệ số, gọi là hệ số hiệu chỉnh (xem Ví dụ 3.2.8.3). Hệ số hiệu chỉnh là tỷ số giữa nồng độ dung dịch gốc của chế phẩm chuẩn và nồng độ dung dịch gốc của mỗi chế phẩm cần định lượng.

3.2.6 Các giá trị bị mất

Trong một thử nghiệm đối xứng, một sự cố ngẫu nhiên có thể dẫn đến việc mất một hay nhiều giá trị đo, ví dụ động vật thí nghiệm chết, vòng vô khuẩn bị méo không đo được trong một thử nghiệm kháng sinh … Nếu sự cố xảy ra không liên quan đến thành phần của chế phẩm đã sử dụng, vẫn có thể tính được kết quả định lượng một cách chính xác, tuy nhiên khi đó các công thức tính toán sẽ trở nên rất phức tạp. Để có thể tiếp tục dùng các công thức tính toán đơn giản của thiết kế thí nghiệm đối xứng, có thể áp dụng một trong hai cách sau:

1) Nếu số đáp ứng của mỗi xử lý đủ lớn, giảm số đáp ứng trong các xử lý có số đáp ứng lớn hơn cho đến khi số đáp ứng của tất cả các xử lý bằng nhau. Nếu động vật thí nghiệm đã được phân bố một cách ngẫu nhiên cho mỗi xử lý, bỏ một hay vài đáp ứng, được chọn ngẫu nhiên, từ các xử lý có số đáp ứng lớn sẽ thu được thử nghiệm đối xứng. Đối với các thiết kế thí nghiệm ngẫu nhiên theo khối, cách đơn giản nhất là bỏ tất cả các đáp ứng của khối có giá trị bị mất. Ví dụ, chỉ giữ lại kết quả đo của các hộp Petri có đủ 6 vòng vô khuẩn trong thử nghiệm kháng sinh 3 × 3 bằng phương pháp khuếch tán, dùng hộp Petri.

2) Thay các giá trị bị mất bằng các giá trị tính được từ những giá trị còn lại. Công thức tính các giá trị mất được trình bày ở bên dưới. Số bậc tự do của sai số toàn phần và sai số dư sẽ phải giảm đi một đơn vị cho mỗi giá trị bị mất. Cần nhớ rằng đây chỉ là phương pháp gần đúng, phương pháp chính xác luôn luôn cho kết quả đáng tin cậy hơn.

Nếu có nhiều quan sát bị mất, thay tất cả các giá trị bị mất, trừ một quan sát, bằng các giá trị ước lượng thô và dùng công thức thích hợp để tính giá trị của quan sát đó dựa trên các giá trị còn lại, kể cả các giá trị ước lượng thô. Thay quan sát bị mất bằng giá trị vừa tính được. Tiếp tục tính theo cách trên với giá trị ước đoán thô thứ nhất… Sau khi đã thay thế lần lượt tất cả các quan sát bị mất, lặp lại từ đầu chu trình tính toán, mỗi lần tính dùng một giá trị ước đoán hoặc giá trị tính được cho đến khi hai chu trình kế tiếp nhau cho cùng kết quả.

Kết quả thử nghiệm chỉ được chấp nhận nếu số các giá trị thay thế tương đối nhỏ (nhỏ hơn 5 %) so với tổng số đáp ứng của toàn bộ thử nghiệm. Cần đặc biệt thận trọng trong trường hợp các giá trị bị mất có khuynh hướng tập trung trong một xử lý hay một khối.

Thiết kế ngẫu nhiên hoàn toàn

Trong kiểu thiết kế ngẫu nhiên hoàn toàn, thay giá trị bị mất bằng trung bình số học của các đáp ứng khác trong cùng xử lý.

Thiết kế ngẫu nhiên theo khối

Giá trị bị mất (y') được tính bằng công thức:

$$y' = \frac{nB' + kT' - G'}{(n-1)(k-1)} \qquad (3.2.6.-1)$$

Trong đó:

B' là tổng đáp ứng của khối chứa giá trị bị mất, T' là tổng đáp ứng của xử lý chứa giá trị bị mất, G' là tổng tất cả các đáp ứng còn lại trong thử nghiệm, n và k theo thứ tự là số khối và số xử lý.

Để minh họa, giả sử giá trị của u_1 trong khối thứ nhất (trong trường hợp này là hàng hay hộp Petri) ở ví dụ 3.2.8.2, Bảng 13.10.14 bị mất ($u_1 = 174$). Với:

$B' = 1.050$

$T' = 869$

$G' = 7.189$

$k = 6$

$n = 6$

$y' = 173$. Dùng giá trị tính được 173 thay cho đáp ứng của u_1 trong hộp số 1 của Bảng 13.10.14 và tiếp tục tính toán như trình bày trong ví dụ 3.2.8.2 nhưng với bậc tự do của sai số toàn phần là 34, và bậc tự do của sai số dư là 24.

Thiết kế hình vuông Latin
Giá trị bị mất (y') được tính bằng công thức:

$$y' = \frac{k(B'+C'+T')-2G'}{(k-1)(k-2)} \qquad (3.2.6.-2)$$

Trong đó:
B' và C' là tổng các đáp ứng trong hàng và cột chứa giá trị bị mất. G' là tổng các đáp ứng còn lại trong thử nghiệm (Bảng 13.10.18), còn T' là tổng các đáp ứng của xử lý chứa giá trị bị mất (Bảng 13.10.19). Trong thiết kế hình vuông Latin $k = n$. Giả sử giá trị 161 của đáp ứng ở cột thứ 1 và hàng thứ 1 trong Bảng 13.10.18 và Bảng 13.10.19 (Ví dụ 3.2.8.3) bị mất, nó sẽ được thay thế bởi giá trị 150 tính được bằng công thức 3.2.6.-2 với:
$B' = 890$
$C' = 876$
$T' = 791$
$G' = 6.175$
$k = 6$
Các bậc tự do sẽ bị giảm xuống còn 19 đối với sai số dư và 34 đối với sai số toàn phần.
Thiết kế chéo
Nếu có giá trị bị mất trong kiểu thiết kế thí nghiệm chéo phải tham khảo các tài liệu thống kê vì công thức tính sẽ rất khác nhau tùy theo cách phối hợp các xử lý.

3.2.7 Các thử nghiệm đối xứng một phần
Nếu hoạt lực giả định của chế phẩm cần định lượng, là hoạt lực được dùng để tính lượng chế phẩm thử cần lấy khi pha các dung dịch của chế phẩm thử, khác xa với hoạt lực thật, nồng độ cao nhất hoặc nồng độ thấp nhất của chế phẩm thử có thể nằm lọt ra ngoài vùng tuyến tính của đường ln(liều) - đáp ứng, do đó thử nghiệm sẽ không có giá trị thống kê do không thỏa mãn tính tuyến tính và/hoặc tính song song.
Có thể tính hoạt lực từ các số liệu còn lại, sau khi loại bỏ các đáp ứng của nồng độ cao nhất hoặc nồng độ thấp nhất của chế phẩm thử và dùng hoạt lực tính được làm hoạt lực giả định cho những lần thử nghiệm lặp lại.
Logarit tỷ lệ hoạt lực được tính bằng công thức:

$$M_U = \frac{\bar{y}_U - \bar{y}_S}{b} \pm \frac{I}{2} \qquad (3.2.7.-1)$$

Công thức trên rất giống với phương trình 3.2.5.-3, tuy nhiên, ln(tỷ lệ hoạt lực) sẽ bị trừ đi một đại lượng bằng $I/2$ nếu bỏ nồng độ thấp nhất, và cộng thêm $I/2$ nếu bỏ nồng độ cao nhất.
Tính các đáp ứng trung bình $\bar{y}_S$ và $\bar{y}_U$ theo cách tương tự như thử nghiệm cân xứng hoàn toàn (phương trình 3.2.5.-1), nhưng công thức tính độ dốc (b) có một số biến đổi tùy theo thiết kế thí nghiệm.
Trong thử nghiệm hai liều đa chế phẩm, tính độ dốc bằng công thức:

$$b = \frac{L_S + \ldots + L_Z}{ln(h-1)} \qquad (3.2.7.-2)$$

Chú ý: Trong công thức trên, tử số không bao gồm L_U vì chế phẩm U chỉ còn một nồng độ.
Đối với thử nghiệm đơn chế phẩm:

$$b = \frac{L_S}{ln} \qquad (3.2.7.-3)$$

Trong thử nghiệm ba liều đa chế phẩm, tính các tương phản tuyến tính ($L_S, \ldots, L_Z$) theo công thức cho ở Bảng 13.10.3, riêng L_U tính bằng công thức ở Bảng 13.10.2. Công thức tính độ dốc sẽ là:

$$b = \frac{2(L_S + \ldots + L_Z) + L_U}{ln(4h-3)} \qquad (3.2.7.-4)$$

Đối với thử nghiệm đơn chế phẩm, công thức trên trở thành:

$$b = \frac{2L_S + L_U}{5ln} \qquad (3.2.7.-5)$$

3.2.8 Các ví dụ
Mục này trình bày một số ví dụ minh họa cách sử dụng các công thức tính toán liên quan đến mô hình đường thẳng song song.

Các ví dụ giới thiệu ở đây chỉ nhằm mục đích minh họa cho các phương pháp tính toán thống kê và không phải là phương pháp bắt buộc phải áp dụng nếu chuyên luận riêng cho phép dùng phương pháp khác.

Để có thể sử dụng các ví dụ trong chuyên luận này như nguồn số liệu tham khảo phục vụ cho việc kiểm tra các chương trình vi tính, thương mại hay tự biên soạn, dùng trong phân tích thống kê kết quả định lượng sinh học, các kết qua tính toán có thể chứa nhiều số thập phân hơn mức cần thiết. Có thể dùng phương pháp tính toán khác với phương pháp giới thiệu trong chuyên luận này, nhưng kết quả cuối cùng phải giống như các kết quả trong các ví dụ trình bày ở đây.

Ví dụ 3.2.8.1 *Thử nghiệm hai liều đa chế phẩm với thiết kế ngẫu nhiên hoàn toàn*

Thử nghiệm định lượng corticotrophin bằng phương pháp tiêm dưới da chuột cống trắng

Liều dùng của chế phẩm chuẩn là 0,25 và 1,0 đơn vị cho mỗi 100 g thể trọng chuột thí nghiệm. Hai chế phẩm thử đều có hoạt lực giả định là 1 đơn vị/mg và có liều dùng giống như chế phẩm chuẩn. Các đáp ứng riêng và đáp ứng trung bình của mỗi nhóm xử lý cho ở Bảng 13.10.9.

Bảng 13.10.9 - Đáp ứng metameter y - khối lượng acid ascorbic (mg) trên 100 g tuyến thượng thận

	Chế phẩm chuẩn ***S***		**Chế phẩm thử** ***U***		**Chế phẩm thử** ***Z***		**Tổng số**
	s_1	s_2	u_1	u_2	z_1	z_2	
	300	289	310	230	250	236	
	310	221	290	210	268	213	
	330	267	360	280	273	283	
	290	236	341	261	240	269	
	364	250	321	241	307	251	
	328	231	370	290	270	294	
	390	229	303	223	317	223	
	360	269	334	254	312	250	
	342	233	295	216	320	216	
	306	259	315	235	265	265	
Trung bình	332,0	248,4	323,9	244,0	282,2	250,0	
Phương sai (var$_i$)	1.026,7	483,8	725,0	718,7	854,6	784,7	Σ var$_i$ = 4.593,4
ln (var$_i$)	6,9341	6,1817	6,5862	6,5774	6,7507	6,6653	Σln(var$_i$) = 39,6953

Bảng 13.10.10- Các tổng đáp ứng và tương phản tuyến tính (xem công thức tính ở Bảng 13.10.2)

	Chế phẩm chuẩn ***S***	**Chế phẩm thử** ***U***	**Chế phẩm thử** ***Z***	**Tổng số**
Liều thấp	$S_1 = 3.320$	$U_1 = 3.239$	$Z_1 = 2.822$	
Liều cao	$S_2 = 2.484$	$U_2 = 2.440$	$Z_2 = 2.500$	
Tổng đáp ứng của chế phẩm	$S = 5.804$	$U = 5.679$	$Z = 5.322$	$\sum y = 16.805$
Tương phản tuyến tính	$L_S = -836$	$L_U = -799$	$L_S = -322$	$\sum L = 1.957$

$$K = \frac{(\sum y)^2}{N} = \frac{16.805^2}{60} = 4.706.800,42$$

$$\sum y^2 = 4.826.447$$

Tính các tổng các bình phương theo công thức trong các Bảng 13.10.5 và 13.10.6 dùng các số liệu tính được ở Bảng 13.10.10:

$$\text{Chế phẩm} = \frac{S^2+U^2+Z^2}{2n} - K = \frac{5.804^2 + 5.679^2 + 5.322^2}{20} - 4.706.800,42 = 6.256,63$$

$$\text{Hồi qui tuyến tính} = \frac{(L_S + L_U + \ldots + L_Z)^2}{2nh} = \frac{(-836 - 799 - 322)^2}{60} = 63.830,817 = E$$

$$\text{Không song song} = \frac{L_S^2 + L_U^2 + \ldots + L_Z^2}{2n} - E = \frac{(-836)^2 + (-799)^2 + (-322)^2}{20} - 63.830,817 = 8.218,233$$

Giữa các xử lý = $\frac{S_1^2 + S_2^2 + ... + Z_d^2}{n} - K = \frac{3.320^2 + 2.484^2 + ... + 2.500^2}{10} - K = 78.305,68$

Toàn phần = $\sum y^2 - K$ = 4.826.447 − 4.706.800,42 = 119.646,58

Sai số dư = Toàn phần - Giữa các xử lý = 119.646,58 − 78.305,68 = 41.340,90

Bảng 13.10.11- Phân tích phương sai

Nguồn biến thiên	Bậc tự do	Tổng các bình phương	Bình phương trung bình	Tỷ số F	Xác suất
Chế phẩm	2	6.256,6	3128,3		
Hồi qui tuyến tính	1	63.830,8	63.830,8	83,4	< 0,01
Không song song	2	8.218,2	4109,1	5,4	< 0,05
Giữa các xử lý	5	78.305,7			
Sai số dư	54	41.340,9	765,572		
Sai số toàn phần	59	119.646,6			

Phép thử tính có giá trị của thử nghiệm

Kết quả phân tích phương sai cho thấy, tỷ số F của biến số hồi qui F_{cal} = 83,4 rất lớn so với F tới hạn ở xác suất $P = 0,01$, $f_1 = 1$ và $f_2 = 54$: $F_{(P=0,01;f1=1;f2=54)} = 7,13$[1], do đó biến số hồi qui rất có ý nghĩa.

Biến số không song song cũng có ý nghĩa, $F_{cal.} = 5,4 > F_{(P=0,05;f1=2;f2=54)} = 3,17$. Khảo sát Bảng 13.10.10 cho thấy chế phẩm Z có tương phản tuyến tính L_Z rất khác với L_S và L_U. Do đó, có khả năng độ dốc của đường ln(liều) - đáp ứng của chế phẩm Z không phù hợp với các chế phẩm còn lại và là nguyên nhân làm cho tính có giá trị của thử nghiệm không thỏa mãn. Kiểm tra giả thuyết trên bằng phép kiểm Dunnett (t' được tính theo công thức 3.2.4 - 1 ở mục 3.2.4) :

Đối với chế phẩm U:

$$t' = \frac{L_S - L_U}{2\sqrt{ns^2}} = \frac{-836 - (-799)}{2\sqrt{10 \times 765,572}} = -0,21$$

Đối với chế phẩm Z:

$$t' = \frac{L_S - L_Z}{2\sqrt{ns^2}} = \frac{-836 - (-322)}{2\sqrt{10 \times 765,572}} = -2,94$$

Đối với chế phẩm Z, $|t'_{cal.}| = 2,94 > t'_{crit} = 2,27$ đọc từ Bảng 13.10.8 với $P = 0,05$, $f_1 = 2$ và $f_2 = 54$, do đó đường ln(liều) - đáp ứng của nó không song song với đường ln(liều) - đáp ứng của chế phẩm chuẩn. Loại các số liệu liên quan đến chế phẩm Z và lặp lại phân tích chỉ với các số liệu của chế phẩm U và chế phẩm chuẩn, với $\sum y$ = 11.483 và $\sum L$ = −1.635 (Bảng 13.10.10).

$$K = \frac{(\sum y)^2}{N} = \frac{11.483^2}{40} = 3.296.482,225$$

$$\sum y^2 = 3.390.325$$

Bảng 13.10.12 - Phân tích phương sai không có chế phẩm Z

Nguồn biến thiên	Bậc tự do	Tổng các bình phương	Bình phương trung bình	Tỷ số F	Xác suất
Chế phẩm	1	390,6	390,6		
Hồi qui tuyến tính	1	66.830,6	66.830,6	90,5	< 0,01
Không song song	1	34,2	34,2	0,05	> 0,05
Giữa các xử lý	3	67.255,5			
Sai số dư	36	26.587,3	738,54		
Sai số toàn phần	39	93.842,8			

[1] Trong bảng 13.10.7 không có $f_2 = 54$. Tuy nhiên $F_{(P=0,01;f1=1;f2=40)} = 7,31$ nên ở đây $F_{crit} = F_{(P=0,01;f1=1;f2=54)}$ phải < 7,31, còn $F_{cal} = 83,4$, do đó $F_{cal} > F_{crit}$ nên biến số hồi qui rất có ý nghĩa. Nếu có bảng tra cứu chi tiết hơn, có $f_2 = 54$ thì $F_{crit} = 7,13$. Trị số này có thể tìm được bằng phép nội suy của bảng 13.10.7 hoặc cũng có thể tính được bằng hàm FINV(p,f_1,f_2) của chương trình bảng tính Excel.

Sau khi loại chế phẩm Z, kết quả phân tích phương sai cho thấy thử nghiệm thỏa mãn các yêu cầu về cả hồi qui và cả tính không song song.

Định giá hoạt lực và các giới hạn tin cậy

$$\bar{y}_S = \frac{S}{N_S} = \frac{5.804}{20} = 290,2$$

$$\bar{y}_U = \frac{U}{N_U} = \frac{5.679}{20} = 283,95$$

Tỷ lệ giữa các liều kế tiếp nhau bằng 1,0/0,25 = 4, do đó $I = \ln(4) = 1,3863$, $t = 2,03$ với $P = 0,95$ và $f = 36$ (Bảng 13.10.28).

$$b = \frac{L_S + L_U}{lnh} = \frac{-1.635}{20I} = -58,970$$

$$M'_U = \frac{\bar{y}_U - \bar{y}_S}{b} = \frac{283,95 - 290,2}{-58,970} = 0,1060$$

Hoạt lực giả định A_U của chế phẩm U là 1 đơn vị/mg, do đó:

$$M_U = M'_U + \ln(A_U) = 0,1060 + 0 = 0,1060$$

Hoạt lực của chế phẩm U bằng antiln(M_U) = antiln(0,1060) = 1,11 đơn vị/mg.

$$C = \frac{E}{E - s^2t^2} = \frac{66.830,6}{66.830,6 - 738,5 \times 2,03^2} = 1,0477$$

$$H = \frac{E}{b^2dn} = \frac{66.830,6}{(-58,970)^2 \times 2 \times 10} = 0,969091$$

$$(C-1)(CM'^2_U + 2H) = (1,0477-1)(1,0477 \times 0,1060^2 + 2 \times 0,969091) = 0,09223$$

Logarit các giới hạn tin cậy bằng:

$$\ln(A_U) + CM'_U \pm \sqrt{0,09223} = 0 + 0,1110 \pm 0,3037$$

Các giới hạn tin cậy là 0,82 và 1,51 đơn vị/mg.

Ví dụ 3.2.8.2 *Thử nghiệm 3 liều đơn chế phẩm, với thiết kế thí nghiệm ngẫu nhiên theo khối không lặp*

Thử nghiệm định lượng kháng sinh bằng phương pháp khuếch tán dùng hộp Petri

Các dung dịch thử của chế phẩm chuẩn s_1, s_2 và s_3 có nồng độ lần lượt là 2, 4 và 8 IU/ml. Chế phẩm thử có hoạt lực giả định là 1.500 IU/ml và cũng được pha thành 3 dung dịch thử u_1, u_2 và u_3 có nồng độ tương đương với nồng độ các dung dịch của chế phẩm chuẩn. Mỗi hộp Petri đều có 3 dung dịch của chế phẩm chuẩn và 3 dung dịch của chế phẩm thử, trong đó mỗi dung dịch thử chỉ xuất hiện một lần duy nhất trong mỗi hộp Petri (không lặp). Trật tự sắp xếp các dung dịch thử trong mỗi hộp được phân bố như trong Bảng 13.10.13.

Các đáp ứng riêng và đáp ứng trung bình của mỗi dung dịch thử cho ở Bảng 13.10.14.

Bảng 13.10.13 - Cách bố trí các dung dịch thử trong các hộp

Hộp số	Số vị trí trong hộp					
	1	2	3	4	5	6
1	u_2	u_3	s_3	s_1	u_1	s_2
2	s_3	u_1	s_2	u_3	s_1	u_2
3	u_3	u_2	s_1	s_3	s_2	u_1
4	s_1	s_2	u_3	u_1	u_2	s_3
5	u_1	s_1	u_2	s_2	s_3	u_3
6	s_2	s_3	u_1	u_2	u_3	s_1

Các đáp ứng riêng và trị trung bình đáp ứng của mỗi nồng độ được cho ở Bảng 13.10.14.

Bảng 13.10.14 - Đáp ứng y - đường kính vòng vô khuẩn (*mm* × 10)

Hộp số	Chế phẩm chuẩn S			Chế phẩm thử U			Tổng khối
	s_1	s_2	s_3	u_1	u_2	u_3	
1	176	205	235	174	202	232	R_1 = 1224
2	178	208	238	175	206	234	R_2 = 1239
3	178	207	237	177	203	236	R_3 = 1238
4	175	205	235	173	201	232	R_4 = 1221
5	176	206	235	174	204	231	R_5 = 1226
6	174	204	236	170	202	229	R_6 = 1215
Tổng cột	1057	1235	1416	1043	1218	1394	7363
Trung bình	176,2	205,8	236,0	173,8	203,0	232,3	
Phương sai	2,6	2,2	1,6	5,4	3,2	5,9	

Kiểm tra số liệu thu được bằng các phép thử tương tự như ở ví dụ 3.2.8.1 cho thấy thử nghiệm đáp ứng các điều kiện ở mục 3.1.1.

$$K = \frac{(\sum y)^2}{N} = \frac{7.363^2}{36} = 1.505.938,03$$

$$\sum y^2 = 1.527.127$$

Bảng 13.10.15- Các tổng đáp ứng và tương phản tuyến tính (xem công thức tính ở Bảng 13.10.3)

	Chế phẩm chuẩn S	Chế phẩm thử U	Tổng số
Liều thấp	S_1 = 1.057	U_1 = 1.043	
Liều trung gian	S_2 = 1.235	U_2 = 1.218	
Liều cao	S_3 = 1.416	U_3 = 1.394	
Tổng đáp ứng của chế phẩm	S = 3.708	U = 3.655	$\sum_y$ = 7.363
Tương phản tuyến tính	L_S = 359	L_U = 351	$\sum L$ = 710
Tương phản bậc hai	Q_S = 3	Q_U = 1	$\sum Q$ = 4

Các tổng các bình phương được tính bằng các công thức trong Bảng 13.10.5 và 13.10.6 với các số liệu ở Bảng 13.10.15.

Chế phẩm = $\frac{S^2 + U^2}{18} - K$ = 78,026

Hồi qui tuyến tính = $\frac{(L_S + L_U)^2}{24}$ = 21.004,167 = E

Không song song = $\frac{L_S^2 + L_U^2}{12} - E$ = 2,666

Độ cong = $\frac{Q_S^2 + Q_U^2}{6n} = \frac{3^2 + 1^2}{36}$ = 0,278

Giữa các xử lý = $\frac{S_1^2 + S_2^2 + S_3^2 + U_1^2 + U_2^2 + U_3^2}{6} - K$ = 21.085,137

Giữa các khối = $\frac{R_1^2 + R_2^2 + R_3^2 + R_4^2 + R_5^2 + R_6^2}{6} - K$ = 75,805

Toàn phần = $\sum y^2 - K$ = 21.188,97

Sai số dư = Toàn phần - Giữa các xử lý - Giữa các khối = 28,03

Bảng 13.10.16 - Phân tích phương sai

Nguồn biến thiên	Bậc tự do	Tổng các bình phương	Bình phương trung bình	Tỷ số F	Xác suất
Chế phẩm	1	78,03	78,03		
Hồi qui tuyến tính	1	21.004,17	21.004,17	18.737	< 0,01
Không song song	1	2,67	2,67	2,4	> 0,05
Độ cong	2	0,28	0,16	0,1	> 0,05
Giữa các xử lý	5	21.085,14			
Giữa các khối (hộp Petri)	5	75,80	15,16	13,5	< 0,01
Sai số dư	25	28,03	1,121		
Sai số toàn phần	35	21.188,97			

Kết quả phân tích phương sai cho thấy sự khác nhau có ý nghĩa cao ($P < 0,01$) của kích thước đường kính vòng vô khuẩn giữa các hộp Petri. Nếu thí nghiệm thiết kế theo kiểu ngẫu nhiên hoàn toàn, biến thiên giữa các khối sẽ không được tách ra khỏi sai số toàn phần, do đó bình phương trung bình của sai số dư s^2 sẽ lớn hơn, dẫn đến khoảng tin cậy sẽ rộng hơn. Đây là ưu điểm của thiết kế thí nghiệm ngẫu nhiên theo khối so với thiết kế thí nghiệm kiểu ngẫu nhiên hoàn toàn.

Phép thử tính có giá trị của thử nghiệm

Hồi qui tuyến tính rất có ý nghĩa ($P < 0,01$), các đại lượng không song song và độ cong không có ý nghĩa ($P > 0,05$), do đó thử nghiệm thỏa mãn cách tính hiệu lực.

Định giá hoạt lực và các giới hạn tin cậy

$$\bar{y}_U - \bar{y}_S = \frac{U - S}{3n} = \frac{3655 - 3708}{18} = \frac{-53}{18}$$

Tỷ lệ giữa các nồng độ kế tiếp bằng 2,0, do đó:

$$I = \ln(2) = 0,69315$$

$$b = \frac{L_S + L_U}{2Inh} = \frac{359+351}{2 \times I \times 6 \times 2} = \frac{710}{24I} = 42,6797$$

$$M' = \frac{\bar{y}_U - \bar{y}_S}{b} = -0,0690$$

$$M = M' + \ln(A_U) = -0,0690 + \ln(1.500) = 7,2442$$

Hoạt lực của chế phẩm U là $R = \text{antiln}(M) = 1.400$ IU/ml.

Với $P = 0,95$ và $f = 25$, $t = 2,06$ (Bảng 13.10.28), ta có:

$$C = \frac{E}{E - s^2t^2} = \frac{21.004,17}{21.004,17 - 1,121 \times 2,06^2} = 1,0002$$

$$H = \frac{E}{b^2dn} = \frac{21.004,17}{(42,6797)^2 \times 3 \times 6} = 0,640605$$

$$(C-1)(CM'^2 + 2H) = (1,0002-1)(1,0002 \times (-0,0690)^2 + 2 \times 0,640605) = 0,00026$$

Các ln(giới hạn tin cậy) bằng:

$$\ln(A_U) + CM' \pm \sqrt{0,00026} = \ln(1.500) + 1,0002 \times (-0,0690) \pm \sqrt{0,00026} = 7,2442 \pm 0,0160$$

Các giới hạn tin cậy bằng 1.378 và 1.423 IU/ml.

Nếu phân tích bằng máy tính, các kết quả sẽ là:

$$C = 1,000227$$

$$(C-1)(CM'^2 + 2H) = 0,00029128$$

Khoảng tin cậy: 1.376,3 – 1.424,1 IU/ml.

Ví dụ 3.2.8.3 *Thử nghiệm 3 liều đơn chế phẩm thiết kế hình vuông Latin không lặp*
Thử nghiệm định lượng kháng sinh bằng phương pháp khuếch tán, dùng khay vuông
Chế phẩm chuẩn có hoạt lực biết trước 4.855 IU/mg. Chế phẩm thử có hoạt lực giả định là 5.600 IU/mg. Pha các dung dịch gốc bằng cách hòa tan 25,2 mg chế phẩm chuẩn và 21,4 mg chế phẩm thử trong lượng vừa đủ dung môi pha loãng để được 25 ml. Sau đó, pha loãng các dung dịch gốc đến nồng độ pha loãng 1/20 và tiếp tục pha loãng xa hơn với tỷ lệ pha loãng 1:1,5 để được các dung dịch thử cuối cùng của chuẩn và mẫu.
Các dung dịch thử của chế phẩm chuẩn và chế phẩm thử được thiết kế trên khay theo bố trí thí nghiệm hình vuông Latin như trong Bảng 13.10.17. Các đường kính vòng vô khuẩn của thử nghiệm được trình bày trong Bảng 13.10.18. Trung bình đường kính vòng vô khuẩn, phương sai (var_i) và $\ln(var_i)$ của mỗi nhóm dung dịch thử trình bày trong Bảng 13.10.19.

Bảng 13.10.17 - Cách bố trí các dung dịch thử trên khay

	1	2	3	4	5	6
1	s_1	u_1	u_2	s_3	s_2	u_3
2	u_1	u_3	s_1	s_2	u_2	s_3
3	u_2	s_3	s_2	s_1	u_3	u_1
4	s_3	s_2	u_3	u_1	s_1	u_2
5	s_2	u_2	s_3	u_3	u_1	s_1
6	u_3	s_1	u_1	u_2	s_3	s_2

Phép thử tính đồng nhất của các phương sai
Đối với một nhóm gồm k phương sai, trong đó mỗi phương sai có $f = (n - 1)$ bậc tự do, công thức tính sẽ như sau:

$$\chi^2 = \frac{3kf^2\left[k\ln\left(\frac{\sum \text{var}_i}{k}\right) - \sum \ln \text{var}_i\right]}{3kf + k + 1}$$

Với $k = 6$, bậc tự do $f = 5$, công thức trên sẽ rút gọn thành:

$$\chi^2 = \frac{450}{97} \times \left[6\ln\left(\frac{\sum \text{var}_i}{6}\right) - \sum \ln \text{var}_i\right]$$

$$= \frac{450}{97} \times \left(6\ln\frac{209,20}{6} \quad 20,494\right) = 3,78$$

Giá trị tính được nhỏ hơn giá trị tới hạn 11,07 đọc từ Bảng 13.10.29 với $P = 0,95$ và $f = (k - 1) = 5$. Do đó, sự khác biệt giữa các phương sai của mỗi nhóm dung dịch thử không có ý nghĩa thống kê.

Bảng 13.10.18 - Đáp ứng y - đường kính vòng vô khuẩn ($mm \times 10$)

	1	2	3	4	5	6	Tổng hàng
1	161	160	178	187	171	194	R_1 = 1.051
2	151	192	150	172	170	192	R_2 = 1.027
3	162	195	174	161	193	151	R_3 = 1.036
4	194	184	199	160	163	171	R_4 = 1.071
5	176	181	201	202	154	151	R_5 = 1.065
6	193	166	161	186	198	182	R_6 = 1.086
Tổng cột	C_1 = 1.037	C_2 = 1.078	C_3 = 1.063	C_4 = 1.068	C_5 = 1.049	C_6 = 1.041	

Bảng 13.10.19 - Trung bình đường kính vòng vô khuẩn và phương sai của mỗi nhóm dung dịch thư

STT (hộp petri)	Chế phẩm chuẩn S			Chế phẩm thử U			Tổng số
	s_1	s_2	s_3	u_1	u_2	u_3	
1	161	171	187	160	178	194	
2	150	172	192	151	170	192	
3	161	174	195	151	162	193	
4	163	184	194	160	171	199	
5	151	176	201	154	181	202	
6	166	182	198	161	186	193	
Tổng cột	952	1059	1167	937	1048	1173	
Trung bình	158,67	176,50	194,50	156,17	174,67	195,50	
Phương sai (var_i)	43,47	28,70	23,50	22,17	75,07	16,30	Σvar_i = 209,20
ln (var_i)	3,772	3,357	3,157	3,099	4,318	2,791	$\Sigma \ln(var_i)$ = 20,494

Bảng 13.10.20 - Các tổng đáp ứng và tương phản tuyến tính (xem công thức tính ở Bảng 13.10.3)

	Chế phẩm chuẩn S	Chế phẩm thử U	Tổng số
Liều thấp	S_1 = 952	U_1 = 937	
Liều trung gian	S_2 = 1.059	U_2 = 1.048	
Liều cao	S_3 = 1.167	U_3 = 1.173	
Tổng đáp ứng của chế phẩm	S = 3.178	U = 3.158	Σy = 6.336
Tương phản tuyến tính	L_S = 215	L_U = 236	ΣL = 451
Tương phản bậc hai	Q_S = 1	Q_U = 14	ΣQ = 15

$$K - \frac{(\sum y)^2}{N} = \frac{6.336^2}{36} = 1.115.136$$

$$\sum y^2 = 1.124.692$$

Các tổng các bình phương được tính bằng các công thức trong Bảng 13.10.5 và 13.10.6 với các số liệu ở Bảng 13.10.18 và Bảng 13.10.20.

Chế phẩm = $\frac{S^2 + U^2}{3n} - K = \frac{3.178^2 + 3.158^2}{18} - 1.115.136 = 11,1111$

Hồi qui tuyến tính = $\frac{(L_S + L_U)^2}{2nh} = \frac{451^2}{24} = 8.475,0416 = E$

Không song song = $\frac{L_S^2 + L_U^2}{2n} - E = \frac{215^2 + 236^2}{12} - 8.475,0416 = 18,3750$

Độ cong (không tuyến tính) = $\frac{Q_S^2 + Q_U^2}{6n} = \frac{1^2 + 14^2}{36} = 5,4722$

Giữa các xử lý = $\frac{S_1^2 + S_2^2 + S_3^2 + U_1^2 + U_2^2 + U_3^2}{n} - K = \frac{952^2 + 1.059^2 + ... + 1.173^2}{6} - 1.115.136 = 8.510$

Giữa các hàng = $\frac{R_1^2 + R_2^2 + R_3^2 + R_4^2 + R_5^2 + R_6^2}{k} - K = \frac{1.051^2 + 1.027^2 + ... + 1.086^2}{6} - 1.115.136 = 412$

Giữa các cột = $\frac{C_1^2 + C_2^2 + C_3^2 + C_4^2 + C_5^2 + C_6^2}{k} - K = \frac{1.037^2 + 1.078^2 + ... + 1.041^2}{6} - 1.115.136 = 218,6667$

Toàn phần = $\sum y^2 - K = 1.124.692 - 1.115.136 = 9.556$

Sai số dư = Toàn phần – Giữa các xử lý – Giữa các hàng – Giữa các cột = 415,3333

Bảng 13.10.21 - Phân tích phương sai

Nguồn biến thiên	Bậc tự do	Tổng các bình phương	Bình phương trung bình	Tỷ số F	Xác suất
Chế phẩm	1	11,1111	11,1111		
Hồi qui tuyến tính	1	8.475,0416	8.475,0416	408,1	< 0,01
Không song song	1	18,3750	18,3750	0,885	> 0,05
Độ cong	2	5,4722	2,7361	0,132	> 0,05
Giữa các xử lý	5	8510			
Giữa các hàng	5	412	82,40	3.968	< 0,05
Giữa các cột	5	218,6667	43,73	2,106	> 0,05
Sai số dư	20	415,3333	20,7667		
Sai số toàn phần	35	9.556			

Phân tích phương sai cho thấy sự khác nhau có ý nghĩa ($P < 0,05$) giữa các hàng chứng tỏ thiết kế thí nghiệm hình vuông Latin cho độ chính xác cao hơn thiết kế thí nghiệm ngẫu nhiên hoàn toàn.

Phép thử tính có giá trị của thử nghiệm

Hồi qui tuyến tính rất có ý nghĩa ($P < 0,01$), tính không tuyến tính và tính không song song của các đường ln(liều) - đáp ứng không có ý nghĩa ($P > 0,05$), do đó thử nghiệm thỏa mãn các phép thử tính có giá trị.

Định giá hoạt lực và các giới hạn tin cậy

Tỷ lệ giữa các nồng độ kế tiếp nhau bằng 1,5, do đó $I = \ln(1,5) = 0,405465$. Với $P = 0,95$ và $f = 20$, $t = 2,09$ (Bảng 13.10.28).

$$\bar{y}_S = \frac{S}{N_S} = \frac{3.178}{18} = 176,556$$

$$\bar{y}_U = \frac{U}{N_U} = \frac{3.158}{18} = 175,444$$

$$b = \frac{L_S + L_U}{2Inh} = \frac{451}{24I} = 46,346$$

$$M' = \frac{\bar{y}_U - \bar{y}_S}{b} = \frac{175,444 - 176,556}{46,346} = -0,023974$$

$$M = M' + \ln(A_U) = -0,023974 + \ln(5.600) = 8,606548$$

Hoạt lực của chế phẩm U là $R = \text{antiln}(M) = 5.467,3$ IU/mg.

$$C = \frac{E}{E - s^2t^2} = \frac{8.475,0416}{8.475,0416 - 20,7667 \times 2,09^2} = 1,0108$$

$$H = \frac{E}{b^2dn} = \frac{8.475,0416}{46,346^2 \times 3 \times 6} = 0,2192$$

Các ln(giới hạn tin cậy) được tính theo công thức:

$$\ln(A_U) + CM' \pm \sqrt{(C-1)(CM'^2 + 2H)} =$$

$$= \ln(5.600) + 1,0108 \times (-0,023974) \pm \sqrt{0,0108 \times \left[1,0108 \times (-0,023974)^2 + 2 \times 0,2192\right]}$$

$$= 8,60629 \pm 0,06878$$

Các giới hạn tin cậy bằng 5.102,6 và 5.855,1 IU/mg ở P = 0,05

Vì các dung dịch gốc của chế phẩm chuẩn và chế phẩm thử có hoạt lực không hoàn toàn bằng nhau dựa trên hoạt lực giả định, cần hiệu chỉnh hoạt lực tính được và các giới hạn tin cậy bằng cách nhân với một hệ số hiệu chỉnh:

$$\frac{4.855 \times 25,2 / 25}{5.600 \times 21,4 / 25} = 1,02091$$

Sau khi hiệu chỉnh, hoạt lực tính được sẽ bằng 5,582 IU/mg với giới hạn tin cậy từ 5.209 IU/mg đến 5.977 IU/mg ở xác suất 95 %.

Ví dụ 3.2.8.4 *Thiết kế chéo đôi*

Thử nghiệm định lượng insulin bằng phương pháp tiêm dưới da thỏ

Các dung dịch của chế phẩm chuẩn có nồng độ 1 và 2 IU/ml. Hoạt lực giả định của chế phẩm thử là 40 IU/ml và được pha loãng thành các dung dịch có nồng độ tương đương với các dung dịch của chế phẩm chuẩn. Tiêm dưới da các thỏ thí nghiệm với liều 0,5 ml mỗi dung dịch thử theo thiết kế ở Bảng 13.10.22. Các kết quả thí nghiệm trình bày trong Bảng 13.10.23. Phương sai lớn cho thấy biến thiên lớn giữa các thỏ thí nghiệm và cần thiết phải dùng thiết kế thí nghiệm chéo.

Bảng 13.10.22 - Cách sắp xếp các xử lý

Ngày thí nghiệm	Nhóm thỏ			
	1	2	3	4
Ngày I	s_1	s_2	u_1	u_2
Ngày II	u_2	u_1	s_2	s_1

Phép thử tính đồng nhất của các phương sai bằng phép kiểm Hartley

Tính tỷ số F theo công thức:

$$F = \frac{\text{var}_{\text{max.}}}{\text{var}_{\text{min.}}} = \frac{1.215,1}{230,6} = 5,3$$

Trong đó var_{max} là phương sai lớn nhất và var_{min} là phương sai nhỏ nhất trong k phương sai cần kiểm tra. F tính được (F_{cal} = 5,3) nhỏ hơn F tới hạn (F_{crit} = 12,7) đọc từ Bảng 13.10.30 với P = 0,95, k = 8 và bậc tự do f = 7. Do đó, sự khác nhau giữa các phương sai của mỗi nhóm dung dịch thử không có ý nghĩa thống kê. Nếu dùng phép kiểm Bartlett với cùng số liệu, giá trị tính được sẽ là 6,4 so với giá trị tới hạn bằng 14,1.

Trong các thử nghiệm dùng thiết kế chéo, các tổng đáp ứng và tương phản tuyến tính được tính riêng rẽ cho mỗi giai đoạn thí nghiệm. Kết quả thu được trình bày trong Bảng 13.10.24.

Bảng 13.10.23 - Đáp ứng y: glucose huyết (mg/100 ml) ở 1 và 2½ h

	Nhóm 1			Nhóm 2			Nhóm 3			Nhóm 4		
	s_1	u_2	Tổng số	s_2	u_1	Tổng số	u_1	s_2	Tổng số	u_2	s_1	Tổng số
	112	104	216	65	72	137	105	91	196	118	144	262
	126	112	238	116	160	276	83	67	150	119	149	268
	62	58	120	73	72	145	125	67	192	42	51	93
	86	63	149	47	93	140	56	45	101	64	107	171
	52	53	105	88	113	201	92	84	176	93	117	210
	110	113	223	63	71	134	101	56	157	73	128	201
	116	91	207	50	65	115	66	55	121	39	87	126
	101	68	169	55	100	155	91	68	159	31	71	102
Tổng cột	765	662		557	746		719	533		579	854	5415
Trung bình	95,6	82,8		69,6	93,3		89,9	66,6		72,4	106,8	
Phương sai	709,7	627,9		525,1	1.012,5		479,6	230,6		1.214,3	1.215,1	

Bảng 13.10.24 - Các tổng đáp ứng và tương phản tuyến tính

	Chế phẩm chuẩn S	Chế phẩm thử U	Tổng số
Ngày I			
Nồng độ thấp	S_{I} = 765	U_{I} = 719	
Nồng độ cao	S_{2I} = 557	U_{2I} = 579	
Tổng số	S_{I} = 1.322	U_{I} = 1.298	D_{I} = 2.620
Ngày II			
Nồng độ thấp	S_{II} = 854	U_{II} = 746	
Nồng độ cao	S_{2II} = 533	U_{2II} = 662	
Tổng số	S_{II} = 1.387	U_{II} = 1.408	D_{II} = 2.795
Tổng chế phẩm	S = 2.709	U = 2.706	$\sum y$ = 5.415
Tương phản tuyến tính			
Ngày I	L_{SI} = -208	L_{UI} = -140	L_{I} = -348
Ngày II	L_{SII} = -321	L_{UII} = -84	L_{II} = -405
Tổng số	L_{S} = -529	L_{U} = -224	ΣL = -753

Phân tích phương sai trong các thử nghiệm thiết kế chéo phức tạp hơn các kiểu thiết kế thí nghiệm khác vì biến thiên do cấu phần tổng các bình phương, gây bởi tính song song không độc lập với biến thiên do cấu phần gây bởi sự khác nhau của thỏ. Tính song song của các đường hồi qui sẽ được kiểm tra bằng đại lượng bình phương trung bình của sai số dư thứ hai, được tính bằng cách lấy tổng các bình phương của cấu phần do sự khác nhau về thỏ (khối) trừ đi cấu phần không song song và hai cấu phần tương tác.

Ba cấu phần tương tác được đưa thêm vào phân tích phương sai là do sự lặp lại trong mỗi nhóm thỏ thí nghiệm, gồm: Giữa các ngày × chế phẩm; Giữa các ngày × hồi qui; Giữa các ngày × tính song song.

Ba đại lượng này biểu thị khuynh hướng của 3 cấu phần (chế phẩm, hồi qui và song song) thay đổi từ ngày thí nghiệm này sang ngày thí nghiệm khác. Tính có giá trị của thử nghiệm phụ thuộc vào các tỷ số F tương ứng của ba đại lượng nói trên. Nếu F tính được rất có ý nghĩa, $F_{cal} > F_{crit}$ ở $P = 0,01$, cần phải rất thận trọng khi suy diễn các kết quả của thử nghiệm, và nếu có thể, phải lặp lại thử nghiệm.

$$K = \frac{(\sum y)^2}{N} = \frac{5.415^2}{64} = 458.159,77$$

$$\sum y^2 = 511.583$$

Tính giá trị của tổng các bình phương của chế phẩm, hồi qui và không song song theo công thức trong Bảng 13.10.5 với số liệu trong Bảng 13.10.24.

Chú ý trong thử nghiệm này n = 16, là tổng số đáp ứng của mỗi xử lý qua hai ngày thí nghiệm.

$$\text{Chế phẩm} = \frac{S^2 + U^2}{2n} - K = \frac{2.709^2 + 2.706^2}{32} - 458.159,77 = 0,14$$

$$\text{Hồi qui tuyến tính} = \frac{(L_S + L_U)^2}{2nh} - \frac{(-753)^2}{64} = 8.859,52 = E$$

$$\text{Không song song} = \frac{L_S^2 + L_U^2}{2n} - E = \frac{(-529)^2 + (-224)^2}{32} - 8.859,52 = 1.453,51$$

$$\text{Giữa các khối (thỏ)} = \frac{\sum B_i^2}{2} - K = \frac{216^2 + 238^2 + \ldots 102^2}{2} - 458.159,77 = 39.794,73$$

Trong đó B_i là các tổng đáp ứng của mỗi thỏ thí nghiệm trong Bảng 13.10.23.

Giữa các ngày = $\frac{D_I^2 + D_{II}^2}{2n} - K = \frac{2.620^2 + 2.795^2}{32} - 458.159,77 = 478,51$

Trong đó D_I và D_{II} là tổng đáp ứng của mỗi ngày thí nghiệm.

Giữa các ngày × Chế phẩm = $\frac{(S_I - S_{II} - U_I + U_{II})^2}{N} = \frac{[1.322 - 1.387 - 1.298 + 1.408]^2}{64} = 31,64$

Trong đó S_I, S_{II}, U_I và U_{II} là tổng đáp ứng của từng chế phẩm trong mỗi ngày.

Giữa các ngày × hồi qui = $\frac{(L_{SII} - L_{SI} + L_{UII} - L_{UI})^2}{N} = \frac{[(-321) - (-208) + (-84) - (-140)]^2}{64} = 50,77$

Giữa các ngày × Không song song = $\frac{(L_{SII} - L_{SI} - L_{UII} + L_{UI})^2}{N} = \frac{[(-321) - (-208) - (-84) + (-140)]^2}{64} = 446,27$

Trong đó L_{SI}, L_{SII}, L_{UI} và L_{UII} là tương phản tuyến tính của mỗi ngày thí nghiệm.

Toàn phần = $\sum y^2 - K$ = 511.583 − 458.159,77 = 53.423,23

Sai số dư giữa các thỏ = Giữa các khối - Không song song - (Giữa các ngày × chế phẩm) - (Giữa các ngày × hồi qui) = 39.794,73 − 1.453,51 − 31,64 − 50,76 = 38.258,81

Sai số dư trong mỗi thỏ = Toàn phần - Giữa các khối - Giữa các ngày - Chế phẩm - Hồi qui - (Giữa các ngày × không song song) = 53.423,23 − 39.794,73 - 478,51 - 0,14 - 8.859,52 - 446,27 = 3.844,06

Phép thử tính có giá trị của thử nghiệm

Phân tích phương sai cho thấy thử nghiệm thỏa mãn phép thử tính có giá trị:

1) Hồi qui tuyến tính rất có ý nghĩa: tỷ số F của đại lượng hồi qui được tính dựa trên bình phương trung bình của sai số dư trong mỗi thỏ, $F_{cal} = 64,5 > F_{crit} = 7,63$ với $P = 0,01$, $f_1 = 1$ và $f_2 = 28$.

2) Tính không song song của đường hồi qui: phép thử tính không song song trong thiết kế chéo dựa trên bình phương trung bình của sai số dư giữa các thỏ, $F_{cal} = 1,06 < F_{(P=0,05; f1=1; f2=28)} = 4,19$, chứng tỏ các đường ln(liều) – đáp ứng của chuẩn và mẫu song song với nhau.

3) Ba cấu phần tương tác đều không có ý nghĩa, các tỷ số F tính được lần lượt là 0,02, 0,04 và 3,25 và đều nhỏ hơn $F_{crit.} = 4,19$.

Bảng 13.10.25 - Phân tích phương sai

Nguồn biến thiên	Bậc tự do	Tổng các bình phương	Bình phương trung bình	Tỷ số F	Xác suất
Không song song	1	1.453,5	1.453,5	1,06	> 0,05
Giữa các ngày × chế phẩm	1	31,6	31,6	0,02	> 0,05
Giữa các ngày × hồi qui	1	50,8	50,8	0,04	> 0,05
Sai số dư giữa các thỏ	28	38.258,8	1.366,4		
Giữa các khối (thỏ)	31	39.794,7	1.283,7		
Chế phẩm	1	0,1	0,1	0,00	> 0,05
Hồi qui	1	8.859,5	8.859,5	64,5	< 0,01
Giữa các ngày	1	478,5	478,5	3,48	> 0,05
Giữa các ngày × không song song	1	446,3	446,3	3,25	> 0,05
Sai số dư trong mỗi thỏ	28	3.844,1	137,3		
Toàn phần	63	53.423,2	847,9878472		

Định giá hoạt lực và các giới hạn tin cậy

Tỷ lệ pha loãng bằng 2, do đó $I = \ln(2) = 0,69315$. Với $P = 0,95$ và $f = 28$, $t = 2,05$ (Bảng 13.10.28).

$$y_U - y_S = \frac{U - S}{2n} = \frac{2.706 - 2.709}{32} = \frac{-3}{32}$$

$$b = \frac{L_S + L_U}{2nI} = \frac{-753}{32I} = -33,948$$

$$M' = \frac{\bar{y}_U - \bar{y}_S}{b} = \frac{-3}{32 \times (-33,948)} = 0,00276$$

$$M = M' + \ln(A_L) = 0,00276 + \ln(40) = 3,6916$$

Hoạt lực R = antiln(M) = antiln(0,00276) = 40,1 IU/ml.

$$C = \frac{E}{E - s^2t^2} = \frac{8.859,5}{8.859,5 - 137,3 \times 2,05^2} = 1,0697$$

$$H = \frac{E}{b^2dn} = \frac{8.859,5}{(-33,948)^2 \times 2 \times 16} = 0,24023$$

$$(C-1)(CM'^2 + 2H) = 0,0697(1,0697 \times 0,00276^2 + 2 \times 0,24023) = 0,033488$$

Logarit các giới hạn tin cậy bằng:

$$\ln(A_L) + CM' \pm \sqrt{0,033488} = 3,6918 \pm 0,1830$$

Khoảng tin cậy của hoạt lực từ 33,4 đến 48,2 IU/ml.

4. Phối hợp các kết quả thử nghiệm

4.1 Mở đầu

Để đáp ứng các yêu cầu của Dược điển, ví dụ yêu cầu về độ chính xác, có thể phải lập lại hai hay nhiều thử nghiệm độc lập và phối hợp các kết quả thử nghiệm để được kết quả cuối cùng chính xác và đáng tin cậy hơn.

Hai thử nghiệm được coi là độc lập với nhau nếu quá trình thực hiện của mỗi thử nghiệm không gây bất cứ ảnh hưởng nào đến kết quả của thử nghiệm khác. Điều đó có nghĩa là các sai số ngẫu nhiên của các yếu tố chủ yếu ảnh hưởng đến kết quả thử nghiệm (ví dụ: sự pha loãng chế phẩm chuẩn và chế phẩm thử, độ nhạy của chỉ thị sinh học) của một thử nghiệm phải độc lập với các sai số ngẫu nhiên tương ứng của thử nghiệm kia. Các thử nghiệm thực hiện vào những ngày kế tiếp nhau dùng cùng dung dịch gốc của chế phẩm chuẩn không phải là những thử nghiệm độc lập.

Có nhiều phương pháp phối hợp kết quả của các thử nghiệm độc lập, tuy nhiên, dưới đây chỉ trình bày ba phương pháp gần đúng do tính đơn giản và dễ áp dụng của chúng.

Trước khi phối hợp, các hoạt lực phải được hiệu chỉnh với hoạt lực giả định của mỗi chế phẩm thử (xem Ví dụ 3.2.8.3) và phải được biểu diễn dưới dạng logarit.

4.2 Phối hợp cân chỉnh (weighted combination) các kết quả thử nghiệm

Phương pháp này có thể áp dụng nếu thỏa mãn các điều kiện sau:

1) Các thử nghiệm phải độc lập với nhau;

2) Đại lượng C của mỗi thử nghiệm phải nhỏ hơn 1,1 (xem công thức 3.2.5-6 để biết công thức tính và ý nghĩa của C);

3) Bậc tự do của sai số dư của mỗi thử nghiệm không được nhỏ hơn 6, tốt nhất là lớn hơn 15;

4) Sự khác nhau giữa các định giá hoạt lực riêng phải không có ý nghĩa thống kê (xem mục 4.2.2).

Nếu các điều kiện trên không thỏa mãn, phương pháp này không được áp dụng. Khi đó dùng phương pháp giới thiệu ở mục 4.3 để tính hoạt lực trung bình và lấy kết quả tính được làm hoạt lực giả định cho lần thử nghiệm kế tiếp.

4.2.1 Tính các hệ số cân chỉnh W

Giả sử các kết quả đo của mỗi n' thử nghiệm đã được phân tích để được n' giá trị logarit hoạt lực M và các giới hạn tin cậy tương ứng. Đối với mỗi thử nghiệm, tính theo logarit khoảng tin cậy L bằng cách lấy giới hạn tin cậy trên trừ đi giới hạn tin cậy dưới. Tính hệ số cân chỉnh W cho mỗi giá trị của M theo phương trình 4.2.1.-1, với t có cùng giá trị như khi tính các giới hạn tin cậy.

$$W = \frac{4t^2}{L^2} \qquad (4.2.1.-1)$$

4.2.2 Tính đồng nhất của các hoạt lực

Để kiểm tra tính đồng nhất của một dãy các logarit hoạt lực, thành lập biểu thức có phân phối xấp xỉ phân phối χ^2 như sau:

$$\chi^2 = \sum_{n'} W(M - \overline{M})^2 = \sum_{n'} (WM^2) - \frac{\left[\sum_{n'} (WM)\right]^2}{\sum_{n'} W} \qquad (4.2.2.-1)$$

với:

$$\overline{M} = \frac{\sum WM}{\sum W}$$

Nếu χ^2 tính được nhỏ hơn giá trị tương ứng với bậc tự do $f = (n' - 1)$ tra từ Bảng 13.10.29, sự khác nhau giữa các hoạt lực không có ý nghĩa thống kê và, do đó, có thể tiếp tục tính hoạt lực trung bình và các giới hạn tin cậy theo các công thức ở mục 4.2.3.

Nếu χ^2 tính được lớn hơn giá trị tới hạn tương ứng đọc từ Bảng 13.10.29, các hoạt lực tính được không đồng nhất và không thể sử dụng các công thức ở mục 4.2.3, thay vào đó, có thể dùng các công thức ở mục 4.2.4.

4.2.3 Tính hoạt lực trung bình có cân chỉnh (weighted mean) và các giới hạn tin cậy

Logarit hoạt lực trung bình có cân chỉnh được tính theo công thức:

$$\overline{M} = \frac{\sum WM}{\sum W} \qquad (4.2.3.-1)$$

Độ lệch chuẩn của logarit hoạt lực trung bình là căn bậc hai của nghịch đảo của tổng các hệ số cân chỉnh W:

$$s_M = \sqrt{\frac{1}{\sum W}} \qquad (4.2.3.-2)$$

và các logarit giới hạn tin cậy của hoạt lực trung bình được tính theo phương trình sau:

$$\overline{M} \pm ts_M \qquad (4.2.3.-3)$$

Trong đó t là giá trị tới hạn đọc được từ Bảng 13.10.29 với bậc tự do bằng tổng số bậc tự do của các sai số dư của mỗi thử nghiệm riêng.

4.2.4 Hoạt lực trung bình có cân chỉnh và các giới hạn tin cậy dựa trên biến thiên trong mỗi thử nghiệm và giữa các thử nghiệm

Khi phối hợp các kết quả của một số thử nghiệm lặp lại, giá trị χ^2 có thể có ý nghĩa. Biến thiên của các hoạt lực có thể phân tích thành hai cấu phần, gồm:

1) Biến thiên trong mỗi thử nghiệm $s_M^2 = 1/W$

2) Biến thiên giữa các thử nghiệm $s_W^2 = \frac{\sum (M - \overline{M})^2}{n'(n'-1)}$

với $\overline{M}$ là trung bình chưa cân chỉnh (trung bình số học) của các M. Biến thiên đầu thay đổi từ thử nghiệm này đến thử nghiệm khác, trong khi biến thiên sau là chung cho tất cả các M.

Đối với mỗi M, tính hệ số cân chỉnh theo công thức:

$$W' = \frac{1}{s_M^2 - s_W^2}$$

Dùng W' thay thế cho W trong các công thức ở mục 4.2.3, với $t = 2$.

4.3 Phối hợp phi cân chỉnh (unweighted combination) các kết quả thử nghiệm

Cách phối hợp các kết quả thử nghiệm đơn giản nhất là tính trung bình số học của n' logarit hoạt lực M và sau đó tính độ lệch chuẩn của nó theo công thức:

$$s_M^2 = \frac{\sum (M - \overline{M})^2}{n'(n'-1)} \qquad (4.3.-1)$$

Các logarit giới hạn tin cậy bằng:

$$\overline{M} \pm ts_M \qquad (4.3.-2)$$

Trong đó t có $(n' - 1)$ bậc tự do. Vì số các thử nghiệm cần phối hợp thường nhỏ nên giá trị của t khá lớn.

4.4 Ví dụ

Bảng 13.10.26 liệt kê các hoạt lực cùng các giới hạn tin cậy của 6 thử nghiệm độc lập của cùng một chế phẩm và bậc tự do của sai số dư tương ứng. Tất cả các thử nghiệm đều đáp ứng điều kiện 1, 2 và 3 trong mục 4.2. Các hệ số cân chỉnh W được tính theo công thức 4.2.1.-1 ở mục 4.2.

Phép thử tính đồng nhất của các hoạt lực

$$\chi^2 = \sum_n W(M - \bar{M})^2 = \sum_n (WM^2) - \frac{\left[\sum_n (WM)\right]^2}{\sum_n W} = 2.123.323,8792 - \frac{216.478,4988^2}{22.070,6028} = 4,42$$

χ^2 tính được 4,42 nhỏ hơn giá trị tới hạn 11,07 đọc từ Bảng 13.10.29 với bậc tự do $f = 5$. Do đó, sự khác nhau giữa các hoạt lực không có ý nghĩa thống kê, và do đó đạt tất cả các điều kiện.

Bảng 13.10.26 - Hoạt lực và các giới hạn tin cậy của sáu thử nghiệm độc lập

Lần thử nghiệm	Hoạt lực R (IU/lọ)	Các giới hạn tin cậy (IU/lọ)		Bậc tự do DF
		Giới hạn dưới	Giới hạn trên	
1	18.367	17.755	19.002	20
2	18.003	17.415	18.610	20
3	18.064	17.319	18.838	20
4	17.832	17.253	18.429	20
5	18.635	17.959	19.339	20
6	18.269	17.722	18.834	20
Tổng số				120

Bảng 13.10.27

Với f = 20, P = 0,05. Bảng 13.10.28 cho t = 2,09. Tính $W = 4t^2/L^2$ theo công thức 4.2.1.-1

	$M = \ln(R)$	L^*	W	WM	WM^2
	9,8183	0,0679	3.777,8301	37.091,9101	364.179,9033
	9,7983	0,0664	3.951,6825	38.719,7456	379.387,4392
	9,8017	0,0841	2.462,5579	24.137,1950	236.584,9721
	9,7887	0,0659	4.003,1116	39.185,4586	383.576,6531
	9,8328	0,0740	3.175,7400	31.226,4061	307.042,9060
	9,8130	0,0609	4.699,6807	46.117,7833	452.552,0054
Tổng số	58,8528		22.070,6028	216.478,4988	2.123.323,8792

* L = ln(giới hạn tin cậy trên) - ln(giới hạn tin cậy dưới)

Hoạt lực trung bình và các giới hạn tin cậy:

Hoạt lực trung bình và các giới hạn tin cậy của nó được tính bằng các công thức ở mục 4.2.3 và các số liệu trong Bảng 13.10.26 và 13.10.27.

$$\bar{M} = \frac{\sum WM}{\sum W} = \frac{216.478,4988}{22.070,6028} = 9,8085$$

$$s_{\bar{M}} = \frac{1}{\sqrt{\sum W}} = \frac{1}{\sqrt{22.070,6028}} = 0,00673$$

Với số bậc tự do $f = 120$, $P = 0,95$, $t = 1,98$.

$$\bar{M} \pm t s_{\bar{M}} = 9,8085 \pm 1,98 \times 0,00673 = 9,7951 \text{ và } 9,8218$$

Bằng cách lấy antilogarit các giá trị tính được, hoạt lực trung bình bằng 18.187 IU/lọ với khoảng tin cậy ở xác suất 95 % từ 17.946 đến 18.431 IU/lọ.

5. Các Bảng tra cứu

Bảng 13.10.28 - Bảng giá trị tới hạn của phân phối t

	P			P	
f	**0,05**	**0,01**	*f*	**0,05**	**0,01**
1	12,71	63,66	18	2,10	2,88
2	4,30	9,92	19	2,09	2,86
3	3,18	5,84	20	2,09	2,85
4	2,78	4,60	21	2,08	2,83
5	2,57	4,03	22	2,07	2,82
6	2,45	3,71	23	2,07	2,81
7	2,36	3,50	24	2,06	2,80
8	2,31	3,36	25	2,06	2,79
9	2,26	3,25	26	2,06	2,78
10	2,23	3,17	27	2,05	2,77
11	2,20	3,11	28-29	2,05	2,76
12	2,18	3,05	30	2,04	2,75
13	2,16	3,01	40-43	2,02	2,7
14	2,14	2,98	57-63	2,00	2,66
15	2,13	2,95	102-126	1,98	2,26
16	2,12	2,92	600-∞	1,96	2,58
17	2,11	2,90			

Nếu giá trị quan sát lớn hơn giá trị trong bảng, nó được coi là có ý nghĩa ($P = 0,05$) hay rất có ý nghĩa ($P = 0,01$).

Bảng 13.10.29 - Bảng giá trị tới hạn của χ^2

	P			P	
f	**0,05**	**0,01**	*f*	**0,05**	**0,01**
1	3,84	6,63	11	19,68	24,73
2	5,99	9,21	12	21,03	26,22
3	7,81	11,34	13	22,36	27,69
4	9,49	13,28	14	23,68	29,14
5	11,07	15,09	15	25,00	30,58
6	12,59	16,81	16	26,30	32,00
7	14,07	18,48	20	31,41	37,57
8	15,51	20,09	25	37,65	44,31
9	16,92	21,67	30	43,77	50,89
10	18,31	23,21	40	55,76	63,69

Nếu giá trị quan sát lớn hơn giá trị trong bảng, nó được coi là có ý nghĩa ($P = 0,05$) hay rất có ý nghĩa ($P = 0,01$).

Bảng 13.10.30 - Giá trị tới hạn của tỷ số $F = var_{max}/var_{min}$

k là số phương sai trong nhóm xử lý, mỗi phương sai có *f* bậc tự do (*Hartley's test*).

f \ *k*	4	6	8	9	10	12
4	20,6	29,5	37,5	41,1	44,6	51,4
	49	69	89	97	106	120
5	13,7	18,7	22,9	24,7	26,5	29,9
	28	38	46	50	54	60
6	10,4	13,7	16,3	17,5	18,6	20,7
	19,1	25	30	32	34	37
7	8,44	10,8	12,7	13,5	14,3	15,8
	14,5	18,4	22	23	24	27
8	7,18	9,03	10,5	11,1	11,7	12,7
	11,7	14,5	16,9	17,9	18,9	21
9	6,31	7,80	8,95	9,45	9,91	10,7
	9,9	12,1	13,9	14,7	15,3	16,6
10	5,67	6,92	7,87	8,28	8,66	9,34
	8,6	10,4	11,8	12,4	12,9	13,9

Nếu F tính được lớn hơn giá trị trong bảng, biến số cần kiểm tra được coi là có ý nghĩa (dòng trên, $P = 0,05$), hay rất có ý nghĩa (dòng dưới, $P = 0,01$).

6. Bảng chú giải các ký hiệu

Ký hiệu	Định nghĩa
b	Độ dốc hồi qui tuyến tính của đường thẳng liều - đáp ứng hay ln(liều) - đáp ứng của tất cả các chế phẩm trong một thử nghiệm
d	Số mức liều của mỗi chế phẩm trong một thử nghiệm đối xứng
e	Cơ số của logarit tự nhiên. $e = 2,718281828....$
f	Số bậc tự do
h	Số chế phẩm trong một thử nghiệm, kể cả chế phẩm chuẩn
k	Số xử lý trong một thử nghiệm, $k = dh$
n	Số thí nghiệm lặp lại hoặc số đơn vị thí nghiệm của mỗi xử lý
n'	Số các định giá hoạt lực riêng
s^2	Trị định giá của phương sai được tính từ bình phương trung bình của sai số dư. s^2_L là phương sai của logarit hoạt lực M
s	Trị định giá của Độ lệch chuẩn, $(=\sqrt{s^2})$
s_1, s_2, s_3	Nồng độ liều thấp, trung gian và cao của chế phẩm chuẩn S. Trong một thử nghiệm chỉ có 2 nồng độ của mỗi chế phẩm s_2 đại diện cho nồng độ cao
t	Thống kê t của Student (Bảng 13.10.28)
t'	Thống kê t' của Dunnett (Bảng 13.10.8)
$u_1 ... z_3$	Nồng độ (liều) của các chế phẩm thử $U ... Z$
y	Đáp ứng riêng hay đáp ứng riêng đã được chuyển đổi
y'	Đáp ứng tính được dùng để thay thế cho giá trị bị mất
$\bar{y}_S ... \bar{y}_Z$	Đáp ứng trung bình của chế phẩm chuẩn và các chế phẩm thử
$A_U ... A_Z$	Hoạt lực giả định của các chế phẩm thử $U ... Z$, là hoạt lực được dùng để tính lượng chế phẩm cần lấy khi pha các dung dịch thử

$B_1...B_{2n}$ Tổng đáp ứng của mỗi đơn vị thí nghiệm (1 đến $2n$) trong thiết kế chéo đôi

B' Tổng đáp ứng của khối hay hàng có chứa giá trị bị mất

C Đại lượng biểu thị ý nghĩa của hồi qui, dùng trong tính toán các giới hạn tin cậy (phương trình 3.2.5-5). Trong một số tài liệu thống kê kết quả thử nghiệm sinh học, ý nghĩa của hồi qui được biểu thị theo g:

$$C = \frac{1}{1-g}$$

$C_1...C_n$ Tổng đáp ứng của mỗi cột (1 đến n) trong thiết kế hình vuông Latin

C' Tổng đáp ứng của cột không kể một giá trị bị mất trong thiết kế hình vuông Latin

D Liều

D_I, D_{II} Tổng đáp ứng của giai đoạn I và giai đoạn II trong thiết kế chéo đôi

E Tổng các bình phương của đại lượng hồi qui (Bảng 13.10.5)

F Tỷ số của hai trị định giá độc lập của phương sai theo phân phối F (Bảng 13.10.7)

G' Tổng đáp ứng trong một thử nghiệm không kể giá trị bị mất

I Khoảng cách giữa các ln(liều) kế tiếp nhau, $I = \ln(s_2/s_1) = \ln(s_3) - \ln(s_2)$

K Đại lượng được dùng để tính tổng các bình phương trong phân tích phương sai

$$K = \frac{(\sum y)^2}{N}$$

L Độ rộng của logarit giới hạn tin cậy,
L = ln(giới hạn tin cậy trên) − ln(giới hạn tin cậy dưới)

$L_S...L_Z$ Tương phản tuyến tính của chế phẩm chuẩn và các chế phẩm thử (Bảng 13.10.2, 13.10.3 và 13.10.4)

M Trị định giá của logarit hoạt lực, trong thử nghiệm đa chế phẩm, M được dùng kèm với một ký tự ($U...Z$) ghi ở dưới, ví dụ M_U, để chỉ rõ một chế phẩm riêng (M = lnR).

$\bar{M}$ Trung bình của một vài trị định giá độc lập của M

M' Logarit tỷ lệ hoạt lực hay trị định giá của logarit hoạt lực trước khi hiệu chỉnh với hoạt lực giả định (M' = lnR')

N Tổng số đáp ứng trong một thử nghiệm

N_S, N_U Tổng số đáp ứng của chế phẩm $\underline{S}$ và $\underline{U}$

P Xác suất

$Q_S...Q_Z$ Tương phản bậc 2 của chế phẩm chuẩn và các chế phẩm thử

R Hoạt lực định giá được dùng với một ký tự (U....Z) ghi ở dưới, ví dụ R_U để chỉ rõ một chế phẩm thử riêng trong một thử nghiệm đa chế phẩm (R = antilnM)

R' Định giá hoạt lực hoặc tỷ số hoạt lực trước khi hiệu chỉnh bởi hoạt lực giả định (R' = antilnM').

$R_1...R_n$ Tổng đáp ứng của mỗi hàng (1 đến n) trong thiết kế hình vuông Latin, hay mỗi khối trong thiết kế ngẫu nhiên theo khối.

$\underline{S}$ Chế phẩm chuẩn

S Tổng đáp ứng của chế phẩm chuẩn

S_1, S_2, S_3 Tổng đáp ứng của liều (nồng độ) thấp, trung gian và cao của chế phẩm chuẩn $\underline{S}$. Trong một thử nghiệm chỉ có 2 mức liều, S_2 là tổng đáp ứng của liều cao

T' Tổng đáp ứng trong một xử lý không kể giá trị bị mất

$U...Z$ Tổng đáp ứng của các chế phẩm thử $\underline{U}...\underline{Z}$

$\underline{U}...\underline{Z}$ Các chế phẩm cần thử

U_1, U_2, U_3 Tổng đáp ứng của liều thấp, trung gian và cao của chế phẩm $\underline{U}$, trong một định lượng chỉ có 2 nồng độ của mỗi chế phẩm, U_2 đại diện cho nồng độ cao

W Hệ số cân chỉnh dùng trong phối hợp một số định giá độc lập (phương trình 4.2.1.-1)

X ln(liều)

13.11 ĐỊNH LƯỢNG HOẠT TÍNH VITAMIN B_{12} BẰNG PHƯƠNG PHÁP VI SINH VẬT

Dung dịch đệm

Hòa tan 1,29 g *dinatri hydrophosphat (TT)*, 1,10 g *acid citric khan (TT)*, 1,00 g *natri metabisulfit (TT)* trong 100 ml *nước để pha tiêm*.

Môi trường định lượng

Thành phần

L-Cystin	0,1 g
L-Tryptophan	0,05 g
Acid hydrocloric 1N	10 ml
Dung dịch adenin - guanin - uracil	5 ml
Dung dịch Xanthin	5 ml
Dung dịch vitamin I	10 ml
Dung dịch vitamin II	10 ml
Dung dịch muối A	5 ml
Dung dịch muối B	5 ml
Dung dịch asparagin	5 ml
Dung dịch thủy phân casein bằng acid	25 ml
Dextrose khan	10 g
Natri acetat khan	5 g
Acid ascorbic	1 g
Dung dịch polysorbat 80	5 ml

Chuẩn bị các dung dịch

Dung dịch thủy phân casein bằng acid: Cho 100 g *casein* không chứa vitamin vào 500 ml *dung dịch acid hydrocloric 6 N*, đun hồi lưu từ 8 h đến 12 h. Loại bỏ acid hydrocloric trong hỗn hợp bằng cất chân không đến khi thu được khối bột nhão. Hòa tan cẩn thu được bằng *nước để pha tiêm*, điều chỉnh pH dung dịch về 3,5 ± 0,1 bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 N (TT)*. Thêm *nước để pha tiêm* vừa đủ 1000 ml. Thêm 20 g *than hoạt*, khuấy để hấp phụ trong 1 h, lọc lấy dịch trong. Tiếp tục lặp lại bước thêm than hoạt trên đến khi thu được dung dịch trong suốt. Bảo quản dung dịch trong toluen, trong tủ lạnh ở nhiệt độ không dưới 10 °C.

Dung dịch Asparagin: Hòa tan 2,0 g *L-asparagin* trong vừa đủ 200 ml *nước để pha tiêm*. Bảo quản dung dịch trong toluen, trong tủ lạnh.

Dung dịch adenin - guanin - uracil: Hòa tan 200 mg mỗi loại *adenin sulfat*, *guanin hydroclorid* và *uracil* trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 4 N*, làm nóng nếu cần đến khi tan hết, làm lạnh, thêm *nước để pha tiêm* vừa đủ 200 ml. Bảo quản dung dịch trong toluen, trong tủ lạnh.

Dung dịch xanthin: Hòa 0,2 g *xanthin* vào khoảng 30 ml đến 40 ml *nước để pha tiêm*, đun nóng đến khoảng 70 °C, thêm 6 ml *dung dịch amoni hydroxyd 6 N*, khuấy đều đến khi tan hoàn toàn. Làm lạnh đến nhiệt độ phòng, thêm *nước để pha tiêm* vừa đủ 200 ml. Bảo quản dung dịch trong toluen, trong tủ lạnh.

Dung dịch muối A: Hòa tan 10 g *kali dihydrophosphat (TT)* và 10 g *dikali hydrophosphat (TT)* trong vừa đủ 200 ml *nước để pha tiêm*. Thêm 2 giọt *acid hydrocloric (TT)*, bảo quản trong toluen.

Dung dịch muối B: Hòa tan 4,0 g *magnesi sulfat (TT)*, 0,20 g *natri clorid (TT)*, 0,20 g *sắt (II) sulfat (TT)* và 0,20 g *mangan sulfat (TT)* trong vừa đủ 200 ml *nước để pha tiêm*. Thêm 2 giọt *acid hydrocloric (TT)*, bảo quản trong toluen.

Dung dịch polysorbat 80: Hòa tan 20 g *polysorbat 80* vào 200 ml *alcol*. Bảo quản trong tủ lạnh.

Dung dịch vitamin I: Hòa tan 10 mg *riboflavin*, 10 mg *thiamin hydroclorid*, 100 µg *biotin* và 20 mg *niacin* trong vừa đủ 400 ml *dung dịch acid acetic 0,02 N*. Bảo quản trong toluen, tránh ánh sáng, trong tủ lạnh.

Dung dịch vitamin II: Hòa tan 20 mg *acid para-aminobenzoic*, 10 mg *calci pantothenat*, 40 mg *pyridoxal hydroclorid*, 40 mg *pyridoxin hydroclorid*, 8 mg *pyridoxamin dihydroclorid* và 2 mg *acid folic* trong vừa đủ 400 ml *dung dịch ethanol trung tính loãng (1 trong 4)*. Bảo quản tránh ánh sáng, trong tủ lạnh.

Pha chế môi trường

Hòa tan hoàn toàn cystin và tryptophan vào 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 N (TT)*, thêm 8 dung dịch đã chuẩn bị ở trên (trừ dung dịch polysorbat 80) trộn đều, tiếp tục thêm 100 ml *nước để pha tiêm*, hòa tan dextrose, natri acetat, acid ascorbic vào dung dịch này. Lọc nếu cần. Thêm dung dịch polysorbat 80, khuấy đều, điều chỉnh pH môi trường từ 5,5 đến 6,0 bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 N (TT)*, thêm *nước để pha tiêm* vừa đủ 250 ml.

Có thể sử dụng môi trường ở dạng bột khô có thành phần như trên. Chế tạo môi trường theo hướng dẫn ghi trên nhãn.

Môi trường pha loãng

Pha loãng Môi trường định lượng bằng một lượng *nước để pha tiêm* tương đương sẽ thu được Môi trường pha loãng. Đóng vào mỗi ống thủy tinh 10 ml môi trường vừa pha, hấp tiệt khuẩn. Làm lạnh ngay sau khi hấp.

Nước ép cà chua

Ly tâm nước ép cà chua để loại bỏ hết phần thịt quả, lấy phần dung dịch. Hòa 5 g chất trợ lọc vào 1 L dung dịch trên thu được hỗn dịch. Lọc dưới áp suất giảm đến khi thu được dung dịch có màu dâu tây trong suốt. Bảo quản trong toluen, trong tủ lạnh.

Môi trường nuôi cấy chủng

Thành phần:

Cao men bia tan trong *nước để pha tiêm*	0,75 g
Pepton khô	0,75 g
Dextrose khan	1,0 g
Kali dihydrophosphat	0,2 g
Nước ép cà chua	10 ml
Polysorbat 80	1 ml

Cách tiến hành: Hòa tan cao men bia, pepton, dextrose khan, kali dihydrophosphat trong 60 ml đến 70 ml *nước để pha tiêm*, tiếp tục thêm 10 ml nước ép cà chua và 1 ml polysorbat 80, điều chỉnh pH dung dịch về 6,8 bằng *dung*

dịch natri hydroxyd 1 N (TT). Thêm *nước để pha tiêm* vừa đủ 100 ml. Đóng vào ống nghiệm mỗi ống 10 ml môi trường. Hấp tiệt trùng ở 121 °C trong 15 min. Làm lạnh ngay sau khi hấp.

Có thể sử dụng môi trường có thành phần như trên ở dạng bột đông khô. Chế tạo môi trường theo hướng dẫn ghi trên nhãn.

Chủng gốc

Thêm 1,0 g đến 1,5 g thạch vào 100 ml môi trường nuôi cấy chủng, trộn đều, đun trong cách thủy đến khi thạch tan hoàn toàn, đóng vào mỗi ống nghiệm thủy tinh 10 ml môi trường. Hấp ở 121 °C trong 15 min. Để nguội. Lấy ít nhất 3 ống môi trường, cấy vào mỗi ống một quai cấy hỗn dịch *Lactobacillus leichmannii* ATCC 7830 gốc thuần chủng. Ủ ở một nhiệt độ xác định trong khoảng từ 30 °C đến 40 °C, trong 16 h đến 24 h, duy trì nhiệt độ ổn định trong khoảng nhiệt độ lựa chọn ± 0,5 °C. Bảo quản trong tủ lạnh. Chủng sử dụng trong phép thử định lượng phải được cấy truyền không dưới 10 lần trong vòng 2 tuần.

Cấy truyền chủng ít nhất 3 lần một tuần, không sử dụng chủng đã quá 4 ngày tuổi. Hoạt tính của chủng sẽ được tăng lên khi cấy truyền hàng ngày hoặc 2 ngày 1 lần đến khi có thể quan sát sự phát triển của chủng làm đục môi trường sau 2 h đến 4 h nuôi cấy. Chủng vi sinh vật chậm phát triển khó có thể tạo ra một đường chuẩn đáp ứng thích hợp và do đó có thể dẫn đến kết quả bất thường.

Hỗn dịch chủng làm việc

Chuẩn bị 2 ống chứa 10 ml môi trường nuôi cấy chủng đã chuẩn bị ở trên, cấy một quai cấy hỗn dịch chủng *Lactobacillus leichmannii* ATCC 7830 gốc vào mỗi ống. Ủ ở một nhiệt độ xác định trong khoảng từ 30 °C đến 40 °C, trong 16 h đến 24 h, duy trì nhiệt độ ổn định trong khoảng nhiệt độ lựa chọn ± 0,5 °C. Trong điều kiện vô trùng, ly tâm, lấy cặn vi khuẩn, loại bỏ dịch nổi. Hòa cặn vào 5 ml môi trường pha loãng, gộp hỗn dịch từ 2 ống thu được *hỗn dịch chủng gốc*, pha loãng *hỗn dịch chủng gốc* bằng môi trường pha loãng sao cho khi pha loãng hỗn dịch này với tỷ lệ 1 : 20 bằng nước muối sinh lý vô khuẩn để thu được hỗn dịch có độ truyền qua 70 % khi đo quang ở 530 nm, cuvet 10 mm, mẫu trắng là nước muối sinh lý vô khuẩn. Pha loãng *hỗn dịch chủng gốc* bằng môi trường định lượng tỷ lệ 1 : 400 thu được hỗn dịch chủng làm việc.

Chú ý: Độ đục của hỗn dịch chủng làm việc có thể thay đổi nhằm tạo được sự đáp ứng mong muốn.

Hỗn dịch chủng đông lạnh *Lactobacillus leichmannii* ATCC 7830 có thể thay thế cho chủng gốc *Lactobacillus leichmannii* ATCC 7830.

Cách tiến hành

Dụng cụ thử nghiệm được rửa sạch bằng các chất tẩy rửa và phương pháp thích hợp. Sấy ở 250 °C trong 2 h để phân hủy dư lượng vitamin B_{12}.

Dung dịch thử: Lấy một lượng thích hợp số đơn vị đóng gói, làm đồng nhất mẫu với mỗi g hoặc ml. Cân chính xác một lượng chế phẩm thích hợp vào bình nón, thêm 25 ml dung dịch đệm, lắc đều. Hấp hỗn dịch trên trong nồi hấp ở 121 °C trong 10 min. Lấy ra, để nguội, chuyển toàn bộ dịch hấp sang bình định mức dung tích 200 ml, thêm *nước để pha tiêm* vừa đủ đến vạch. Ly tâm hoặc lọc, thu được dịch lọc trong. Tiếp tục pha loãng dịch lọc với *nước để pha tiêm* để được dung dịch thử làm việc có nồng độ tương tự dung dịch chuẩn.

Dung dịch chuẩn cyanocobalamin gốc: Hòa tan cyanocobalamin chuẩn trong alcol 25 % để được dung dịch có nồng độ 1 µg/ml. Bảo quản trong tủ lạnh.

Dung dịch chuẩn cyanocobalamin làm việc: Lấy chính xác một lượng thích hợp dung dịch chuẩn cyanocobalamin gốc, pha loãng bằng *nước để pha tiêm* để thu được dung dịch chuẩn cyanocobalamin làm việc có nồng độ 0,01 ng đến 0,04 ng/ml.

Cách tiến hành:

Cho vào mỗi ống nghiệm 1,0 ml; 1,5 ml; 2,0 ml; 3,0 ml; 4,0 ml; 5,0 ml dung dịch chuẩn cyanocobalamin làm việc. Thêm *nước để pha tiêm* vừa đủ 5,0 ml. Thêm vào mỗi ống nghiệm 5,0 ml môi trường định lượng. Mỗi nồng độ làm lặp lại 2 ống.

Cho vào mỗi ống nghiệm khác 1,0 ml; 1,5 ml; 2,0 ml; 3,0 ml; 4,0 ml dung dịch thử làm việc. Thêm *nước để pha tiêm* vừa đủ 5,0 ml. Thêm vào mỗi ống nghiệm 5,0 ml môi trường định lượng. Mỗi nồng độ làm lặp lại hai ống.

Cho vào 4 ống trắng, mỗi ống 5,0 ml *nước để pha tiêm* và 5,0 ml môi trường định lượng.

Đậy nắp ống nghiệm để tránh nhiễm khuẩn. Hấp tiệt trùng các ống nghiệm trên ở 121 °C trong 5 min, có thể hấp thời gian dài hơn tuy nhiên không được quá 10 min, sau khi hấp xong làm lạnh ngay.

Trong điều kiện vô trùng, cấy vào mỗi ống 500 µl hỗn dịch chủng làm việc trừ hai ống trắng "không cấy chủng". Ủ ở một nhiệt độ xác định trong khoảng từ 30 °C đến 40 °C, trong 16 h đến 24 h, duy trì nhiệt độ ổn định trong khoảng nhiệt độ lựa chọn ± 0,5 °C. Sau thời gian nuôi cấy, làm ngừng sự phát triển của vi khuẩn bằng cách nhúng các ống nghiệm trong *nước để pha tiêm* nóng không dưới 80 °C trong 5 min. Để nguội đến nhiệt độ phòng.

Lắc đều ống thử nghiệm. Để yên hỗn dịch thử nghiệm trong một khoảng thời gian nhất định đến khi giá trị độ truyền qua dao động ít nhất. Đo độ truyền qua của ống trắng "cấy chủng" với mẫu trắng là ống trắng "không cấy chủng" ở bước sóng 530 nm, cuvét 10 mm. Nếu độ truyền qua của hai ống trắng này khác nhau quá 5 % hoặc có dấu hiệu chủng bị nhiễm thì phải loại bỏ phép thử. Tiếp tục đo độ truyền qua của các ống nghiệm chứa dung dịch chuẩn và dung dịch thử với mẫu trắng là ống trắng "không cấy chủng". Chú ý thời gian đo độ truyền qua của các hỗn dịch thử nghiệm phải như nhau.

Tính kết quả

Xây dựng đường đáp ứng của dung dịch chuẩn theo quy trình dưới đây:

Kiểm tra các giá trị độ truyền qua và loại bỏ những giá trị sai số thô.

Đối với mỗi mức liều của chuẩn, tính tổng các giá trị độ truyền qua của hai ống lặp lại (∑), giá trị y được tính như sau: y = 2,00 − ∑.

Thiết lập đồ thị với trục tung là giá trị y, trục hoành là logarit số ml của dung dịch cyanocobalamin chuẩn. Có thể sử dụng trục hoành theo thang số học hay logarit để thu được đường đáp ứng phù hợp. Vẽ đường chuẩn tương đối phù hợp nhất với các điểm trên đồ thị.

Tính y = 2,00 − ∑ đối với mẫu thử tương tự như cách tính y đối với mẫu chuẩn. Từ đồ thị đọc giá trị logarit của thể tích dung dịch chuẩn tương ứng với mỗi giá trị y, loại bỏ các giá trị y nằm ngoài khoảng xác định của giá trị chuẩn (khoảng từ giá trị nhỏ nhất đến giá trị lớn nhất của chuẩn). Đối với mỗi mức liều, giá trị x là hiệu của giá trị logarit vừa đọc được và giá trị logarit số ml của dung dịch chuẩn tương ứng. Tính trung bình ít nhất ba giá trị x trở lên thu được x_{tb} = M'.

Xác định giá trị M bằng công thức:

$$M = M' + \lg R$$

Tính hoạt lực cyanocobalamin của mẫu thử bằng công thức:

$$\text{antilog } M = \text{antilog } (M' + \lg R)$$

Trong đó:

R là hoạt lực giả định của cyanocobalamin trong mẫu thử ban đầu.

Tiến hành lặp lại phép thử ít nhất một lần, sử dụng dung dịch thử độc lập. Nếu giá trị M giữa hai lần thử sai khác nhau không quá 0,08 thì giá trị trung bình M_{tb} chính là hàm lượng của cyanocobalamin trong mẫu thử. Nếu giá trị M giữa hai lần thử sai khác nhau quá 0,08, tiến hành thêm một hoặc nhiều phép thử nữa. Tính giá trị trung bình M_{tb} từ các giá trị M khác nhau không quá 0,15 là hoạt lực của cyanocobalamin trong mẫu thử.

PHỤ LỤC 14

HƯỚNG DẪN ĐÁNH GIÁ SINH KHẢ DỤNG VÀ TƯƠNG ĐƯƠNG SINH HỌC *IN VIVO* THUỐC GENERIC

Thuốc phát minh là thuốc được cấp phép lưu hành đầu tiên, trên cơ sở đã có đầy đủ các số liệu về chất lượng, an toàn và hiệu quả. Thuốc generic là một thuốc thành phẩm nhằm thay thế một thuốc phát minh được sản xuất không có giấy phép nhượng quyền của công ty phát minh và được đưa ra thị trường sau khi bằng phát minh và các bản quyền đã hết hạn. Theo quy định trong đăng ký thuốc của Việt Nam cũng như của nhiều nước khác, đối với các thuốc generic có tác dụng toàn thân mà bản thân dược chất và dạng bào chế không chứng minh được sinh khả dụng tương tự như thuốc phát minh hoặc thuốc đối chứng (đối với các trường hợp không xác định được thuốc phát minh) thì phải có các số liệu chứng minh thuốc generic có tương đương sinh học so với thuốc phát minh hoặc thuốc đối chứng. Hiện nay, Bộ Y tế ban hành thông tư (được cập nhật định kỳ) quy định danh sách các thuốc generic phải nộp hồ sơ chứng minh tương đương sinh học khi nộp hồ sơ đăng ký sản xuất, lưu hành.

Trong đánh giá Tương Đương Sinh Học (TĐSH) *in vivo* thuốc generic thì khái niệm sinh khả dụng được định nghĩa là tốc độ và mức độ hấp thu dược chất từ chế phẩm thuốc vào hệ tuần hoàn chung. Các đại lượng được sử dụng để biểu thị tốc độ và mức độ hấp thu dược chất vào hệ tuần hoàn chung được ứng dụng trong nghiên cứu TĐSH bao gồm: C_{max} (nồng độ đỉnh); T_{max} (thời gian từ khi bắt đầu dùng thuốc đến khi đạt đến nồng độ đỉnh) và AUC (diện tích dưới đường cong nồng độ - thời gian). Hai chế phẩm thuốc được coi là tương đương sinh học nếu sinh khả dụng của chúng khác nhau không đáng kể khi dùng cùng mức liều trong cùng điều kiện thử nghiệm.

Hướng dẫn này đưa ra một số nguyên tắc cơ bản trong đánh giá tương đương sinh học để thu được kết quả tin cậy.

Những yêu cầu cơ bản đối với phương pháp phân tích xác định nồng độ dược chất và/hoặc chất chuyển hóa có tác dụng trong mẫu sinh học

Các phương pháp sắc ký, như sắc ký khí, sắc ký lỏng hiệu năng cao sử dụng các detector khác nhau như quang phổ tử ngoại - khả kiến, huỳnh quang, phổ khối thường được sử dụng trong nghiên cứu đánh giá tương đương sinh học để xác định nồng độ thuốc (dược chất và/hoặc chất chuyển hóa - chất cần phân tích) trong các mẫu sinh học (thường là các mẫu máu, huyết tương, huyết thanh hay nước tiểu) của người tình nguyện tham gia nghiên cứu. Những phương pháp này có tính đặc hiệu cao: có khả năng tách và định lượng trên cùng một hệ thống và cùng thời điểm. Trong một số trường hợp, có thể sử dụng phương pháp phân tích sinh hóa và sinh học nếu phương pháp có đủ độ đúng, độ chính xác, độ đặc hiệu để xác định được nồng độ thuốc trong các mẫu sinh học.

Do quá trình phân tích mẫu sinh học bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố như lượng mẫu ít, nồng độ thấp, lẫn nhiều tạp chất là các chất nội sinh (lipid, protein, chất nội sinh, chất chuyển hóa...) và sự khác nhau giữa các cá thể, nên phương pháp phân tích phải được thiết lập và thẩm định để đảm bảo độ tin cậy.

1. Tính đặc hiệu: Phải chứng minh được rằng chất xác định được là dược chất hay chất chuyển hóa có tác dụng. Sự phân tích mẫu không bị ảnh hưởng bởi các chất nội sinh và chất chuyển hóa có liên quan. Báo cáo kết quả phải bao gồm cả sắc ký đồ của mẫu trắng (dịch sinh học), mẫu chất chuẩn pha trong dịch sinh học và mẫu thử thu được sau khi dùng thuốc. Trong nghiên cứu tính đặc hiệu, phải thực hiện phương pháp thêm chất chuẩn để loại bỏ sai số do nền mẫu. Khi xác định nồng độ chất phân tích trong mẫu sinh học bằng phương pháp sắc ký lỏng – khối phổ cần phải có các nghiên cứu ảnh hưởng của nền mẫu.

2. Đường chuẩn và khoảng tuyến tính: Mối quan hệ giữa đáp ứng với nồng độ của chất phân tích phải được đánh giá bằng phương trình toán học phù hợp. Phương trình này phải được xác định bằng các phương pháp phân tích hồi quy phù hợp (như phương pháp bình phương nhỏ nhất). Khoảng tuyến tính là khoảng nồng độ từ thấp nhất đến cao nhất của đường chuẩn có mối quan hệ tuyến tính giữa đáp ứng (xác định bằng các thiết bị phân tích phù hợp) và nồng độ dược chất có trong mẫu. Trong khoảng này, phép phân tích phải thoả mãn các yêu cầu về độ đúng và độ chính xác theo qui định.

Đường chuẩn phải có ít nhất 6 nồng độ của chất chuẩn pha trong cùng một mẫu dịch sinh học (không bao gồm mẫu điểm 0 – mẫu có nồng độ hoạt chất cần phân tích bằng 0). Đường chuẩn hay khoảng tuyến tính phải bao gồm toàn bộ khoảng nồng độ của các mẫu cần phân tích. Không xác định nồng độ chất cần phân tích có trong mẫu thử bằng phương pháp ngoại suy.

3. Độ đúng và độ chính xác: Độ đúng và độ chính xác được xác định cùng lúc bằng cách sử dụng tối thiểu 3 nồng độ của mẫu chuẩn kiểm tra, 1 nồng độ gần với giá trị nhỏ nhất của đường chuẩn (LLOQ); 1 nồng độ gần với điểm giới hạn trên của đường chuẩn và 1 nồng độ ở gần điểm giữa. Mỗi nồng độ phải được xác định trên ít nhất 5 mẫu.

Độ chính xác có thể được biểu thị bằng hệ số biến thiên (CV) trong ngày và giữa các ngày, được xác định trên mẫu chuẩn kiểm tra. Nói chung, CV không nên vượt quá 15 %, riêng điểm gần giới hạn định lượng dưới cho phép không vượt quá 20 %.

Độ đúng được biểu thị là khả năng tiến tới gần nồng độ thực nhất của chất phân tích trong mẫu sinh học được xác định bằng phương pháp đặc biệt. Điều đó có thể được biểu thị bằng khả năng tìm lại tương đối, và phải nằm trong khoảng 85 % đến 115 %, nhưng có thể chấp nhận 80 % đến 120 % đối với điểm gần giới hạn định lượng dưới.

4. Giới hạn định lượng dưới: Giới hạn định lượng là nồng độ thấp nhất của đường chuẩn có thể xác định được với độ đúng và độ chính xác cho phép. Giới hạn định lượng dưới ít nhất phải thỏa mãn khả năng phân tích nồng độ của mẫu thử lấy ở thời điểm bằng 3 đến 5 lần thời gian bán thải hoặc bằng 1/20 đến 1/10 giá trị C_{max} của chất phân tích.

5. Độ ổn định của mẫu thử: Độ ổn định của mẫu sinh học có chứa chất phân tích cần được khảo sát khi bảo quản ở nhiệt độ phòng, đông lạnh trong khoảng thời gian khác nhau để xác định điều kiện bảo quản và thời gian bảo quản mẫu sau khi lấy.

6. Tỷ lệ thu hồi: Khả năng tìm lại sau khi chiết được đánh giá với ít nhất 3 nồng độ: Cao, trung bình và thấp của đường chuẩn. Giới hạn của chỉ tiêu này có thể tham khảo những tài liệu liên quan.

7. Mẫu chuẩn kiểm tra (QC): Mẫu chuẩn kiểm tra được dùng để so sánh khi định lượng là những mẫu tự tạo biết trước nồng độ, chuẩn bị bằng cách pha chất chuẩn của chất cần phân tích trong mẫu sinh học trắng.

8. Phân tích mẫu thử: Định lượng các mẫu thử bằng phương pháp phân tích đã được thẩm định. Mỗi mẫu thử có thể phân tích một lần hoặc lặp lại nếu cần. Toàn bộ các mẫu thử của mỗi người tình nguyện phải được phân tích trong cùng một điều kiện. Một lô mẫu phân tích (các mẫu phân tích trong cùng một điều kiện - trong thời gian một buổi hoặc một ngày) bao gồm toàn bộ các mẫu thử của một hoặc một số người tình nguyện; các mẫu của đường chuẩn/ khoảng tuyến tính và các mẫu QC - với tối thiểu 3 mức nồng độ tương ứng với khoảng nồng độ thấp, trung bình và cao của đường chuẩn/khoảng tuyến tính và tương ứng với mỗi mức nồng độ phải có tối thiểu hai mẫu. Số lượng các mẫu QC của một lô phân tích không được ít hơn 5 % tổng số mẫu thử và cũng không được ít hơn 6 mẫu. Nồng độ chất cần phân tích trong mỗi mẫu thử và các mẫu QC được xác định dựa trên kết quả phân tích các mẫu của đường chuẩn trong lô phân tích. Chỉ chấp nhận kết quả của một lô mẫu phân tích khi: Các mẫu đường chuẩn/khoảng tuyến tính đạt yêu cầu về độ đúng, chính xác và độ lệch giữa kết quả xác định nồng độ chất cần phân tích trong các mẫu QC phải sai khác không quá ± 15 % so với giá trị nồng độ lý thuyết tương ứng. Tiêu chuẩn chấp nhận kết quả lô phân tích được qui định bởi các hướng dẫn cụ thể của Cơ quan quản lý.

Qui định chung đối với một nghiên cứu đánh giá tương đương sinh học

Lựa chọn đối tượng tham gia nghiên cứu

Tiêu chuẩn: Đối tượng tham gia nghiên cứu phải tự nguyện tham gia vào nghiên cứu và được lựa chọn theo những tiêu chuẩn phù hợp nhất định. Trong nghiên cứu tương đương sinh học, đa số trường hợp thường chọn đối tượng tham gia nghiên cứu là nam giới khỏe mạnh. Một số trường hợp cần thiết chỉ sử dụng đối tượng là phụ nữ, khi đó cần giải thích rõ. Với thuốc dùng cho trẻ em, vẫn nên chọn người lớn để thử nghiệm. Các tiêu chuẩn cụ thể của đối tượng tham gia nghiên cứu như sau:

a. Giới tính: Nam hoặc nữ.

b. Tuổi: Thông thường từ 18 tuổi đến 55 tuổi. Trong cùng một nhóm nghiên cứu, giữa các cá thể, khác nhau không quá 10 tuổi.

c. Cân nặng, chiều cao cơ thể: Chỉ số khối lượng cơ thể (*Body mass index - BMI*) được tính bằng thương số giữa cân nặng cơ thể (đơn vị tính kg) và bình phương chiều cao cơ thể (đơn vị tính m^2) của đối tượng tham gia nghiên cứu và phải nằm trong giới hạn trung bình từ 18,0 đến 25,0 (có thể mở rộng đến 30 trong một số trường hợp và do cơ quan quản lý qui định). Cân nặng cơ thể của các cá thể trong cùng nhóm nghiên cứu nên gần giống nhau.

d. Người tình nguyện phải có đủ năng lực hành vi dân sự, khỏe mạnh, không có tiền sử về bệnh tim mạch, bệnh gan, bệnh đường tiêu hóa, bệnh chuyển hóa không bình thường hoặc bệnh về hệ thần kinh.

e. Không có tiền sử về dị ứng và hạ huyết áp tư thế.

f. Không dùng các đối tượng nghiện ma túy, nghiện rượu, nghiện thuốc lá.

g. Trong quá trình thử nghiệm không được sử dụng thuốc lá, rượu và những thức uống khác có chứa cafein.

h. Không dùng thuốc có chứa dược chất cùng với thuốc nghiên cứu trong vòng 2 tuần trước và trong quá trình thử nghiệm.

i. Chấp thuận tự nguyện ký vào bản cam kết tự nguyện tham gia nghiên cứu.

Đối tượng tham gia nghiên cứu phải được kiểm tra sức khoẻ bao gồm các chỉ tiêu: khám lâm sàng tổng quát, huyết áp, nhịp tim, chức năng gan, thận, phổi và công thức máu. Các kết quả xét nghiệm phải trong giới hạn bình thường. Khi thử những thuốc đặc biệt, có thể phải kiểm tra thêm một số chỉ tiêu khác, ví dụ như đường huyết khi thử nghiệm những thuốc có ảnh hưởng đến đường huyết hay điện tim đối với các thuốc ảnh hưởng đến hoạt động của tim... Nếu đối tượng là phụ nữ thì phải tiến hành làm các xét nghiệm và đảm bảo không mang thai trong quá trình tham gia nghiên cứu.

Số lượng: Số lượng người tình nguyện phải đủ theo các yêu cầu, quy định liên quan của Cơ quan quản lý và được tính theo nguyên tắc dùng với số lượng nhỏ nhất có thể được để đảm bảo yếu tố đạo đức trong các nghiên cứu y sinh học nhưng vẫn đảm bảo yêu cầu, mức độ tin cậy thống kê của phép thử. Trong nghiên cứu tương đương sinh học, số lượng người tình nguyện tham gia nghiên cứu được tính trên các dữ liệu: mức độ tin cậy thống kê của phép thử (thường $\alpha = 0,1$); khoảng giới hạn tương đương sinh học yêu cầu (thường là 80 % - 125 %); mức độ dao động các thông số dược động học trên đối tượng tham gia nghiên cứu và tỷ lệ trung bình thông số dược động học giữa thuốc thử và thuốc đối chứng. Với mỗi nghiên cứu tương đương sinh học, cần xác định cụ thể và nêu rõ số lượng người tình nguyện trong đề cương nghiên cứu tương đương sinh học trình Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu Y sinh học phê duyệt theo quy định. Số lượng người tình nguyện tham gia nghiên cứu có thể thay đổi tùy từng thuốc, từng nghiên cứu và các quy định liên quan nhưng không được ít hơn 12 người.

Thuốc nghiên cứu

Thuốc đối chứng: Thuốc (chế phẩm) đối chứng dùng trong nghiên cứu tương đương sinh học phải là sản phẩm đã được cấp phép sản xuất, lưu hành dựa trên các số liệu an toàn, hiệu quả điều trị của sản phẩm và được lựa chọn theo các nguyên tắc với thứ tự ưu tiên lần lượt sau:

– Thuốc phát minh đang lưu hành tại Việt Nam;

– Thuốc danh mục thuốc đối chứng của tổ chức Y tế thế giới;

– Thuốc phát minh đang được lưu hành tại một trong các nước thành viên của Hội nghị hòa hợp quốc tế và các nước liên kết (gồm các nước thuộc EU, Mỹ, Nhật Bản, Canada, Australia, Thụy Sỹ);

– Trong trường hợp không xác định được thuốc phát minh, lựa chọn thuốc đối chứng là thuốc đã được cấp phép và đang được lưu hành tại một trong các nước thành viên của Hội nghị hòa hợp quốc tế và các nước liên kết hoặc thuốc đã được đánh giá chất lượng bởi Tổ chức Y tế Thế giới.

Quy định cụ thể thuốc đối chứng dùng trong một nghiên cứu tương đương sinh học do Bộ Y tế ban hành. Thuốc đối chứng được lựa chọn phải đạt tiêu chuẩn chất lượng và phải có nguồn gốc, xuất xứ rõ ràng mới được sử dụng trong nghiên cứu tương đương sinh học. Trong nghiên cứu tương đương sinh học nên lựa chọn thuốc đối chứng có dạng bào chế phù hợp với dạng bào chế của thuốc thử.

Thuốc thử: Thuốc (chế phẩm) thử trong nghiên cứu tương đương sinh học phải được nghiên cứu, sản xuất theo tiêu chuẩn thực hành tốt sản xuất thuốc (GMP) và các quy định liên quan của Cơ quan quản lý với cỡ lô phù hợp. Chỉ được sử dụng lô thuốc thử được sản xuất với cỡ lô đủ lớn, có đầy đủ hồ sơ chế biến và đạt các yêu cầu chất lượng theo tiêu chuẩn đồng thời có hàm lượng dược chất so với hàm lượng ghi trên nhãn sai khác không quá 5 % so với lô thuốc đối chứng trong nghiên cứu tương đương sinh học.

Thiết kế và phê duyệt đề cương nghiên cứu

Theo quy định, tất cả các nghiên cứu tương đương sinh học đều phải xây dựng đề cương nghiên cứu. Đề cương nghiên cứu trình bày rõ mô hình/thiết kế nghiên cứu; phương pháp, nội dung nghiên cứu; phương pháp thống kê/đánh giá kết quả nghiên cứu... Đề cương nghiên cứu đều phải được Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu Y sinh học phê duyệt chấp thuận trước khi tiến hành triển khai nghiên cứu.

Lựa chọn mô hình nghiên cứu: Kiểu nghiên cứu phổ biến nhất trong nghiên cứu tương đương sinh học, so sánh sinh khả dụng giữa một thuốc thử và một thuốc đối chứng là nghiên cứu đơn liều, chéo 2 × 2 (2 thuốc, 2 giai đoạn, 2 trình tự thử thuốc). Để hạn chế ảnh hưởng của sự khác biệt giữa các cá thể và giai đoạn thử nghiệm, các đối tượng nghiên cứu được chia ngẫu nhiên thành 2 nhóm. Một nhóm sẽ được sử dụng thuốc thử trước và thuốc chứng sau; ngược lại, nhóm kia sử dụng thuốc chứng trước và thuốc thử sau. Giữa 2 giai đoạn thử, cần có một khoảng thời gian để đảm bảo cho thuốc của lần thử trước loại hết ra khỏi cơ thể (thường từ 1 đến 2 tuần, gấp khoảng 5 - 7 lần thời gian bán thải $t_{1/2}$ của thuốc). Đối với các thuốc có thời gian bán thải kéo dài, có thể áp dụng thiết kế nghiên cứu song song. Trong nghiên cứu song song, đối tượng tham gia thử nghiệm được chia thành 2 nhóm, một nhóm uống thuốc thử và nhóm còn lại uống thuốc đối chứng. Ngoài mô hình nghiên cứu kể trên, trong một số trường hợp có thể áp dụng các mô hình nghiên cứu khác như: Nghiên cứu đa liều (xác định các thông số dược động học của thuốc ở trạng thái ổn định - sau khi dùng thuốc từ 5 đến 7 liều); nghiên cứu lặp lại (sử dụng thuốc thử và/hoặc thuốc đối chứng lặp lại). Nghiên cứu đa liều có thể được áp dụng trong nghiên cứu tương đương sinh học khi:

a. Mức độ hấp thu dược chất từ dạng thuốc tương tự nhau, nhưng khác nhau về tốc độ hấp thu.

b. Sinh khả dụng giữa các cá thể khác nhau nhiều.

c. Sau khi uống liều đơn, nồng độ của thuốc dưới dạng tiền chất của thuốc hoặc chất chuyển hóa thấp, không thể xác định được bởi phương pháp phân tích thích hợp.

d. Thuốc giải phóng có kiểm soát, tác dụng kéo dài.

Đối với các nghiên cứu so sánh sinh khả dụng/tương đương sinh học của 2 thuốc thử so với 1 thuốc đối chứng (trường hợp thuốc thử có nhiều hàm lượng) hoặc nghiên cứu ảnh hưởng của thức ăn/ đồ uống tới sinh khả dụng của thuốc thử dạng rắn dùng đường uống đồng thời đánh giá tương đương sinh học của thuốc thử so với thuốc đối chứng, người ta thường sử dụng thiết kế nghiên cứu chéo 3 × 3 (3 thuốc, 3 giai đoạn, 3 hoặc 6 trình tự/phác đồ sử dụng thuốc – tùy theo mô hình nghiên cứu). Tương tự như thiết kế nghiên cứu chéo 2 × 2, giữa mỗi giai đoạn cần có thời gian nghỉ để đảm bảo cho thuốc sử dụng ở giai đoạn trước được thải trừ hết khỏi cơ thể. Thời gian nghỉ (thời gian thải trừ thuốc) giữa mỗi giai đoạn thường gấp khoảng 5 - 7 lần thời gian bán thải của thuốc. Tất cả các nghiên cứu tương đương sinh học có thiết kế nghiên cứu khác với mô hình nghiên cứu phổ biến đều phải nêu rõ lý do giải thích cho thiết kế nghiên cứu và thiết kế nghiên cứu phải được trình bày rõ ràng, chi tiết trong đề cương nghiên cứu trình Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu Y sinh học phê duyệt.

Xác định liều thử: Liều thử trong nghiên cứu tương đương sinh học phải giống với liều dùng trong lâm sàng và nên sử dụng mức liều thấp nhất có thể được mà vẫn xác định được chính xác các thông số dược động học trên đối tượng tham gia nghiên cứu khi sử dụng mức liều đó. Trong nghiên cứu tương đương sinh học tốt nhất là liều thử của thuốc thử phải giống với liều thử của thuốc chứng. Trong trường hợp phải sử dụng liều khác nhau, cần nêu rõ lý do và phải hiệu chỉnh các giá trị dược động học thu được một cách phù hợp theo tỷ lệ mức liều dùng.

Thời điểm lấy mẫu: Sau khi sử dụng thuốc, tiến hành lấy các mẫu sinh học (thường là mẫu máu) của mỗi người tình nguyện tại những thời điểm xác định để xác định nồng độ thuốc/dược chất có trong các mẫu. Tiến hành xác định các thông số dược động học dựa trên kết quả xác định nồng độ thuốc/dược chất có trong các mẫu. Do vậy, thiết kế thời điểm lấy mẫu trong nghiên cứu tương đương sinh học rất quan trọng để thu được kết quả nghiên cứu tin cậy. Một đường cong nồng độ thuốc trong máu người tình nguyện

theo thời gian hoàn thiện phải bao gồm cả các pha: Hấp thu, phân bố và thải trừ của thuốc.

(1) Nghiên cứu đơn liều: Cần phải lấy một điểm trước khi dùng thuốc (mẫu trắng, thời điểm 0) và ít nhất 11 điểm khác sau khi sử dụng thuốc bao gồm nên có ít nhất 3 - 4 điểm lấy mẫu trước khi đạt tới đỉnh của đường cong nồng độ - thời gian (pha hấp thu), khoảng 3 điểm lấy mẫu xung quanh giá trị đỉnh và không ít hơn 4 - 6 điểm sau giá trị đỉnh (pha thải trừ). Tổng số điểm lấy mẫu của đường cong nồng độ - thời gian không ít hơn 12. Thời gian lấy mẫu nên kéo dài tới khoảng 3 đến 5 lần thời gian bán thải của dược chất hoặc khi nồng độ dược chất trong mẫu máu bằng khoảng 1/10 đến 1/20 giá trị nồng độ đỉnh. Đối với các thuốc có thời gian bán thải quá dài, có thể kết thúc lấy mẫu ở thời điểm sau khi uống thuốc 72 h.

(2) Nghiên cứu đa liều: Sau khi người tình nguyện đã sử dụng được một số liều trong tổng số liều cần phải sử dụng trong nghiên cứu (thường là từ liều thứ 3 - 5 trong tổng số 5 - 7 liều dùng), trong một khoảng thời gian bằng 7 lần thời gian bán thải của thuốc cần phải lấy 3 mẫu tại 3 thời điểm (dự đoán có nồng độ cực tiểu) liên tiếp, xác định nồng độ thuốc có trong mỗi mẫu để đảm bảo rằng nồng độ thuốc trong máu người tình nguyện đã đạt đến trạng thái ổn định. Nên lấy mẫu máu vào cùng một thời điểm (thường là buổi sáng) của những ngày khác nhau (phù hợp nhất là lấy mẫu ngay trước khi sử dụng thuốc liều kế tiếp) để có thể so sánh được và hạn chế những ảnh hưởng của thời gian tới dược động học. Sau khi nồng độ thuốc đạt đến trạng thái ổn định, tiến hành cho người tình nguyện sử dụng liều cuối trong tổng số liều dùng của một giai đoạn nghiên cứu và tiến hành lấy các mẫu máu của người tình nguyện trong khoảng thời gian dùng liều cuối theo các thời điểm xác định. Đường cong nồng độ thuốc trong máu theo thời gian của người tình nguyện ở trạng thái ổn định ($AUC^{ss}_{0-\tau}$) tương tự như đường cong nồng độ - thời gian khi sử dụng đơn liều (AUC_{0-t}) bao gồm các thời điểm ở pha hấp thu, các điểm xung quanh giá trị đỉnh của đường cong và các thời điểm ở pha thải trừ. Khoảng thời gian từ điểm 0 (sử dụng liều cuối) đến điểm lấy mẫu cuối cùng trong suốt khoảng liều ở trạng thái ổn định bằng τ chính là khoảng thời gian giữa các lần dùng thuốc.

Các mẫu máu (huyết tương, huyết thanh hay máu toàn phần) phải bảo quản đông lạnh ngay sau khi lấy để chờ phân tích. Khi không thể xác định được nồng độ thuốc trong huyết tương, có thể thực hiện trên một mẫu sinh học khác như nước tiểu, nhưng chất xác định được và phương pháp phân tích phải phù hợp đảm bảo kết quả xác định nồng độ thuốc trong các mẫu đúng, chính xác và tin cậy được.

Tiến hành nghiên cứu

Nghiên cứu đơn liều: Người tình nguyện nhịn ăn qua đêm (ít nhất là 10 h trước khi uống thuốc). Sáng hôm sau, mỗi người sẽ được cho uống một liều thuốc thử hoặc thuốc đối chứng với 240 ml nước ấm. Người tình nguyện không được uống nước trong vòng 1 h trước và sau khi uống thuốc, trừ lượng nước sử dụng khi uống thuốc. Đối với các nghiên cứu ảnh hưởng của thức ăn tới sinh khả dụng của thuốc hoặc nghiên cứu tương đương sinh học ở tình trạng no, sau khi nhịn ăn qua đêm, người tình nguyện ăn một bữa ăn tiêu chuẩn và uống thuốc với 240 ml nước ấm sau khi ăn 30 min. Bữa ăn tiêu chuẩn trước khi uống thuốc của người tình nguyện thường là bữa ăn giàu năng lượng; nhiều chất béo, tuân thủ theo đúng các quy định liên quan và phải được quy định cụ thể trong đề cương nghiên cứu. Nếu không có yêu cầu gì đặc biệt, người tình nguyện dùng bữa ăn tiêu chuẩn 4 h sau khi uống thuốc. Khẩu phần ăn được qui định giống nhau cho tất cả người tình nguyện và cho các giai đoạn của mỗi nghiên cứu. Tiến hành lấy mẫu máu tĩnh mạch theo thời điểm lấy mẫu đã thiết kế.

Nghiên cứu đa liều: Với các nghiên cứu có nhịp dùng thuốc là 24 h (dùng thuốc 1 lần/ngày), nên uống thuốc vào mỗi buổi sáng sau khi đã nhịn ăn ít nhất 10 h, sau đó không ăn gì trong vòng 2 h đến 4 h sau khi uống thuốc. Với các nghiên cứu có chế độ dùng thuốc 2 lần/ngày, liều thuốc đầu tiên nên cho người tình nguyện uống vào buổi sáng sau khi đã nhịn đói ít nhất 10 h, sau đó không ăn gì trong vòng 2 h đến 4 h; liều thứ 2 được uống trước hoặc sau bữa ăn 2 h và tiếp tục nhịn ăn trong vòng 2 h sau khi uống thuốc. Mỗi liều được uống với 240 ml nước ấm. Nói chung, người tình nguyện có thể uống nước sau khi uống thuốc 1 h đến 2 h. Khi thuốc đối chứng là chế phẩm qui ước, nên thử theo mức liều và cách dùng thông thường đã sử dụng trên lâm sàng, nhưng nên chọn mức liều tương đương với liều của thuốc thử dạng giải phóng có kiểm soát hoặc kéo dài.

Theo qui định, các mẫu sinh học (máu, huyết tương, huyết thanh) sau khi lấy sẽ được bảo quản đông lạnh ngay để chờ phân tích. Sau khi uống thuốc, người tình nguyện nên tránh các vận động phải gắng sức. Quá trình lấy các mẫu máu của người tình nguyện phải được thực hiện tại cơ sở y tế có đủ nhân viên y tế (bác sỹ, điều dưỡng); đủ điều kiện chăm sóc sức khỏe và xử lý các biến cố bất lợi, các tai biến y tế nếu xảy ra. Các biến cố bất lợi, các tác dụng phụ xảy ra cần phải xử trí và điều trị kịp thời. Trường hợp xảy ra biến cố bất lợi nghiêm trọng, cần phải ngừng ngay nghiên cứu và báo cáo các bên liên quan theo đúng quy định.

Phân tích dược động học

Lập các bảng và hình để biểu thị các dữ liệu nồng độ thuốc trong huyết tương vào những thời điểm lấy mẫu khác nhau của từng cá thể, giá trị trung bình và độ lệch chuẩn. Sau đó tính các thông số dược động học tương đối của mỗi cá thể, giá trị trung bình và độ lệch chuẩn cho mỗi thông số.

Nghiên cứu đơn liều: Những thông số dược động học chính cần phải xác định trong nghiên cứu tương đương sinh học với thiết kế nghiên cứu đơn liều bao gồm: Nồng độ đỉnh trong máu (C_{max}), diện tích dưới đường cong nồng độ - thời gian (AUC), thời gian bán thải của thuốc ($t_{1/2}$) và thời điểm đạt tới nồng độ đỉnh trong máu (T_{max}). Giá trị C_{max} và T_{max} biểu thị bằng số liệu thu được trực tiếp từ thí nghiệm và không phải tính toán. Giá trị AUC_{0-tn} (diện

tích dưới đường cong nồng độ - thời gian từ thời điểm 0 đến thời điểm t) được tính theo phương pháp hình thang, với tn là thời điểm lấy mẫu cuối cùng có thể định lượng được. Giá trị $AUC_{0-\infty}$ (diện tích dưới đường cong nồng độ - thời gian từ thời điểm 0 đến vô cùng) được tính toán theo công thức:

$$AUC_{0-\infty} = AUC_{0-tn} + C_{tn}/\lambda z$$

Trong đó: C_{tn} là nồng độ của thuốc tại thời điểm lấy mẫu cuối cùng có thể xác định được bằng phương pháp phân tích thuốc trong dịch sinh học được sử dụng trong nghiên cứu; λz là hằng số tốc độ thải trừ.

Giá trị $t_{1/2}$ có thể được tính bằng công thức:

$$T_{1/2} = 0{,}693/\lambda z$$

Trong đó: λz là hằng số tốc độ thải trừ được tính từ độ dốc của đoạn tuyến tính trên đường biểu diễn logarit nồng độ - thời gian.

Thông thường, một nghiên cứu tương đương sinh học có thời điểm lấy mẫu phù hợp thì tỷ số:

$$(AUC_{0-tn}/AUC_{0-\infty}) \times 100\ \% \geq 80\ \%.$$

Nghiên cứu đa liều: Sau khi uống đa liều (thông thường từ 5 – 7 liều) với khoảng cách thời gian giữa các liều dùng như nhau, thì thuốc có thể đạt tới trạng thái ổn định. Tiến hành lấy mẫu máu sau khi đạt đến trạng thái liều ổn định, phân tích xác định nồng độ thuốc trong các mẫu máu và tính giá trị các thông số dược động học cơ bản của thuốc trạng thái ổn định như nồng C_{max}, T_{max}, AUC^{ss}_{0-t} hay giá trị nồng độ trung bình ở trạng thái cân bằng (C_{av}), khoảng dao động nồng độ thuốc trong máu (DF)... Các giá trị C^{ss}_{max}, T^{ss}_{max}; AUC^{ss}_{0-t} ở trạng thái cân bằng được tính toán bằng phương pháp tương tự tương ứng như thử nghiệm đơn liều. Nồng độ thuốc trung bình ở trạng thái cân bằng (C_{av}) có thể được tính như sau:

$$C_{av} = (AUC^{ss}_{0-t})/\tau$$

Trong đó: AUC^{ss}_{0-t} là diện tích dưới đường cong nồng độ thuốc - thời gian từ thời điểm 0 đến thời điểm τ trong suốt khoảng liều ở trạng thái ổn định và τ là khoảng thời gian giữa các lần dùng thuốc.

Khoảng dao động của nồng độ thuốc trong máu có thể được tính theo biểu thức:

$$DF = 100\ \% \times (C^{ss}_{max} - C_{min})/C_{av}$$

Trong đó: C^{ss}_{max} là nồng độ đỉnh, thu được từ các số liệu thực, sau khi dùng liều cuối cùng ở trạng thái ổn định và C_{min} là nồng độ cực tiểu ở thời điểm cuối trong khoảng thời gian dùng liều cuối cùng ở trạng thái cân bằng. Nếu thuốc đối chứng cũng là thuốc giải phóng chậm hay thuốc tác dụng kéo dài, DF/τ của thuốc thử phải không lớn hơn 143 % giá trị của thuốc đối chứng.

Ngoài các thông số dược động học cơ bản trong nghiên cứu tương đương sinh học kể trên, tùy theo mục đích cũng như các mô hình nghiên cứu cụ thể còn có thể xác định thêm các thông số dược động học khác như giá trị $t_{1/2}$ hấp thu; thời gian lưu trú trung bình *(mean retention/residence time – MRT)*; diện tích dưới đường cong nồng độ tích lũy - thời gian *(area under the moment curve – AUMC)*...

Tính toán sinh khả dụng

Nghiên cứu đơn liều: Sinh khả dụng F được tính toán lần lượt bằng cách sử dụng AUC_{0-tn} và $AUC_{0-\infty}$ của mỗi cá thể, đồng thời tính giá trị trung bình và độ lệch chuẩn. Khi liều của thuốc thử (T) giống với liều của thuốc đối chứng (R):

$$F = (AUC_{0-tn})_T/(AUC_{0-tn})_R \times 100\ \%$$

$$F = (AUC_{0-\infty})_T/(AUC_{0-\infty})_R \times 100\ \%$$

Khi liều thuốc thử khác với liều thuốc đối chứng và chất được phân tích đặc trưng cho dược động học tuyến tính, chỉ số F có thể thay đổi phụ thuộc vào liều và được thể hiện dưới đây:

$$F = [(AUC_{0-tn})_T \times D_R/(AUC_{0-tn})_R \times D_T] \times 100\ \%$$

$$F = [(AUC_{0-\infty})_T \times D_R/(AUC_{0-\infty})_R \times D_T] \times 100\ \%$$

Trong đó: D_R và D_T là liều uống của thuốc đối chứng và thuốc thử.

Phân tích các chất chuyển hóa: Một vài thuốc là dạng tiền chất của thuốc không thể định lượng được trong máu vì dạng tiền chất của thuốc chuyển hóa rất nhanh trong cơ thể. Sinh khả dụng của những loại thuốc này có thể được đánh giá qua đáp ứng thích hợp của chất chuyển hóa có hoạt tính.

$$F = [(AUC_{0-tn})^m_T \times D_R / (AUC_{0-tn})^m_R \times D_T] \times 100\ \%$$

$$F = [(AUC_{0-\infty})^m_T \times D_R / (AUC_{0-\infty})^m_R \times D_T] \times 100\ \%$$

Trong đó: m là ký hiệu cho chất chuyển hóa.

Đánh giá kết quả chủ yếu dựa vào số liệu AUC_{0-tn} và $AUC_{0-\infty}$ được dùng như một số liệu để tham khảo.

Nghiên cứu đa liều: Sinh khả dụng F được tính toán dựa trên số liệu AUC^{ss}_{0-t} của mỗi cá thể. Khi liều của thuốc thử (T) giống với liều của thuốc đối chứng (R), sinh khả dụng ở trạng thái ổn định được xác định bằng công thức:

$$F = (AUC^{ss}_{0-t})_T/(AUC^{ss}_{0-t})_R \times 100\ \%$$

Trong đó: AUC^{ss}_{0-t} là diện tích dưới đường cong nồng độ thuốc - thời gian từ thời điểm 0 đến thời điểm τ trong suốt khoảng liều ở trạng thái ổn định.

Đánh giá tương đương sinh học (phân tích thống kê các số liệu dược động học): Phân tích thống kê và đánh giá tương đương sinh học nên tập trung vào các thông số dược động học chính (AUC, C_{max} và T_{max}). Các giá trị C_{max} và AUC phải chuyển đổi sang giá trị thang logarit. Phân tích phương sai (ANOVA) xác định ảnh hưởng của các yếu tố như trình tự/phác đồ sử dụng thuốc, cá thể, thuốc, giai đoạn thử thuốc... tới kết quả của nghiên cứu tương đương sinh học bằng phương pháp phân tích thống kê phù hợp tương ứng với mô hình nghiên cứu đã sử dụng (nghiên cứu song song, chéo 2 × 2; chéo 3 × 3 hay nghiên cứu lặp lại...). Từ kết quả phân tích phương sai, xác định khoảng tin cậy 90 % cho tỷ lệ $\ln C_{max}$ và khoảng tin cậy 90 % cho tỷ lệ lnAUC giữa thuốc thử và thuốc đối chứng tương ứng

của mỗi người tình nguyện theo phương pháp thống kê phù hợp (two one-sided test với độ tin cậy $\alpha = 0,1$). So sánh giá trị T_{max} của thuốc thử và thuốc đối chứng (số liệu không chuyển sang thang logarit) bằng một trong các phương pháp thống kê phi tham số *Wilcoxon signed rank test, Friedman test, Kruskal-Wallis test, ANCOVA* hoặc một phương pháp thống kê phi tham số khác phù hợp với mô hình nghiên cứu đã sử dụng.

Nếu giới hạn khoảng tin cậy 90% của các tỷ số C_{max}, AUC_{0-tn}, $AUC_{0-\infty}$ (nghiên cứu đơn liều) hoặc C^{ss}_{max}, AUC^{ss}_{0-t} (nghiên cứu đa liều) tương ứng giữa thuốc thử và thuốc đối chứng nằm trong khoảng 80,0 % đến 125,0 % và giá trị T_{max} của thuốc thử và thuốc đối chứng khác nhau không có ý nghĩa thống kê thì thuốc thử tương đương sinh học *in vivo* so với thuốc đối chứng.

Chấp nhận hai thuốc có giới hạn khoảng tin cậy 90 % tương ứng của các tỷ số C_{max} và AUC nằm trong khoảng 80,0 % đến 125,0 % và T_{max} khác nhau có ý nghĩa thống kê tương đương sinh học *in vivo* nếu sự khác nhau về tốc độ hấp thu (giá trị T_{max}) của thuốc thử so với thuốc đối chứng là có chủ đích và chủ đích này được trình bày trên nhãn của sản phẩm theo đúng các quy định liên quan hoặc cung cấp thêm được bằng chứng lâm sàng phù hợp cho thấy sự khác nhau về tốc độ hấp thu của thuốc thử không ảnh hưởng đến an toàn và hiệu quả điều trị của thuốc trên lâm sàng.

Đối với một số thuốc/dược chất có khoảng điều trị hẹp, khoảng chấp nhận đối với khoảng tin cậy 90 % của tỷ số C_{max} và/hoặc AUC có thể phải thu nhỏ hơn (chỉ từ 90 % đến 110 %) so với khoảng chấp nhận thông thường từ 80 % đến 125 %. Cơ quan quản lý sẽ có quy định cụ thể trong trường hợp này. Ngoài ra, đối với các thuốc/dược chất không thuộc nhóm có khoảng điều trị hẹp, có mức độ dao động các thông số dược động học trên đối tượng sử dụng lớn, có thể xem xét mở rộng khoảng chấp nhận đối với khoảng tin cậy 90 % của tỷ số C_{max} rộng hơn so với khoảng chấp nhận thông thường 80 % - 125 %, có thể mở rộng tới 75 % - 133 % hoặc 70 % - 143 %. Cơ quan quản lý sẽ xem xét từng trường hợp và quy định cụ thể cho các trường hợp thay đổi khoảng giới hạn chấp nhận đối với khoảng tin cậy 90 % của tỷ số C_{max}.

Đối với nghiên cứu sinh khả dụng/tương đương sinh học của một thuốc thử dạng bào chế tác dụng kéo dài (phóng thích hoạt chất kéo dài) so với một thuốc đối chứng dạng bào chế quy ước, mức độ hấp thu của 2 thuốc trong nghiên cứu là tương đương sinh học với nhau nếu giá trị AUC đáp ứng được những yêu cầu của tương đương sinh học (khoảng tin cậy 90 % của tỷ số lnAUC nằm trong giới hạn từ 80,0 % đến 125,0 %) và thuốc thử có khả năng giải phóng dược chất có kiểm soát hoặc kéo dài so với thuốc đối chứng (giá trị C_{max} giảm và T_{max} kéo dài hơn thuốc đối chứng; giá trị DF/τ của thuốc thử phải lớn hơn 143 % giá trị của thuốc đối chứng).

PHỤ LỤC 15

15.1 XÁC ĐỊNH ĐỘ SỐNG CỦA VẮC XIN BCG

Kiểm tra độ sống

Các vật liệu

Dung dịch Sauton loãng 1/4 được sử dụng để pha loãng vắc xin BCG.

Môi trường nuôi cấy: Lowenstein - Jensen.

Vắc xin BCG mẫu thử và mẫu chuẩn.

Hoàn nguyên và pha loãng vắc xin

Vắc xin BCG được xác định độ sống theo phương pháp sau: Hoàn nguyên ít nhất 5 mg vắc xin BCG vào 5 ml dung dịch Sauton loãng 1/4 vô khuẩn để tạo hỗn dịch cơ bản chứa 1 mg vắc xin BCG/1 ml. Sau khi hoàn nguyên, hỗn dịch này phải được giữ ở 4 °C trong thời gian tối thiểu 15 min, sau đó pha theo công thức sau:

1) 1 ml hỗn dịch cơ bản + 99 ml dung dịch Sauton loãng 1/4 = 1/100 (I).

2) 1 ml hỗn dịch pha loãng I + 99 ml dung dịch Sauton loãng 1/4 = 1/10 000 (II).

3) 4 ml hỗn dịch pha loãng II + 4 ml dung dịch Sauton loãng 1/4 = 1/20 000 (III).

4) 2 ml hỗn dịch pha loãng II + 6 ml dung dịch Sauton loãng 1/4 = 1/40 000 (IV).

5) 2 ml hỗn dịch pha loãng II + 14 ml dung dịch Sauton loãng 1/4 = 1/80 000 (V).

6) 2 ml hỗn dịch pha loãng II + 30 ml dung dịch Sauton loãng 1/4 = /160 000 (VI).

Nuôi cấy

Lắc đều hỗn dịch của mỗi độ pha trong 20 s, cấy vào môi trường Lowenstein - Jensen 0,1 ml/ống theo trình tự sau:

2 độ pha đầu: Mỗi độ pha loãng cấy lên 5 ống môi trường.

Độ pha thứ 3 cấy lên 10 ống môi trường.

Đối với vắc xin tươi (trước khi đông khô): Cấy lên các ống môi trường Lowenstein - Jensen huyền dịch vắc xin BCG từ 3 độ pha loãng cuối IV, V, VI.

Đối với vắc xin BCG đông khô giữ ở 4 °C: Cấy huyền dịch vắc xin BCG từ 3 độ pha loãng III, IV, V.

Đối với vắc xin BCG đông khô ủ ở 37 °C: Cấy huyền dịch vắc xin BCG từ 3 độ pha loãng II, III, IV.

Các ống môi trường đã được cấy huyền dịch vắc xin BCG ở các độ pha khác nhau như trên sẽ được láng đều, để khô bề mặt và ủ ở 37 °C trong 28 ngày.

Đếm khuẩn lạc

Các ống môi trường được cấy huyền dịch BCG và ủ ở 37 °C sẽ được đưa ra đếm số khuẩn lạc mọc trên từng ống sau 21 ngày và 28 ngày.

Bảng 15.1

Điều kiện xác định	Công thức tính
1. $2\omega \geq \overline{X}_1 + \overline{X}_2 + 2\overline{X}_3$	1. $\frac{d_1}{v} \times \frac{1}{2} \times (\overline{X}_1 + \overline{X}_2 + 2\overline{X}_3)$
2. $\overline{X}_1 + \overline{X}_2 + 2\overline{X}_3 \geq 2\omega \geq \overline{X}_2 + 2\overline{X}_3$	2. $\frac{d_2}{v} \times \frac{\omega.\overline{X}_1}{2\omega + \overline{X}_1 - (\overline{X}_2 + 2\overline{X}_3)}$
3. $\overline{X}_2 + 2\overline{X}_3 \geq 2\omega \geq 2\overline{X}_3$	3. $\frac{d_3}{v} \times \frac{\omega.\overline{X}_1}{2\omega + \overline{X}_2 - 2\overline{X}_3)}$
4. $2\overline{X}_3 \geq 2\omega$	4. $\frac{d_3}{v} \times \overline{X}_3$

Trong đó:

$\overline{X}_1$ là số khuẩn lạc trung bình mọc trên các ống môi trường Lowenstein - Jensen khi cấy huyền dịch BCG ở độ pha thứ 1;

$\overline{X}_2$ là số khuẩn lạc trung bình mọc trên các ống môi trường Lowenstein - Jensen khi cấy huyền dịch BCG ở độ pha thứ 2;

$\overline{X}_3$ là số khuẩn lạc trung bình mọc trên các ống môi trường Lowenstein - Jensen khi cấy huyền dịch BCG ở độ pha thứ 3;

d là độ pha loãng huyền dịch vắc xin BCG;

v là thể tích hỗn dịch cấy trên một ống môi trường Lowenstein - Jensen;

Hằng số ω tương đương với số lượng tối ưu khuẩn lạc có thể đếm được trên một ống môi trường Lowenstein-Jensen.

Tính kết quả

Số đơn vị sống trong 1 ml vắc xin được tính theo 1 trong 4 công thức ở Bảng 15.1:

Hoặc kết quả độ sống của mỗi loạt vắc xin BCG có thể được tính theo chương trình phần mềm Whoprogram/BCG/Biofarma.

Tại nhà sản xuất, tiến hành kiểm tra độ sống ở tất cả các loạt vắc xin thành phẩm (bao gồm cả độ sống trước đông khô, sau đông khô và sau khi ủ ổn định nhiệt).

Những loạt vắc xin BCG có độ sống không đảm bảo với giới hạn cho phép ở lần kiểm tra thứ nhất phải nhắc lại thử nghiệm:

Nếu thử nghiệm độ sống lần 1 không đạt yêu cầu nhưng thử nghiệm có giá trị (valid test), phải nhắc lại thử nghiệm với số lượng mẫu và số ống môi trường Lowenstein-Jensen gấp đôi so với lần 1.

Nếu thử nghiệm độ sống lần 1 không đạt yêu cầu nhưng thử nghiệm không có giá trị (invalid test) thì chỉ cần nhắc lại thử nghiệm với số lượng mẫu và số ống môi trường bằng lần 1.

Nếu lần thử nghiệm nhắc lại, độ sống vẫn không đạt thì phải hủy bỏ loạt vắc xin BCG đó.

Kiểm tra độ sống của vắc xin BCG phải tiến hành song song với vắc xin BCG mẫu chuẩn để kiểm tra chất lượng môi trường dùng cho thử nghiệm độ sống. Độ sống của vắc xin BCG mẫu chuẩn trong mỗi thử nghiệm phải ổn định và nằm trong giới hạn giá trị trung bình ± 2SD.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Đối với vắc xin BCG phòng bệnh lao, giới hạn độ sống cho phép là từ 1 triệu đến 6 triệu đơn vị sống trong 1 mg vắc xin (1×10^6 ĐVS/mg đến 6×10^6 ĐVS/mg vắc xin BCG).

Kiểm tra tính ổn định nhiệt

Số đơn vị sống của vắc xin BCG sau khi ủ ở 37 °C trong 28 ngày phải đạt ít nhất là 20 % so với mẫu ủ ở 4 °C trong 28 ngày.

Các vật liệu

Dung dịch Sauton loãng 1/4 được sử dụng để pha loãng vắc xin BCG.

Môi trường nuôi cấy: Lowenstein-Jensen.

Vắc xin BCG mẫu thử và mẫu chuẩn.

Trước khi kiểm tra tính ổn định nhiệt, vắc xin BCG đông khô mẫu thử phải được ủ ở các nhiệt độ khác nhau trong 28 ngày như dưới đây:

Dạng 1 mg/ống: Ủ 10 ống ở 4 °C trong 28 ngày và 10 ống ở 37 °C trong 28 ngày.

Dạng 0,5 mg/ống: Ủ 20 ống ở 4 °C trong 28 ngày và 20 ống ở 37 °C trong 28 ngày.

Tiến hành

Kiểm tra tính ổn định nhiệt của vắc xin BCG bằng cách đếm độ sống của loạt vắc xin này sau khi ủ ở 4 °C và 37 °C trong 28 ngày. Quy trình đếm độ sống được thực hiện như ở phần Kiểm tra độ sống. Tính tỷ lệ % số đơn vị sống BCG mọc ở 37 °C so với ở 4 °C, theo công thức sau:

$$\text{Tỷ lệ \% ổn định nhiệt} = \frac{A}{B} \times 100\ (\%)$$

Trong đó:

A là số ĐVS/mg vắc xin BCG ở 37 °C trong 28 ngày;

B là số ĐVS/mg vắc xin BCG ở 4 °C trong 28 ngày.

ĐVS là đơn vị sống.

Những loạt vắc xin BCG có tỷ lệ % ổn định nhiệt không đạt yêu cầu ở lần kiểm tra thứ nhất phải nhắc lại thử nghiệm theo yêu cầu như sau:

Nếu thử nghiệm có tỷ lệ % ổn định nhiệt lần 1 không đạt yêu cầu nhưng thử nghiệm có giá trị, phải nhắc lại thử nghiệm với số lượng mẫu và số ống môi trường Lowenstein-Jensen gấp đôi so với lần 1.

Nếu thử nghiệm có tỷ lệ % ổn định nhiệt lần 1 không đạt yêu cầu nhưng thử nghiệm không có giá trị thì chỉ cần nhắc lại thử nghiệm với số lượng mẫu và số ống môi trường bằng lần 1.

Nếu lần thử nghiệm nhắc lại, tỷ lệ % ổn định nhiệt vẫn không đạt thì phải hủy bỏ loạt vắc xin BCG đó.

Kiểm tra tỷ lệ % ổn định nhiệt của vắc xin BCG phải tiến hành song song với vắc xin BCG mẫu chuẩn để kiểm tra chất lượng môi trường dùng cho thử nghiệm độ sống. Độ sống của vắc xin BCG mẫu chuẩn trong mỗi thử nghiệm phải ổn định và nằm trong giới hạn giá trị trung bình ± 2SD.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Tỷ lệ % số đơn vị sống BCG mọc ở 37 °C so với ở 4 °C phải không được thấp hơn 20 %.

15.2 XÁC ĐỊNH ĐỘ CHÂN KHÔNG CỦA VẮC XIN BCG

Vắc xin BCG được đông khô và hàn kín trong điều kiện chân không (0,001 mmHg) và phải được kiểm tra độ chân không bằng thiết bị Tesla vacuum.

Kiểm tra độ chân không trong các ống vắc xin BCG đông khô không sớm hơn 2 tháng sau khi hàn ống. Khi kiểm tra chân không, được phép dùng những ống vắc xin phát ra ánh sáng màu tím nhạt đến trắng xanh và loại bỏ những ống vắc xin không phát ra ánh sáng hoặc phát ra ánh sáng màu đỏ hình tên lửa. Trước khi phân phát, vắc xin phải được kiểm tra lại về độ chân không (do đơn vị sản xuất kiểm tra). Nếu phát hiện thấy quá 5 % số ống không còn chân không thì lô vắc xin này phải lưu lại thêm 1 tháng nữa, sau đó kiểm tra chân không lại. Nếu vẫn có hơn 1 % số ống không đạt chân không thì lô vắc xin đó phải bỏ đi. Những số liệu kiểm tra này phải ghi vào hồ sơ của lô vắc xin.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Loạt vắc xin BCG đông khô được coi là đạt độ chân không khi có không ít hơn 95 % tổng số ống đạt tiêu chuẩn về độ chân không.

15.3 XÁC ĐỊNH ĐỘ PHÂN TÁN CỦA VẮC XIN BCG

Nguyên lý

Vắc xin BCG đông khô sau khi được hoàn nguyên với nước pha thuốc tiêm để kiểm tra độ phân tán của vắc xin này.

Nếu vắc xin có độ phân tán kém, tạo cụm nhiều sẽ có nguy cơ gây sưng hạch hoặc sưng hạch mủ cho trẻ được tiêm vắc xin.

Tiến hành

Vắc xin BCG đông khô được hoàn nguyên trong nước muối sinh lý (pha từ nước để pha thuốc tiêm) để có đậm độ 1 mg/ml.

Sử dụng nước muối sinh lý dùng để hoàn nguyên vắc xin BCG làm dung dịch mẫu trắng để chuẩn máy đo.

Huyền dịch vắc xin được lắc kỹ trước khi đo mật độ quang (OD).

Đo mật độ quang của hỗn dịch vắc xin ở 2 bước sóng: 434 nm và 630 nm

Tính kết quả

Sau khi đo được OD của huyền dịch vắc xin BCG ở 2 bước sóng nêu trên, tính kết quả theo công thức:

$$\text{Độ phân tán} = \frac{\lg OD_1 - \lg OD_2}{\lg \lambda_2 - \lg \lambda_1}$$

Trong đó:

OD_1 là mật độ quang của hỗn dịch vi khuẩn đo được ở bước sóng 434 nm (lọc màu xanh lam);

OD_2 là mật độ quang của hỗn dịch vi khuẩn đo được ở bước sóng 630 nm (lọc màu đỏ).

Ở công thức này mẫu số ($\lg\lambda_2 - \lg\lambda_1$) luôn là một hằng số và bằng 0,1618.

Nếu loạt vắc xin BCG đông khô không đạt yêu cầu thì phải nhắc lại thử nghiệm theo yêu cầu như sau:

Nếu thử nghiệm lần 1 có giá trị (valid test) thì phải nhắc lại thử nghiệm với số lượng mẫu thử nghiệm gấp đôi so với thử nghiệm lần 1.

Nếu thử nghiệm lần 1 không có giá trị (invalid test) thì chỉ cần nhắc lại thử nghiệm với số lượng mẫu thử nghiệm bằng thử nghiệm lần 1.

Kết quả của lần thử nghiệm nhắc lại nếu không đạt yêu cầu thì loạt vắc xin BCG đông khô đó coi như không đạt yêu cầu về độ phân tán và phải hủy bỏ; nếu đạt yêu cầu thì loạt vắc xin BCG đông khô đó coi như đạt yêu cầu về độ phân tán.

Tiêu chuẩn chấp thuận: Độ phân tán của vắc xin BCG cho phép là ≥ 0,9.

15.4 XÁC ĐỊNH TÍNH AN TOÀN VẮC XIN DTwP HẤP PHỤ

An toàn đặc hiệu

Tính an toàn đặc hiệu của vắc xin bạch hầu - uốn ván - ho gà toàn tế bào (DTwP) được kiểm tra trên mẫu bán thành phẩm cuối cùng hay vắc xin thành phẩm khi cần thiết và được tiến hành như sau:

An toàn đặc hiệu đối với thành phần bạch hầu và uốn ván

Chọn 5 chuột lang khoẻ mạnh, cùng giới (nếu khác giới phải nhốt riêng lồng), có khối lượng 250 g đến 350 g, chưa sử dụng vào bất cứ thử nghiệm nào trước đó; tiêm dưới da cho mỗi chuột lang ít nhất 5 liều đơn vắc xin cho người (liều vắc xin như ghi trên nhãn). Theo dõi chuột hàng ngày và cân khối lượng chuột hàng tuần trong 3 tuần (đối với thành phần uốn ván) và 6 tuần (đối với thành phần bạch hầu).

Nếu có chuột chết phải mổ để kiểm tra phủ tạng về dấu hiệu nhiễm độc bạch hầu (tuyến thượng thận đỏ).

Nếu có hơn một chuột lang chết trong thử nghiệm lần 1, phải nhắc lại thử nghiệm; nếu lần thử nghiệm nhắc lại không có chuột nào có biểu hiện nhiễm độc do độc tố bạch hầu hay uốn ván và có ít nhất 2/3 số chuột thử nghiệm sống sót sau khoảng thời gian theo dõi như quy định (3 tuần đối với vắc xin uốn ván và 6 tuần đối với vắc xin bạch hầu) thì loạt vắc xin DTwP đó đạt yêu cầu về an toàn đặc hiệu đối với thành phần bạch hầu và uốn ván.

Nếu có hơn một chuột lang bị chết vì những nguyên nhân không đặc hiệu và thử nghiệm không có giá trị (invalid test), phải nhắc lại thử nghiệm với số lượng động vật thí nghiệm và mẫu thử bằng lần 1; nếu vẫn có hơn một chuột lang chết ở lần thử nghiệm thứ 2 thì loạt vắc xin không đạt về an toàn đặc hiệu đối với thành phần bạch hầu và uốn ván, phải huỷ bỏ.

Nếu thử nghiệm lần 1 không đạt yêu cầu nhưng thử nghiệm có giá trị (valid test), phải nhắc lại thử nghiệm với số lượng mẫu thử và số lượng chuột lang gấp đôi. Nếu thử nghiệm nhắc lại vẫn có quá 1/3 số chuột chết do bất kỳ lý do nào thì loạt vắc xin DTwP này sẽ phải huỷ bỏ.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Vắc xin đạt yêu cầu nếu không có chuột lang nào có dấu hiệu liệt do uốn ván hoặc triệu chứng nhiễm độc bạch hầu và ít nhất 80 % chuột sống sót, khoẻ mạnh và lên cân trong thời gian 6 tuần (đối với thành phần bạch hầu) hoặc 3 tuần (đối với thành phần uốn ván).

An toàn đặc hiệu đối với thành phần ho gà toàn tế bào (wP)

Dùng 20 chuột nhắt trắng có khối lượng 14 g đến 16 g, cùng giới (nếu có cả 2 giới, cần phân chia đều trong các nhóm) cho mỗi mẫu vắc xin thử và cho nhóm chứng.

Chuột được ăn uống đầy đủ trước khi tiêm 1 h và trong suốt thời gian thí nghiệm. Tổng khối lượng của từng nhóm chuột được xác định ngay trước lúc tiêm. Mỗi chuột được tiêm vào ổ bụng 0,5 ml dung dịch chứa tối thiểu nửa liều đơn vắc xin cho người. Nhóm chứng được tiêm 0,5 ml nước muối sinh lý (tốt nhất chứa cùng hàm lượng chất bảo quản như có trong dung dịch tiêm cho nhóm thí nghiệm). Tổng khối lượng các nhóm chuột được xác định lại vào 72 h và 7 ngày sau tiêm.

Tiêu chuẩn chấp thuận:

Loạt vắc xin đạt yêu cầu nếu đạt cả 3 tiêu chuẩn sau:

Sau 72 h tổng khối lượng chuột của mỗi nhóm không ít hơn trước tiêm.
Sau 7 ngày khối lượng trung bình mỗi chuột không ít hơn 60 % so với nhóm chứng.
Chuột chết không quá 5 %.
Nếu thử nghiệm lần 1 không đạt một trong 3 tiêu chuẩn nêu trên phải nhắc lại thử nghiệm theo yêu cầu như sau:
Nếu thử nghiệm lần 1 không có giá trị (invalid test): Nhắc lại thử nghiệm với số lượng chuột và số lượng mẫu bằng lần 1.
Nếu thử nghiệm lần 1 có giá trị (valid test): Phải nhắc lại thử nghiệm với số lượng chuột nhắt trắng và số lượng mẫu gấp đôi so với lần 1.
Kết quả của lần kiểm tra nhắc lại, nếu đạt yêu cầu 3 tiêu chuẩn nêu trên và giá trị trung bình của 2 lần thử nghiệm (về % tăng khối lượng chuột của nhóm vắc xin thử nghiệm so với nhóm chứng sau 7 ngày theo dõi) đạt yêu cầu thì loạt vắc xin đó mới được coi là đạt yêu cầu về an toàn đặc hiệu ho gà. Nếu ở lần kiểm tra nhắc lại không đạt yêu cầu thì loạt vắc xin đó không đạt yêu cầu an toàn đặc hiệu thành phần ho gà và phải bị huỷ bỏ.

An toàn không đặc hiệu (Độc tính bất thường)
Thử nghiệm được tiến hành trên chuột nhắt trắng và chuột lang khoẻ mạnh không tiêm bất cứ gì trước khi thử nghiệm.
Tiêm vào ổ bụng cho 5 chuột nhắt trắng có khối lượng 17 g/con đến 22 g/con, mỗi con một liều tiêm cho người; 2 chuột lang có khối lượng 250 g/con đến 350 g/con, mỗi con một liều tiêm cho người nhưng không quá 1 ml/con.
Theo dõi tình trạng sức khoẻ và cân chuột hàng ngày.
Tiêu chuẩn chấp thuận:
Vắc xin được coi là không có độc tính bất thường nếu tất cả các động vật thí nghiệm sống khoẻ mạnh và lên cân trong thời gian ít nhất 7 ngày và không có dấu hiệu nhiễm độc.
Nếu thử nghiệm lần 1 không đạt yêu cầu nêu trên, phải nhắc lại thử nghiệm. Thử nghiệm nhắc lại nếu đạt yêu cầu thì loạt vắc xin đó được coi là đạt an toàn không đặc hiệu; nếu không đạt yêu cầu thì loạt vắc xin đó bị coi là không đạt an toàn không đặc hiệu và phải hủy bỏ.
Đối với thử nghiệm nhắc lại:
Nếu thử nghiệm lần 1 không đạt yêu cầu nhưng thử nghiệm có giá trị: phải nhắc lại thử nghiệm với số lượng mẫu và số lượng chuột gấp đôi lần 1.
Nếu thử nghiệm lần 1 không đạt yêu cầu nhưng thử nghiệm không có giá trị: chỉ cần nhắc lại thử nghiệm với số lượng mẫu và số lượng chuột bằng lần 1.

15.5 XÁC ĐỊNH ĐẬM ĐỘ VI KHUẨN HO GÀ

Nguyên tắc
Thực tế một hỗn dịch vi khuẩn ho gà có đậm độ 10 tỷ vi khuẩn/ml tương ứng với 10 IOU (đơn vị độ đục quốc tế) khi nhìn bằng mắt thường.
Có thể sử dụng bộ so độ đục chuẩn quốc tế của WHO để so bằng mắt thường hoặc chuẩn trên máy quang phổ kế khi xác định đậm độ của hỗn dịch *B. pertussis* 18323 trong thử nghiệm công hiệu vắc xin ho gà.

Cách tiến hành
Trong quá trình sản xuất vắc xin ho gà, mỗi lần gặt sinh khối cần xác định đậm độ vi khuẩn của nước cốt ho gà. Độ đục nước cốt ho gà và nước cốt ho gà cô đặc được xác định bằng cách so sánh với ống mẫu chuẩn quốc tế hoặc quốc gia và quan sát bằng mắt thường hoặc đo trên máy quang phổ kế (không được muộn hơn hai tuần sau khi gặt và trước khi huyền dịch vi khuẩn được đưa vào bất kỳ quy trình pha chế nào tiếp theo).
Pha loãng nước cốt trong nước muối sinh lý cho đến khi soi bằng mắt thường thấy tương đương với ống chuẩn 10 IOU.
Tính độ đục của mẫu thử bằng cách nhân với số lần pha loãng.
Có thể đo độ đục của huyền dịch vi khuẩn ho gà trên máy đo quang phổ ở bước sóng 560 nm. Đậm độ nước cốt ho gà được sử dụng làm cơ sở để tính toán khi pha chế vắc xin bán thành phẩm cuối cùng.
Thành phần ho gà trong vắc xin DTP hỗn hợp không vượt quá 20 đơn vị độ đục quốc tế (IOU) trong một liều đơn vắc xin cho người. Tỷ lệ thành phần các chủng *B. Pertussis* 18323 không được thay đổi khi hỗn hợp vắc xin, phải đăng ký rõ trong hồ sơ và được sự chấp thuận của cơ quan Kiểm định quốc gia.

15.6 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG TWEEN 20 TRONG VẮC XIN VÀ SINH PHẨM

Nguyên lý
Dựa vào phản ứng của polyethoxylat trong thành phần của *Tween 20* với *amoni cobaltothiocyanat* tạo thành hợp chất màu xanh lơ tan trong *dicloromethan*.

Tiến hành
Mẫu thử được điều chỉnh bằng *nước cất* để có nồng độ protein khoảng 100 µg/ml. Hút 1 ml mẫu thử vào ống nghiệm, thêm 5 ml *ethanol 95 % (TT)*, ly tâm 3500 r/min trong 10 min ở 20 °C. Chuyển phần nước sang ống nghiệm khác, rửa tủa bằng 1 ml *ethanol 95 % (TT)*, chuyển nốt nước rửa tủa vào ống nghiệm. Đun cách thủy phần nước thu được ở 80 °C cho đến khi còn lại khoảng 0,5 ml, thêm 1 ml *nước cất* vào ống nghiệm.
Hút dung dịch Tween 20 chuẩn 1 mg/ml vào các ống nghiệm lần lượt theo thể tích 10 µl; 25 µl; 50 µl; 75 µl; 100 µl, thêm *nước cất* vừa đủ 1 ml.
Mẫu trắng là 1 ml *nước cất*.
Thêm 2 ml *dicloromethan (TT)* vào mỗi ống nghiệm đựng mẫu trắng, mẫu chuẩn, mẫu thử. Thêm tiếp 3 ml *amoni cobaltothiocyanat*, lắc kỹ, để yên ở nhiệt độ phòng trong 90 min. Hút bỏ phần nước nổi bằng máy hút chân không, đo mật độ quang (Phụ lục 4.1) của lớp dicloromethan màu xanh lơ phía dưới ở bước sóng 620 nm.

Dựng đường chuẩn, từ đó tính ra hàm lượng Tween 20 trong mẫu thử.
Đơn vị tính: µg/100 µg protein.
Cách pha các dung dịch:
Dung dịch amoni cobaltothiocyanat: Hòa tan 6,0 g *cobalt nitrat (TT)* và 40 g *amoni thiocyanat (TT)* trong *nước cất*, thêm *nước cất* vừa đủ 200 ml, lọc qua giấy lọc.
Dung dịch Tween 20 chuẩn 10 mg/ml: Cân 1 g *Tween 20* vào bình định mức 100 ml, thêm *nước cất* vừa đủ, lắc đều. Pha loãng bằng *nước cất* 10 lần trước khi dùng.

Tiêu chuẩn chấp thuận
Tùy từng loại vắc xin và sinh phẩm.
Hàm lượng Tween 20 có trong bán thành phẩm viêm gan B không lớn hơn 50 µg/100 µg protein.

15.7 KIỂM TRA VÔ TRÙNG VẮC XIN/SINH PHẨM

Việc kiểm tra vô trùng vắc xin/sinh phẩm được thực hiện trong điều kiện vô trùng. Kiểm soát môi trường thử nghiệm và sử dụng mẫu đối chứng âm tính thích hợp để kiểm tra và đảm bảo điều kiện vô trùng.

Môi trường nuôi cấy

Chuẩn bị môi trường nuôi cấy
Hai môi trường sử dụng để kiểm tra vô trùng vắc xin/sinh phẩm là môi trường thioglycolat lỏng (Fluid Thioglycollate Medium: FTM) và casein đậu tương (Soybean-casein digest medium: SCDM). FTM dự định dùng để phát hiện vi khuẩn kỵ khí nhưng cũng có thể xác định được vi khuẩn hiếu khí. SCDM dùng để phát hiện vi khuẩn hiếu khí và nấm. Khi vắc xin/sinh phẩm có chứa chất bảo quản là merthiolat, có thể dùng FTM thay thế cho SCDM trong phương pháp cấy trực tiếp khi môi trường này đạt yêu cầu trong thử nghiệm kiểm tra tính tăng sinh (Growth promotion test). Các môi trường tương đương khác cũng có thể được sử dụng nếu chúng đạt được yêu cầu về tính tăng sinh và được cơ quan Kiểm định Quốc gia chấp thuận.
Công thức và cách pha hai môi trường trên như sau:
Môi trường thioglycolat lỏng:

L - Cystin	0,50 g
Natri clorid	2,50 g
Glucose monohydrat ($C_6H_{12}O_6.H_2O$)	5,50 g
Thạch bột có độ ẩm nhỏ hơn 15 %	0,75 g
Cao nấm men (tan trong nước)	5,00 g
Casein thuỷ phân bằng pancreatin (men tụy)	15,00 g
Nước	1000 mL
Natri thioglycolat	0,50 g
hoặc acid thioglycolic	0,3 mL
Dung dịch natri resazurin (1 g/L) mới pha	1 mL

Trộn lần lượt sáu thành phần đầu như thứ tự ở trên trong nước nóng cho đến khi tan hoàn toàn. Cho thêm natri thioglycolat (hoặc acid thioglycolic), chuyển sang một bình chứa thích hợp và thêm nước vừa đủ, làm tan hoàn toàn trong một nồi cách thủy. Chỉnh pH của dung dịch (nếu cần) bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 N (TT)* sao cho pH sau tiệt trùng (pH cuối cùng) là 7,0 đến 7,2. Nếu cần thiết phải lọc, đun nóng dung dịch (tránh đun sôi) rồi lọc qua giấy lọc ướt khi dung dịch còn đang nóng. Thêm dung dịch natri resazurin, trộn đều. Chia môi trường vào các chai/ống chứa thích hợp. Hấp tiệt trùng môi trường trong lò đã được thẩm định ở 121 °C trong 18 min đến 20 min. Vặn chặt nút các chai/ống môi trường và bảo quản ở nhiệt độ 20 °C đến 30 °C.
Nếu quá 1/3 trên của chai/ống môi trường chuyển thành màu hồng thì không nên sử dụng nữa. Có thể sử dụng lại một lần nữa bằng cách đun nóng môi trường trong bể ổn nhiệt đến khi màu hồng biến mất rồi làm lạnh nhanh. Không dùng môi trường quá thời hạn sử dụng đã được thẩm định.
Môi trường casein đậu tương lỏng:

Casein thủy phân bởi pancreatin	17,0 g
Bột đậu tương thuỷ phân bởi papain	3,0 g
Natri clorid	5,0 g
Dikali hydrophosphat	2,5 g
Glucose monohydrat	2,5 g
Nước tinh khiết	1000 ml

Hòa tan tất cả các thành phần vào nước, đun nóng nhẹ cho tan hoàn toàn, để nguội đến nhiệt độ phòng. Chỉnh pH của dung dịch (nếu cần) bằng *dung dịch natri hydroxyd 1 N (TT)* hoặc *dung dịch acid hydrocloric 1 N (TT)* sao cho pH sau tiệt trùng (pH cuối cùng) là 7,1 đến 7,5. Lọc trong nếu cần. Phân chia môi trường vào các chai/ống. Hấp tiệt trùng môi trường trong lò đã được thẩm định ở 121 °C trong 18 min đến 20 min. Bảo quản môi trường ở nhiệt độ phòng (20 °C đến 30 °C).
Không dùng môi trường quá thời hạn sử dụng đã được thẩm định.

Kiểm tra chất lượng môi trường
Việc kiểm tra chất lượng mỗi loạt môi trường được thực hiện trước hoặc song song với kiểm tra vô trùng vắc xin/sinh phẩm.
Tất cả các loạt môi trường dùng trong thử nghiệm *vô trùng* vắc xin/sinh phẩm cần được kiểm tra về hai tính chất: tính vô trùng và khả năng cung cấp chất dinh dưỡng cho sự phát triển của vi khuẩn và nấm *(tính tăng sinh)*.
Kiểm tra tính vô trùng
Lấy 2 % số chai/ống của mỗi loạt môi trường nhưng ít nhất là 5 chai/ống. Ủ FTM ở nhiệt độ 30°C đến 35 °C ít nhất 14 ngày. Ủ SCDM (hoặc FTM khi dùng thay thế) ở nhiệt độ 20 °C đến 25 °C ít nhất 14 ngày.
Môi trường đạt yêu cầu về vô trùng nếu sau nuôi cấy các chai/ống môi trường trong, không có lắng cặn ở đáy; các chai/ống FTM không mất chỉ thị màu.
Kiểm tra tính tăng sinh
Nguyên tắc: Đánh giá khả năng phát triển của các chủng thử thách trong môi trường bằng cách cho vào mỗi chai/ống môi trường không quá 100 CFU chủng thử thách.

Bảng 1 - Chủng thích hợp cho kiểm tra chất lượng môi trường

Loại vi sinh vật	Tên	Ký hiệu
Vi khuẩn hiếu khí	*Staphylococcus aureus*	ATCC 6538, CIP 4.83, NCTC 10788, NCIMB 9518, NBRC 13276
	Bacillus subtilis	ATCC 6633, CIP 52.62, NCIMB 8054, NBRC 3134
	Pseudomonas aeruginosa	ATCC 9027, NCIMB 8626, CIP 82.118, NBRC 13275
Vi khuẩn kị khí	*Clostridium sporogenes*	ATCC 19404, CIP 79.3, NCTC 532, ATCC 11437, NBRC 14293
Nấm	*Candida albicans*	ATCC 10231, IP 48.72, NCPF 3179, NBRC 1594
	Aspergillus brasiliensis (Aspergillus niger)	ATCC 16404, IP 1431.83, IMI 149007, NBRC 9455

Có thể thay thế *Pseudomonas aeruginosa* bằng *Kocuria rhizophila (Micrococcus luteus)* ATCC 9341. Trong trường hợp không cần vi khuẩn tạo nha bào thì có thể thay thế *Clostridium sporogenes* bằng *Bacteroides vulgatus* (ATCC 8482).

Các chủng này không được cấy chuyển quá 5 lần kể từ chủng gốc.

Chủng dùng kiểm tra FTM gồm *Clostridium sporogenes, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus*. Chủng dùng kiểm tra TSB gồm *Aspergillus brasiliensis, Bacillus subtilis, Candida albicans*. Các chủng thích hợp khác cũng có thể sử dụng nếu được cơ quan Kiểm định Quốc gia chấp thuận.

Môi trường đạt yêu cầu về *tính tăng sinh* nếu các chủng vi khuẩn trong các chai/ống môi trường mọc trong vòng 3 ngày, các chủng nấm trong các chai/ống môi trường mọc trong vòng 5 ngày.

Mẫu kiểm tra

Số lượng vắc xin/sinh phẩm cần cho 1 lần kiểm tra vô trùng tùy thuộc vào số lượng thành phẩm mỗi loạt và dạng đóng gói của vắc xin/sinh phẩm. Cần lấy mẫu đại diện cho quá trình đóng ống lúc đầu và cuối.

Bảng 2 - Số lượng mẫu cần cho thử nghiệm vô trùng

Số lượng thành phẩm (Lọ/ống)	Số lượng mẫu cần lấy (Lọ/ống)	
	Lượng vắc xin/ sinh phẩm trong mỗi lọ ≥ 2 ml	Lượng vắc xin/ sinh phẩm trong mỗi lọ < 2 ml
<100	10% nhưng không ít hơn 4	20% nhưng không ít hơn 8
≥100 và < 500	Ít nhất 10	Ít nhất 20
≥ 500	Ít nhất 20	Ít nhất 40

Vắc xin/sinh phẩm được chia đều để cấy vào mỗi loại môi trường.

Phương pháp thực hiện

Tiến hành theo phương pháp màng lọc hoặc phương pháp cấy trực tiếp.

Phương pháp màng lọc

Sử dụng phương pháp màng lọc khi bản chất của vắc xin/ sinh phẩm cho phép: các dung dịch có thể qua được màng lọc; các chế phẩm chứa cồn, dầu, các chế phẩm có thể trộn hoặc tan trong dung môi là nước hoặc dầu (các dung môi không chứa chất ức chế vi khuẩn/nấm).

Bộ lọc và màng lọc phải được tiệt trùng trước khi sử dụng. Sử dụng màng có kích thước lỗ lọc nhỏ hơn hoặc bằng 0,45 µm, đường kính khoảng 47 mm. Màng celulose nitrat dùng cho các dung dịch có dung môi là nước, dầu và các dung dịch có độ cồn thấp. Màng celulose acetat dùng cho các dung dịch có độ cồn cao.

Thấm ướt màng lọc bằng dung dịch vô trùng thích hợp, chẳng hạn dung dịch pepton nồng độ 1 g/L, pH 7,1 ± 0,2. Cho mẫu thử trực tiếp lên màng lọc, hút mẫu qua màng lọc bằng một bơm chân không.

Nếu vắc xin/sinh phẩm có đặc tính ức chế sự phát triển của vi khuẩn/nấm, rửa màng lọc ít nhất ba lần bằng dung dịch rửa. Loại dung dịch rửa và thể tích mỗi lần rửa được xác định trong thử nghiệm độ phù hợp của phương pháp. Không rửa màng lọc quá 5 lần, mỗi lần 100 mL kể cả khi thử nghiệm độ phù hợp của phương pháp chỉ ra rằng như thế là chưa đủ để loại bỏ ảnh hưởng của chất ức chế.

Cho môi trường vào bình chứa màng lọc của bộ lọc hoặc cắt màng lọc thành hai phần bằng nhau rồi cho mỗi phần vào một chai môi trường nuôi cấy.

Các động tác cho mẫu thử lên màng lọc, cắt màng lọc và chuyển vào môi trường nuôi cấy phải được thực hiện trong điều kiện vô trùng để tránh lây nhiễm từ bên ngoài.

Phương pháp cấy trực tiếp

Bảng 3 - Thể tích vắc xin/sinh phẩm cần lấy từ mỗi lọ để cấy vào mỗi loại môi trường

Thể tích có trong mỗi lọ	Thể tích tối thiểu cho mỗi loại môi trường
< 1 mL	Toàn bộ vắc xin/sinh phẩm có trong mỗi lọ
Từ 1 mL đến 20 mL	1 mL
> 20 mL và < 100 mL	5 mL
> 100 mL	10 % vắc xin/sinh phẩm có trong mỗi lọ nhưng không ít hơn 20 mL

Cấy trực tiếp vắc xin/sinh phẩm cần kiểm tra vào môi trường sao cho thể tích mẫu thử không quá 10 % thể tích môi trường (trừ trường hợp đặc biệt).
Nếu vắc xin/sinh phẩm có tính chất ức chế sự phát triển của vi khuẩn/nấm, phải loại bỏ được đặc tính ức chế này bằng cách trung hòa với một chất trung hòa thích hợp hoặc hòa loãng trong thể tích môi trường đủ lớn khi thực hiện thử nghiệm vô trùng vắc xin/sinh phẩm. Nên xác định thể tích môi trường đủ lớn để loại bỏ được ảnh hưởng của chất ức chế. Mỗi lần xác định, thể tích này được sử dụng cho những lần thử nghiệm sau đó, trừ khi có thay đổi trong thành phần của vắc xin/sinh phẩm.
Đối với các vắc xin/sinh phẩm mà chính mẫu thử làm đục môi trường hoặc lắng cặn ở đáy ống môi trường tới mức không xác định được có hay không có sự phát triển của vi khuẩn/nấm; sau 3 đến 7 ngày nuôi cấy, cấy chuyển ít nhất 1 mL của mỗi ống môi trường đó sang ống môi trường mới tương ứng.

Ủ môi trường và theo dõi
Ủ FTM ở nhiệt độ 30 °C đến 35 °C ít nhất 14 ngày. Ủ SCDM (hoặc FTM khi dùng thay thế) ở nhiệt độ 20 °C đến 25 °C ít nhất 14 ngày. Các ống môi trường cấy chuyển ủ trong thời gian ít nhất 7 ngày. Theo dõi các ống môi trường vào những khoảng thời gian thích hợp và vào ngày cuối cùng để phát hiện sự phát triển của vi khuẩn/nấm trong các ống môi trường.

Đánh giá kết quả
Nếu không có sự phát triển của vi khuẩn/nấm trong các ống môi trường cấy vắc xin/sinh phẩm, mẫu kiểm tra đạt yêu cầu về vô trùng.
Nếu có sự phát triển của vi khuẩn/nấm trong các ống môi trường cấy vắc xin/sinh phẩm, mẫu kiểm tra không đạt yêu cầu về vô trùng trừ khi có thể chứng minh thử nghiệm đã thực hiện không có giá trị bằng cách thực hiện lại thử nghiệm hoặc bằng phương pháp khác.
Thử nghiệm không có giá trị khi xảy ra một trong các trường hợp sau:
Kết quả giám sát vi sinh môi trường trong khi thực hiện thử nghiệm không đạt yêu cầu;
Sau khi xem xét lại qui trình thực hiện thử nghiệm phát hiện ra sai sót;
Có vi khuẩn hoặc nấm mọc trong các chứng âm;
Chứng phân lập từ thử nghiệm được xác định chắc chắn là do nguyên vật liệu hoặc kỹ thuật trong quá trình thực hiện thử nghiệm.

Thử nghiệm tính phù hợp của phương pháp
Thực hiện thử nghiệm tính phù hợp của phương pháp khi:
– Kiểm tra vô trùng cho sản phẩm mới;
– Khi có thay đổi trong điều kiện thực hiện thử nghiệm vô trùng vắc xin/sinh phẩm.
Thử nghiệm này nên được thực hiện để chứng tỏ thử nghiệm vô trùng có khả năng phát hiện được vi khuẩn/nấm có trong mẫu thử, nhất là khi vắc xin/sinh phẩm có khả năng ức chế sự phát triển của vi khuẩn/nấm.
Thực hiện thử nghiệm giống như thực hiện thử nghiệm vô trùng vắc xin/sinh phẩm, chỉ khác ở những điểm sau:
Phương pháp màng lọc: Sau khi đã cho vắc xin/sinh phẩm qua màng lọc, cho thêm không quá 100 CFU chủng thử thách vào dung dịch rửa màng lọc lần cuối cùng.
Phương pháp cấy trực tiếp: Sau khi đã cấy vắc xin/sinh phẩm vào môi trường, cho thêm không quá 100 CFU chủng thử thách vào mỗi ống môi trường.
Sử dụng cùng chủng thử thách với thử nghiệm kiểm tra tính tăng sinh. Thực hiện thử nghiệm kiểm tra tính tăng sinh làm chứng dương.
Ủ tất cả các ống môi trường đã cấy vắc xin/sinh phẩm không quá 5 ngày.
Nếu sau 5 ngày nuôi cấy, có dấu hiệu mọc của vi khuẩn/nấm trong các ống môi trường chứa vắc xin/sinh phẩm và không yếu hơn mức độ mọc trong các ống chứng dương thì vắc xin/sinh phẩm không chứa chất ức chế sự phát triển của vi khuẩn/nấm hoặc ảnh hưởng của chất ức chế đã được loại bỏ. Thử nghiệm vô trùng vắc xin/sinh phẩm có thể được thực hiện mà không cần phải thay đổi.
Nếu sau 5 ngày nuôi cấy, không có dấu hiệu mọc của vi khuẩn/nấm trong các ống môi trường cấy vắc xin/sinh phẩm hoặc yếu hơn mức độ mọc trong các ống chứng dương thì vắc xin/sinh phẩm có chứa chất ức chế làm ảnh hưởng đến sự phát triển của vi khuẩn/nấm. Thay đổi điều kiện thực hiện thử nghiệm vô trùng vắc xin/sinh phẩm và nhắc lại thử nghiệm độ phù hợp của phương pháp.

15.8 MÔI TRƯỜNG DÙNG ĐỂ PHÁT HIỆN VI KHUẨN HIẾU KHÍ, KỴ KHÍ VÀ NẤM

Quy định chung
Môi trường nuôi cấy dùng để kiểm tra vô trùng phải do cơ quan Kiểm định Quốc gia quy định. Môi trường này phải bảo đảm sự phát triển tốt cho phần lớn các loại vi sinh vật hiếu khí, kị khí thường có trong không khí của cơ sở sản xuất.
Để kiểm tra tính vô trùng của các sinh phẩm phải dùng môi trường thioglycolat lỏng. Thành phần của môi trường được mô tả trong phần tiếp theo. Mỗi loạt môi trường thioglycolat mới được điều chế phải được kiểm tra về tính vô trùng, khả năng làm cho vi sinh vật phát triển (dinh dưỡng) và tính trung hòa.
Để kiểm tra tính vô trùng của các chế phẩm không có chất bảo quản thimerosal, môi trường phải được dùng trong vòng 3 tuần lễ kể từ ngày pha chế. Môi trường sau khi sản xuất phải bảo quản ở nhiệt độ phòng và tránh ánh sáng.
Để kiểm tra sinh phẩm có chứa thimerosal có thể dùng môi trường thioglycolat pha mới, môi trường phải được dùng trong vòng 7 ngày đến 10 ngày, kể từ ngày sản xuất.
Thời hạn sử dụng cụ thể của môi trường thioglycolat được xác định bằng cách kiểm tra tính chất trung hòa của môi trường sau khi pha chế.

Thành phần và cách pha chế môi trường Thioglycolat lỏng: Xem mục Môi trường nuôi cấy của Phụ lục 15.7

15.9 KIỂM TRA ĐỘC TÍNH ĐẶC HIỆU (AN TOÀN ĐẶC HIỆU) TRONG VẮC XIN BCG ĐÔNG KHÔ

Thử nghiệm "Kiểm tra độc tính đặc hiệu (an toàn đặc hiệu) trong vắc xin BCG đông khô" dùng để phát hiện độc tính đặc hiệu của vắc xin BCG đông khô do Mycobacteria gây ra. Thử nghiệm này được áp dụng đối với mẫu bán thành phẩm hoặc mẫu thành phẩm vắc xin BCG.

Dùng ít nhất 6 chuột lang cùng giới (nếu là chuột cái phải không được có thai) có phản ứng âm tính với tuberculin, cân nặng mỗi chuột khoảng 250 g đến 400 g.

Tiêm dưới da cho mỗi chuột một liều vắc xin tương đương với ít nhất 50 liều tiêm trong da cho người. Sau khi tiêm vắc xin, phải theo dõi chuột lang ít nhất là 6 tuần. Cuối thời kỳ theo dõi, tất cả chuột lang đều phải được mổ, kiểm tra đại thể các phủ tạng xem có các dấu hiệu của bệnh lao tiến triển không. Mặt khác, trong thời kỳ theo dõi nếu có chuột nào chết cũng phải mổ kiểm tra như trên. Nếu sau 6 tuần theo dõi các chuột đều khoẻ mạnh, tăng cân; không có biểu hiện bệnh lao tiến triển và ít nhất có 2/3 số chuột sống sót cho đến hết thời gian theo dõi thì loạt vắc xin BCG đó đạt yêu cầu về an toàn đặc hiệu.

Trong vòng 42 ngày theo dõi, nếu có hơn 1/3 số chuột lang thử nghiệm chết nhưng xác định không phải chết do lao thì thử nghiệm được lặp lại. Nếu:

Lần thử nghiệm thứ nhất không đạt yêu cầu và không có giá trị (invalid test): Thử nghiệm nhắc lại chỉ cần tiến hành với ít nhất 6 chuột lang khác.

Lần thử nghiệm thứ nhất không đạt yêu cầu và có giá trị (valid test): Thử nghiệm phải được nhắc lại với số lượng mẫu và số lượng chuột gấp đôi.

Nếu trong lần thử nghiệm thứ 2 vẫn có hơn 1/3 số chuột lang chết (kể cả được xác định chuột chết không phải do lao) thì loạt vắc xin BCG đó coi như không an toàn và phải xem xét lại nguồn cung cấp chuột, hoặc/ và kiểm tra quy trình sản xuất với sự xác nhận của cơ quan Kiểm định Quốc gia.

Nếu trong lần thử nghiệm nhắc lại các chuột đều khỏe mạnh, tăng cân, không có biểu hiện bệnh lao tiến triển và ít nhất có 2/3 số chuột sống sót cho đến hết thời gian theo dõi thì loạt vắc xin BCG đó đạt yêu cầu về tính an toàn đặc hiệu.

Nếu phát hiện thấy chuột có biểu hiện của bệnh lao tiến triển thì loạt vắc xin đó phải hủy bỏ và phải đình chỉ sản xuất các loạt vắc xin tiếp theo. Toàn bộ vắc xin trong kho phải giữ lại để tiến hành thanh tra và tìm ra nguyên nhân. Việc sản xuất chỉ được tiếp tục khi có sự chấp thuận của cơ quan Kiểm định Quốc gia.

15.10 THỬ NGHIỆM NHẬN DẠNG HUYẾT THANH MIỄN DỊCH

Mục đích của thử nghiệm nhận dạng huyết thanh miễn dịch là nhằm khẳng định huyết thanh thử nghiệm chỉ chứa protein từ loài động vật đăng ký trong sản xuất.

Có thể tiến hành theo 1 trong 2 kỹ thuật sau:

Kỹ thuật khuếch tán miễn dịch (Ouchterlony)

Nguyên lý

Kỹ thuật này dựa trên nguyên lý khuếch tán kép tự do của kháng nguyên và kháng thể từ các giếng riêng biệt được tạo trong gel agarose 1 % vào môi trường và tạo thành cung tủa do phản ứng đặc hiệu của chúng.

Vật liệu và thiết bị

Phiến kính.

Agarose 1 % trong đệm phosphat pH 7,4.

Hộp ẩm.

Huyết thanh miễn dịch thử nghiệm.

Huyết thanh kháng loài.

Dung dịch nhuộm: Coomasie blue 0,025 %.

Dung dịch tẩy màu: Methanol - acetic acid - nước cất (4 : 1 : 5).

Tiến hành

Đổ gel agarose 1 % lên phiến kính.

Dùng dụng cụ đục giếng loại có đường kính 3 mm tạo 7 giếng trên phiến kính (1 giếng ở giữa, 6 giếng cách đều xung quanh). Nhỏ huyết thanh kháng loài vào các giếng xung quanh và huyết thanh thử nghiệm vào giếng ở giữa.

Đặt phiến kính vào hộp ẩm từ 12 h đến 48 h.

Nhuộm gel với dung dịch nhuộm coomasie blue 0,025 %.

Tẩy màu bằng dung dịch tẩy màu, sau đó rửa bằng nước cất.

Để khô phiến kính ở nhiệt độ phòng.

Kỹ thuật điện di miễn dịch

Nguyên lý

Dưới tác động của điện trường và trong môi trường gel agarose, kháng nguyên tích điện âm từ giếng ở phía cực âm và kháng thể tích điện dương từ giếng ở phía cực dương sẽ di chuyển ngược chiều nhau, khi gặp nhau sẽ hình thành đường tủa có thể nhìn thấy được.

Vật liệu và thiết bị

Phiến kính.

Thạch 3 % trong *nước cất*.

Agarose 1,5 % trong đệm barbital pH 8,4.

Huyết thanh miễn dịch thử nghiệm.

Huyết thanh kháng loài.

Máy điện di, nguồn điện.

Dung dịch nhuộm, rửa, tẩy màu....

Tiến hành

Đổ thạch nền 3 % lên phiến kính.

Đổ agarose 1,5 % lên trên thạch nền.

Sau khi agarose đông, đục 2 giếng có đường kính 3 mm, khoảng cách giữa 2 giếng là 4 mm đến 5 mm. Nhỏ huyết thanh thử nghiệm và huyết thanh kháng loài vào mỗi giếng.

Đặt phiến kính vào máy điện di.

Tiến hành điện di ở 10 V/cm từ 10 min đến 60 min tuỳ thử nghiệm.

Ngừng điện di, quan sát kết quả.

Để dễ quan sát đường tủa, cần loại protein không tủa bằng cách ngâm phiến kính trong đệm PBS. Phủ giấy lọc Whatman lên phiến kính và sấy ở 37 °C đến khô.

Nhuộm xanh với Coomasie blue trong 20 min.

Tẩy màu, rửa với nước cất, để khô.

Nhận định kết quả
Huyết thanh miễn dịch thử nghiệm được nhận dạng đúng khi xuất hiện đường tủa giữa mẫu thử nghiệm và huyết thanh kháng loài tương ứng.

15.11 XÁC ĐỊNH AN TOÀN CHUNG CỦA VẮC XIN VÀ SINH PHẨM

Xác định độc tính bất thường trong vắc xin - sinh phẩm được tiến hành trên chuột nhắt và chuột lang. Triệu chứng nhiễm độc trên chuột có thể biểu hiện như sau:
Thay đổi diện mạo bên ngoài, xù lông.
Trạng thái bất thường, giảm hoạt động.
Chuột giảm cân.
Chuột chết do nhiễm độc.

Trên chuột lang
Mỗi thử nghiệm dùng 2 chuột lang, cân nặng mỗi chuột từ 250 g đến 350 g, chưa dùng cho thí nghiệm nào trước đó, khỏe mạnh, tăng trọng bình thường trong thời gian cách ly 3 ngày đến 7 ngày.
Tiêm ổ bụng cho mỗi chuột 1 liều tiêm cho người nhưng không quá 5 ml; trừ một số vắc xin, sinh phẩm đặc biệt sẽ theo chuyên luận riêng. Liều cho người được trình bày trên nhãn sản phẩm.
Cân từng con trước khi tiêm và cân ít nhất 1 lần vào cuối giai đoạn theo dõi. Chuột phải được quan sát kỹ 2 h đầu sau tiêm và hàng ngày trong suốt 7 ngày để phát hiện dấu hiệu lâm sàng ốm do nhiễm độc.
Thử nghiệm đạt yêu cầu nếu toàn bộ chuột thí nghiệm khoẻ mạnh, tăng trọng và không có biểu hiện bệnh lý hoặc nhiễm độc.
Nếu có nhiều hơn 1 chuột chết thì thử nghiệm không đạt yêu cầu (nếu thử nghiệm đó đã được xác định là có giá trị).
Nếu có 1 chuột chết hoặc chỉ ra dấu hiệu ốm do nhiễm độc trong lần thử đầu tiên (thử nghiệm có giá trị), cần làm lại thử nghiệm với số lượng chuột gấp đôi và lượng mẫu thử gấp đôi. Thử nghiệm đạt yêu cầu nếu trong lần thử nghiệm thứ 2 không có chuột nào chết hoặc chỉ ra dấu hiệu ốm do nhiễm độc.
Nếu thử nghiệm lần đầu không có giá trị thì thử nghiệm lặp lại với số lượng mẫu và số lượng động vật thí nghiệm bằng lần đầu.

Trên chuột nhắt
Mỗi thử nghiệm dùng 5 chuột nhắt Swiss, cân nặng mỗi chuột từ 17 g đến 22 g, chưa dùng thí nghiệm nào trước đó, khoẻ mạnh, tăng trọng bình thường trong thời gian cách ly 3 ngày.
Tiêm ổ bụng 1 liều tiêm cho người nhưng không quá 1 ml, trừ một số vắc xin sinh phẩm đặc biệt sẽ theo chuyên luận riêng. Liều cho người được trình bày trên nhãn sản phẩm.
Cân từng con trước khi tiêm và cân ít nhất 1 lần vào cuối giai đoạn theo dõi. Chuột phải được quan sát kỹ 2 h đầu sau tiêm và hàng ngày trong suốt 7 ngày để phát hiện dấu hiệu lâm sàng ốm do nhiễm độc.
Thử nghiệm đạt yêu cầu nếu toàn bộ chuột thí nghiệm khỏe mạnh, tăng trọng bình thường và không có biểu hiện bệnh lý hoặc nhiễm độc.
Nếu có nhiều hơn 1 chuột chết thì thử nghiệm không đạt yêu cầu (nếu thử nghiệm là có giá trị).
Nếu có 1 chuột chết hoặc chỉ ra dấu hiệu ốm do nhiễm độc trong lần thử đầu tiên (thử nghiệm có giá trị) cần làm lại thử nghiệm với số lượng chuột gấp đôi và lượng mẫu thử gấp đôi. Thử nghiệm đạt yêu cầu nếu trong lần thử nghiệm thứ 2 không có chuột nào chết hoặc chỉ ra dấu hiệu ốm do nhiễm độc.
Nếu thử nghiệm lần đầu không có giá trị thì thử nghiệm lặp lại với số lượng mẫu và số lượng động vật thí nghiệm bằng lần đầu.

15.12 XÁC ĐỊNH CHẤT GÂY SỐT TRONG VẮC XIN VÀ SINH PHẨM

Thử nghiệm chất gây sốt là phương pháp sinh học dùng để đánh giá tính chất gây sốt của vắc xin, sinh phẩm dựa trên sự tăng thân nhiệt của thỏ trước và sau khi tiêm vào tĩnh mạch dung dịch mẫu thử.

Lựa chọn động vật thí nghiệm
Thỏ khoẻ mạnh, trưởng thành, dực hoặc cái (nhưng không được mang thai), cân nặng không ít hơn 1,5 kg, được nuôi dưỡng bằng thức ăn không chứa chất kháng sinh và không bị tụt cân trong suốt 1 tuần trước thử nghiệm. Trong thời gian 3 ngày trước khi thí nghiệm, không sử dụng thỏ này cho những thí nghiệm tương tự khác. Cũng có thể sử dụng những thỏ trước đó 3 tuần đã làm thử nghiệm chất gây sốt nhưng kết quả lần thử trước là âm tính.

Phòng thí nghiệm
Thử nghiệm được tiến hành trong phòng yên tĩnh, tránh mọi tiếng động và ánh sáng làm ảnh hưởng đến kết quả thí nghiệm và nhiệt độ phòng không chênh lệch 3 °C so với nơi ở cũ.
Thỏ được nuôi riêng trong phòng yên tĩnh có nhiệt độ 20 °C đến 25 °C, cho ăn thức ăn tổng hợp không có chất kháng sinh. Trước ngày tiêm, để thỏ nhịn ăn qua đêm (nhưng được uống nước) cho đến khi thí nghiệm kết thúc. Không cho uống nước trong thời gian đang làm thí nghiệm.

Thiết bị, dụng cụ
Nhiệt kế: Để đo nhiệt độ của thỏ có thể dùng nhiệt kế hoặc thiết bị điện có độ chính xác 0,1 °C. Khi đo nhiệt độ, nhiệt kế phải đặt sâu trong trực tràng thỏ ít nhất 5 cm, phải để tối thiểu 5 min. Nếu dùng thiết bị điện, phải đặt yên trong trực tràng ít nhất 90 min trước khi tiêm và giữ nguyên vị trí đó suốt thời gian thí nghiệm.
Dụng cụ thuỷ tinh, bơm tiêm, kim tiêm: Tất cả phải được rửa sạch bằng nước pha tiêm (WFI) và sấy khô 250 °C trong 30 min hoặc 200 °C trong 60 min, nếu dùng đồ nhựa phải không chứa chất gây sốt và phải vô trùng.

Lồng thỏ chuyên dụng:
Trước khi bắt đầu, đặt thỏ trong lồng chuyên dụng trong tư thế thỏa mái không ít hơn 1 h và duy trì ở đó trong suốt thời gian làm thí nghiệm.

Thử nghiệm thăm dò (preliminary test)
1 ngày đến 3 ngày trước khi tiến hành tiêm vắc xin, sinh phẩm cần kiểm tra sơ bộ về tính nhạy cảm cho các thỏ thí nghiệm bằng cách tiêm vào tĩnh mạch 10 ml dung dịch nước muối sinh lý 0,9 % không chứa chất gây sốt đã được làm ấm lên khoảng 38,5 °C cho mỗi kilogam cân nặng thỏ (10 ml/kg). Ghi nhiệt độ trước tiêm và tiếp tục trong vòng 3 h sau khi tiêm dung dịch nước muối sinh lý. Nếu thỏ nào có nhiệt độ dao động so với nhiệt độ ban đầu > 0,6 °C sẽ bị loại, không dùng đưa vào thử nghiệm chính.

Thử nghiệm chính (main test): Đối với mẫu vắc xin, sinh phẩm.
Thỏ thí nghiệm là thỏ đạt các tiêu chuẩn trên, được để trong lồng chuyên dụng ít nhất 60 min để ổn định. Sau đó tiến hành đo nhiệt độ thỏ 2 lần mỗi lần cách nhau 30 min (nếu đo tay) hoặc theo chương trình cài đặt (nếu đo bằng thiết bị). Nhiệt độ ban đầu của thỏ là giá trị trung bình của các lần đo này. Tiêu chuẩn đưa vào thí nghiệm là những thỏ có nhiệt độ chênh lệch giữa các lần đo không quá 0,2 °C và nhiệt độ ban đầu nằm trong khoảng 38 °C đến 39,8 °C. Mỗi mẫu thử được tiêm cho một nhóm thỏ 3 con, nhiệt độ chênh lệch trong nhóm không quá 1 °C.
Dung dịch dùng để tiêm thỏ là vắc xin, sinh phẩm nếu ở dạng lỏng hoặc được hoàn nguyên bằng dung dịch nước hồi chỉnh đi kèm nếu ở dạng đông khô. Trừ một số vắc xin, sinh phẩm đặc biệt sẽ theo chuyên luận riêng (có thể được pha loãng bằng dung dịch nước muối sinh lý không chứa chất gây sốt).
Tiêm chậm dung dịch vào tĩnh mạch vành tai của mỗi thỏ trong khoảng thời gian không kéo dài quá 4 min. Thể tích được tiêm cho mỗi thỏ tương ứng với 1 ml/kg cân nặng. Nên làm ấm dung dịch đến 38,5 °C trước khi tiêm. Đo nhiệt độ thỏ ở những khoảng thời gian tuỳ thuộc vào thiết bị sử dụng (nếu đo tay cứ 1 h đo 1 lần; trường hợp dùng thiết bị, nhiệt độ được đo tự động theo chương trình cài đặt) trong khoảng thời gian 3 h sau khi tiêm. Nhiệt độ tối đa là nhiệt độ cao nhất đo được trong khoảng thời gian này.

Đánh giá kết quả
Đáp ứng của mỗi thỏ là hiệu số của nhiệt độ tối đa sau khi tiêm mẫu thử và nhiệt độ ban đầu.
Đáp ứng của thỏ bằng 0 nếu nhiệt độ tối đa sau khi tiêm bằng hoặc thấp hơn nhiệt độ ban đầu.
Mẫu thử được coi là đạt yêu cầu về tiêu chuẩn chất gây sốt nếu nhiệt độ chênh lệch của mỗi thỏ ≤ 0,6 °C và tổng nhiệt độ chênh lệch của 3 thỏ ≤ 1,3 °C. Nếu > 2,4 °C coi như không đạt yêu cầu.
Nếu tổng nhiệt độ chênh lệch của 3 thỏ nằm trong khoảng > 1,3 °C đến 2,4 °C thì thử nghiệm cần phải tiến hành thêm trên 3 thỏ khác. Mẫu thử đạt yêu cầu về tiêu chuẩn chất gây sốt khi tổng nhiệt độ chênh lệch (cộng dồn) của cả 6 thỏ ≤ 3 °C. Nếu > 4,1 °C coi như không đạt yêu cầu.
Nếu tổng nhiệt độ chênh lệch (cộng dồn) của 6 thỏ nằm trong khoảng > 3 °C đến 4,1 °C thì cần phải làm thêm lần cuối trên 3 thỏ khác. Mẫu thử được coi là đạt yêu cầu về tiêu chuẩn chất gây sốt khi tổng nhiệt độ chênh lệch của 9 thỏ (cộng dồn) phải ≤ 4,9 °C. Nếu > 4,9 °C coi như không đạt yêu cầu và phải hủy vắc xin hay sinh phẩm thử nghiệm.

15.14 PHƯƠNG PHÁP LẤY MẪU VÀ LƯU MẪU

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp lấy mẫu cho các loại vắc xin sinh phẩm sau đây:
Các loại vắc xin làm từ vi khuẩn hoặc virus, dùng để phòng bệnh cho người.
Các dung dịch dùng để hồi chỉnh các sinh phẩm dạng đông khô.
Các sinh phẩm điều trị: SAT, SAD,....

PHƯƠNG PHÁP LẤY MẪU

Nguyên tắc
Phải lấy mẫu ở công đoạn sản xuất, với số lượng đủ tính đại diện.
Các mẫu phải lấy trong điều kiện vô khuẩn bằng những dụng cụ đã vô khuẩn.

Cách lấy mẫu
Mẫu được lấy trong các giai đoạn sau:

Lấy mẫu bán thành phẩm cuối cùng
Trước khi lấy mẫu phải lắc kỹ chai hoặc bình chứa bán thành phẩm cuối cùng. Lấy ít nhất 10 ml cấy vào trong 2 loại môi trường thử.

Lấy mẫu trong quá trình đóng ống
Để kiểm tra tính vô khuẩn trong quá trình đóng ống phải lấy mẫu ít nhất tại thời điểm đầu, giữa và cuối quá trình đóng ống. Tổng số mẫu lấy tùy thuộc số lượng thành phẩm (xem Bảng 15.14).
Đối với quá trình đóng ống mà sau đó sinh phẩm phải đông khô thì sau giai đoạn đông khô cũng phải lấy mẫu để kiểm tra vô khuẩn.

Lấy mẫu thành phẩm
Mẫu thành phẩm cần kiểm tra phải đảm bảo đại diện cho cả loạt thành phẩm. Mẫu lấy kiểm tra phải bao gồm cả mẫu của giai đoạn đầu, giai đoạn giữa và cuối của quá trình đóng ống. Nếu loạt bán thành phẩm cùng trong bình chứa (tank), nhưng được đóng làm nhiều lần, thì mẫu lấy của mỗi lần (gọi là một loạt đóng ống) phải đại diện cho toàn bộ quá trình đóng ống của lần đó và được kiểm tra riêng về mặt vô trùng. Số lượng mẫu cần lấy để kiểm tra do cơ quan Kiểm định Quốc gia quy định.

Số lượng mẫu lấy
Mỗi giai đoạn phải lấy số mẫu phù hợp để kiểm định.

Bảng 15.14 - Số lượng mẫu được lấy cho thử nghiệm vô khuẩn vắc xin, sinh phẩm

Số lượng thành phẩm /loạt	Thể tích được đóng trong 1 ống hoặc lọ vắc xin, sinh phẩm																	
	0,5 ml						1 ml đến 1,5 ml						≥ 2 ml					
	Tổng số		SX		KĐĐP		Tổng số		SX		KĐĐP		Tổng số		SX		KĐĐP	
	M	Ô	M	Ô	M	Ô	M	Ô	M	Ô	M	Ô	M	Ô	M	Ô	M	Ô
Từ 501 đến 1000	16	16	2	8	2	8	6	12	3	6	3	6	12	12	6	6	6	6
Từ 1001 đến 2000	24	24	3	12	3	12	8	16	4	8	4	8	18	18	9	9	9	9
Từ 2001 đến 3000	24	24	3	12	3	12	10	20	4	10	5	10	22	22	11	11	11	11
Từ 3001 đến 4000	24	24	3	12	3	12	12	24	6	12	6	12	26	26	13	13	13	13
Từ 4001 đến 5000	32	32	4	16	4	16	14	28	7	14	7	14	28	28	14	14	14	14
Từ 5001 đến 6000	32	32	4	16	4	16	16	32	8	16	8	16	32	32	16	16	16	16
Từ 6001 đến 7000	32	32	4	16	4	16	16	32	8	16	8	16	34	34	17	17	17	17
Từ 7001 đến 8000	40	40	5	20	5	20	18	36	9	18	9	18	36	36	18	18	18	18
Từ 8001 đến 9000	40	40	5	20	5	20	20	40	10	20	10	20	38	38	19	19	19	19
Từ 9001 đến 10000	40	40	5	20	5	20	20	40	10	20	10	20	40	40	20	20	20	20
> 10.000	40	40	5	20	5	20	20	40	10	20	10	20	40	40	20	20	20	20

Ghi chú:

M: Số mẫu được lấy để kiểm định. Ô: Số lượng lọ vắc xin, sinh phẩm lấy để kiểm tra vô khuẩn.

SX: Kiểm định sản xuất (cấp I). KĐĐP: Kiểm định địa phương (cấp II).

Công thức lấy mẫu để kiểm tra theo quy định của Tổ chức Y tế Thế giới là $0,4\sqrt{N}$; trong đó N là số lượng ống, lọ của loạt thành phẩm đó.

Đối với loạt thành phẩm có ít hơn 100 ống thì phải lấy 10 % số ống để kiểm tra.

Cần lưu ý: Riêng với thử nghiệm vô trùng, số lượng mẫu lấy ở mỗi giai đoạn phải đủ cho ít nhất 3 lần thử nghiệm phòng trường hợp phải nhắc lại thử nghiệm.

Lưu mẫu

Mỗi loạt sinh phẩm thành phẩm đều phải giữ mẫu lưu. Mẫu lưu này được giữ cho đến khi vắc xin và sinh phẩm hết hạn sử dụng. Phải ghi nhãn cẩn thận số loạt và tên sinh phẩm. Các cơ sở sản xuất cần phải lưu một lượng mẫu đủ để có thể tiến hành kiểm tra vô khuẩn lại khi cần thiết.

Số lần kiểm định

Thông thường, số lượng mẫu lấy phải bảo đảm cho các thử nghiệm kiểm định của 3 cấp như sau: Kiểm định sản xuất (kiểm định cấp I); Kiểm định địa phương (kiểm định cấp II) và Kiểm định Quốc gia (kiểm định cấp III).

Số lượng mẫu lấy để kiểm tra vô khuẩn của sản phẩm tối thiểu phải đủ cho kiểm định sản xuất, kiểm định địa phương và lưu mẫu. Nếu Kiểm định Quốc gia cần kiểm tra lại thử nghiệm vô khuẩn thì số lượng mẫu thử bằng số lượng mẫu mà kiểm định địa phương đã làm.

Trường hợp cần hủy một loạt sinh phẩm do không đạt tiêu chuẩn lý học (đục, tủa) thì toàn bộ số ống đó phải chuyển qua kiểm định địa phương để tìm nguyên nhân.

Số lượng thành phẩm cần lấy để kiểm tra vô khuẩn sẽ tùy thuộc vào tổng số ống của mỗi loạt và thể tích sinh phẩm có trong 1 ống hoặc lọ (Bảng 15.14).

Xử lý mẫu

Mẫu kiểm định phải bảo quản theo những quy định phù hợp cho từng loại sinh phẩm và phải được tiến hành kiểm định ngay. Nếu chưa kiểm định được, nhất thiết phải bảo quản ở nhiệt độ quy định.

Các mẫu kiểm định phải có thông tin như sau:

Tên sản phẩm;
Ngày sản xuất;
Số loạt;
Số lượng sản phẩm;
Yêu cầu kiểm định;
Số lượng mẫu gửi kiểm định;
Ngày lấy mẫu;
Đơn vị gửi mẫu;
Hạn dùng;
Dạng đóng gói;
Nhà sản xuất;
Điều kiện bảo quản;
Số đăng kí.

PHƯƠNG PHÁP LƯU MẪU

Tại cơ quan kiểm định quốc gia chỉ lưu mẫu sinh phẩm ở dạng thành phẩm cuối cùng, mẫu lưu phải được bảo quản ít nhất đến khi hết hạn sử dụng.

Mẫu lưu do phòng kiểm định cấp 2 giữ tại các cơ sở sản xuất. Các mẫu kiểm định cấp 2 được lấy cùng thời điểm với mẫu gửi cho cơ quan Kiểm định Quốc gia. Mẫu gửi Kiểm định Quốc gia cần bảo quản đúng nhiệt độ quy định trong suốt quá trình vận chuyển (trong trường hợp đơn vị sản xuất ở cách xa cơ quan kiểm định).

Các mẫu lưu của từng sinh phẩm phải được đóng gói cẩn thận, gắn xi (hoặc có băng bảo đảm) ngoài bao bì phải ghi rõ các thông tin sau:

Tên sinh phẩm;
Số loạt;
Số lượng lưu mẫu;
Ngày lưu mẫu;
Nhiệt độ bảo quản trong thời gian lưu mẫu.

Thời gian lưu mẫu tùy thuộc vào từng loại sinh phẩm và hạn dùng của sinh phẩm đó.

15.15 XÁC ĐỊNH HIỆU GIÁ HUYẾT THANH KHÁNG ĐỘC TỐ BẠCH HẦU

Hiệu giá huyết thanh kháng độc tố bạch hầu được xác định bằng cách so sánh khả năng trung hòa một lượng cố định độc tố bạch hầu của kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm và kháng độc tố bạch hầu chuẩn thông qua thử nghiệm trung hòa độc tố trên chuột lang hoặc trong da thỏ.

Thử nghiệm trung hòa độc tố bạch hầu trên chuột lang

Xác định liều độc tố bạch hầu thử nghiệm (L^+)

L^+ là lượng độc tố bạch hầu nhỏ nhất còn lại sau khi trung hòa với 1 đơn vị quốc tế (IU) của kháng độc tố bạch hầu chuẩn đủ để gây chết 1 chuột lang có khối lượng đã xác định trong thời gian từ 4 ngày đến 6 ngày.

Pha huyết thanh kháng độc tố bạch hầu chuẩn với nước muối sinh lý (0,85 %) để có dung dịch kháng độc tố chứa 3,0 IU/ml.

Pha độc tố bạch hầu với dung dịch Jensen pepton để có dung dịch độc tố chứa 3 Lf/ml đến 4 Lf/ml.

Trong một dãy ống nghiệm, lần lượt cho vào mỗi ống: 1,0 ml dung dịch kháng độc tố bạch hầu chuẩn chứa 3,0 IU/ml, một thể tích thay đổi dung dịch độc tố bạch hầu (ví dụ 0,6 ml; 0,7 ml; 0,8 ml; 0,9 ml; 1,0 ml;... tùy theo độc tính của độc tố bạch hầu) và nước muối sinh lý để vừa đủ 6,0 ml trong mỗi ống nghiệm.

Lắc đều các ống, để yên ở 37 °C trong 60 min, tránh ánh sáng.

Tiêm 2,0 ml vào dưới da đùi cho mỗi chuột lang cân nặng từ 250 g đến 300 g, dùng 2 chuột cho mỗi độ pha.

Theo dõi và ghi chép số chuột bị chết trong thời gian từ 4 ngày đến 6 ngày.

Cách xác định: Hỗn dịch nào có lượng độc tố bạch hầu nhỏ nhất sau khi tiêm gây chết 100 % chuột trong vòng 4 ngày đến 6 ngày sẽ có chứa lượng độc tố 3 L^+/6ml hay 1 L^+/ 2ml (một liều tiêm/1 chuột lang).

Xác định hiệu giá huyết thanh kháng độc tố bạch hầu

Là xác định số đơn vị quốc tế kháng độc tố bạch hầu có trong 1,0 ml của huyết thanh kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm.

Pha huyết thanh kháng độc tố bạch hầu chuẩn với nước muối sinh lý để có dung dịch chứa 3,0 đơn vị quốc tế /ml.

Pha độc tố bạch hầu với dung dịch Jensen pepton để có dung dịch độc tố chứa 3L^+ trong một thể tích đã xác định.

Pha huyết thanh kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm với nước muối sinh lý để có các độ pha 1/300; 1/400; 1/500; 1/600; 1/700; vv... tùy theo hiệu giá có thể có được của kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm.

Trong một dãy ống nghiệm, lần lượt cho vào mỗi ống: Một lượng dung dịch độc tố bạch hầu chứa 3L^+; 3,0 ml dung dịch kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm ở mỗi độ pha loãng và nước muối sinh lý để vừa đủ 6,0 ml trong mỗi ống nghiệm.

Pha mẫu chứng: Cho vào 3 ống nghiệm lần lượt: Một lượng dung dịch độc tố bạch hầu có chứa 3 L^+, một trong 3 lượng 0,9 ml; 1,0 ml; 1,1 ml dung dịch kháng độc tố bạch hầu chuẩn chứa 3,0 IU/ml và sau đó một lượng nước muối sinh lý để vừa đủ 6,0 ml trong mỗi ống nghiệm.

Lắc đều các ống, để yên ở 37 °C trong 60 min, tránh ánh sáng.

Tiêm 2,0 ml vào dưới da đùi cho mỗi chuột nhắt, dùng 2 chuột cho mỗi độ pha.

Theo dõi và ghi chép số chuột bị chết trong thời gian từ 4 ngày đến 6 ngày.

Cách tính hiệu giá

Thử nghiệm chỉ có giá trị khi mẫu chứng có chứa 0,9 ml và 1,0 ml dung dịch kháng độc tố bạch hầu chuẩn gây chết 100 % chuột trong vòng 4 ngày đến 6 ngày và mẫu chứng có chứa 1,1 ml dung dịch kháng độc tố bạch hầu chuẩn không được gây chết chuột trong thời gian theo dõi.

Dung dịch nào có chứa lượng kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm lớn nhất không bảo vệ được chuột trong thời gian 4 ngày đến 6 ngày giống như mẫu chứng có chứa 1,0 ml dung dịch kháng độc tố bạch hầu chuẩn sẽ có chứa 1,0 IU/ml.

Hiệu giá của huyết thanh kháng độc tố bạch hầu được tính như sau:

$$\text{Hiệu giá (IU/ml)} = 1{,}0 \times N$$

Trong đó:

N là số lần pha loãng kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm;

1,0 là số IU có trong dung dịch kháng độc tố bạch hầu chuẩn dùng để trung hòa 1L^+ trong thử nghiệm.

Thử nghiệm trung hòa độc tố bạch hầu trong da thỏ

Xác định liều độc tố bạch hầu thử nghiệm (L^+/30)

L^+/30 là lượng độc tố bạch hầu nhỏ nhất còn lại sau khi trung hòa với 1/30 đơn vị quốc tế (IU) của kháng độc tố bạch hầu chuẩn đủ để gây phản ứng Shick trên da thỏ trong 48 h.

Pha huyết thanh kháng độc tố bạch hầu chuẩn với nước muối sinh lý để có dung dịch kháng độc tố chứa 1,0 IU/ml.

Pha độc tố bạch hầu với dung dịch Jensen pepton để có dung dịch độc tố chứa khoảng 1,0 Lf/ml.

Trong một dãy ống nghiệm, lần lượt cho vào mỗi ống: 1,0 ml dung dịch kháng độc tố bạch hầu chuẩn chứa 1,0 IU/ml, một thể tích thay đổi dung dịch độc tố bạch hầu (ví dụ 0,2 ml; 0,3 ml; 0,4 ml; 0,5 ml; 0,6 ml; ... tùy theo độc tính của độc tố bạch hầu) và nước muối sinh lý để vừa đủ 3,0 ml trong mỗi ống nghiệm.

Lắc đều các ống nghiệm và để yên ở 37 °C trong 60 min, tránh ánh sáng.

Tiêm 0,1 ml trong da thỏ, loại có cân nặng từ 2,5 kg/con đến 3,0 kg/con.
Theo dõi thỏ thử nghiệm và đo đường kính quầng đỏ trong vòng 48 h.
Cách xác định: Độ pha nào của độc tố bạch hầu tạo phản ứng Shick với đường kính từ 12 mm đến 15 mm sẽ có chứa 30 $L^+/30$ trong 3,0 ml hay $L^+/30$ trong 0,1 ml.

Xác định hiệu giá huyết thanh kháng độc tố bạch hầu
Pha huyết thanh kháng độc tố bạch hầu chuẩn với nước muối sinh lý để có dung dịch chứa 1,0 đơn vị quốc tế /ml.
Pha độc tố bạch hầu với dung dịch Jensen pepton để có dung dịch độc tố chứa 30 $L^+/30$ trong một thể tích đã xác định.
Pha huyết thanh kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm với nước muối sinh lý để có các độ pha 1/300; 1/400; 1/500; 1/600; 1/700;... tùy theo hiệu giá có thể có được của kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm.
Trong một dãy ống nghiệm, lần lượt cho vào mỗi ống: Một lượng dung dịch độc tố bạch hầu chứa 30 $L^+/30$ đã xác định; 1,0 ml dung dịch kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm ở mỗi độ pha loãng và nước muối sinh lý để vừa đủ 3,0 ml trong mỗi ống nghiệm.
Pha mẫu chứng: Cho vào 3 ống nghiệm lần lượt: Một lượng dung dịch độc tố bạch hầu chứa 30 $L^+/30$, một trong 3 lượng 0,9 ml; 1,0 ml; 1,1 ml dung dịch kháng độc tố bạch hầu chuẩn chứa 1,0 IU/ml và sau đó một lượng nước muối sinh lý để vừa đủ 3,0 ml trong mỗi ống nghiệm.
Lắc đều các ống, để yên ở 37 °C trong 60 min, tránh ánh sáng.
Tiêm 0,1 ml trong da thỏ, loại có cân nặng từ 2,50 kg/con đến 3,0 kg/con, dùng 3 thỏ cho mỗi thử nghiệm.
Theo dõi thỏ thử nghiệm và đo đường kính quầng đỏ trong vòng 48 h.

Cách tính hiệu giá
Thử nghiệm chỉ có giá trị khi mẫu chứng chứa 1,0 ml dung dịch kháng độc tố bạch hầu chuẩn tạo phản ứng Shick với đường kính từ 12 mm đến 15 mm. Hỗn dịch nào chứa lượng kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm lớn nhất tạo phản ứng Shick với đường kính 12 mm đến 15 mm tương đương với mẫu chứng chứa 1,0 ml kháng độc tố bạch hầu chuẩn sẽ có chứa 1 IU/ml.
Hiệu giá của huyết thanh kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm được tính như sau:

$$\text{Hiệu giá (IU/ml)} = 1{,}0 \times N$$

Trong đó:
N là số lần pha loãng kháng độc tố bạch hầu thử nghiệm;
1,0 là số IU có trong dung dịch kháng độc tố bạch hầu chuẩn dùng để trung hòa 30 $L^+/30$ trong thử nghiệm

15.16 XÁC ĐỊNH HIỆU GIÁ HUYẾT THANH KHÁNG ĐỘC TỐ UỐN VÁN

Hiệu giá huyết thanh kháng độc tố uốn ván được xác định bằng cách so sánh mức độ bảo vệ giữa liều kháng độc tố uốn ván thử nghiệm và kháng độc tố uốn ván chuẩn đối với chuột nhắt trắng có cân nặng từ 16 g đến 18 g sau khi đã trung hòa một lượng cố định độc tố uốn ván.

Xác định liều độc tố uốn ván thử nghiệm ($L^+/10$)
$L^+/10$ là lượng độc tố uốn ván nhỏ nhất còn lại sau khi trung hòa với 0,1 đơn vị quốc tế (IU) của kháng độc tố uốn ván chuẩn đủ để gây chết 1 chuột có trọng lượng đã xác định trong thời gian 96 h.
Pha kháng độc tố uốn ván chuẩn với nước muối sinh lý để có dung dịch kháng độc tố uốn ván chứa 0,5 IU/ml.
Pha độc tố uốn ván với dung dịch Jensen pepton để có dung dịch độc tố uốn ván 3 Lf/ml đến 5 Lf/ml.
Trong một dãy ống nghiệm, lần lượt cho vào mỗi ống: 1,0 ml dung dịch kháng độc tố uốn ván chuẩn chứa 0,5 IU/ml, một thể tích thay đổi dung dịch độc tố uốn ván (ví dụ 0,1 ml; 0,2 ml; 0,3 ml; 0,4 ml; 0,5 ml... tùy theo độc tính của độc tố uốn ván) và nước muối sinh lý để vừa đủ 2,5 ml trong mỗi ống nghiệm.
Lắc đều các ống nghiệm và để yên ở 37 °C trong 45 min, tránh ánh sáng.
Tiêm 0,5 ml dưới da lưng cho mỗi chuột nhắt, dùng 4 chuột cho mỗi độ pha.
Theo dõi và ghi chép số chuột bị chết trong 96 h.
Cách xác định: Hỗn dịch nào có lượng độc tố thấp nhất sau khi tiêm gây chết chuột trong vòng 96 h sẽ có chứa lượng độc tố 5 $L^+/10$ trong 2,5 ml hay 1 $L^+/10$ trong 0,5 ml (một liều tiêm/1 chuột).

Xác định hiệu giá huyết thanh kháng độc tố uốn ván
Hiệu giá huyết thanh kháng độc tố uốn ván là số đơn vị quốc tế (IU) kháng độc tố uốn ván có trong 1,0 ml huyết thanh thử nghiệm.
Pha huyết thanh kháng độc tố uốn ván chuẩn với nước muối sinh lý để có dung dịch chứa 0,5 IU/ml.
Pha độc tố uốn ván với dung dịch Jensen pepton để có dung dịch độc tố uốn ván chứa 5 $L^+/10$ trong 1 thể tích xác định.
Pha huyết thanh kháng độc tố uốn ván thử nghiệm với nước muối sinh lý để có các độ pha 1/2600; 1/2800; 1/3000; 1/3200; 1/3400;... tùy theo hiệu giá có thể có được của kháng độc tố uốn ván thử nghiệm.
Trong một dãy ống nghiệm, lần lượt cho vào mỗi ống: 1 thể tích dung dịch độc tố uốn ván chứa 5$L^+/10$; 1,0 ml dung dịch kháng độc tố uốn ván thử nghiệm ở mỗi độ pha loãng và nước muối sinh lý để vừa đủ 2,5 ml trong mỗi ống nghiệm.
Pha mẫu chứng: Cho vào 3 ống nghiệm lần lượt: Một thể tích dung dịch độc tố uốn ván chứa 5 $L^+/10$, một trong 3 lượng 0,9 ml: 1,0 ml; 1,1 ml dung dịch kháng độc tố uốn ván chuẩn chứa 0,5 IU/ml và sau đó một lượng nước muối sinh lý để vừa đủ 2,5 ml trong mỗi ống nghiệm.
Lắc đều các ống nghiệm và để yên ở 37 °C trong 45 min, tránh ánh sáng.
Tiêm 0,5 ml dưới da lưng cho mỗi chuột nhắt, dùng 4 chuột cho mỗi độ pha.
Theo dõi và ghi chép số chuột bị chết trong 96 h.

Cách tính hiệu giá

Thử nghiệm chỉ có giá trị khi mẫu chứng có chứa 0,9 ml và 1,0 ml dung dịch kháng độc tố uốn ván chuẩn gây chết 100 % chuột trong vòng 96 h và mẫu có chứa 1,1 ml dung dịch kháng độc tố uốn ván chuẩn không được gây chết chuột trong thời gian theo dõi.

Dung dịch nào có chứa lượng kháng độc tố uốn ván thử nghiệm lớn nhất không bảo vệ được chuột trong thời gian 96 h giống như mẫu chứng có chứa 1,0 ml dung dịch kháng độc tố uốn ván chuẩn sẽ có chứa 0,5 IU/ml.

Hiệu giá của huyết thanh kháng độc tố uốn ván được tính như sau:

$$\text{Hiệu giá (IU/ml)} = 0,5 \times N$$

Trong đó:

N là số lần pha loãng kháng độc tố uốn ván thử nghiệm;

0,5 là số IU có trong 1 ml dung dịch kháng độc tố uốn ván chuẩn dùng trong thử nghiệm.

15.17 XÁC ĐỊNH HIỆU GIÁ HUYẾT THANH KHÁNG DẠI

Hiệu giá huyết thanh kháng dại được xác định dựa trên nguyên lý của phản ứng trung hòa in vivo của một liều cố định virus dại thử thách với các độ pha loãng khác nhau của huyết thanh kháng dại.

Xác định hiệu giá của virus thử thách

Chủng virus dại thử thách được dùng trong thử nghiệm xác định hiệu giá của huyết thanh kháng dại là chủng CVS (Challenge virus strain), được giữ ở dạng hỗn dịch 20 % não chuột, bảo quản ở nhiệt độ -70 °C.

Làm tan băng nhanh ống đựng chủng virus dại thử thách dưới vòi nước chảy.

Pha loãng bậc 10 với dung dịch huyết thanh ngựa thường 2 % (đã được bất hoạt 30 min ở 56 °C) để có nồng độ từ 2×10^{-2}, 2×10^{-3} .... đến 2×10^{-9}.

Trong một dãy ống nghiệm, lần lượt cho vào mỗi ống: 0,5 ml hỗn dịch virus của mỗi độ pha loãng, từ 2×10^{-4} đến 2×10^{-9} và 0,5 ml dung dịch huyết thanh ngựa thường 2 %.

Lắc đều các ống, để yên ở 37 °C trong 90 min.

Tiêm 0,03 ml vào não của mỗi chuột nhắt, dùng 6 chuột cho mỗi độ pha, cân nặng mỗi chuột từ 14 g đến 16 g. Các ống chủng được giữ trong nước đá trong suốt quá trình tiêm.

Theo dõi và ghi chép số chuột bị chết từ ngày thứ 6 đến ngày thứ 20 sau khi tiêm.

Tính LD_{50} theo Spearman - Karber.

Xác định hiệu giá huyết thanh kháng dại

Pha loãng huyết thanh kháng dại chuẩn quốc tế, huyết thanh kháng dại thử nghiệm và trung hòa với virus thử thách:

Pha huyết thanh kháng dại chuẩn quốc tế với nước muối sinh lý để có dung dịch huyết thanh kháng dại chuẩn chứa 10 đơn vị quốc tế (IU)/ml.

Pha huyết thanh kháng dại thử nghiệm với nước muối sinh lý để có dung dịch huyết thanh kháng dại thử nghiệm chứa khoảng 10 IU/ml.

Pha loãng bậc 5 hai dung dịch trên với dung dịch huyết thanh ngựa thường 2 % để có các độ pha 1/5; 1/25; 1/125; 1/625 và 1/3125.

Pha hỗn dịch virus thử thách đã biết hiệu giá để có 200 LD_{50}/0,03 ml.

Trong một dãy các ống nghiệm, lần lượt cho vào mỗi ống: 0,5 ml huyết thanh kháng dại ở mỗi độ pha loãng và 0,5 ml hỗn dịch virus thử thách có chứa 200 LD_{50}/0,03 ml.

Lắc đều các ống nghiệm và để yên ở 37 °C trong 90 min.

Giữ các ống trong nước đá trong suốt quá trình tiêm.

Tiêm 0,03 ml vào não của mỗi chuột nhắt, dùng 6 chuột có cân nặng từ 14 g đến 16 g cho mỗi độ pha của kháng huyết thanh.

Theo dõi và ghi chép số chuột bị chết từ ngày thứ 6 đến ngày thứ 20 sau khi tiêm.

Xác định số LD_{50} của chủng virus dại trong thử nghiệm (nhóm chứng):

Từ hỗn dịch virus pha để trung hòa có chứa 200 LD_{50}/0,03 ml đã nêu ở trên, được xem là 10^0 để từ đó pha loãng bậc 10 thành 3 độ pha 10^{-1}; 10^{-2} và 10^{-3}.

Trong một dãy ống nghiệm, lần lượt cho vào mỗi ống: 0,5 ml hỗn dịch virus từ mỗi độ pha và 0,5 ml dung dịch huyết thanh ngựa thường 2 %.

Lắc đều các ống nghiệm và để yên ở 37 °C trong 90 min.

Giữ các ống trong nước đá.

Tiêm 0,03 ml vào não của mỗi chuột nhắt, dùng 6 chuột có cân nặng từ 14 g đến 16 g cho mỗi độ pha của hỗn dịch virus dại.

Theo dõi và ghi chép số chuột bị chết từ ngày thứ 6 đến ngày thứ 20 sau khi tiêm.

Tính LD_{50} theo bảng Spearman - Karber.

Tính kết quả

Thử nghiệm chỉ có giá trị khi số LD_{50} để trung hòa huyết thanh kháng dại là 100 LD_{50} đến 300 LD_{50} trong 0,03 ml.

Tính ED_{50} của huyết thanh kháng dại theo phương pháp Spearman - Karber.

Hiệu giá của huyết thanh kháng dại được tính ra đơn vị quốc tế trong 1 ml và bằng:

Antilog(ED_{50} huyết thanh chuẩn quốc tế: ED_{50} huyết thanh thử nghiệm) × 2 × N

Trong đó:

2 là số IU có trong 1 ml huyết thanh kháng dại chuẩn quốc tế dùng trong thử nghiệm;

N là số lần pha loãng huyết thanh kháng dại thử nghiệm.

15.18 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NITƠ TOÀN PHẦN CỦA VẮC XIN VÀ SINH PHẨM BẰNG THUỐC THỬ NESSLER

Nguyên lý

Phương pháp dựa vào tính chất của thuốc thử Nessler cho phản ứng màu với ion amoni (NH_4^+) được tạo thành sau khi vô cơ hóa các chất protein.

Phương pháp tiến hành

a. Chuẩn bị mẫu thử

Cho 0,2 ml chế phẩm và 0,2 ml *acid sulfuric (TT)* vào một ống thủy tinh và đem đốt trên bếp cát. Để tăng tốc độ phản ứng, thỉnh thoảng cho vài giọt *nước oxy già đậm đặc (TT)* vào ống đốt sau khi làm nguội. Khi chế phẩm đã được vô cơ hóa hoàn toàn, dung dịch mất màu, cho *nước cất* vừa đủ b ml thu được dung dịch A.

Lấy 1 ml dung dịch A vào ống nghiệm, thêm 8,5 ml nước cất và 0,5 ml thuốc thử Nessler, được mẫu thử.

b. Chuẩn bị mẫu trắng: 9,5 ml nước cất và 0,5 ml *thuốc thử Nessler (TT)*.

c. Dựng đường chuẩn

Hút dung dịch amoni sulfat chuẩn có hàm lượng nitơ 0,05 mg/ml vào các ống nghiệm theo thứ tự sau: 0,1 ml; 0,2 ml; 0,3 ml; 0,4 ml; 0,5 ml; 0,6 ml và 0,7 ml. Cho nước cất vừa đủ 9,5 ml và 0,5 ml *thuốc thử Nessler (TT)*.

Lắc đều các ống nghiệm.

Đo quang phổ ở bước sóng 420 nm.

Vẽ đường cong chuẩn.

Lượng nitơ toàn phần trong chế phẩm được tính theo công thức sau:

$$X(\%) = \frac{a \times b \times 6{,}25 \times 100}{1{,}0 \times 0{,}2 \times 1000}$$

Trong đó:

a là lượng Nitơ tìm được trên đường chuẩn (mg);

b là thể tích dung dịch A (ml);

6,25 là hệ số chuyển đổi nitơ thành protein;

100 là chuyển đổi thành phần trăm;

1,0 là lượng mẫu thử sau pha loãng đem so màu (ml);

0,2 là lượng mẫu thử đem vô cơ hóa (ml);

1000 là hệ số chuyển đổi g thành mg.

Dung dịch amoni sulfat chuẩn có hàm lượng nitơ 0,05 mg/ml: Cân 0,2375 g amoni sulfat (đã được sấy khô trong bình hút ẩm bằng silica gel đến khối lượng không đổi), hòa tan vào vừa đủ 500 ml nước cất. Dung dịch vừa pha có hàm lượng nitơ là 0,1 mg/ml, trước khi dùng pha loãng 2 lần bằng nước cất.

Tiêu chuẩn cho phép

Hàm lượng nitơ toàn phần trong vắc xin và sinh phẩm tùy theo yêu cầu đối với từng loại vắc xin và sinh phẩm cụ thể.

15.19 THỬ NGHIỆM NHẬN DẠNG THÀNH PHẦN BẠCH HẦU - UỐN VÁN - HO GÀ TRONG VẮC XIN DTwP HẤP PHỤ

Các thành phần bạch hầu, uốn ván, ho gà toàn tế bào trong vắc xin DTwP hấp phụ được tiến hành kiểm tra nhận dạng theo các bước như sau:

Giải hấp phụ

Vắc xin Bạch hầu - Uốn ván - Ho gà (toàn tế bào) hấp phụ được tách gel bằng cách cho thêm *natri citrat* với nồng độ 5 % ủ ở 37 °C trong 48 h. Sau đó ly tâm 2000 r/min trong 15 min. Hoặc ly tâm vắc xin ở 3000 r/min. Cho dung dịch EDTA-natri phosphat vào phần kết tủa sau ly tâm với nồng độ 20 %. Đánh đều tạo dung dịch đồng nhất. Ủ ở 37 °C trong 18 h. Ly tâm 3000 r/min trong 10 min. Nước nổi được dùng làm dung dịch kiểm tra. Nước nổi được dùng để nhận dạng thành phần bạch hầu và uốn ván bằng phản ứng lên bông, cặn ly tâm dùng để nhận dạng thành phần ho gà có trong vắc xin bằng phản ứng ngưng kết trên phiến kính với các huyết thanh kháng ho gà đặc hiệu.

Nhận dạng thành phần bạch hầu và uốn ván

Phương pháp lên bông

Phương pháp tiến hành (phản ứng lên bông).

Dùng 5 ống nghiệm thủy tinh có đường kính 10 mm, đánh số thứ tự từ 1 đến 5 để làm thử nghiệm kiểm tra sự có mặt của thành phần bạch hầu.

Dùng 5 ống nghiệm thủy tinh khác có đường kính 10 mm, đánh số thứ tự từ 6 đến 10 để làm thử nghiệm kiểm tra sự có mặt của thành phần uốn ván.

Huyết thanh chuẩn kháng độc tố bạch hầu hoặc uốn ván được pha loãng đến nồng độ 20 IU/ml.

Cho vào dãy ống nghiệm từ 1 đến 5 lượng huyết thanh chuẩn kháng độc tố bạch hầu tăng dần đều trong khoảng tương ứng với lượng kháng nguyên giải độc tố bạch hầu có trong nước nổi vắc xin. Tương tự, cho vào dãy ống nghiệm từ 6 đến 10 lượng huyết thanh chuẩn kháng độc tố uốn ván tăng dần đều trong khoảng tương ứng với lượng kháng nguyên giải độc tố uốn ván có trong nước nổi vắc xin.

Thêm *nước muối sinh lý* vào các ống cho đủ 1 ml.

Cho vào mỗi ống nghiệm 1 ml nước nổi.

Đậy các ống nghiệm bằng giấy parafin. Lắc đều và đặt vào nồi cách thủy ở nhiệt độ 45 °C. Quan sát liên tục dưới ánh đèn, ghi nhận thời gian của ống nghiệm đầu tiên xuất hiện sự lên bông và khoảng thời gian lên bông (Kf).

Đánh giá kết quả

Hàm lượng Lf/ml của thành phần bạch hầu hoặc uốn ván tính theo công thức:

$$\text{Lf/ml} = \frac{Vc \times a}{b}$$

Trong đó:

Vc là thể tích huyết thanh chuẩn kháng độc tố ở ống đầu tiên có sự lên bông (ml).

a là số đơn vị huyết thanh chuẩn kháng độc tố (IU/ml).

b là số ml nước nổi.

Hiện tượng lên bông xảy ra chỉ chứng tỏ trong mẫu thử nghiệm có chứa giải độc tố bạch hầu hoặc uốn ván chứ không phản ánh công hiệu của giải độc tố.

Ví dụ

Lượng huyết thanh chuẩn kháng độc tố bạch hầu (20 IU/ml) và lượng huyết thanh chuẩn kháng độc tố uốn ván (20 IU/ml) được cho vào các ống như sơ đồ sau:

Ống số	Thể tích huyết thanh (ml)	Ống số	Thể tích (ml)
1	0,3	6	0,16
2	0,4	7	0,18
3	0,5	8	0,20
4	0,6	9	0,22
5	0,7	10	0,24

Ống số 3 lên bông đầu tiên tức hàm lượng Lf/ml của thành phần bạch hầu có trong 1 ml vắc xin thử là:
(0,5 ml huyết thanh × 20 IU/ml)/1 ml = 10 Lf/ml
Tương tự, nếu thấy ống số 8 lên bông đầu tiên có nghĩa là hàm lượng Lf/ml của thành phần uốn ván có trong 1 ml vắc xin thử là 4 Lf/ml.
Hiện tượng lên bông xảy ra ở ví dụ này chứng tỏ trong mẫu thử nghiệm có chứa giải độc tố bạch hầu hoặc uốn ván chứ không phản ánh công hiệu của giải độc tố.

Phương pháp khuyếch tán miễn dịch kép trên thạch - Ouchterlony

Chuẩn bị các dung dịch:

Dung dịch 1: Dung dịch đệm Helena buffer

Cân 18 g đệm Helena Buffer, hoà tan trong nước cất 3 lần, pha loãng vừa đủ 1500 ml với cùng dung môi.

Dung dịch 2: Dung dịch EDTA 0,15 M, được pha như sau: Cân 2,8 g EDTA, hoà tan trong 40 ml *nước cất*, sau đó điều chỉnh pH về 8,0± 0,3 bằng *dung dịch natri hydroxyd (TT)*, thêm vừa đủ 50 ml dung dịch bằng *nước cất*. Sử dụng trong vòng 1 tháng kể từ ngày pha.

Dung dịch 3: Dung dịch dinatri hydrophosphat 0,25 M, được pha như sau: Cân 4,45 g *dinatri hydro phosphat (TT)*, hoà tan hoàn toàn trong 80 ml *nước cất*, thêm *nước cất* vừa đủ 100 ml. Sử dụng trong vòng 1 tháng kể từ ngày pha.

Dung dịch 4: Hỗn hợp bao gồm 0,1 ml dung dịch EDTA và 4,9 ml dung dịch dinatri phosphat.

Dung dịch 5: Pha loãng dung dịch kháng huyết thanh uốn ván (NIBSC, 66/21, 1400 IU/ống) trong 14 ml *nước cất pha tiêm* để tạo thành 100 IU/ml, lấy ra mỗi tuýp ly tâm 500 µl, sau đó bảo quản ở nhiệt độ dưới -20 °C.

Dung dịch 6: Pha loãng giải độc tố uốn ván chuẩn (NIBSC, TEFT, 1000 Lf/ống) trong 10 ml *nước cất pha tiêm* để tạo thành 100 IU/ml, lấy ra mỗi tuýp ly tâm 500 µl, sau đó bảo quản ở nhiệt độ dưới -20 °C.

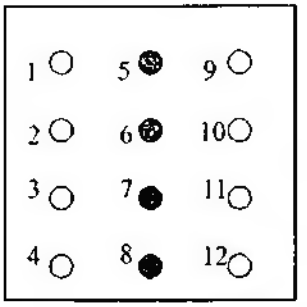
Giải hấp phụ

Ly tâm 5 ml vắc xin cần kiểm tra ở 3000 r/min trong 10 min. Lấy 1 ml *Dung dịch 4* cho vào phần kết tủa sau khi ly tâm, trộn đều (bằng voltex) để tạo được dung dịch đồng nhất. Để dung dịch thu được trong tủ ấm ở (37±1) °C ít nhất 18 h. Tiếp tục ly tâm dung dịch ở 3000 r/min trong 10 min. Chuyển phần dịch nổi sang 1 ống sạch làm dung dịch kiểm tra.

Tiến hành

Làm tan hoàn toàn (đến khi dung dịch trong suốt) dung dịch agarose 1 % trong *Dung dịch 1* bằng lò vi sóng hoặc đun cách thủy, để nguội đến (56 ± 1) °C.

Dùng pipet 25 ml chuyển 18 ml dung dịch agarose sang bản phim gelbond đã được cố định bằng khuôn thạch.
Để mẫu cố định trong 15 min (có thể đặt vào tủ lạnh nếu cần).
Dục bản gel thành các giếng có đường kính 4 mm, như chỉ dẫn ở hình sau:
Nhỏ 10 µl antitoxin/antiserum *Dung dịch 5* vào giếng 5; 6; 7; 8.
Nhỏ 20 µl *Dung dịch kiểm tra (*mẫu thử) vào giếng 1; 2; 3 và 10 µl vào giếng 9; 10;11.
Nhỏ 10 µl *Dung dịch 6 (*chứng dương) vào giếng 4, 10µl chứng âm *(dd 7)* vào giếng 12.
Đặt bản gel vào buồng ẩm bão hòa hơi nước trong 48 h.
Làm khô hoàn toàn bản gel (cho đến khi bản gel trong suốt) bằng giấy thấm nước.



Nhuộm màu: Ngâm bản gel trong dung dịch Coomassic stain solution (1X) 10 min, trong quá trình ngâm lắc nhẹ bản gel bằng máy lắc ngang.
Tẩy màu: Chuyển bản gel vào bình chứa dung dịch Destain solution Coomassic R-250 (1X). Lắc nhẹ bản gel trong 5 min.
Rửa lại bản gel bằng nước cất.
Để khô, đọc kết quả.

Đọc kết quả

Quan sát đường tủa màu xanh của kháng thể uốn ván chuẩn với giải độc tố uốn ván trong vắc xin tại vị trí *Dung dịch kiểm tra* (trong khoảng giữa giếng 1 và 9 với giếng 5, khoảng giữa giếng 2 và 10 với giếng 6, khoảng giữa giếng 3 và 11 với giếng 7).

Tiêu chuẩn đánh giá

Thử nghiệm có giá trị khi tuân thủ đúng quy trình (các yếu tố, điều kiện của quá trình thực hiện là đảm bảo không ảnh hưởng đến kết quả thí nghiệm).
Tại chứng dương, xuất hiện đường tủa của kháng thể uốn ván chuẩn với giải độc tố uốn ván chuẩn.
Tại chứng âm, không xuất hiện đường tủa.
Thử nghiệm được coi là có giá trị khi thỏa mãn cả 3 tiêu chuẩn trên. Nếu không thỏa mãn 1 trong 3 tiêu chuẩn, thử nghiệm được coi là không có giá trị.

Đánh giá

Vắc xin được coi là đạt tiêu chuẩn khi tại vị trí kiểm tra dung dịch (trong khoảng giữa giếng 1 và 9 với giếng 5, khoảng giữa giếng 2 và 10 với giếng 6, khoảng giữa giếng 3 và 11 với giếng 7) xuất hiện đường tủa màu xanh của kháng thể uốn ván chuẩn với giải độc tố uốn ván trong vắc xin.

Nếu kết quả không đạt mà thử nghiệm không có giá trị, lặp lại thử nghiệm như lần đầu.
Nếu kết quả không đạt mà thử nghiệm có giá trị thì lặp lại thử nghiệm với số lượng mẫu gấp đôi lần đầu.
Ở lần lặp lại, vắc xin được coi là đạt tiêu chuẩn khi tại vị trí kiểm tra dung dịch (trong khoảng giữa giếng 1 và 9 với giếng 5, khoảng giữa giếng 2 và 10 với giếng 6, khoảng giữa giếng 3 và 11 với giếng 7) xuất hiện đường tủa màu xanh của kháng thể uốn ván chuẩn với giải độc tố uốn ván trong vắc xin. Vắc xin được coi là không đạt yêu cầu khi không có đường kết tủa ở các vị trí trên.

Nhận dạng thành phần ho gà trong vắc xin DTwP
Cặn của vắc xin DTP hấp phụ sau khi ly tâm được ngưng kết trên phiến kính với kháng huyết thanh ho gà đặc hiệu týp 1, 2, 3.
Hiện tượng ngưng kết xảy ra chứng tỏ trong mẫu thử nghiệm có chứa vi khuẩn ho gà.

Tiêu chuẩn chấp thuận
Có hiện tượng lên bông khi làm phản ứng với huyết thanh chuẩn kháng độc tố bạch hầu, uốn ván và có phản ứng ngưng kết với huyết thanh chuẩn ho gà đặc hiệu typ 1, 2, 3.
Hàm lượng Lf/ml của giải độc tố bạch hầu ≤ 30 Lf/ml.
Hàm lượng Lf/ml của giải độc tố uốn ván ≤ 10 Lf/ml.

15.20 XÁC ĐỊNH ĐỘC TỐ THẦN KINH TỒN DƯ TRONG VẮC XIN BẠI LIỆT UỐNG

Khỉ dùng để thử nghiệm có cân nặng không dưới 1,5 kg. Dùng khỉ loài *Macaca* hoặc *Cercopithecus*. Hỗn dịch bán thành phẩm đã lọc phải thử song song với chế phẩm chuẩn bằng cách tiêm vào sừng trước tủy sống khỉ tại đoạn thắt lưng. Trước khi tiêm phải lấy máu khỉ và kiểm tra để chứng tỏ huyết thanh của chúng không chứa kháng thể trung hòa đối với từng týp virus bại liệt. Những tiêu bản tổ chức học khỉ đã đọc xong cần phải được lưu lại trong thời gian 10 năm để làm bằng chứng.

Số lượng khỉ
Vắc xin thử và mẫu chuẩn đồng týp cần thử nghiệm song song với số lượng khỉ bằng nhau. Phân chia ngẫu nhiên nhóm khỉ sẽ được tiêm vắc xin thử hoặc mẫu chuẩn. Phải đạt được ít nhất 11 khỉ dương tính cho vắc xin thử và ít nhất 11 khỉ dương tính cho mẫu chuẩn đối với týp 1 và týp 2 (khỉ dương tính là khỉ có những tổn thương thần kinh đặc hiệu do virus bại liệt ở hệ thần kinh trung ương nhưng không bị liệt). Đối với týp 3 phải có ít nhất 18 khỉ dương tính cho vắc xin thử và 18 khỉ dương tính cho mẫu chuẩn.
Có thể tiêm một lúc nhiều loạt vắc xin bán thành phẩm mà chỉ cần 1 mẫu chuẩn đồng týp.
Để có thể có được 11 và 18 khỉ dương tính thường là tiêm 12 và 20 khỉ tương ứng.
Gây mê khỉ bằng ketamin hydroclorid hoặc những thuốc gây mê phù hợp khác.

Hàm lượng virus của vắc xin thử và mẫu chuẩn trong liều tiêm
Hàm lượng virus của vắc xin thử và mẫu chuẩn đồng týp tiêm cho khỉ phải càng giống nhau càng tốt và nằm trong khoảng $10^{5,5}$ đến $10^{6,5}$ $CCID_{50}$/0,1 ml. Chỉ tiêm một đậm độ.

Theo dõi khỉ sau tiêm
Theo dõi khỉ sau tiêm từ 17 ngày đến 22 ngày để phát hiện triệu chứng nghi do virus bại liệt hoặc các virus khác. Những khỉ sống qua 24 h và chết trước 11 ngày sau tiêm cần phải giải phẫu để xác định xem có phải chết do virus bại liệt hay không.
Tất cả những khỉ chết do những nguyên nhân không phải virus bại liệt thì không tính vào kết quả nhưng vẫn phải ghi vào phiếu theo dõi.
Những khỉ liệt nặng hoặc hấp hối và tất cả những khỉ sống qua giai đoạn theo dõi đều phải giải phẫu đại thể và vi thể.

Số lượng các tiêu bản phải đánh giá
* Phải làm tiêu bản từng con khỉ để kiểm tra tổ chức học ít nhất các vùng sau:
Tủy sống: Vùng phình lưng, vùng phình cổ.
Phần trên và phần dưới của hành tủy.
Não giữa (mesocephalon).
Cầu não, tiểu não.
Đồi thị.
Vùng vận động của vỏ não.
Tiêu bản cắt mỏng 8 µm đến 15 µm và nhuộm gallocyanin hoặc nhuộm Nissl.
* Số tiêu bản tối thiểu phải kiểm tra như sau:
12 tiêu bản đại diện cho vùng phình lưng.
10 tiêu bản đại diện cho vùng phình cổ.
2 tiêu bản vùng hành tủy.
1 tiêu bản vùng cầu não và tiểu não.
1 tiêu bản não giữa.
Đồi thị phải và trái, mỗi bên 1 tiêu bản.
Vỏ não bán cầu phải và trái mỗi bên 1 tiêu bản.

Cho điểm hoạt tính virus trên tiêu bản
Dùng phương pháp cho điểm theo mức độ tổn thương để đánh giá hoạt tính của virus trong từng nửa tiêu bản. Kiểu tổn thương như là thâm nhiễm tế bào hoặc phá hủy tế bào thần kinh đều quan trọng, các tổn thương được cho điểm như sau:
Điểm 1 - Chỉ có thâm nhiễm tế bào (điểm này không đủ để tính là khỉ dương tính).
Điểm 2 - Thâm nhiễm tế bào và có hủy hoại nơron tối thiểu.
Điểm 3 - Thâm nhiễm tế bào với hủy hoại nhiều nơron.
Điểm 4 - Hủy hoại nhiều nơron có hoặc không có thâm nhiễm tế bào.
Ghi điểm và báo cáo theo biểu mẫu chuẩn.
Khỉ có tổn thương nơron nhưng không có vết tiêm vẫn được coi là khỉ (+).
Khỉ có vết tiêm trên tiêu bản nhưng không có tổn thương nơron là khỉ (-).
Tiêu bản có tổn thương do tiêm nhưng không có tổn thương virus đặc hiệu thì không tính điểm.

Đọc và cho điểm từng nửa tiêu bản (NTB) của vùng thắt lưng (L); cổ (C); não (B).
Điểm tổn thương của từng con khỉ dương tính được tính như sau:

$$LS = \frac{\frac{\text{Tổng số điểm L}}{\text{Tổng số NTB}} + \frac{\text{Tổng số điểm C}}{\text{Tổng số NTB}} + \frac{\text{Tổng số điểm B}}{\text{Tổng số NTB}}}{3}$$

Đánh giá thử nghiệm độc tính thần kinh
Dựa trên hoạt tính ở vùng phình lưng và mức độ lan truyền lên vùng phình cổ và não, so sánh hoạt tính giữa vắc xin thử và mẫu chuẩn.
Việc xuất xưởng hoặc hủy bỏ vắc xin dựa trên điểm tổng thể của toàn bộ súc vật thử nghiệm. Những khỉ có hoạt tính cao khác thường hoặc ở vùng thắt lưng hoặc ở mức độ lan truyền đều phải tính đến trong đánh giá cuối cùng.
Bán thành phẩm đã lọc đạt tiêu chuẩn nếu số khỉ dương tính đạt yêu cầu và không có khác biệt có ý nghĩa thống kê về lâm sàng cũng như tổ chức học giữa vắc xin thử và mẫu chuẩn.

15.21 XÁC ĐỊNH CÔNG HIỆU CỦA VẮC XIN BẠI LIỆT UỐNG

Xác định công hiệu (hiệu giá) của vắc xin bại liệt uống gồm 2 nội dung:
Xác định hiệu giá virus trong vắc xin bán thành phẩm (đơn týp).
Xác định hiệu giá virus trong vắc xin thành phẩm (tam liên).

Xác định hiệu giá virus trong vắc xin bán thành phẩm (đơn týp)

Nguyên tắc
Công hiệu của vắc xin phòng bại liệt uống được xác định bởi liều gây hủy hoại 50 % tế bào cảm thụ Hep-2 Cincinnati ($CCID_{50}$) trong phương pháp vi lượng.

Tiến hành
Pha loãng bậc 10 mẫu chuẩn và vắc xin cần thử từ 10^{-1} đến 10^{-8} bằng môi trường duy trì tế bào.
Cho 0,1 ml các đậm độ virus vào mỗi giếng của phiến nhựa, mỗi đậm độ dùng từ 8 giếng đến 10 giếng.
Cho 0,1 ml hỗn dịch tế bào chứa 1.10^4 tế bào Hep-2 vào mỗi giếng.
Đậy nắp phiến nhựa và cho các phiến nhựa vào tủ 5% CO_2, nhiệt độ nuôi cấy là 36 °C trong 7 ngày.

Theo dõi
Theo dõi sự hủy hoại của tế bào từ ngày thứ 3 đến ngày thứ 7.

Tính kết quả
Đọc kết quả cuối cùng vào ngày thứ 7 và xử lý số liệu theo phương pháp thống kê Reed-Muench hoặc Karber.
Thí nghiệm có giá trị nếu hiệu giá của vắc xin mẫu chuẩn sai số ± 0,5 so với hiệu giá đã biết (tính theo $\log_{10}$ hiệu giá).

Xác định hiệu giá của vắc xin bại liệt uống trong thành phẩm tam liên

Nguyên tắc
Vắc xin bại liệt uống tam liên bao gồm 3 týp virus bại liệt sống giảm độc, do đó cần xác định hiệu giá của từng týp thành phần (týp 1, týp 2, týp 3) và hiệu giá tổng cả 3 týp (týp 1 + týp 2 + týp 3). Muốn chuẩn độ hiệu giá của từng týp phải dùng kháng huyết thanh (KHT) đặc hiệu để trung hoà 2 týp còn lại. Hiệu giá của vắc xin Sabin được tính bằng lượng virus Sabin gây hủy hoại 50 % tế bào cảm thụ trong 1 liều dùng cho người (số $CCID_{50}$/0,1 ml) ($CCID_{50}$ Cell Culture Infective Dose).

Các bước tiến hành
Pha loãng bậc 0,5 log10 vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin thử bằng môi trường duy trì.
Pha hỗn dịch kháng huyết thanh số 1 chứa kháng huyết thanh týp 2 và týp 3.
Pha hỗn dịch kháng huyết thanh số 2 chứa kháng huyết thanh týp 1 và týp 3.
Pha hỗn dịch kháng huyết thanh số 3 chứa kháng huyết thanh týp 1 và týp 2.
Cho 0,05 ml/giếng hỗn dịch kháng huyết thanh số 1 vào phiến số 1 (xác định hiệu giá týp 1).
Cho 0,05 ml/giếng hỗn dịch kháng huyết thanh số 2 vào phiến số 2 (xác định hiệu giá týp 2).
Cho 0,05 ml/giếng hỗn dịch kháng huyết thanh số 3 vào phiến số 3 (xác định hiệu giá týp 3).
Cho 0,05 ml/giếng môi trường duy trì vào tất cả các giếng của phiến số 4 (xác định hiệu giá tổng).
Cho 0,05 ml của từng độ pha loãng vắc xin vào các dãy tương ứng của cả 4 phiến, mỗi độ pha loãng gây nhiễm 8 giếng. Bắt đầu gây nhiễm từ độ pha loãng cao nhất.
Thêm 0,05 ml môi trường duy trì vào các giếng chứng huyết thanh (SC - serum control) và chứng tế bào (CC- cell control).
Đậy nắp phiến cho vào tủ ấm 5% CO_2. Trong trường hợp để tủ ấm thường thì gói kín trong giấy bạc hoặc trong túi nilon.
Ủ ở nhiệt độ 36 °C trong vòng 3 h để virus và kháng huyết thanh đặc hiệu kết hợp với nhau.
Chuẩn bị hỗn dịch tế bào Hep-2 nồng độ $1 - 2 \times 10^5$/ ml rồi cho 0,1 ml hỗn dịch này vào toàn bộ các giếng của cả 4 phiến. Nồng độ này thường đảm bảo tế bào sẽ mọc thành 1 lớp trên phiến trong vòng 2 ngày đến 3 ngày.
Đậy nắp phiến rồi cho vào tủ ấm 5% CO_2. Trong trường hợp để ở tủ ấm thường thì dán kín bằng màng dán phiến (microtest film).
Ủ ở 36 °C trong 7 ngày.

Theo dõi và tính kết quả
Theo dõi sự hủy hoại của tế bào và tính kết quả như đã trình bày ở phần trên. Tế bào ở các giếng chứng huyết thanh và chứng tế bào phải phát triển tốt.

Vắc xin thành phẩm coi như đạt yêu cầu nếu:
Týp 1 có ít nhất $10^{6,0}$ $CCID_{50}$/0,1ml
Týp 2 có ít nhất $10^{5,0}$ $CCID_{50}$/0,1ml
Týp 3 có ít nhất $10^{5,5}$ $CCID_{50}$/0,1ml
Toàn bộ qui trình xác định công hiệu của vắc xin bại liệt uống phải được tiến hành trong điều kiện vô khuẩn

15.22 XÁC ĐỊNH CÔNG HIỆU THÀNH PHẦN UỐN VÁN TRONG VẮC XIN HẤP PHỤ CHỨA GIẢI ĐỘC TỐ UỐN VÁN

Công hiệu của thành phần uốn ván trong vắc xin DTwP được xác định bằng phương pháp so sánh liều hữu hiệu 50 % (ED_{50}) của vắc xin chuẩn và vắc xin thử. Kết quả được tính bằng phần mềm Probit analysis (phần mềm WHO program).

Miễn dịch

Pha vắc xin
Sử dụng ít nhất 3 đến 4 độ pha loãng bậc 2 nhưng không quá 5 độ pha cho cả vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin mẫu thử trong dung dịch đệm sinh lý (dung dịch natri clorid 0,85 %).
Các độ pha vắc xin được chọn trên nguyên tắc ED_{50} không nằm lệch ngoài khoảng giữa độ pha loãng cao nhất (liều miễn dịch thấp nhất) và độ pha loãng thấp nhất (liều miễn dịch cao nhất), có nghĩa là chọn sao cho ở độ pha loãng có thể bảo vệ được 50 % động vật thí nghiệm rơi vào giữa đường cong.
Tại mỗi phòng thí nghiệm có thể căn cứ vào các số liệu trước đó và chủng loại chuột sử dụng trong thử nghiệm để chọn độ pha phù hợp. Nếu không có các số liệu trước đó có thể tham khảo cách pha dưới đây.
Đối với vắc xin mẫu chuẩn, có thể chọn 3 độ pha bậc 2, trong đó độ pha loãng thấp nhất (độ pha đầu tiên) chứa 20 IU/ml. Các độ pha tiếp theo là 10 IU/ml và 5 IU/ml.
Đối với vắc xin thử, tuỳ theo hàm lượng kháng nguyên giải độc tố uốn ván chứa trong vắc xin và bản chất của loại vắc xin (hấp phụ, có hay không có thành phần ho gà) có thể chọn 1 trong 2 dải pha loãng bậc 2 với độ pha loãng đầu tiên 1/10 đến 1/15 (vắc xin TT, TD, Td) hay 1/25 đến 1/40 (vắc xin DTP, DTP-Hib – Heb...). Các độ pha tiếp theo theo bậc 2 tính từ độ pha đầu tiên.

Tiêm miễn dịch
Mỗi độ pha của vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin mẫu thử được tiêm dưới da ít nhất cho 16 chuột nhắt trắng khỏe mạnh, 4 đến 5 tuần tuổi, có cân nặng mỗi chuột từ 14 g đến 20 g nhưng không được chênh lệch quá 4 g, liều tiêm mỗi con 0,5 ml. Dùng chuột cùng giới tính; nếu không cùng giới tính phải chia đều số chuột đực, cái vào các nhóm và nhốt riêng.
Sau tiêm miễn dịch, chăm sóc và theo dõi chuột trong 28 ngày và tiến hành tiêm thử thách.

Tiêm thử thách

Xác định liều độc tố thử thách
Chỉ sử dụng độc tố có ít nhất 10000 LD_{50}/Lf. Độc tố được pha loãng ngay trước khi sử dụng để có các độ pha như: 0,0004 Lf/ml; 0,0002 Lf/ml; 0,0001 Lf/ml và 0,00005 Lf/ml.
Mỗi độ pha tiêm cho một nhóm gồm 5 con chuột nhắt trắng, mỗi chuột có cân nặng 16 g ± 0,3 g.
Theo dõi chuột hàng ngày trong 96 h, ghi lại số chuột còn sống trong mỗi độ pha.
Độ pha loãng độc tố gây chết 50 % số chuột vào ngày thứ 4 (sau 96 h) được tính là 1 LD_{50}.

Tiêm thử thách
Dựa vào kết quả LD_{50} được xác định ở trên để độ pha dung dịch độc tố thử thách tương ứng với 100 LD_{50}/ml trong dung dịch Jensen vô khuẩn có 1 % pepton.
Sau 28 ngày toàn bộ chuột đã miễn dịch bởi vắc xin mẫu chuẩn và mẫu thử được tiêm dưới da 0,5 ml với liều độc tố thử thách chứa 100 LD_{50}/ml (50 LD_{50}/0,5 ml).
Nhóm chuột chứng: Từ dung dịch độc tố thử thách pha thành 3 độ pha 2 LD_{50}, 1 LD_{50}, 0,5 LD_{50}. Mỗi độ pha tiêm cho 5 chuột nhắt trắng có cân nặng 16 g ± 0,3 g.

Theo dõi chuột
Theo dõi chuột thử thách hàng ngày trong 5 ngày. Ghi lại số chuột sống, chết, liệt ở mỗi độ pha miễn dịch của cả vắc xin mẫu thử và mẫu chuẩn.
Triệu chứng liệt uốn ván:
Liệt cứng hoặc co giật kích động (sau thử thách 2 ngày).
Chuột đi nhón cao chân và chân sau liệt co cứng tiếp đến 2 chân trước. Khi nắm vào chuột cảm thấy rất cứng do các cơ bị co cứng, cổ cong vẹo về phía lưng. Khi kích thích bằng tiếng động như quẹt bút trên nắp thanh lồng chuột, những chuột này sẽ phản ứng bằng cách co cứng cơ hoặc co giật.

Tính kết quả

Dựa vào số chuột sống sót trong mỗi độ pha, công hiệu được xác định bằng phương pháp Probit analysis (Phần mềm WHO program).

Thử nghiệm có giá trị tin cậy nếu:
Liều độc tố thử thách chứng minh được chứa từ 50 đến 200 LD_{50}.
Ở độ pha loãng thấp nhất (liều miễn dịch cao nhất) bảo vệ được trên 50 % động vật thí nghiệm.
Ở độ pha loãng cao nhất (liều miễn dịch thấp nhất) bảo vệ được ít hơn 50 % động vật thí nghiệm. Đồ thị biểu diễn sự tương quan giữa liều miễn dịch và đáp ứng trên chuột của cả vắc xin chuẩn và vắc xin thử phải song song và tuyến tính.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Tiêu chuẩn công hiệu của thành phần uốn ván trong vắc xin tùy theo tiêu chuẩn qui định của Tổ chức y tế thế giới cho loại vắc xin đó. Trong đó giới hạn tin cậy, công hiệu của vắc xin phải nằm trong khoảng từ 50 % đến 200 % so với công hiệu qui định và giới hạn dưới phải đạt tối thiểu bằng tiêu chuẩn công hiệu qui định của vắc xin đó.

15.23 XÁC ĐỊNH CÔNG HIỆU THÀNH PHẦN BẠCH HẦU TRONG VẮC XIN HẤP PHỤ CHỨA GIẢI ĐỘC TỐ BẠCH HẦU

Xác định công hiệu của giải độc tố bạch hầu hoặc thành phần bạch hầu trong vắc xin phối hợp, hấp phụ được xác định bằng 1 trong 2 phương pháp: Thử thách trên chuột lang hoặc chuẩn độ huyết thanh chuột nhắt trên tế bào Vero.

PHƯƠNG PHÁP THỬ THÁCH TRÊN CHUỘT LANG

Miễn dịch cho chuột

Sử dụng ít nhất 3 độ pha loãng bậc 2 (nhưng không quá 5 độ pha) cho cả vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin thử. Mỗi độ pha dùng ít nhất 16 chuột lang khoẻ mạnh, 3 đến 5 tuần tuổi, chưa sử dụng cho bất kỳ mục đích nào trước đó. Cân nặng mỗi chuột từ 250 g đến 350 g. Có thể sử dụng chuột khác giới nhưng phải phân chia đều cho các độ pha vắc xin và nhốt riêng lồng.

Các vắc xin được pha bằng nước muối sinh lý vô khuẩn và lựa chọn các độ pha sao cho ED_{50} trung bình không nằm ngoài các độ pha loãng của vắc xin. Mỗi chuột trong các nhóm miễn dịch được tiêm dưới da 1 ml huyễn dịch của độ pha vắc xin tương ứng. Thời gian miễn dịch là 28 ngày. Chọn ra 3 nhóm chuột đối chứng, mỗi nhóm 4 con đến 6 con, không tiêm gì và nuôi song song với các nhóm chuột miễn dịch bởi vắc xin.

Ví dụ pha vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin mẫu thử như sau:

Vắc xin bạch hầu mẫu chuẩn chứa 180 IU/ống được hoàn nguyên trong 18 ml nước muối sinh lý (NMSL), pha thành ít nhất 3 độ pha loãng bậc 2 để có các độ pha tương ứng với 10 IU/ ml; 5 IU/ ml và 2,5 IU/ ml như sau:

A (1/18) = 1 ống vắc xin mẫu chuẩn + 18 ml NMSL
B (1/36) = 9 ml A + 9 ml NMSL
C (1/72) = 9 ml B + 9 ml NMSL

Vắc xin mẫu thử cũng được pha thành ít nhất 3 độ pha loãng bậc 2 bằng nước muối sinh lý vô khuẩn như sau:

A (1/ 20) = 1 ml vắc xin mẫu thử + 19 ml NMSL
B (1/40) = 9 ml A + 9 ml NMSL
C (1/80) = 9 ml B + 9 ml NMSL

Thử thách

Độc tố bạch hầu dùng cho thử thách phải có ít nhất 10 000 LD_{50}/Lf. Sau 4 tuần, toàn bộ chuột lang đã tiêm miễn dịch được tiêm thử thách dưới da 1 ml độc tố bạch hầu chứa 100 LD_{50}/ml.

Pha loãng độc tố bạch hầu để có dung dịch chứa 1 LD_{50}, dùng tiêm dưới da cho nhóm chuột đối chứng, mỗi con 1 ml.

Theo dõi chuột hàng ngày trong 5 ngày, ghi lại số chuột sống và chết trong mỗi độ pha miễn dịch và các nhóm chuột đối chứng.

Tính kết quả

Căn cứ vào số chuột sống sót trong mỗi độ pha vắc xin vào ngày thứ 5 sau khi thử thách, công hiệu vắc xin được xác định bằng phương pháp Probit analysis.

Vắc xin đạt yêu cầu về công hiệu bạch hầu nếu có không ít hơn 30 IU trong một liều đơn vắc xin cho người với điều kiện 95 % khoảng tin cậy của công hiệu tìm được nằm trong giới hạn từ 50 % đến 200 %, hoặc khi giới hạn cận dưới của 95 % khoảng tin cậy của công hiệu ≥ 30 IU trong một liều đơn vắc xin cho người.

Thử nghiệm có giá trị khi:

Liều thử thách chứng minh chứa xấp xỉ 50 - 200 LD_{50}/ml. Giá trị ED_{50} trung bình của vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin thử nằm trong khoảng giữa liều miễn dịch thấp nhất và cao nhất.

Thử nghiệm cần đáp ứng được tiêu chuẩn về tính tuyến tính và tính song song giữa liều miễn dịch và sự đáp ứng của chuột giữa vắc xin chuẩn và mẫu thử.

PHƯƠNG PHÁP CHUẨN ĐỘ HUYẾT THANH CHUỘT NHẮT TRÊN TẾ BÀO VERO

Miễn dịch cho chuột

Mỗi vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin mẫu thử được tiến hành 4 độ pha loãng bậc 2. Các vắc xin được pha loãng bởi nước muối sinh lý vô khuẩn. Lựa chọn các độ pha vắc xin căn cứ vào hàm lượng giải độc tố bạch hầu có trong từng loại vắc xin.

Mỗi độ pha dùng ít nhất 8 chuột nhắt trắng khỏe mạnh, chưa sử dụng cho bất kỳ mục đích nào trước đó. Cân nặng chuột từ 12 g/con đến 14 g/con, 3 đến 4 tuần tuổi, cùng giới (nếu khác giới phải phân đều cho các độ pha khác nhau và nhốt riêng lồng).

Mỗi chuột trong từng nhóm được tiêm dưới da 0,5 ml huyễn dịch vắc xin tương ứng với từng độ pha của vắc xin mẫu thử và mẫu chuẩn. Thời gian miễn dịch là 5 tuần.

Ví dụ: Pha vắc xin mẫu chuẩn và thử như sau:

Vắc xin bạch hầu mẫu chuẩn chứa 688 IU được hoàn nguyên trong 8 ml nước muối sinh lý để có hỗn dịch (*) chứa 88 IU/ ml. Tiếp tục pha loãng bậc 2 để có 4 độ pha A - B - C - D như sau:

A (1/2) = 8 ml (*) + 8 ml NMSL
B (1/4) = 8 ml A + 8 ml NMSL
C (1/8) = 8 ml B + 8 ml NMSL
D (1/16) = 8 ml C + 8 ml NMSL

Ví dụ vắc xin thử pha như sau:

A (1/5) = 4 ml vắc xin + 16 ml NMSL
B (1/10) = 8 ml A + 8 ml NMSL
C (1/20) = 8 ml B + 8 ml NMSL
D (1/40) = 8 ml C + 8 ml NMSL

Lấy máu và thu thập huyết thanh chuột miễn dịch

Sau khi tiêm miễn dịch 5 tuần, mỗi chuột được lấy máu riêng rẽ (lấy máu tim bằng bơm tiêm loại 1 ml vô trùng) và tách lấy huyết thanh miễn dịch. Huyết thanh được bất hoạt ở 56 °C trong 30 min. Sau đó có thể giữ các mẫu huyết thanh chuột miễn dịch ở nhiệt độ -20 °C chờ đến khi chuẩn độ huyết thanh trên tế bào.

Chuẩn độ kháng thể kháng bạch hầu trên tế bào Vero

Chuẩn bị tế bào Vero

Chuẩn bị môi trường M199:

Môi trường M199 bột khô hòa tan trong nước cất 2 lần. Điều chỉnh đến pH 7,0 - 7,2 bằng *dung dịch natri bicarbonat*. Môi trường nuôi cấy tế bào có chứa penicilin và streptomycin và 5 % đến 10 % huyết thanh bào thai bê.

Nuôi tế bào Vero:

Tế bào Vero giữ trong nitrogen lỏng được lấy ra và làm tan băng nhanh dưới vòi nước. Ly tâm loại bỏ phần nước. Cặn được hòa trong môi trường M199 và nuôi trong chai nhựa 25 cm^2 ủ ở 37 °C. Sau 4 đến 6 ngày, khi tế bào mọc kín thành một lớp, dùng dung dịch trypsin 0,25 % tách tế bào và cấy chuyển qua chai nuôi tế bào 75 cm^2. Tiếp tục ủ ở 37 °C trong 4 ngày đến 6 ngày. Khi tế bào mọc kín thành một lớp, dùng dung dịch trypsin 0,25 % tách tế bào. Pha thành hỗn dịch tế bào có đậm độ là $2,5 \times 10^5$ tế bào/ml dùng để chuẩn độ.

Tìm liều độc tố bạch hầu ức chế tế bào Lm/10 000

Liều độc tố Lm/10 000 là liều độc tố tối thiểu sau khi trung hòa với 0,0001 IU kháng độc tố bạch hầu còn khả năng ức chế sự phát triển của tế bào Vero.

Xác định liều Lm/10 000 của độc tố bạch hầu bằng phương pháp sau đây:

Độc tố bạch hầu chuẩn được pha loãng thành nhiều nồng độ khác nhau trong môi trường M199 để có nồng độ khoảng 0,2 Lf/ml.

Pha loãng độc tố bạch hầu 0,2 Lf/ml trên phiến chuẩn độ từ cột 1 đến 11.

Thêm huyết thanh chuẩn kháng bạch hầu có nồng độ 0,002 IU/ml vào các giếng trên.

Sau khi ủ phiến 1 h ở nhiệt độ phòng, thêm vào tất cả các giếng dung dịch tế bào vero có nồng độ $2,5 \times 10^5$ tế bào/ml.

Lắc nhẹ và dán kín phiến bằng giấy dán phiến.

Ủ ở 37 °C trong 5 ngày đến 6 ngày.

Đọc kết quả và tính liều Lm/10 000 của độc tố bạch hầu.

Chuẩn độ kháng thể kháng bạch hầu trên tế bào Vero

Mỗi phiến dùng để chuẩn độ 8 mẫu huyết thanh của 1 độ pha vắc xin.

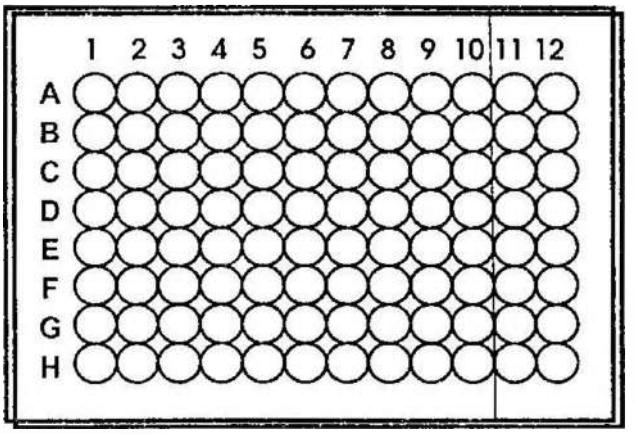
Cho 50 µl môi trường M199 vào tất cả các giếng của phiến (trừ giếng A_{11} và A_{12}). Riêng giếng G_{11}, G_{12}, H_{11}, H_{12} cho 100 µl.

Lấy 8 mẫu huyết thanh chuột đã tiêm miễn dịch của mỗi độ pha vắc xin cho lần lượt vào các giếng từ A_1 đến H_1, mỗi giếng 50 µl. Pha loãng bậc 2 từ dãy số 1 đến dãy số 10. Huyết thanh chuẩn kháng bạch hầu có 10 IU/ml pha thành 0,008 IU/ ml (**).

Cho 50 µl huyết thanh (**) vào các giếng A_{11}, A_{12} và B_{11}, B_{12}. Từ B_{11} và B_{12} pha loãng bậc 2 xuống C_{11}, C_{12} và D_{11}, D_{12}; sau khi pha loãng và trộn đều ở các giếng D_{11}, D_{12} thì bỏ đi 50 µl ở mỗi giếng trong 2 giếng này.

Pha độc tố chuẩn để có liều Lm/10000, cho 50 µl độc tố vào tất cả các giếng trừ giếng G_{11}, G_{12}, H_{11}, H_{12} (chứng tế bào).

Lắc phiến và ủ 1 h ở nhiệt độ phòng. Cho thêm vào các giếng 50 µl hỗn dịch tế bào có đậm độ $2,5 \times 10^5$ tế bào/ml. Dán kín phiến bằng màng dán phiến và để ở 37 °C trong 5 ngày đến 6 ngày. Đọc kết quả.



Cách đọc và tính kết quả

Có thể đọc kết quả bằng cách trực tiếp soi các giếng chuẩn độ dưới kính hiển vi phản pha hoặc dựa vào việc đổi màu để phân biệt giếng "âm tính" và "dương tính". Sự thay đổi màu từ đỏ sang vàng được coi như không có sự ức chế trao đổi chất do các độc tố đã bị trung hòa bởi các kháng thể kháng độc tố. Hiệu giá kháng thể được tính theo điểm là giếng cuối cùng vẫn còn tế bào mọc (môi trường có màu vàng).

Căn cứ vào số giếng "dương tính", tính kết quả theo phần mềm Parallel line (phần mềm WHO program).

Thử nghiệm có giá trị khi:

Giếng A_{11} - D_{11} và A_{12} - D_{12} cho thấy rõ liều Lm/10000 được pha đúng: Sau 6 ngày không xảy ra sự ức chế trao đổi chất ở giếng A_{11} - A_{12} và B_{11} - B_{12} (màu vàng). Ngược lại có xảy ra sự ức chế trao đổi chất ở giếng C_{11} - C_{12} và D_{11} - D_{12} (màu đỏ).

Sự ức chế trao đổi chất sẽ xảy ra ở giếng E_{11} - E_{12} và F_{11} - F_{12} (màu đỏ) là những giếng chứng độc tố (không có kháng huyết thanh để trung hòa độc tố nên độc tố đã gây hủy hoại tế bào).

Ở các giếng G_{11} - G_{12} và H_{11} - H_{12} các tế bào phát triển bình thường và môi trường có màu vàng, đó là những giếng chứng tế bào (không có độc tố và kháng huyết thanh bạch hầu).

Thử nghiệm phải đạt được các tiêu chuẩn đặt ra trong thử nghiệm Parallel line nghĩa là phải tạo được đường thẳng và đường song song trong mối tương quan giữa liều miễn dịch và đáp ứng.

Trị số Yg của vắc xin chuẩn (là số các giếng dương tính trung bình ở mỗi độ pha vắc xin) sẽ phải nằm trong giá trị trung bình tích lũy ± 2SD của tất cả các thí nghiệm tiến hành trước đó.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Vắc xin đạt yêu cầu về công hiệu bạch hầu nếu có không ít hơn 30 IU trong một liều đơn vắc xin cho người với điều

kiện 95 % khoảng tin cậy của công hiệu tìm được nằm trong giới hạn từ 50 % đến 200 %, trừ khi giới hạn cận dưới của 95 % khoảng tin cậy của công hiệu ≥ 30 IU trong liều đơn vắc xin cho người.

Nếu kết quả không đạt yêu cầu nhưng thử nghiệm có giá trị (valid test) thì phải nhắc lại thử nghiệm trên mẫu huyết thanh miễn dịch còn lưu và làm thử nghiệm kép. Kết quả sẽ là giá trị trung bình của 2 thử nghiệm nhắc lại. Nếu thử nghiệm nhắc lại đạt yêu cầu thì loạt vắc xin được coi là đạt công hiệu thành phần bạch hầu. Nếu thử nghiệm nhắc lại không đạt yêu cầu, loạt vắc xin bị coi là không đạt công hiệu thành phần bạch hầu và phải hủy bỏ.

Nếu kết quả không đạt yêu cầu nhưng thử nghiệm không có giá trị (invalid test) thì chỉ cần nhắc lại thử nghiệm với số lượng mẫu và số lượng chuột bằng lần 1 (trình tự thử nghiệm lặp lại giống lần 1). Nếu ở lần thử nghiệm nhắc lại vẫn không đạt yêu cầu thì loạt vắc xin bị coi là không đạt yêu cầu về công hiệu thành phần bạch hầu và phải hủy bỏ.

15.24 XÁC ĐỊNH CÔNG HIỆU THÀNH PHẦN HO GÀ TOÀN TẾ BÀO TRONG VẮC XIN PHỐI HỢP, HẤP PHỤ

Công hiệu của vắc xin ho gà trong vắc xin được xác định bằng cách so sánh liều hữu hiệu 50 % (ED_{50}) của vắc xin mẫu chuẩn so với vắc xin mẫu thử. Kết quả được tính bằng phương pháp Probit analysis (phần mềm WHO program).

Pha vắc xin

Sử dụng ít nhất 3 độ pha loãng bậc 5 nhưng không quá 5 độ pha cho cả vắc xin chuẩn và vắc xin thử. Pha vắc xin trong một loại dung dịch đệm sinh lý (dung dịch natri clorid 0,85 %). Các độ pha vắc xin được chọn dựa vào các số liệu trước đó và tùy thuộc vào chủng loại chuột thí nghiệm nhưng phải dựa trên nguyên tắc ED_{50} không được lệch ngoài khoảng giữa độ pha loãng cao nhất và độ pha loãng thấp nhất.

Nếu không có sẵn số liệu trước đó có thể pha 3 độ pha bậc 5 của vắc xin chuẩn và vắc xin thử như ví dụ dưới đây:

Vắc xin mẫu chuẩn

A = 1/30 =	1 ống mẫu chuẩn		+ 30 ml NMSL
B = 1/150 =	5 ml	A	+ 20 ml NMSL
C = 1/750 =	5 ml	B	+ 20 ml NMSL

Vắc xin DTwP mẫu thử

A = 1/5 =	5 ml vắc xin mẫu thử		+ 20 ml NMSL
B = 1/25 =	5 ml dung dịch A		+ 20 ml NMSL
C = 1/125 =	5 ml dung dịch B		+ 20 ml NMSL

Tiêm miễn dịch

Chọn chuột nhắt trắng có cân nặng từ 10 g đến 18 g, nhưng các chuột trong một thử nghiệm không được chênh lệch khối lượng quá 4 g. Dùng chuột cùng giới, nếu khác giới phải chia đều số chuột đực, cái vào các nhóm và nhốt riêng. Chuột được tiêm miễn dịch sau khi đã được ăn uống đầy đủ 1 h. Tiêm ổ bụng 0,5 ml/chuột. Mỗi độ pha vắc xin tiêm cho một nhóm chuột, số lượng chuột trong mỗi nhóm tùy theo kết quả thẩm định thử nghiệm nhưng không được ít hơn 20 chuột. Tiêm miễn dịch theo thứ tự từ độ pha loãng nhất (từ độ pha C đến A) cho cả loạt vắc xin mẫu thử và mẫu chuẩn.

Bốn nhóm chuột đối chứng: Mỗi nhóm 10 con, được nuôi song song với nhóm chuột miễn dịch dùng để kiểm chứng độc lực của chủng thử thách.

Trong thời gian miễn dịch (14 ngày đến 17 ngày), chuột phải khỏe và tăng trọng bình thường, ít nhất 94 % số chuột đã được miễn dịch ở mỗi độ pha của cả vắc xin mẫu chuẩn và vắc xin thử nghiệm phải được sống sót và khỏe mạnh cho đến ngày thử thách.

Tiêm thử thách

Sau 14 ngày đến 17 ngày miễn dịch, chuột được thử thách với chủng *B. pertussis* 18323. Chủng thử thách có thể dùng chủng tươi hoặc chủng ở dạng huyền dịch đông băng (10 tỷ vi khuẩn ho gà) được bảo quản trong nitơ lỏng. Chủng thử thách được pha trong dung dịch casein 1 %. LD_{50} của chủng thử thách phải nằm trong khoảng 100 đến 1000 vi khuẩn.

Cách pha dung dịch casein 1 %

Hòa tan 10 g bột casein trong 1000 ml nước cất 2 lần, cho thêm 2,3 g natri clorid. Điều chỉnh đến pH 7 - 7,2 bằng dung dịch natri hydroxyd hoặc acid hydrocloric loãng. Hấp 121 °C trong 30 min.

Dung dịch casein 1 % phải được kiểm tra an toàn bằng cách tiêm vào não cho 5 chuột nhắt, mỗi con 0,02 ml. Theo dõi 3 ngày, toàn bộ chuột thí nghiệm phải sống. Nếu có 1 chuột chết phải pha lại dung dịch.

Cách pha hỗn dịch vi khuẩn để kiểm tra liều LD_{50} và để thử thách

Chủng *B. pertussis* 18323 được cấy truyền đời 2 hoặc đời 3 trên môi trường Bordet - Gengou có chứa 15 % máu cừu hoặc ngựa, huyền dịch vi khuẩn ho gà gặt từ nuôi cấy 20 h đến 22 h được dùng để pha thành hỗn dịch thử thách hoặc sử dụng huyền dịch vi khuẩn ho gà đậm độ 10 tỷ vi khuẩn/ml đã bảo quản trong nitrogen lỏng để pha dung dịch thử thách. Trong khi pha cũng như trong khi tiêm thử thách, hỗn dịch vi khuẩn ho gà phải giữ trong đá lạnh. Thời gian bắt đầu pha đến khi tiêm xong hỗn dịch vi khuẩn thử thách không được quá 150 min. Xác định đậm độ vi khuẩn ho gà bằng mắt thường khi so với ống độ đục chuẩn quốc tế 10 IOU hoặc đo OD bằng máy quang phổ kế để tính số vi khuẩn ho gà trong hỗn dịch gặt. Pha loãng huyền dịch vi khuẩn ho gà bằng casein 1 % để có nồng độ là 10×10^9 vi khuẩn/ml (*). Nếu sử dụng chủng ho gà được bảo quản trong nitơ lỏng thì phải làm tan băng nhanh trước khi thử thách. Các độ pha loãng của chủng ho gà được pha theo sơ đồ dưới đây (Ví dụ 1) trong dung dịch casein 1 %.

Ví dụ 1: Sơ đồ các độ pha loãng của chủng ho gà trong dung dịch casein 1 %
Chủng *B. pertussis* 18323 giữ trong nitrogen lỏng là 10×10^9/ml (*) = A_0

A1	=	1/2	=	5×10^9/ ml	=	1 ml A_0	+	1 ml đệm Casein 1 %
A2	=	1/4	=	5×10^9/ 2 ml	=	1 ml A1	+	1 ml đệm Casein 1 %
A3	=	1/40	=	5×10^8/ 0,02 ml	=	1 ml A2	+	9 ml đệm Casein 1 %
A4	=	1/400	=	5×10^7/ 0,02 ml	=	1 ml A3	+	9 ml đệm Casein 1 %
A5	=	1/2000	=	100 000/0,02 ml	=	3 ml A4	+	12 ml đệm Casein 1 %
A6	=	1/20000	=	10 000/0,02 ml	=	1 ml A5	+	9 ml đệm Casein 1 %
A7	=	1/100000	=	2000/0,02 ml	=	1 ml A6	+	4 ml đệm Casein 1 %
A8	=	1/500000	=	400/0,02 ml	=	1 ml A7	+	4 ml đệm Casein 1 %
A9	=	1/2500000	=	80/0,02 ml	=	1 ml A8	+	4 ml đệm Casein 1 %

Tiêm chuột

Sau 14 ngày đến 17 ngày, toàn bộ chuột đã miễn dịch bởi vắc xin mẫu chuẩn và mẫu thử được tiêm thử thách vào não, mỗi con nhận 0,02 ml hỗn dịch chứa 100 000 vi khuẩn (độ pha A5) bằng một bơm tiêm bán tự động Hamilton.

Nhóm chuột đối chứng, mỗi nhóm 10 con được tiêm với các độ pha từ A6 đến A9 tương ứng với hỗn dịch chứa 10 000 vi khuẩn; 2000 vi khuẩn; 400 vi khuẩn và 80 vi khuẩn.

Độ pha hỗn dịch chứa 80 vi khuẩn sẽ được cấy ít nhất trên 2 đĩa thạch Bordet Gengou sau khi pha xong hỗn dịch và sau khi kết thúc tiêm thử thách. Ủ đĩa thạch ở 35 °C trong 3 ngày đến 4 ngày, đếm số khuẩn lạc mọc. Thông thường số khuẩn lạc đạt khoảng 30 %.

Lưu ý:

Trong quá trình pha và tiêm thử thách, dung dịch chủng phải luôn giữ trong đá lạnh.

Thời gian tính từ khi bắt đầu pha chủng đến khi kết thúc thử nghiệm không được quá 2,5 h.

Tất cả vật liệu chứa chủng ho gà đều phải tiệt trùng bằng nồi hấp 121 °C trong 15 min đến 20 min hoặc luộc sôi trong 30 min trước khi rửa dụng cụ.

Những chuột chết trong 3 ngày đầu sau tiêm thử thách được coi là chuột chết không mang tính đặc hiệu của ho gà. Do đó chỉ những chuột chết từ ngày thứ 4 đến ngày 14 mới được tính kết quả.

Ngày thứ 14 sau thử thách: Tất cả những chuột chết, hay có dấu hiệu liệt rõ và sưng phồng tấy đầu đều được tính là chuột chết.

Tính kết quả

Dựa vào số chuột sống sót trong mỗi nhóm chứng, dùng phương pháp Reed Muench để tính LD_{50} của chủng thử thách. Xem ví dụ 2.

Ví dụ 2:

Số Vi khuẩn	Số Chuột	Số Sống	Số Chết	Số tích lũy		Tổng số	% chết
				Sống	Chết		
10 000	10	1	9	1	22	23	95
2 000 (B)	10	3	7	4	13	17	76 (b)
400 (A)	10	6	4	10	6	16	37 (a)
80	10	8	2	18	2	20	10

Theo ví dụ trên, LD_{50} nằm trong khoảng giữa 2 liều 2000 và 400 vi khuẩn, số % chuột chết tương ứng với liều sát trên 50 % là 76 %, số % chuột chết tương ứng liều sát dưới 50 % là 37 %

Tính LD_{50} công thức sau:

$$\lg LD_{50} = \lg A + \frac{50 - a}{b - a} \times \lg f$$

Trong đó:

A là liều gây chết vừa sát dưới 50 % (trong ví dụ trên là 400);

A là % chết tương ứng với A (trong ví dụ trên là 37 %);

B là liều gây chết vừa sát trên 50 % (trong ví dụ trên là 2000);

b là % chết tương ứng với B (trong ví dụ trên là 76 %);

f là hệ số pha loãng (trong thử nghiệm này là pha loãng bậc 5).

Thay bằng con số cụ thể là:

$$\lg LD_{50} = \lg 400 + \frac{50 - 37}{76 - 37} \times \lg 5$$

LD_{50} = 680 vi khuẩn

Dùng phần mềm Probit analysis của WHO program để tính công hiệu của vắc xin ho gà.

Thử nghiệm được coi là có giá trị khi:

ED_{50} của vắc xin chuẩn và ED_{50} vắc xin thử nghiệm nằm giữa độ pha loãng nhất và độ pha đặc nhất của các vắc xin đó.

Trong suốt thời gian miễn dịch cho đến ngày thử thách số chuột trong mỗi độ pha không được chết quá 6 %.

Liều thử thách phải chứa 100 đến 1000 LD_{50}, như vậy liều LD_{50} phải chứa 100 đến 1000 vi khuẩn.

Thử nghiệm phải đạt được tiêu chuẩn của chương trình Probit Analysis. Yêu cầu thể hiện bằng sự tương quan giữa liều miễn dịch và đáp ứng trên chuột (tính tuyến tính) và tương quan giữa vắc xin chuẩn và vắc xin thử (tính song song).

Tiêu chuẩn chấp thuận

Vắc xin đạt yêu cầu nếu công hiệu không ít hơn 4 IU trong một liều đơn vắc xin cho người và giới hạn dưới của 95 % khoảng tin cậy của công hiệu tìm được không ít hơn 2 IU trong một liều đơn vắc xin cho người.

Nếu thử nghiệm lần 1 có giá trị (valid) và đạt tiêu chuẩn chấp thuận thì vắc xin đó coi như đạt yêu cầu về công hiệu. Nhưng nếu không đạt tiêu chuẩn chấp thuận thì thử nghiệm đó phải được làm nhắc lại. Công hiệu vắc xin đạt tiêu chuẩn chấp thuận khi kết quả trung bình nhân của các lần thử nghiệm có giá trị không thấp hơn tiêu chuẩn chấp thuận cho phép.

Nếu lần 1 không đạt yêu cầu và thử nghiệm không có giá trị (invalid) thì phải làm lại thử nghiệm. Kết quả lần thử nghiệm đầu sẽ không được dùng để xem xét. Nếu kết quả lần thử nghiệm nhắc lại có giá trị và đạt tiêu chuẩn chấp thuận thì loạt vắc xin đó coi như đạt yêu cầu về công hiệu. Nếu không đạt yêu cầu thì phải làm lại như ở trên.

15.25 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG FORMALDEHYD TỒN DƯ TRONG VẮC XIN VÀ SINH PHẨM

Nguyên lý

Có hai phương pháp xác định hàm lượng formaldehyd tồn dư trong vắc xin và sinh phẩm như sau:

Phương pháp 1: Dựa vào phản ứng tạo chất màu chinol dưới tác dụng của thuốc thử fuchsin và aldehyd hòa tan trong nước.

Phương pháp 2: Định lượng formaldehyd bằng cách so màu của 3,5-diacetyl-1,4-dihydrolutidin ở bước sóng 415 nm. Phức hợp tạo thành có màu vàng chanh do phản ứng của formaldehyd tự do trong mẫu thử với acetylaceton và amoni trong môi trường acid nhẹ.

Cách tiến hành

Phương pháp 1

Lấy 1 ml mẫu thử, cho nước cất vừa đủ 5 ml, thêm vào 1 ml thuốc thử fuchsin acid, trộn đều; đậy ống nghiệm bằng nút cao su và đợi 1 h. Đo mật độ quang học của dung dịch bằng kính lọc màu tím than (bước sóng 400 nm ± 5 nm).

Tiến hành làm song song trên mẫu trắng theo trình tự như trên nhưng thay 1 ml mẫu thử bằng 1 ml *nước cất*.

Kết quả xác định được bằng cách so màu của mẫu vắc xin thử với dung dịch chuẩn có mật độ quang học gần nhau nhất.

Dựng đường chuẩn:

Lấy 1 ml dung dịch formaldehyd chuẩn 0,4 % thêm *nước cất* vừa đủ 100 ml vào (dung dịch 0,004 %).

Lấy 0,5 ml, 1,0 ml, 2,0 ml, 3,0 ml, 4,0 ml, 5,0 ml dung dịch chuẩn formaldehyd 0,004 % cho vào các ống nghiệm và cho nước cất vừa đủ 5,0 ml, thêm 1,0 ml dung dịch thuốc thử. Đợi 1 h sau đó tiến hành phân tích như đã mô tả ở trên.

Cách pha dung dịch formaldehyd chuẩn 0,4 %: Trước khi pha tiến hành xác định sơ bộ hàm lượng formaldehyd có trong dung dịch formaldehyd (dung dịch phải chứa không ít hơn 37 % formaldehyd). Cân 1 g dung dịch formaldehyd 40 % (cân chính xác, trong trường hợp dung dịch chứa ít hơn 40 % thì phải tính toán lại cho thích hợp) cho vào một bình định mức 100 ml, cho *nước cất* vừa đủ tới vạch (dung dịch 0,4 %). Trước khi dùng pha loãng 100 lần.

Cách pha thuốc thử fuchsin: Hoà tan 2 g fuchsin kiềm vào 120 ml *nước cất* đã đun sôi, để nguội. Hòa 2 g *natri sulfit (TT)* vào 20 ml *nước cất* và trộn vào dung dịch trên, thêm 2 ml *acid hydrocloric (TT)*. Cho *nước cất* vừa đủ 200 ml và chờ ít nhất 1 h mới đem sử dụng. Dung dịch này phải luôn luôn mới.

Phương pháp 2

Lấy khoảng 3 ml đến 4 ml mẫu thử ly tâm 4000 r/min trong 10 min, lấy phần nước (nếu mẫu thử trong thì không cần ly tâm). Pha loãng mẫu thử nếu cần thiết.

Lấy chính xác 3 ml mẫu thử cho vào ống nghiệm.

Dựng đường chuẩn: Pha loãng 10 lần dung dịch formaldehyd chuẩn 0,04 %, từ đó pha các dung dịch formaldehyd chuẩn 0,0002 %; 0,0004 %; 0,0008 %; 0,0012 %.

Lấy chính xác 3 ml các dung dịch chuẩn đã pha loãng vào các ống nghiệm.

Mẫu trắng dùng 3 ml *nước cất*.

Thêm 3 ml dung dịch acetylaceton vào mỗi ống nghiệm đựng mẫu trắng, mẫu chuẩn và mẫu thử.

Lắc đều, đun cách thuỷ 100 °C trong 15 min.

Để nguội ở nhiệt độ phòng.

Tiến hành đo mật độ quang ở bước sóng 415 nm.

Cách tính kết quả:

$$X = na$$

Trong đó:

X là hàm lượng formaldehyd có trong mẫu thử (%);

a là hàm lượng formaldehyd có trong mẫu thử tìm được trên đường chuẩn (%);

n là độ pha loãng mẫu.

Cách pha dung dịch formaldehyd chuẩn 0,04 %: Cân 311 mg hexamethylentetramin hoà tan trong vừa đủ 1000 ml *nước cất*, dung dịch có chứa 0,04 % formaldehyd, bảo quản dung dịch ở nhiệt độ phòng dùng trong 6 tháng.

Cách pha dung dịch acetylaceton: Cân 150 g *amoni acetat (TT)*, hòa tan trong khoảng 500 ml *nước cất*. Thêm 3 ml *acid acetic đậm đặc (TT)*, 2 ml *acetylaceton (TT)*, khuấy đều, thêm *nước cất* vừa đủ 1000 ml. Bảo quản dung dịch ở 2 °C đến 8 °C, dùng trong 2 tháng.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Mỗi loại vắc xin, sinh phẩm có tiêu chuẩn khác nhau. Các tiêu chuẩn này dựa theo quy định của WHO cho từng loại vắc xin và sinh phẩm. Tuy nhiên, lượng formaldehyd tồn dư trong vắc xin, sinh phẩm không được vượt quá 0,02 %.

15.26 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NATRI CLORID VỚI SỰ CÓ MẶT CỦA PROTEIN BẰNG PHƯƠNG PHÁP ĐỊNH LƯỢNG GIÁN TIẾP (PHƯƠNG PHÁP CHARPENTIER-VOLHARD)

Nguyên lý

Phương pháp dựa trên phản ứng của ion Cl^- với một lượng bạc nitrat thừa.

Bạc nitrat thừa sẽ được chuẩn độ bằng dung dịch amoni sulfocyanid với chỉ thị màu phèn sắt amoni.

Protein trong mẫu thử được oxy hóa bằng kali permanganat trong môi trường acid trước khi tiến hành định lượng natri clorid.

Phương pháp tiến hành

Hút chính xác một thể tích (V ml) mẫu thử tương ứng với khoảng 0,2 mg hoạt chất cho vào một bình nón dung tích 50 ml.

Thêm 5 ml *dung dịch bạc nitrat 0,01 N.*

Thêm 1 ml *acid nitric đậm đặc (TT).*

Thận trọng đun trên bếp cho đến khi sôi.

Thêm từng giọt *dung dịch bão hòa kali permanganat* cho đến khi có màu tím.

Tiếp tục đun sôi trong 5 min.

Thêm một ít đường glucose bột để khử màu.

Trên đáy bình xuất hiện tủa trắng như bông.

Làm nguội.

Thêm 0,5 ml dung dịch phèn sắt amoni bão hòa.

Chuẩn độ bạc bằng *dung dịch amoni sulfocyanid 0,01 N (CĐ)* cho đến khi có màu hồng.

Song song tiến hành làm mẫu trắng (thay mẫu thử bằng nước cất).

Lượng natri clorid có trong mẫu thử tính bằng mg % theo công thức:

$$X = \frac{(A-B) \times K \times 0,585 \times 100}{V}$$

Trong đó:

A là thể tích *dung dịch amoni sulfocyanid 0,01 N (CĐ)* dùng để chuẩn độ mẫu trắng (ml);

B là thể tích *dung dịch amoni sulfocyanid 0,01 N (CĐ)* dùng để chuẩn độ mẫu thử (ml);

K là hệ số điều chỉnh của *dung dịch amoni sulfocyanid* 0,01 N;

0,585 là lượng natri clorid tương ứng với 1 ml *dung dịch amoni sulfocyanid* 0,01 N (mg);

V là số ml dung dịch mẫu thử đem kiểm tra;

100 là hệ số để chuyển thành %.

15.27 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NHÔM (Al^{+++}) TRONG VẮC XIN VÀ SINH PHẨM

Phương pháp 1

Nguyên lý:

Phương pháp dựa trên phản ứng tạo thành phức chất của một lượng thừa dung dịch muối natri của acid ethylen diamin tetra acetic (EDTA) với ion nhôm (Al^{+++}) và sau đó chuẩn độ lượng thừa EDTA bằng dung dịch đồng sulfat 0,01 M.

Phương pháp tiến hành:

Lấy 1 ml *acid sulfuric (TT),* 6 giọt *acid nitric (TT)* và 3 ml mẫu thử cho vào bình nón đun nóng cho đến khi thấy khói trắng dày đặc thoát ra.

Tiếp tục đun nóng và cho thêm vài giọt *acid nitric (TT)* cho đến khi dung dịch trong bình mất màu. Để nguội bình. Thận trọng thêm 10 ml *nước cất.* Nếu dung dịch còn đục, đun tiếp cho đến khi trong.

Thêm *dung dịch natri hydroxyd 50 %* vào bình cho đến khi dung dịch có màu đỏ vàng [dùng *dung dịch da cam methyl (TT)* làm chất chỉ thị].

Nếu dung dịch đục, hòa tan tủa bằng cách thêm *dung dịch acid sulfuric 1 M,* cho thêm chính xác vào bình 25 ml *dung dịch dinatri diethylen diamin tetraacetat 0,01 M (CĐ)* và 10 ml *dung dịch đệm acetat* pH 4,4 [có chứa 68 g *natri acetat (TT);* 38,5 g *amoni acetat (TT);* 125 ml *acid acetic (TT)* và *nước* vừa đủ 500 ml]. Đun sôi nhẹ trong 3 min.

Thêm 1 ml dung dịch chỉ thị màu *pyridylazonaphtol 0,1 % trong ethanol 95 %.* Khi còn nóng chuẩn độ ngay dung dịch dinatri diethylen diamin tetraacetat thừa bằng *dung dịch đồng sulfat 0,01 M (CĐ)* cho đến khi xuất hiện màu nâu tía, ta được A ml *dung dịch đồng sulfat 0,01 M.* Song song tiến hành làm mẫu trắng (thay mẫu thử bằng nước cất) được B ml *dung dịch đồng sulfat 0,01 M.*

1,0 ml *dung dịch dinatri diethylen diamin tetraacetat 0,01 M (CĐ)* tương đương với 0,2698 mg Al^{+++}.

Lượng nhôm X (Al^{+++} mg/ml) trong mẫu thử được tính theo công thức sau:

$$X = \frac{B - A}{\text{Thể tích mẫu thử}} \times 0,2689$$

Phương pháp 2

Nguyên lý:

Hàm lượng nhôm (Al^{+++}) có trong mẫu thử được xác định bằng cách so màu do phản ứng của nhôm với stilbazo. Nhôm hydroxyd có trong mẫu thử dưới tác dụng của acid nitric và nhiệt độ chuyển thành Al^{+++}.

Phương pháp tiến hành:

Trước khi kiểm tra, mẫu thử được lắc đều thành hỗn dịch đồng nhất. Thêm 0,2 ml *acid nitric (TT)* vào 1 ml mẫu thử. Đun sôi cách thủy trong khoảng 1 h. Pha loãng bằng *nước cất* đến nồng độ thích hợp (thường pha loãng 25 và 50 lần). Lấy 1 ml mẫu thử vào bình nón, thêm *nước cất* vừa đủ 5 ml. Thêm 10 ml *dung dịch đệm acetat* (pH = 5,55 - 5,75), 5 ml *dung dịch stilbazo,* 5 ml *nước cất.* Để ở nhiệt độ phòng 20 min, đo quang ở bước sóng 510 nm.

Song song tiến hành dựng đường chuẩn với các dung dịch nhôm chuẩn 2, 4, 6, 8, 10 microgam/ml, tương đương với 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml, 5 ml nhôm chuẩn 2 microgam/ml. Dựa vào đường chuẩn tính ra hàm lượng nhôm có trong mẫu thử.

Song song tiến hành làm mẫu trắng: Thay mẫu thử bằng 1 ml *nước cất.*

Cách pha dung dịch nhôm chuẩn 0,1 %: Cân chính xác 0,895 g *nhôm clorid* ($AlCl_3.6H_2O$) hòa tan vào 100 ml *nước cất* 2 lần. Trước khi dùng pha loãng dung dịch nhôm chuẩn 0,1 % 500 lần bằng *nước cất*, thu được dung dịch nhôm chuẩn 2 microgam/ml.

Cách pha dung dịch stilbazo 0,035 %: Hòa tan 0,035 g *stilbazo* trong vừa đủ 100 ml *nước cất*. Lọc qua giấy lọc. Dung dịch bảo quản ở nhiệt độ 2 °C đến 8 °C sử dụng được trong 1 tuần.

Cách pha dung dịch đệm acetat (pH = 5,55 - 5,75):

Dung dịch A: Hòa tan 69,05 g *natri acetat (TT)* vào 500 ml *nước cất*.

Dung dịch B: Hòa 5,72 ml *acid acetic (TT)* trong vừa đủ 100 ml *nước cất*.

Trộn dung dịch A vào dung dịch B theo tỷ lệ 9 : 1. Đo pH.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Hàm lượng Al^{+++} trong vắc xin không được vượt quá 1,25 mg Al^{+++}/liều tiêm cho người.

15.28 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG PHENOL TRONG VẮC XIN VÀ SINH PHẨM

Phương pháp 1

Nguyên lý

Phương pháp dựa vào phản ứng tạo màu của thuốc thử Folin với phenol.

Phương pháp tiến hành

Vắc xin mẫu thử được ly tâm với vận tốc 3000 r/min trong 15 min. Bỏ cặn, lấy 1 ml phần nước ở phía trên cho vào bình định mức 100 ml và cho *nước cất* vừa đủ 100 ml, lắc đều.

Lấy 0,5 ml dung dịch trên, thêm 9 ml *nước cất*, 0,5 ml *thuốc thử Folin (TT)* pha loãng 2 lần, 2 ml *dung dịch natri carbonat 20 % (TT)*. Lắc đều. Đun cách thủy cho sôi trong 1 min. Làm nguội ở nhiệt độ phòng.

Song song tiến hành xây dựng đường chuẩn:

Cách dựng đường chuẩn:

Hút *dung dịch phenol chuẩn 1 : 1000 (TT)* vào các ống nghiệm với lượng như sau: 0,1 ml; 0,2 ml; 0,3 ml; 0,4 ml; 0,5 ml; 0,6 ml, 0,7 ml; 0,8 ml; 0,9 ml; 1,0 ml. Thêm vào các ống nghiệm trên mỗi ống một lượng *nước cất* vừa đủ 9,5 ml; 0,5 ml *thuốc thử Folin* pha loãng 2 lần; 2 ml *dung dịch natri carbonat 20 % (TT)*. Lắc đều. Đun cách thủy cho sôi trong 1 min. Làm nguội ở nhiệt độ phòng.

Song song tiến hành làm mẫu trắng (dùng nước cất thay cho mẫu vắc xin thử nghiệm).

Đem so màu trên máy quang phổ với bước sóng 310 nm (cả với mẫu thử và mẫu chuẩn).

Cách tính kết quả:

$$X = \frac{a \times 2 \times 100 \times 100}{1000000} \ (\%)$$

Trong đó:

X là hàm lượng phenol có trong mẫu thử (%);

a × 2 là hàm lượng phenol có trong 1 ml mẫu đã pha loãng tìm được trên đường chuẩn;

100 là độ pha loãng của mẫu thử.

Tiêu chuẩn chấp thuận:

Hàm lượng phenol trong vắc xin thành phẩm nói chung không được vượt quá 0,12 g/L, trừ những quy định cụ thể khác. Theo nguyên tắc chung, hàm lượng phenol trong vắc xin thành phẩm không được thấp hơn so với hàm lượng cho thấy có khả năng kháng khuẩn và không được cao hơn 115 % hàm lượng đăng ký trên nhãn.

Pha dung dịch phenol chuẩn:

Cân chính xác 1 g *phenol (TT)* hoà tan trong vừa đủ 100 ml *nước cất*. Trước khi dùng pha loãng 1000 lần bằng *nước cất*.

Pha dung dịch natri carbonat 20 %.

Cân 20 g *natri carbonat (TT)* hoà tan trong vừa đủ 100 ml *nước cất*. Lọc vào chai đựng.

Phương pháp 2

Mẫu thử được trộn đều để làm thử nghiệm. Pha loãng mẫu thử bằng *nước cất* (nếu cần thiết) để có nồng độ phenol khoảng 15 µg/ml.

Chuẩn bị mẫu phenol chuẩn theo các nồng độ 5 µg; 10 µg; 15 µg; 20 µg và 30 µg /ml.

Lấy 5 ml các dung dịch mẫu thử và mẫu chuẩn vào ống nghiệm, thêm 5 ml *dung dịch đệm borat pH 9,0*; 5 ml *dung dịch aminopyrazolon* và 5 ml *dung dịch kali fericyanid*. Lắc đều, để yên 10 min, đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 546 nm. Dựa vào đường chuẩn để tính ra hàm lượng phenol có trong mẫu thử.

Cách pha dung dịch đệm borat pH 9,0:

Dung dịch A: Hoà tan 6,18 g *acid boric (TT)* trong vừa đủ 1000 ml *dung dịch kali clorid 0,1 M*.

Dung dịch B: *Dung dịch natri hydroxyd 0,1 M (TT)*.

Trộn 1000 ml dung dịch A với 420 ml dung dịch B thu được dung dịch đệm pH 9,0.

Cách pha dung dịch aminopyrazolon:

Dung dịch 4-aminophenazon 1 % trong dung dịch đệm borat pH 9,0.

15.29 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG THIMEROSAL TRONG VẮC XIN VÀ SINH PHẨM

Có nhiều phương pháp để xác định hàm lượng thimerosal trong vắc xin và sinh phẩm. Tùy theo khả năng hiện có về thiết bị và hóa chất tại cơ sở để chọn 1 trong 2 phương pháp thử nghiệm sau đây: Phương pháp hóa lý và phương pháp vi sinh vật.

Phương pháp hóa lý

Nguyên lý:

Dựa vào phản ứng giải phóng ion thủy ngân tự do từ thimerosal, kết hợp với dithizon thành dithizon-thủy ngân, xác định bằng cách đo quang.

Cách tiến hành:
Làm song song 2 mẫu (mẫu vắc xin thử và mẫu chứng nước cất), lấy 0,2 ml mỗi mẫu cho vào từng bình nút mài riêng biệt có dung tích 100 ml.
Cho vào mỗi bình 1,2 ml *acid sulfuric (TT)* đã pha loãng 2 lần bằng nước cất 2 lần tính theo thể tích và đun nhẹ bình số 1 (chứa mẫu vắc xin thử) trong cách thủy cho đến khi tan hết. Thêm vào mỗi bình 5 ml *dung dịch kali permanganat 5 % (TT)*, lắc đều và để yên trong 1 h.
Loại bỏ *kali permanganat* thừa bằng cách thêm 1,5 ml *dung dịch hydroxylamin clorid 10 % (TT)*, thêm 35 ml *nước cất* 2 lần, 5 ml *dung dịch acid acetic 6 M (TT)* và trộn đều. Dùng buret thêm chính xác vào mỗi bình 10 ml *dung dịch dithizon 0,001 %* và lắc 30 s.
Chuyển toàn bộ dung dịch thử của từng bình vào mỗi bình lắng gạn riêng biệt, tách lớp cloroform qua một lớp bông đã hấp và sấy khô vào các ống nghiệm. Đo độ hấp thụ ở bước sóng 620 nm (Phụ lục 4.1).
Hàm lượng thimerosal (X %) có trong vắc xin thử được tính theo công thức:

$$X = \frac{a \times 100 \times 100}{0,2 \times 49,55 \times 1000000} = a \times 0,00101$$

Trong đó:
a là lượng thủy ngân (µg) xác định được theo đường chuẩn;
0,2 là số ml dung dịch vắc xin thử;
49,55 là hàm lượng thủy ngân có trong 100 phần của thimerosal;
100 là 100 phần thimerosal;
100 là đổi ra phần trăm;
1 000 000 là hệ số chuyển đổi từ µg sang g.
Cách dựng đường chuẩn:
Cân chính xác 0,5 g thủy ngân, hòa vào 15 ml *acid nitric (TT)* và thêm *nước cất* vừa đủ 500 ml, được dung dịch thủy ngân có hàm lượng 1 mg/ml (DD*). Xác định hàm lượng thủy ngân như sau: Lấy 10 ml DD*, cho thêm 10 giọt *dung dịch phèn sắt amoni 10 %* và chuẩn độ từ từ với *dung dịch amoni sulfocyanid 0,01 N (CĐ)* cho đến khi xuất hiện màu da cam.
1 ml *dung dịch amoni sulfocyanid 0,01 N (CD)* tương đương với 0,001003 g thủy ngân.
Lấy 5 bình nút mài có dung tích 100 ml để tiến hành song song 5 thí nghiệm với 5 mẫu: 0,4 ml, 0,6 ml, 0,8 ml, 1,0 ml, 1,2 ml dung dịch thủy ngân chuẩn trên. Thêm vào mỗi bình 1,2 ml *acid sulfuric (TT)* đã pha loãng 2 lần bằng nước cất 2 lần và 30 ml *nước cất* 2 lần. Nếu không có *nước cất* 2 lần thì sử dụng nước xử lý dithizon như sau: Cho vào mỗi bình gạn 10 ml *dung dịch dithizon (TT)* (0,01 g/L), sau đó tách phần cloroform ra. Nếu màu của dithizon thay đổi thì làm đi làm lại vài lần cho đến khi màu của dithizon không thay đổi. Thêm 5 ml *dung dịch natri clorid 0,9 % (TT)* và 5 ml *dung dịch acid acetic 6 M (TT)* và tiến hành tiếp tục như đối với mẫu kiểm tra ghi ở phần trên. Các kết quả thu được cho phép lập một đường chuẩn về thủy ngân.
Cách pha dung dịch dithizon 0,001 %:
Cân chính xác 10 mg *dithizon (TT)* hòa tan vào *cloroform (TT)* và thêm vừa đủ 100 ml với cùng dung môi.
Bảo quản dung dịch ở chỗ tối 4 °C đến 8 °C trong vòng 1 tháng. Trước khi dùng pha loãng 10 lần.

Phương pháp vi sinh vật
Nguyên lý:
Phương pháp thực hiện dựa trên sự hình thành vòng ức chế sự phát triển của vi sinh vật được tạo bởi dung dịch thimerosal chuẩn và thimerosal có trong mẫu thử; so sánh đường kính vòng ức vô khuẩn.
Cách tiến hành:
Pha thạch thường, đun nóng chảy hoàn toàn và đổ thạch dày 4 mm lên một phiến kính hình chữ nhật phẳng. Để thạch nguội hoàn toàn, đục lỗ thạch (đường kính 8 mm) sao cho khoảng cách giữa các lỗ thạch ít nhất là 30 mm. Cấy chủng *Staphylococcus aureus* trên thạch nghiêng, ủ ở 37 °C trong 18 h đến 24 h. Gạt và pha vi khuẩn bằng *nước muối sinh lý* vô khuẩn thành huyền dịch 10^9 vi khuẩn/ml. Láng đều huyền dịch vi khuẩn (0,5 ml/đĩa thạch) trên đĩa thạch đã đục lỗ. Nhỏ vào mỗi lỗ 100 µl dung dịch thimerosal chuẩn nồng độ 1 g/L ở các độ pha loãng 1/2,5, 1/5, 1/10, 1/20, 1/40, 1/80, 1/160. Ủ ở 37 °C trong 24 h.
Đọc kết quả:
Đo đường kính các vùng ức chế vi khuẩn mọc của các đậm độ thimerosal chuẩn, xây dựng đường chuẩn. Dựa vào đường chuẩn và đường kính vùng ức chế của vắc xin mẫu thử để tính ra hàm lượng thimerosal có trong vắc xin mẫu thử.

Tiêu chuẩn chấp thuận
Hàm lượng thimerosal trong mỗi vắc xin và sinh phẩm có thể khác nhau tùy theo yêu cầu cụ thể, nhưng không được thấp hơn hàm lượng cho thấy có khả năng kháng khuẩn và không cao hơn 115 % hàm lượng thimerosal ghi trên nhãn. Yêu cầu chung cho hàm lượng thimerosal trong các vắc xin và sinh phẩm có sử dụng thimerosal làm chất bảo quản đều không được vượt quá 0,02 % trừ khi có chỉ dẫn khác.

15.31 XÁC ĐỊNH HIỆU LỰC VẮC XIN DẠI THEO PHƯƠNG PHÁP NIH

Nguyên lý
Thử nghiệm NIH (National Institute of Health - USA) được Tổ chức Y tế Thế giới chính thức công nhận để kiểm tra công hiệu vắc xin dại bất hoạt. Công hiệu vắc xin dại được xác định bằng cách so sánh liều hữu hiệu bảo vệ chuột chống lại liều gây chết của virus dại với một vắc xin dại mẫu chuẩn đã biết trước công hiệu (IU/ml). Thử nghiệm được tiến hành song song 2 vắc xin (mẫu thử và mẫu chuẩn), sau 14 ngày thử thách với cùng 1 liều chủng virus thử thách CVS.

Phương pháp tiến hành
Pha vắc xin và gây miễn dịch:
Pha vắc xin mẫu chuẩn bằng nước vô khuẩn để tiêm (hoặc PBS pH 7,2 - 7,4) để có được độ pha có chứa khoảng 2 IU/ml.

Phân chia vào các ống một lượng vắc xin đủ dùng cho một lần pha tiêm miễn dịch. Bảo quản ở -20 °C.

Pha vắc xin thử: Nếu là vắc xin đông khô phải hoàn nguyên bằng nước hồi chỉnh cho tới nồng độ liều tiêm cho người. Dung dịch vắc xin chuẩn và dung dịch vắc xin thử đã hoàn nguyên tiếp tục được pha loãng thành ít nhất 3 độ pha trong nước muối sinh lí (hoặc PBS). Các độ pha được chọn sao cho có ED_{50} trung bình không nằm ngoài các độ pha loãng của vắc xin mẫu thử và vắc xin mẫu chuẩn, thường sử dụng độ pha loãng bậc 5 là 1/5, 1/25, 1/125, 1/625 để pha tiêm miễn dịch.

Gây miễn dịch: Mỗi độ pha loãng vắc xin được gây miễn dịch cho ít nhất 16 chuột nhắt trắng, 4 đến 5 tuần tuổi, 11 g đến 15 g. Mỗi chuột tiêm 0,5 ml vào phúc mạc. Tiêm 2 mũi vào ngày 0 và ngày 7.

Nhóm chuột đối chứng gồm 40 con được nuôi song song trong cùng điều kiện với nhóm chuột miễn dịch. Chuột đối chứng được dùng để chuẩn độ hiệu giá chủng virus thử thách, mỗi độ pha loãng tiêm 10 chuột.

Pha chủng CVS và thử thách.

Nhóm chuột miễn dịch được tiêm thử thách với liều trong khoảng từ 10 đến 100 LD_{50}. Thường dùng liều thử thách có chứa 25 đến 50 LD_{50}.

Ví dụ: sau 5 lần chuẩn độ hiệu giá chủng CVS là $10^{-6,81}$. Như vậy để có được liều 25 LD_{50} phải dùng độ pha đậm đặc hơn 1,4 log tức là độ pha $10^{-5,4}$.

Cách pha cụ thể:

Dùng huyết thanh ngựa 2 % pha hỗn dịch CVS 20 % để có được hỗn dịch 10 % (hỗn dịch A). Sau đó pha tiếp:

	Độ pha loãng	Ký hiệu
0,3 ml A + 2,7 ml huyết thanh 2 %	10^{-2}	B
0,3 ml B + 2,7 ml huyết thanh 2 %	10^{-3}	C
0,3 ml C + 2,7 ml huyết thanh 2 %	10^{-4}	D
1 ml D + 24 ml huyết thanh 2 %	$10^{-5,4}$	E

Lấy độ pha E tiêm cho tất cả nhóm chuột miễn dịch, mỗi chuột tiêm 0,03 ml vào não.

Để chuẩn độ hiệu giá chủng CVS thử thách thực tế trong thử nghiệm, tiếp tục pha loãng bậc 10 từ hỗn dịch E ($10^{-5,4}$) để có các độ pha $10^{-6,4}$, $10^{-7,4}$, $10^{-8,4}$. Mỗi độ pha chủng CVS tiêm vào não cho 10 chuột, mỗi chuột 0,03 ml.

Theo dõi và đọc kết quả:

Sau khi tiêm thử thách, theo dõi các nhóm chuột trong vòng 14 ngày. Những chuột liệt hoặc chết sau ngày thứ 5 mới được tính vào kết quả. Những chuột có dấu hiệu co giật, liệt, rối loạn vận động được coi như chết vì bệnh dại. Cần ghi chép kết quả hàng ngày. Đọc và tính kết quả cuối cùng vào ngày thứ 14 sau tiêm thử thách.

Tính kết quả:

Hiệu giá chủng thử thách CVS tính theo phương pháp Reed-Muench.

Công hiệu (ED_{50}) tính theo chương trình Probit analysis của WHO.

Tiêu chuẩn chấp thuận: Vắc xin dại phải đạt công hiệu ≥ 2,5 IU/liều.

15.32 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG NITƠ PROTEIN CỦA VẮC XIN VÀ SINH PHẨM BẰNG THUỐC THỬ NESSLER

Nguyên lý

Phương pháp dựa vào tính chất của thuốc thử Nessler cho phản ứng màu với ion amoni (NH_4^+) được tạo thành sau khi vô cơ hóa các protein.

Phương pháp tiến hành

Chuẩn bị mẫu thử

Cho 1 ml chế phẩm và 1 ml *dung dịch acid tricloroacetic 20 % (TT)* vào một ống ly tâm 10 ml, để ở nhiệt độ 4 °C đến 8 °C trong 10 h đến 12 h. Sau đó ly tâm 3500 r/min trong 1 h, loại bỏ phần nước. Rửa tủa bằng 2 ml *dung dịch acid tricloroacetic 5 %*, tiếp tục ly tâm 3500 r/min trong 1 h, loại bỏ phần nước. Thêm vào cặn 0,2 ml *acid sulfuric (TT)* đem vô cơ hóa trên bếp cát cho đến khi dung dịch mất màu. Để tăng tốc độ phản ứng thỉnh thoảng cho vài giọt *dung dịch oxy già đậm đặc* vào ống đốt sau khi làm nguội. Khi chế phẩm đã được vô cơ hóa hoàn toàn, dung dịch mất màu, thêm *nước cất 2 lần* vừa đủ b ml, thu được dung dịch A.

Lấy 1 ml dung dịch A vào ống nghiệm, thêm 8,5 ml *nước cất 2 lần* và 0,5 ml *thuốc thử Nessler (TT)*, được mẫu thử.

Chuẩn bị mẫu trắng: Trộn đều 9,5 ml *nước cất 2 lần* và 0,5 ml *thuốc thử Nessler (TT)*.

Dựng đường chuẩn

Hút dung dịch amoni sulfat chuẩn có hàm lượng 0,05 mg nitơ/ml vào các ống nghiệm theo thứ tự sau: 0,1 ml; 0,2 ml; 0,3 ml; 0,4 ml; 0,5 ml; 0,6 ml; 0,7 ml. Thêm *nước cất 2 lần* vừa đủ 9,5 ml và 0,5 ml *thuốc thử Nessler (TT)*.

Lắc đều các ống nghiệm.

Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 420 nm.

Vẽ đồ thị đường chuẩn.

Lượng nitơ protein trong chế phẩm được tính theo công thức sau:

$$X\ (mg/ml) = \frac{a \times b \times 6,25}{1,0 \times 1,0}$$

Trong đó:

a là lượng nitơ tìm được trên đường chuẩn (mg);

b là thể tích dung dịch A (ml);

1,0 là thể tích mẫu sau pha loãng đem so màu (ml);

1,0 là thể tích mẫu đem tủa rồi vô cơ hóa (ml);

6,25 là hệ số chuyển đổi protein từ nitơ.

Cách pha dung dịch amoni sulfat chuẩn có hàm lượng nitơ 0,05 mg/ml:

Cân 0,2375 g *amoni sulfat* (đã được sấy khô trong bình hút ẩm bằng silica gel đến khối lượng không đổi), hòa tan vừa đủ 500 ml bằng *nước cất 2 lần*. Dung dịch vừa pha có hàm lượng nitơ 0,1 mg/ml, trước khi dùng pha loãng gấp đôi bằng *nước cất 2 lần*.

Tiêu chuẩn cho phép

Hàm lượng nitơ protein trong vắc xin và sinh phẩm theo qui định riêng.

15.33 XÁC ĐỊNH pH CỦA VẮC XIN VÀ SINH PHẨM

Nguyên lý

Trị số pH của một dung dịch vắc xin hay sinh phẩm được xác định bằng cách đo thế hiệu giữa điện cực chỉ thị nhạy cảm với ion hydrogen (thường là điện cực thủy tinh) và một điện cực so sánh (ví dụ điện cực calomel bão hòa). pH là một giá trị biểu thị quy ước nồng độ ion hydrogen của một dung dịch. pH của một dung dịch mẫu thử liên quan với pH của dung dịch mẫu chuẩn theo biểu thức sau:

$$pH = pH_S - \frac{(E - E_S)}{k}$$

Trong đó:

E là điện thế, tính bằng von, của pin chứa dung dịch mẫu thử;

E_s là điện thế, tính bằng von, của pin chứa dung dịch mẫu chuẩn (đã biết);

pH_s là pH của dung dịch mẫu chuẩn;

k là hệ số có giá trị thay đổi theo nhiệt độ được ghi ở bảng dưới đây:

Nhiệt độ	k (V)
15 °C	0,0572
20 °C	0,0582
25 °C	0,0592
30 °C	0,0601
35 °C	0,0611

Phương pháp tiến hành

pH của một dung dịch vắc xin, sinh phẩm được đo bằng máy đo pH (pH meter). Máy đo pH là một điện thế kế có trở kháng đầu vào gấp ít nhất 100 lần trở kháng của các điện cực sử dụng và thường được phân độ theo đơn vị pH và có độ nhạy để phát hiện được những thay đổi cỡ 0,05 đơn vị pH hoặc ít nhất 0,003 V. Các điện cực thủy tinh là phù hợp và các kiểu máy đo pH, kể cả máy đo pH hiện số, đều phải đáp ứng yêu cầu trên. Vận hành máy đo pH tùy theo loại máy đo pH và tùy theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Tất cả các phép đo đều cần phải tiến hành trong cùng một điều kiện nhiệt độ khoảng từ 20 °C đến 25 °C, trừ trường hợp có quy định khác trong chuyên luận riêng.

Trước khi đo pH của mẫu thử, cần chuẩn định máy đo pH bằng dung dịch pH chuẩn do nhà sản xuất cung cấp (tối thiểu sử dụng 2 dung dịch pH chuẩn mà pH của dung dịch mẫu thử phải nằm trong khoảng đó). Ví dụ: dung dịch mẫu thử cần đo pH thường nằm trong khoảng pH 4 - 7, cần sử dụng 2 dung dịch pH chuẩn là pH 4 và pH 7 để chuẩn định máy đo pH; hoặc nếu dung dịch mẫu thử cần đo pH thường nằm trong khoảng pH 7 - 10, cần sử dụng 2 dung dịch pH chuẩn là pH 7 và pH 10 để chuẩn định máy đo pH trước khi đo pH của dung dịch mẫu thử.

Tráng đầu điện cực pH bằng nước cất 2 lần, dùng giấy thấm mềm chuyên dụng để thấm khô đầu điện cực và tiến hành đo pH của dung dịch mẫu thử. Số lượng mẫu thử tối thiểu dùng để kiểm tra pH là 15 ml đến 20 ml và nên để ở nhiệt độ phòng trước khi đo. Lắc đều và rót mẫu thử vào cốc đựng mẫu, nhúng ngập đầu điện cực vào cốc mẫu thử và để cho chỉ số pH hiện trên màn hình ổn định thì xác định pH của mẫu thử. Sau khi đo pH của mẫu thử xong, cần tráng đầu điện cực bằng nước cất 2 lần, dùng giấy thấm mềm chuyên dụng để thấm khô đầu điện cực và nhúng ngập đầu điện cực của máy đo pH vào dung dịch bảo quản điện cực, ngắt điện của máy đo pH.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Tiêu chuẩn pH chấp thuận theo yêu cầu đối với từng loại mẫu thử.

15.34 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG PROTEIN TOÀN PHẦN TRONG VẮC XIN VÀ SINH PHẨM

Protein có trong vắc xin và sinh phẩm được xác định theo nhiều phương pháp khác nhau, tùy theo từng loại vắc xin và sinh phẩm.

Phương pháp Lowry

Nguyên lý:

Protein có trong mẫu vắc xin thử bị tủa với acid tricloroacetic nóng. Xác định lượng tủa để tính ra lượng protein có trong vắc xin, sinh phẩm.

Phương pháp tiến hành:

Pha loãng mẫu thử (nếu cần thiết) để chỉnh hàm lượng protein của mẫu thử trong khoảng 20 µg/ml đến 120 µg/ml. Thêm 1 ml *dung dịch acid tricloroacetic 10 %* vào một ống nghiệm có chứa 1 ml mẫu thử. Đun nóng ở 80 °C trong nồi cách thủy trong 15 min. Làm nguội ở nhiệt độ phòng. Ly tâm ở tốc độ 3500 r/min trong 30 min, loại bỏ phần dung dịch nước.

Thêm vào phần lắng cặn 2 ml *dung dịch acid tricloroacetic 5 %*. Lắc kỹ trên máy lắc và ly tâm lại một lần nữa ở tốc độ 3500 r/min trong 30 min, loại bỏ phần dung dịch nước. Thêm 2,5 ml dung dịch Alkalin vào mỗi ống nghiệm nêu trên và ủ ở nhiệt độ phòng (thời gian ủ tùy từng loại mẫu thử) để hòa tan phần lắng cặn.

Thêm 2,5 ml *nước cất* và 0,5 ml *thuốc thử Folin* (pha loãng 1/2), ủ ở 37 °C trong 30 min. Ly tâm với tốc độ 3500 r/min đến 6000 r/min trong 30 min (với các chế phẩm chứa chất hấp phụ nhôm). Đo mật độ quang học ở bước sóng 750 nm trên quang phổ kế.

Song song tiến hành thử nghiệm với mẫu trắng: thay vào 1 ml mẫu thử là 1 ml *nước cất*.

Dựng đường chuẩn: Dựng đường chuẩn với dung dịch protein chuẩn (dung dịch albumin chuẩn ở các nồng độ 25 µg/ml; 50 µg/ml; 100 µg/ml; 150 µg/ml). Dựa vào hàm lượng protein tìm được trên đường chuẩn tính ra hàm lượng protein có trong mẫu thử.

Cách pha dung dịch Alkalin (pha ngay trước khi dùng):

Dung dịch đồng *sulfat pentahydrat 2 %:* Hòa tan 2 g *đồng sulfat pentahydrat* vào vừa đủ 100 ml *nước cất*.

Dung dịch *natri tartrat 4 %:* Hòa tan 4 g *natri tartrat* trong vừa đủ 100 ml *nước cất*.

Trộn lẫn 2 dung dịch trên được dung dịch A.
Hòa tan 0,8 g *natri hydroxyd* và 4 g *natri carbonat* trong vừa đủ 100 ml *nước cất* được dung dịch B.
Trộn 50 ml dung dịch B và 1 ml dung dịch A được dung dịch Alkalin.

Đo độ hấp thụ thực của protein ở bước sóng 280 nm
Nguyên lý:
Protein trong dung dịch hấp thụ tia tử ngoại ở bước sóng 280 nm, do sự có mặt các amino acid dãy thơm, chủ yếu là tyrosin và tryptophan trong cấu trúc protein.
Phương pháp tiến hành:
Dung dịch thử: Pha loãng mẫu thử đến hàm lượng protein trong khoảng 0,2 mg/ml đến 2 mg/ml bằng dung dịch đệm thích hợp.
Dung dịch chuẩn: Pha loãng mẫu chuẩn bằng cùng dung dịch đệm với mẫu thử và có hàm lượng protein tương ứng với mẫu thử.
Giữ dung dịch thử và chuẩn ở nhiệt độ phòng. Đo độ hấp thụ các dung dịch này bằng cóng thạch anh ở bước sóng 280 nm (Phụ lục 4.1), dùng nước cất làm mẫu trắng.
Hàm lượng protein trong mẫu thử (C_U) được tính bởi công thức:

$$C_U = C_S (A_U/A_S)$$

Trong đó:
C_S là hàm lượng protein trong dung dịch chuẩn;
A_U là độ hấp thụ của mẫu thử;
A_S là độ hấp thụ của dung dịch chuẩn.

Phương pháp Bradford
Nguyên lý:
Dựa trên sự kết hợp giữa thuốc nhuộm Coomasie với protein trong môi trường acid.
Phương pháp tiến hành :
Pha loãng mẫu thử bằng nước cất đến hàm lượng thích hợp trong khoảng đường chuẩn.
Chuẩn bị dung dịch chuẩn BSA (bovine serum albumin) có hàm lượng trong khoảng 0,1 mg/ml đến 1 mg/ml.
Dùng nước cất làm mẫu trắng.
Thêm 2,5 ml thuốc nhuộm Coomasie 20 % vào 0,05 ml mẫu trắng, mẫu chuẩn và mẫu thử, lắc đều. Để yên 10 min ở nhiệt độ phòng. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 595 nm (không dùng cóng thạch anh do sẽ bị thuốc nhuộm gắn vào).
Hàm lượng protein trong mẫu thử được tính toán dựa vào đường chuẩn.

Phương pháp đồng/acid bicinchoninic
Nguyên lý:
Dựa vào sự khử của ion Cu^{++} thành Cu^{+} do protein, dùng acid bicinchoninic (BCA) để xác định Cu^{+}.
Phương pháp tiến hành:
Pha loãng mẫu thử bằng *nước cất* đến hàm lượng thích hợp trong khoảng đường chuẩn.
Pha dung dịch chuẩn bằng nước cất (không ít hơn 5 nồng độ) có hàm lượng trong khoảng 10 µg/ml đến 1200 µg/ml.
Dùng nước cất làm mẫu trắng.
Thêm 2 ml thuốc thử đồng-BCA vào 0,1 ml mẫu trắng, mẫu chuẩn và mẫu thử, lắc đều. Ủ trong nồi cách thủy 37 °C trong 30 min. Làm nguội ở nhiệt độ phòng trong 60 min, đo mật độ quang (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 562 nm, dùng cóng thạch anh.
Dựa vào đường chuẩn tính ra hàm lượng protein có trong mẫu thử.
Pha thuốc thử BCA: Hòa tan 10 g *dinatri bicinchoninat*, 20 g *natri carbonat monohydrat*, 1,6 g *natri tatrat*, 4 g *natri hydroxyd* và 9,5 g *natri hydrogen carbonat* vào *nước cất*. Điều chỉnh đến pH 11,25 nếu cần bằng dung dịch *natri hydroxyd* hoặc dung dịch *natri hydrogen carbonat*. Thêm *nước cất* vừa đủ 1000 ml, lắc đều.
Pha thuốc thử đồng-BCA: Trộn 1 ml *dung dịch đồng sulfat 40 g/l* với 50 ml thuốc thử BCA.

Phương pháp biuret
Nguyên lý:
Dựa vào sự tương tác của ion Cu^{2+} với protein trong dung dịch alkalin, sản phẩm thu được có độ hấp thụ cực đại ở bước sóng 545 nm.
Phương pháp tiến hành:
Pha loãng mẫu thử bằng dung dịch nước muối sinh lý đến hàm lượng thích hợp trong khoảng đường chuẩn.
Pha dung dịch chuẩn bằng dung dịch nước muối sinh lý (không ít hơn 3 nồng độ) có hàm lượng trong khoảng từ 0,5 mg/ml đến 10 mg/ml.
Dùng dung dịch nước muối sinh lý làm mẫu trắng.
Lấy một thể tích dung dịch mẫu thử, thêm đồng lượng *dung dịch natri hydroxyd 60 g/l*, lắc đều. Ngay lập tức cho thuốc thử biuret với lượng bằng 0,4 lần thể tích dung dịch mẫu thử và lắc nhanh. Để yên ở nhiệt độ phòng 15 min. Trong vòng 90 min sau khi cho thuốc thử biuret, đo mật độ quang (Phụ lục 4.1) của mẫu thử ở bước sóng 545 nm. Song song tiến hành với mẫu trắng và mẫu chuẩn.
Dựa vào đường chuẩn tính ra hàm lượng protein có trong mẫu thử.
Pha thuốc thử biuret: Hòa tan 3,46 g *đồng sulfat (TT)* trong 10 ml *nước cất* nóng, để nguội (dung dịch A). Hòa tan 34,6 g *natri citrat (TT)* và 20 g *natri carbonat khan (TT)* vào 80 ml *nước cất* nóng, để nguội (dung dịch B). Trộn dung dịch A và B, thêm *nước cất* vừa đủ 200 ml. Dùng trong 6 tháng, không dùng nếu thấy vẩn đục hoặc có tủa.

Phương pháp quang phổ huỳnh quang
Nguyên lý:
Dựa vào dẫn xuất của protein với o-phthaldehyd do chất này phản ứng với các amin chính của protein (N-terminal amino acid và nhóm ε-amino của lysin tồn dư).
Phương pháp tiến hành:
Pha loãng mẫu thử bằng *nước muối sinh lý (TT)* đến hàm lượng thích hợp trong khoảng đường chuẩn. Điều chỉnh pH từ 8 đến 10,5 trước khi thêm *thuốc thử phthaldehyd*.
Pha dung dịch chuẩn bằng *nước muối sinh lý (TT)* (không ít hơn 5 nồng độ) có hàm lượng trong khoảng từ 10 µg/ml đến 200 µg/ml. Điều chỉnh pH từ 8 đến 10,5 trước khi thêm thuốc thử phthaldehyd.

Dùng *nước muối sinh lý (TT)* làm mẫu trắng.
Trộn 10 µl các dung dịch mẫu thử, mẫu chuẩn, mẫu trắng với 0,1 ml thuốc thử *phthaldehyd*, để yên ở nhiệt độ phòng trong 15 min. Thêm 3 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,5 M* và lắc đều. Đo cường độ huỳnh quang các dung dịch mẫu chuẩn và mẫu thử ở bước sóng kích thích 340 nm và bước sóng phát xạ giữa 440 nm và 445 nm.
Dựa vào đường chuẩn tính ra hàm lượng protein có trong mẫu thử.
Pha dung dịch đệm borat: Hòa tan 61,83 g *acid boric* trong *nước cất* và điều chỉnh pH 10,4 bằng *dung dịch kali hydroxyd*, thêm *nước cất* vừa đủ 1000 ml, lắc đều.
Pha dung dịch gốc phthaldehyd: Hòa tan 1,20 g *o-phthaldehyd* trong 1,5 ml *methanol (TT)*, thêm 100 ml *dung dịch đệm borat (TT)*, lắc đều. Thêm 0,6 ml dung dịch macrogol 23 lauryl ether và lắc đều. Bảo quản ở nhiệt độ phòng sử dụng trong 3 tuần.
Pha thuốc thử phthaldehyd: Thêm 15 µl 2-mercaptoethanol vào 5 ml dung dịch gốc phthaldehyd. Chuẩn bị dung dịch này trước khi dùng 30 min. Sử dụng trong vòng 24 h.

Tiêu chuẩn chấp thuận
Theo quy định trong chuyên luận riêng.

15.35 XÁC ĐỊNH ĐỘ ẨM TỒN DƯ TRONG VẮC XIN, SINH PHẨM ĐÔNG KHÔ

Nguyên lý
Sử dụng phương pháp Karl Fischer để xác định độ ẩm tồn dư trong vắc xin đông khô theo nguyên lý chung là dựa trên phản ứng toàn lượng của nước với lưu huỳnh dioxyd và iod trong sự có mặt của alcohol và một chất base hữu cơ thích hợp.
Hiện nay có nhiều thiết bị để đo độ ẩm tồn dư trong các vắc xin, sinh phẩm đông khô, tuy nhiên nguyên tắc của các thiết bị này đều phải cấu tạo sao cho thao tác thuận tiện và tránh ẩm.

Phương pháp tiến hành
Tùy theo thiết bị của các hãng khác nhau nên thao tác theo hướng dẫn vận hành của hãng đó.
Phương pháp phổ biến hiện nay để đo độ ẩm tồn dư của các vắc xin và sinh phẩm đông khô là phương pháp Karl Fischer. Vận hành máy đo độ ẩm tồn dư theo hướng dẫn sử dụng. Rót dung dịch chuẩn anod và cathod vào khoang tương ứng đến đúng mức quy định. Cần lưu ý qua một thời gian nhất định, methanol trong dung dịch cathod có thể thấm qua màng trao đổi ion bằng cách thẩm thấu. Để giảm bớt tình trạng này không nên rót hóa chất đầy quá mức quy định.
Bật máy và cài đặt phương pháp lựa chọn. Nếu máy đo độ ẩm tồn dư không hoạt động trong vòng 3 tuần thì vẫn nên bật máy vài giờ trong khoảng thời gian này dù không tiến hành kiểm tra mẫu gì để nạp pin và đảm bảo tất cả các thông tin của chương trình vẫn được duy trì. Cần đảm bảo trước khi nạp mẫu thử tỷ lệ % độ ẩm trên màn hình phải ổn định và ở mức độ thấp để đủ đạt được kết quả theo yêu cầu. Cân chính xác khối lượng tổng của cả mẫu thử và vật chứa mẫu.
Nhập khối lượng tổng của cả mẫu thử và vật chứa mẫu vào máy, sau đó nhập khối lượng của vật chứa mẫu. Đưa mẫu vào khoang bên ngoài qua đường bơm mẫu (nếu vận hành trong điều kiện độ ẩm cao và sáng thì nên đóng kín nắp khoang chứa mẫu thử khi vận hành).
Khi thực hiện xong thử nghiệm, máy in sẽ tự động in ra kết quả độ ẩm tồn dư của mẫu thử.

Tiêu chuẩn chấp thuận
Độ ẩm tồn dư trong vắc xin và sinh phẩm đông khô không được vượt quá 3 % (≤ 3 %), trừ khi có qui định trong chuyên luận riêng.

15.36 PHÁT HIỆN MYCOPLASMA BẰNG PHƯƠNG PHÁP NUÔI CẤY

Nguyên vật liệu
Mẫu thử nghiệm: Nước nối nuôi tế bào, hỗn dịch virus, vắc xin bán thành phẩm và thành phẩm.
Môi trường nuôi cấy: Môi trường lỏng 1: LM1 (pH 7,6 đến 7,8; môi trường có màu đỏ) và môi trường lỏng 2: LM2 (pH 7,2; môi trường có màu vàng cam), dưới dạng 100 ml/chai hoặc 10 ml/ống.
Môi trường rửa lọc: Môi trường PPLO lỏng.
Môi trường đặc: Môi trường thạch PPLO.
Màng lọc 0,1 µm, xy lanh 10 ml và dụng cụ cần thiết đủ cho tiến hành thử nghiệm.

Các bước tiến hành

Chuẩn bị môi trường
Pha môi trường LM1 (pH 7,6 đến 7,8): 500 ml.
Nước cất pha tiêm: 375 ml.
Môi trường PPLO lỏng: 8 g.
Đỏ phenol 0,4 %: 2,5 ml.
Hấp ở 121 °C trong 15 min, sau đó thêm 75 ml huyết thanh ngựa, 50 ml Yeast Extract 25 %, 6 ml glucose 25 % và 1,25 ml penicilin G. Trộn đều, ra chai 100 ml và ống thử 10 ml.
Pha môi trường LM2 (pH 7,0 đến 7,2): 500 ml.
Nước để pha thuốc tiêm: 375 ml.
Môi trường PPLO lỏng: 8 g.
L-Arginin: 1,5 g.
Đỏ phenol 0,4 %: 2,5 ml.
Hấp ở 121 °C trong 15 min sau đó thêm 75 ml huyết thanh ngựa, 50 ml Yeast Extract 25 %, và 1,25 ml penicilin G, 1 ml acid hydrocloric. Trộn đều, ra chai 100 ml và ống thử 10 ml.
Pha môi trường thạch PPLO: 500 ml.
Thạch PPLO: 13,5 g.
Nước để pha thuốc tiêm: 375 ml.
Hấp tại 121 °C trong 15 min sau đó thêm 75 ml huyết thanh ngựa, 50 ml Yeast Extract 25 % và 1,25 ml penicilin

G. Trộn đều, sau đó đổ thạch ra phiến 6 giếng: 8 ml/giếng, bảo quản 37 °C trước khi thử độ nhạy 1 ngày.
Pha môi trường rửa màng lọc:
Môi trường PPLO lỏng: 2,1 g.
Nước để pha thuốc tiêm: 100 ml.
Hấp ở 121 °C trong 15 min.

Tiến hành
Lọc mẫu: Sử dụng xylanh 10 ml hút 6 ml mẫu thử vào giá lọc 0,1 µm và bơm mẫu qua lọc cho đến hết.
Rửa lọc: Sử dụng 30 ml môi trường rửa lọc và xylanh 10 ml, bỏ kim, sau đó bơm từ từ cho đến khi môi trường rửa qua hết lọc.
Tháo lọc, lấy giấy lọc cho vào đĩa petri vô trùng, cắt đôi giấy lọc, cho mỗi nửa giấy lọc vào mỗi chai môi trường LM1 và LM2 đã chuẩn bị sẵn.
Chai môi trường sau gây nhiễm được nuôi ở 37 °C trong 28 ngày.
Cấy truyền trên môi trường lỏng: sau gây nhiễm 14 ngày, lấy mẫu từ chai môi trường nuôi cấy chuyển sang ống môi trường nuôi cấy cùng loại: 0,2 ml/ống thử, 3 ống thử mỗi loại môi trường và đặt tại 37 °C trong 14 ngày.
Cấy truyền trên môi trường đặc: Thạch được chuẩn bị trên phiến 6 giếng, gây nhiễm 10 µl từ ống thử nghi ngờ lên chính giữa mặt thạch, dán kín phiến và nuôi tại 37 °C trong 10 ngày.

Đọc kết quả
Đọc kết quả lần gây nhiễm đầu tiên: Ngày thứ 28.
Đọc kết quả lần cấy truyền: Ngày thứ 14 trên môi trường lỏng và ngày thứ 10 trên môi trường thạch;
Kết quả dương tính khi màu môi trường LM1 chuyển từ màu đỏ sang màu vàng cam; màu môi trường LM2 từ màu vàng cam sang màu đỏ ánh tím và có khuẩn lạc giống hình trứng ốp lếp trên môi trường thạch.
Kết quả âm tính khi màu môi trường của 2 loại môi trường lỏng không thay đổi giống như ống thử đối chứng và không có khuẩn lạc mọc trên môi trường thạch.

15.37 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG Vi POLYSACCHARID CỦA VẮC XIN THƯƠNG HÀN Vi POLYSACCHARID

Nguyên lý
Sử dụng phản ứng điện di miễn dịch rocket để xác định hàm lượng Vi polysaccharid trong vắc xin thương hàn Vi.

Phương pháp tiến hành

Pha dung dịch đệm và thạch agarose
Dung dịch đệm barbital ½: Dùng ống đong 500 ml đong 200 ml *nước cất* 3 lần cho vào chai thủy tinh loại 1000 ml, thêm 1,84 g *acid bachituric* vào chai thủy tinh, đun trong cách thuỷ và lắc đều cho đến khi hoà tan hoàn toàn. Để nguội đến nhiệt độ phòng. Thêm tiếp 10,3 g *natri bacbital* vào chai thủy tinh, lắc cho tan. Chuyển dung dịch thu được vào bình định mức 500 ml, thêm *nước cất* 3 lần vừa đủ đến vạch, lắc đều.
Điều chỉnh đến pH 8,6 bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* hoặc *dung dịch natri hydroxyd 5 M (TT).*
Bảo quản dung dịch thu được ở nhiệt độ phòng, trong chai có nút vặn kín. Sử dụng trong thời gian không quá 30 ngày kể từ ngày pha chế.
Rót dung dịch đệm barbital ½ vào bể điện di.
Thạch agarose: Thêm 0,5 g thạch *agarose* vào 40 ml dung dịch đệm *barbital ½*, đun cách thuỷ hoặc đun trên máy khuấy từ gia nhiệt cho đến khi thạch tan chảy hoàn toàn.
Để thạch nguội đến khoảng 56 °C, cho 1 ml huyết thanh thỏ kháng Vi vào và lắc nhẹ tròn đều chai thạch sao cho huyết thanh thỏ kháng Vi hoà tan đều vào thạch nhưng không bị tạo bọt.

Tạo bản gel và đục lỗ thạch
Đổ thạch trên khuôn, chờ thạch nguội hoàn toàn.
Đục lỗ thạch bằng bộ đục lỗ chuyên dụng sao cho các giếng trên bản gel phải cách mép bản gel ít nhất 2 cm và cách nhau ít nhất 1 cm. Số lượng giếng trên bản gel phải được tính toán sao cho có đủ 5 giếng cho các hàm lượng kháng nguyên Vi chuẩn, 2 giếng (làm kép) cho mỗi mẫu thử.

Pha mẫu kháng nguyên Vi chuẩn
Pha loãng kháng nguyên Vi chuẩn bằng dung dịch *PBS* ở các độ pha loãng như sau: 100 µg; 50 µg; 25 µg; 12,5 µg; 6,25 µg Vi polysaccharid /ml.
Lần lượt nhỏ mẫu chuẩn ở các độ pha loãng như trên vào từng giếng trên bản gel (5 µl/giếng); cho vào 2 giếng tiếp theo mỗi giếng 5 µl vắc xin mẫu thử.

Chạy điện di miễn dịch Rocket
Đặt bản gel vào máy điện di theo hướng mẫu đi từ cực âm sang cực dương.
Bật nguồn, cài đặt các thông số thích hợp về hiệu điện thế, cường độ dòng điện và thời gian chạy điện di của mẫu.
Dùng giấy lọc Whatman làm cầu nối từ bể dung dịch điện di tới bản gel ở cả 2 đầu bản gel.
Bấm nút "Run" để chạy điện di.

Rửa bản gel
Sau khi chạy điện di xong, tắt nguồn, lấy bản gel ra khỏi máy điện di, cho vào hộp nhựa trong có nắp kín.
Cho nước muối sinh lý ngập bản gel và ngâm, lắc nhẹ bằng máy lắc trong 3 h (thay nước muối sinh lý 1 h/lần).
Hút hết nước muối sinh lý ra và thay bằng nước cất. Ngâm và lắc hộp nước cất có chứa bản gel liên tục. Sau khi ngâm được 1 h, thay nước cất 30 min/lần.

Ủ bản gel
Đổ toàn bộ nước cất ra khỏi hộp.
Phủ một lớp giấy lọc lên mặt bản gel để tránh cho bản gel không bị khô không đồng đều.
Ủ bản gel qua đêm trong tủ ấm 37 °C.

Nhuộm và tẩy bản gel
Bóc bỏ lớp giấy lọc trên mặt bản gel.
Nhuộm bản gel bằng dung dịch nhuộm màu trong 15 min.

Trong quá trình nhuộm, lắc đều hộp dung dịch nhuộm màu có chứa bản gel bằng máy lắc.
Hút bỏ toàn bộ dung dịch nhuộm màu và bơm dung dịch tẩy màu vào hộp chứa bản gel; ngâm, lắc liên tục cho đến khi nhìn rõ những cột tên lửa trên bản gel. Nếu bản gel vẫn còn xanh đậm, có thể thay dung dịch tẩy màu mới nhằm rút ngắn thời gian tẩy màu của bản gel.

Đọc và tính kết quả
Bản gel được đưa ra khỏi hộp nhựa và đặt trên phiến kính trong. Dùng thước đo chuyên dụng để đo chiều cao các cột tên lửa trên bản gel, từ các giếng kháng nguyên chuẩn và mẫu thử. Dựa vào chiều cao các cột tên lửa, xây dựng được đường chuẩn và tính kết quả hàm lượng kháng nguyên Vi từ mẫu thử bằng chương trình Excell.

Đánh giá kết quả
Loạt vắc xin thương hàn Vi polysaccharid được coi là đạt yêu cầu về chỉ số hàm lượng Vi polysaccharid khi thử nghiệm có giá trị (valid) và đạt 35 µg đến 65 µg *polysaccharid*/1,0 ml vắc xin.
Nếu thử nghiệm xác định hàm lượng Vi polysaccharid không có giá trị (invalid) vì một lý do nào đó thì phải nhắc lại thử nghiệm với số lượng mẫu bằng lượng mẫu của lần kiểm tra thứ nhất.
Nếu thử nghiệm xác định hàm lượng Vi polysaccharid có giá trị (valid) nhưng không đạt yêu cầu về hàm lượng như quy định thì nhắc lại thử nghiệm với số lượng mẫu gấp đôi. Ở lần kiểm tra thứ hai nếu hàm lượng Vi polysaccharid đạt yêu cầu (nằm trong khoảng cho phép của tiêu chuẩn chấp thuận thì loạt vắc xin đó được coi là đạt yêu cầu về hàm lượng Vi polysaccharid. Nếu kết quả hàm lượng Vi polysaccharid không đạt yêu cầu thì loạt vắc xin đó phải huỷ bỏ, không được phép xuất xưởng đưa vào sử dụng.

Tiêu chuẩn chấp thuận
(25 µg ± 30 %) Vi polysaccharid/liều đơn vắc xin dùng cho người (0,5 ml).

15.38 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG POLYSACCHARID TRONG VẮC XIN VÀ SINH PHẨM

Nguyên lý
Polysaccharid có trong mẫu thử được chuyển thành đường đơn, sau đó phản ứng với anthron tạo thành hợp chất màu. Đo hợp chất màu này ở bước sóng 620 nm, từ đó xác định hàm lượng polysaccharid trong mẫu thử.

Tiến hành
Pha loãng dung dịch glucose chuẩn 500 µg/ml bằng *nước cất* thành các nồng độ 2,5 µg/ml; 5,0 µg/ml; 7,5 µg/ml; 10,0 µg/ml; 12,5 µg/ml. Mẫu thử được điều chỉnh bằng *nước cất* để có nồng độ protein khoảng 200 µg/ml.
Hút 1 ml mẫu thử và mỗi dung dịch glucose chuẩn vừa pha loãng ở trên vào ống nghiệm, thêm 4 ml *dung dịch anthron 0,2 %*; lắc đều, đun cách thủy 100 °C trong 15 min. Làm nguội nhanh trong nước đá và để ở nhiệt độ phòng trong 60 min.
Đo mật độ quang (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 620 nm, dựng đường chuẩn, từ đó tính ra hàm lượng polysaccharid trong mẫu thử.
Đơn vị tính: µg/100 µg protein.
Cách pha các dung dịch:
Dung dịch *glucose* chuẩn 500 µg/ml: Hòa tan 500 mg glucose bằng *nước cất* trong bình định mức 100 ml, thêm *nước cất* vừa đủ. Trước khi dùng, pha loãng 10 lần bằng *nước cất*.
Dung dịch anthron 0,2 %: Cân 0,2 g *anthron* chuyển vào bình định mức 100 ml, thêm *acid sulfuric 95 %* vừa đủ 100 ml.
Bảo quản dung dịch ở 2 °C đến 10 °C trong chai thủy tinh màu, sử dụng trong vòng 2 tuần sau khi pha.

Tiêu chuẩn chấp thuận
Tùy từng loại vắc xin và sinh phẩm. Đối với bán thành phẩm viêm gan B, hàm lượng polysaccharid không lớn hơn 10 µg/100 µg protein.

15.39 XÁC ĐỊNH ĐỘ TINH KHIẾT KHÁNG NGUYÊN HBsAg

Thử nghiệm xác định độ tinh khiết kháng nguyên HBsAg được thực hiện trong giai đoạn bán thành phẩm của vắc xin viêm gan B.
Độ tinh khiết kháng nguyên HBsAg được xác định bằng phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Dung dịch đệm PBS pH 6,8.
Cách pha dung dịch đệm PBS pH 6,8: Cân 3,48 g *natri phosphat monobasic*; 9,75 g *natri phosphat dibasic*; 23,38 g *natri clorid* và 0,1 g *natri azid*, hoà tan trong vừa đủ 1 L *nước khử ion*. Điều chỉnh pH bằng 6,8 bằng *acid phosphoric (TT)*.
Lọc qua màng lọc 0,45 µm.
Điều kiện sắc ký:
Cột TKgel G3000SW, Nhật Bản.
Nhiệt độ phòng
Tốc độ dòng: 0,6 ml/min.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.
Thể tích tiêm: 50 µl.
Lọc mẫu thử qua màng lọc 0,45 µm trước khi cho mẫu vào cột.
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử.
Tiêu chuẩn chấp thuận: Tỷ lệ diện tích pic HBsAg so với tổng số các pic không nhỏ hơn 95 %.

15.40 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG LIPID TRONG VẮC XIN VÀ SINH PHẨM

Nguyên lý
Dựa trên phản ứng của lipid với vanilin trong môi trường acid sulfuric và acid phosphoric tạo thành hợp chất màu.

Đo hợp chất màu này ở bước sóng 540 nm, từ đó xác định hàm lượng lipid trong mẫu thử.

Tiến hành

Mẫu thử được điều chỉnh bằng *nước cất* để có nồng độ protein khoảng 200 µg/ml.

Hút dung dịch dầu ô liu (olive oil) chuẩn 500 µg/ml vào các ống nghiệm lần lượt 0,1 ml; 0,2 ml; 0,3 ml; 0,4 ml; thêm nước cất vừa đủ 1 ml.

Hút 1 ml mẫu thử vào ống nghiệm, 1 ml nước cất vào mẫu trắng. Thêm 3 ml *acid sulfuric 95 %* vào mỗi ống nghiệm, lắc mạnh bằng máy lắc. Đun cách thủy 100 °C trong 10 min, làm lạnh bằng nước đá trong 5 min. Thêm 13 ml *dung dịch phosphovanilin (TT)* vào mỗi ống nghiệm, lắc kỹ. Đun cách thủy 37 °C ± 2 °C trong 30 min, làm lạnh, để yên ở nhiệt độ phòng 30 min.

Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) ở bước sóng 540 nm, dựng đường chuẩn, từ đó tính ra hàm lượng lipid trong mẫu thử. Đơn vị tính: µg/100 µg protein.

Cách pha các dung dịch:

Dung dịch dầu ô liu (olive oil) chuẩn 5000 µg/ml: Cân 0,25 g olive oil vào bình định mức 50 ml, thêm *ethanol (TT)* vừa đủ, lắc kỹ. Bảo quản dung dịch ở 4 °C đến 7 °C, dùng trong 1 tháng. Trước khi dùng, pha loãng 10 lần bằng *nước cất*.

Dung dịch vanilin 0,6 %: Hòa tan 6,0 g *vanilin (TT)* trong 6 ml đến 7 ml *ethanol (TT)*, chuyển vào bình định mức 1 L, thêm *nước cất* đến định mức.

Dung dịch phosphovanilin: Cho 350 ml *dung dịch vanilin 0,6 %* và 50 ml *nước cất* vào cốc thủy tinh, khuấy đều. Thêm 600 ml *acid phosphoric 85 % (TT)* trong khi đang khuấy từ.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Tùy từng loại vắc xin và sinh phẩm.

Đối với bán thành phẩm viêm gan B, hàm lượng lipid không lớn hơn 100 µg/100 µg protein.

15.41 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG CESI TRONG VẮC XIN VÀ SINH PHẨM

Nguyên lý

Cesi tồn dư trong quá trình tinh khiết HBsAg được xác định bằng phương pháp sắc ký trao đổi ion.

Tiến hành

Mẫu chuẩn: Hút 1 ml *nước khử ion* vào 3 ống nghiệm, thêm lần lượt 0,2 ml; 0,4 ml; 0,6 ml dung dịch cesi chuẩn 0,001 %.

Mẫu thử: Hút 1 ml mẫu đã pha loãng 5 lần bằng *nước khử ion* vào ống nghiệm, thêm 0,4 ml dung dịch chuẩn. Lọc các dung dịch mẫu chuẩn và mẫu thử qua màng lọc 0,22 µm.

Điều kiện vận hành máy sắc ký ion: Cột IonPac Cs-12, detector đo độ dẫn điện 5 mcS đến10 mcS, tốc độ dòng 1,0 ml/min, thể tích mẫu thử: 100 µl, nhiệt độ phòng.

Dựa vào diện tích pic để tính ra hàm lượng cesi trong mẫu thử. Đơn vị tính: µg/20 µg protein.

Cách pha các dung dịch

Dung dịch acid hydrocloric 0,04 M (dung dịch rửa giải): Lọc 1,5 L *nước khử ion* qua màng lọc 0,45 µm, hút 3,3 ml *acid hydrocloric (TT)* pha trong vừa đủ 1 L *nước khử ion* vừa lọc trên.

Dung dịch tetrabutyl amoni hydroxyd (TBAOH) (dung dịch tái sinh): Hút 66,67 ml TBAOH vào ống đong 2 L, thêm *nước khử ion* vừa đủ 2 L, khuấy đều.

Dung dịch cesi chuẩn 0,01 %: Cân chính xác khoảng 10 mg (a) *cesi clorid*, chuyển vào bình định mức 100 ml, thêm *nước khử ion* vừa đủ, lắc đều.

Pha loãng 10 lần dung dịch cesi chuẩn 0,01 % bằng *nước khử ion* trước khi dùng. Hàm lượng cesi thực có trong dung dịch thu được (X) được tính bằng công thức:

$$X\ (\mu g/ml) = \frac{132,9}{168,4} \times \frac{a}{100} \times \frac{1}{10} \times 1000$$

Trong đó:

132,9 là phân tử lượng của Cs;

168,4 là phân tử lượng của CsCl;

10 là hệ số pha loãng dung dịch chuẩn;

1000 chuyển từ mg sang µg.

Tiêu chuẩn chấp thuận

Không lớn hơn 5 µg/20 µg protein.

15.42 XÁC ĐỊNH HÀM LƯỢNG SACCHARID TỔNG SỐ BẰNG PHƯƠNG PHÁP ORCINOL

Nguyên tắc

Phương pháp cho phép định lượng polyribosylribitol phosphat (PRP), polysaccharid này được xem là thành phần hoạt động chính của vắc xin *Haemophilus influenza typ b*. Phương pháp dựa trên sự hình thành phức hợp màu xanh và hòa tan trong nước.

Chuẩn bị dung dịch

Các dung dịch sau đây được pha ngay trước khi thử nghiệm.

Dung dịch chuẩn ribose: Hoà tan 5,0 mg ribose chuẩn trong bình định mức 10 ml bằng *nước cất*, thêm *nước cất* đến vạch. Lắc đều.

Dung dịch sắt (III) clorid trong acid hydrocloric: Cân 1 g *sắt (III) clorid (TT)* và hòa tan trong 10 ml *nước cất*. Pha 0,25 ml dung dịch thu được với 50 ml *acid hydrocloric (TT)*.

Dung dịch orcinol: Cân 230 mg *orcinol (TT)* và hòa tan trong 5 ml *ethanol (TT)*, chuẩn bị xong phải chứa dung dịch trong chai thủy tinh màu.

Dung dịch natri azid 0,02 %: Cân 0,02 g *natri azid (TT)* và pha loãng với 100 ml *nước cất*.

Chuẩn bị dung dịch để lập đường chuẩn: Từ dung dịch chuẩn ribose pha về các nồng độ 1 µg/ml, 4 µg/ml, 12 µg/ml và 20 µg/ml.

Chuẩn bị mẫu kiểm tra:

Đối với mẫu cộng hợp (ARM): 50 µl mẫu pha loãng với 450 µl *nước cất*.

Nếu mẫu là sản phẩm cuối cùng thì không cần pha loãng.

Tiến hành

Xác định hàm lượng saccharid tổng số

Lấy vào mỗi ống 500 µl dung dịch chuẩn ribose đã pha (nồng độ 1, 4, 12, 20 µg/ml).

Lấy 500 µl mẫu vắc xin cần kiểm tra vào một ống khác.

Thêm *nước* vào tất cả các ống để được 2000 µl.

Thêm 1000 µl *dung dịch sắt (III) clorid trong acid hydrocloric* vào các ống.

Thêm 80 µl *dung dịch orcinol* vào các ống.

Giữ 80 °C trong 15 min.

Để nguội, đo mật độ quang của các dung dịch ở 670 nm (OD 670 nm) và ở 580 nm (OD 580 nm) và tính kết quả.

Xác định hàm lượng saccharid tự do

Chú ý: Trước khi sử dụng ống ly tâm Centricon với màng lọc Ultracel YM-30, phải rửa ống ly tâm lại với *nước* và sau đó thêm 500 µl *nước cất* và ly tâm trong 5 min.

Thêm 500 µl mẫu vào phần trên của ống ly tâm Centricon.

Ly tâm ở 3500 r/min trong 20 min.

Sử dụng phần dịch được lọc ra (phần dịch nằm bên dưới) và tiến hành các bước theo phần xác định hàm lượng saccharid tổng số.

Rửa hệ thống ống ly tâm Centricon với màng lọc Ultracel YM-30 bằng *nước* và thêm *dung dịch natri azid 0,02 %*. Bảo quản ở 4 °C cho đến khi dùng trở lại.

Tính hàm lượng saccharid cuối cùng của mẫu thử (C_f) theo công thức sau:

$$C_f = C_m \times 10^{-3} \times 2,45$$

Trong đó:

C_m là giá trị trung bình của hàm lượng ribose trong mẫu thử;

2,45 là hệ số biểu hiện mối tương quan về khối lượng phân tử của polymer (saccharid) và D-ribose;

10^{-3} là hệ số chuyển đổi từ đơn vị µg/ml thành mg/ml.

Kết quả được tính theo đơn vị mg/ml (mg carbonhydrat/ml mẫu cần kiểm tra).

15.43 QUY TRÌNH THỬ NGHIỆM CÔNG HIỆU *(IN VIVO)* CỦA VẮC XIN VIÊM GAN B TÁI TỔ HỢP

Sinh vật phẩm

Chuột nhắt cái giống BALB/c thuần chủng từ cùng một đàn tùy loại 2D hoặc 2K từ 5 đến 6 tuần tuổi, cân nặng tối thiểu 16 g được lựa chọn, vận chuyển và chăm sóc trong điều kiện cách ly.

Vắc xin viêm gan B mẫu chuẩn quốc tế từ WHO.

Chuẩn thứ cấp (địa phương) vắc xin viêm gan B tái tổ hợp.

Chuẩn bị dung dịch

Dung dịch để pha loãng mẫu: Hoà tan *nhôm hydroxyd (TT)* trong *dung dịch natri clorid 0,9 % (TT)* để được dung dịch có nồng độ 1,5 g/l.

Gel phải có nồng độ Al^{3+} như trong mẫu vắc xin (0,5 mg Al^{3+}/ml); 0,5 mg Al^{3+} tương đương với 1,44 mg $Al(OH)_3$.

Hấp tiệt trùng dung dịch đã pha ở 121 °C trong 30 min. Bảo quản ở 4 °C.

Tiến hành

Chuẩn bị các độ pha của vắc xin:

Tiến hành trong Laminar.

Các độ pha của mẫu vắc xin hấp phụ được pha loãng bằng dung dịch pha loãng mẫu, mỗi độ pha tương ứng với một nồng độ của vắc xin. Chỉ chuẩn bị 1 lọ cho mỗi độ pha mẫu hoặc chuẩn.

Trước khi lấy đủ lượng vắc xin cần thiết (1 ml) phải lắc đều lọ để đồng nhất mẫu.

Để chuẩn bị các độ pha vắc xin từ nồng độ kháng nguyên 20 µg/ml cần tiến hành theo hướng dẫn trong Bảng 15.43.1. Song song làm tương tự với mẫu chuẩn quốc tế của WHO hoặc chuẩn thứ cấp của phòng thí nghiệm (chuẩn quốc tế được dùng để chuẩn hóa chuẩn thứ cấp).

Sau khi chuẩn bị xong các độ pha, đậy nút cao su và nắp đã tiệt trùng. Chuyên các lọ mẫu pha loãng đến nhà chăn nuôi súc vật thí nghiệm để gây nhiễm trên động vật.

Bảng 15.43.1: Chuẩn bị các độ pha loãng của vắc xin

Mẫu vắc xin (ml)	Dung dịch pha loãng (ml)	Độ pha loãng	HBsAg (µg/ml)
1 (vắc xin không pha loãng)	15	1/16	1,25
4 (vắc xin 1/16)	12	1/64	0,312
4 (vắc xin 1/64)	12	1/256	0,078
4 (vắc xin 1/64)	28	1/512	0,039
4 (vắc xin 1/256)	12	1/1024	0,019
Giả dược (Placebo)	12		

Gây nhiễm trên động vật:

Với mỗi độ pha của vắc xin gây nhiễm trên 10 chuột nhắt (1 ml/con) bằng đường tiêm màng bụng. Sau khi tiêm theo dõi trong vòng 28 ngày ở vùng cách ly bảo vệ.

Lấy máu: Tiến hành lấy máu sau 28 ngày gây nhiễm trên chuột. Lấy máu riêng từng con vào ống nhựa, dán nhãn ghi số lô và độ pha. Có thể ly tâm ngay khi lấy máu tại nhà chuột hoặc giữ ở nhiệt độ phòng không quá 24 giờ để ly tâm sau đó.

Ly tâm, tách huyết thanh cẩn thận bằng pipet (không được làm lẫn huyết thanh giữa các ống khác nhau) sang một ống nhựa khác. Nếu chưa tiến hành định lượng kháng thể anti-HBs Ag ngay, bảo quản các mẫu huyết thanh ở -20 °C để kiểm tra sau.

Định lượng kháng thể kháng HBsAg bằng phương pháp ELISA với bộ kit của BIO-RAD.

Tính kết quả: Sau khi xác định được các mẫu huyết thanh dương tính (có chứa kháng thể), tính phần trăm số chuột có đáp ứng miễn dịch trên mỗi độ pha tức là trên tổng số chuột gây nhiễm có bao nhiêu chuột có đáp ứng miễn dịch của độ pha đó. Làm tương tự với mẫu vắc xin chuẩn.

Chú ý: Chuột có đáp ứng miễn dịch là trong huyết thanh có chứa kháng thể kháng HBsAg.

Tính phần trăm số chuột có đáp ứng miễn dịch với mỗi độ pha như sau:

$$\% \text{ chuột có đáp ứng} = \frac{N_i}{N} \times 100$$

Trong đó:
Ni là số chuột có đáp ứng miễn dịch của một độ pha;
N là số chuột gây nhiễm trên độ pha đó.
Sau khi tính phần trăm số chuột có đáp ứng miễn dịch, tính ED_{50} (Liều vắc xin gây nhiễm 50 % chuột có đáp ứng miễn dịch) và công hiệu bằng chương trình Potency.

15.44 MỘT SỐ PHƯƠNG PHÁP MIỄN DỊCH SỬ DỤNG TRONG KIỂM ĐỊNH VẮC XIN

Giới thiệu chung

Phương pháp miễn dịch là phương pháp dựa trên các liên kết đặc hiệu, thuận nghịch và không cộng hóa trị của kháng nguyên và kháng thể. Phương pháp này được sử dụng để phát hiện hoặc định lượng kháng nguyên hoặc kháng thể có bản chất là protein, polysaccharid, virus, vi khuẩn, ADN hoặc ARN trong đó chủ yếu là protein. Sự hình thành phức hợp kháng nguyên-kháng thể có thể được phát hiện và định lượng bằng nhiều kỹ thuật.
Các kết quả của phương pháp miễn dịch phụ thuộc vào điều kiện thực nghiệm, bản chất và chất lượng của các hóa chất sử dụng. Do đó việc chuẩn hóa các thành phần của một thử nghiệm miễn dịch với chất chuẩn quốc tế là điều rất cần thiết. Hiện nay các hóa chất sử dụng cho phương pháp miễn dịch đã được thương mại hóa qua các bộ kit chuyên dụng. Trong mỗi bộ kit đã có đủ các thành phần cần thiết và hướng dẫn sử dụng đi kèm để định lượng, nhận dạng một loại kháng nguyên hoặc kháng thể nhất định. Mỗi loại kit đều có một giới hạn phát hiện, quy trình và tiêu chuẩn riêng. Do vậy, khi sử dụng kít cho mỗi thử nghiệm phải tuân thủ theo đúng hướng dẫn của kít để đảm bảo kết quả được chuẩn xác và có ý nghĩa.
Phương pháp miễn dịch có rất nhiều kỹ thuật khác nhau và sẽ cho ra các kết quả khác nhau (do mỗi kỹ thuật có một đơn vị tính riêng, tiêu chuẩn riêng...), vì thế muốn biết kết quả kiểm tra có đạt hay không, cần so sánh với tiêu chuẩn chấp nhận áp dụng cho từng kỹ thuật, từng đơn vị tính, không nên dùng kết quả của các kỹ thuật khác nhau để so sánh, đánh giá.
Hiện tại phương pháp miễn dịch chia thành 2 dạng: Dạng sử dụng kháng thể hoặc kháng nguyên có đánh dấu và không đánh dấu.

Phương pháp sử dụng kháng nguyên hoặc kháng thể đánh dấu

Có nhiều phương pháp miễn dịch đánh dấu khác nhau và được phân ra như sau:
Phương pháp miễn dịch phóng xạ, dùng đồng vị phóng xạ như I^{125}. Viết tắt là RIA (Radio Immuno Assay), IRMA (Immuno Radiometric Assay).
Phương pháp miễn dịch gắn men (EIA - Enzyme Immuno Assay hay ELISA - Enzym Linked Immuno Sorbent Assay).
Phương pháp miễn dịch khác như: Miễn dịch huỳnh quang (FIA - Fluoro Immuno Assay); phương pháp miễn dịch hóa phát quang (CLIA - Chemiluminescence Immuno Assay). Tuy nhiên trong kiểm định vắc xin và sinh phẩm y tế chủ yếu sử dụng phương pháp ELISA (EIA) trong thử nghiệm công hiệu, nhận dạng các vắc xin Viêm gan B, Viêm gan A, HPV (vắc xin phòng ung thư cổ tử cung), IPV (vắc xin bại liệt tiêm trong các vắc xin đơn và phối hợp 5 hoặc 6 thành phần); Nhận dạng, định lượng kháng nguyên của virus viêm não nhật bản; Thử nghiệm nhận dạng thành phần Hib trong vắc xin Hib cộng hợp uốn ván và Hib cộng hợp giải độc tố bạch hầu (Vắc xin vi khuẩn); định lượng hàm lượng các chất tồn dư trong vắc xin có bản chất là protein: BSA, ovalbumin, gentamicin, neomycin.

Phương pháp sử dụng kháng nguyên hoặc kháng thể không đánh dấu

Phương pháp khuếch tán miễn dịch tự phát bao gồm:
Khuếch tán miễn dịch đơn (SRID hay còn viết là SRD - Single radial immunodiffusion).
Khuếch tán miễn dịch kép (DID - double immunodiffusion).
Phương pháp khuếch tán miễn dịch dưới ảnh hưởng của điện trường gồm:
Phương pháp điện di miễn dịch (IE - Immunoelectrophoretic method): Là sự kết hợp giữa 2 phương pháp điện di trên gel và khuếch tán miễn dịch.
Phương pháp điện di miễn dịch đối lưu (CIE - Crossed immunoelectrophoresis): Là phương pháp IE cải tiến.
Trong kiểm định vắc xin và sinh phẩm y tế chủ yếu sử dụng phương pháp SRD và DID. Phương pháp SRD thường sử dụng để nhận dạng, định lượng hàm lượng kháng nguyên HA, NA của virus cúm (thử nghiệm kiểm tra công hiệu, nhận dạng vắc xin cúm); Kiểm tra hàm lượng glycoprotein (kháng nguyên của virus dại) trong vắc xin dại hay thử nghiệm công hiệu vắc xin thương hàn Vi (vắc xin vi khuẩn)... Phương pháp DID chủ yếu chỉ sử dụng trong thử nghiệm nhận dạng một số vắc xin vi khuẩn như: Hib, thương hàn Vi, phế cầu...
Phương pháp IE và CIE chủ yếu sử dụng kiểm tra trong quá trình sản xuất (IPC-in process control) vắc xin dạng bán thành phẩm (bulk).

Đánh giá kết quả

Tiêu chuẩn đánh giá

Phương pháp định lượng có giá trị khi: Các kháng thể hoặc kháng nguyên của mẫu thử và mẫu chuẩn phải không có sự khác biệt đáng kể về bản chất và thành phần.
Phương pháp miễn dịch bị ảnh hưởng bởi các yếu tố gây nhiễu trong sản phẩm kiểm tra như: Protein tạp, các muối, chất bảo quản, tá dược (muối nhôm, MPL...)... đều có thể gây ảnh hưởng đến sự phân giải của protein kiểm tra. Do đó khi sử dụng phương pháp hóa miễn dịch đều phải thẩm định và chứng minh sự không ảnh hưởng của các chất gây nhiễu trong sản phẩm đến kết quả thử nghiệm.
Giới hạn định lượng của phương pháp phải nhỏ hơn giới hạn về tiêu chuẩn chấp nhận cho từng loại chỉ tiêu kiểm

tra. Ví dụ: Tiêu chuẩn về hàm lượng endotoxin cho vắc xin Gardasil (HPV) không được quá 10 EU/ml thì phương pháp sử dụng hoặc kit sử dụng phải có giới hạn phát hiện thấp hơn 10 EU/ml.

Mỗi phương pháp miễn dịch phải đưa ra được độ chính xác của phương pháp và sự thay đổi về kết quả kiểm tra giữa các lần phải đáp ứng được các yêu cầu (tiêu chuẩn) quy định cho từng loại mẫu theo chuyên luận riêng. Kết quả kiểm tra các mẫu sinh học thường phải nằm trong giới hạn GMT ± 2SD.

Quá trình tiến hành thử nghiệm không được làm phát sinh lỗi hệ thống. Không nên có quá nhiều bước trung gian để tránh gây sai sót hệ thống.

Phương pháp đánh giá

Xác minh, đánh giá các tiêu chuẩn trên sẽ bao gồm các yếu tố sau:

Thử nghiệm phải được tiến hành ít nhất ba lần.

Thử nghiệm phải sử dụng ít nhất ba độ pha loãng khác nhau của mẫu kiểm tra và mẫu chuẩn. Mẫu chuẩn và mẫu kiểm tra phải được tiến hành song song trong cùng một điều kiện.

Việc bố trí thử nghiệm được phân bố ngẫu nhiên.

Thành phần, hàm lượng và bản chất của mẫu chuẩn phải tương đồng với mẫu kiểm tra. Ví dụ mẫu kiểm tra là dạng huyết thanh hay được kết hợp với thành phần khác thì mẫu chuẩn cũng phải được chuẩn bị để có thành phần tương tự.

Trong thử nghiệm kiểm tra phải xác định cả tính đặc hiệu của chất phản ứng đánh dấu. Ví dụ trong thử nghiệm kiểm tra hàm lượng kháng nguyên HPV trong vắc xin Gardasil (có 4 typ: 6, 11, 16 và 18), nếu định lượng typ 6 gắn kháng thể đặc hiệu cho typ 6 thì vẫn phải kiểm tra sự đặc hiệu của kháng thể bằng cách nhỏ kháng nguyên khác typ (typ 11 hoặc 16 hoặc 18). Nếu đặc hiệu thì chỉ đúng typ mới cho phản ứng, khác typ không cho phản ứng.

Thay thế thử nghiệm

Thay thế thử nghiệm miễn dịch khi có yếu tố sau:

Sự kết hợp tối đa (không có sự thay đổi) được xác định;

Các độ pha loãng đã bao quát được toàn bộ giới hạn phản ứng từ nồng độ có sự gắn kết tối đa đến không có sự gắn kết của cả mẫu thử và mẫu chuẩn.

Tính toán thống kê

Để tính toán kết quả, các đường cong phản ứng cho mẫu thử và mẫu chuẩn được tính toán theo các phương pháp mô tả trong Phụ lục 13.10 Phân tích thống kê các kết quả thử nghiệm sinh học.

Trường hợp thay thế thử nghiệm miễn dịch là khi kết quả thu được không có sự khác biệt đáng kể từ nồng độ cao đến nồng độ thấp của mẫu kiểm tra và mẫu chuẩn. Sự khác nhau có thể cho thấy sự ảnh hưởng của chất nền hoặc chất ức chế sự liên kết hoặc suy giảm sự nhận biết đánh dấu có chọn lọc. Ví dụ trong thử nghiệm kiểm tra hàm lượng endotoxin trong vắc xin HPV tiêu chuẩn không được quá 10 EU/ml, sử dụng bộ hóa chất chuẩn endotoxin có độ nhạy là 0,0625 thì độ pha loãng tối đa cho mẫu này khoảng 160 lần. Kiểm tra mẫu từ độ pha gốc đến độ pha 160 lần mà kết quả thu được không có sự thay đổi, mẫu chứng dương đều cho kết quả âm tính thì có nghĩa là trong mẫu kiểm tra có chất gây nhiễu.

15.45 XÁC ĐỊNH BSA TỒN DƯ TRONG VẮC XIN

BSA (Bovine Serum Albumin) là một loại protein dưới dạng huyết thanh bào thai bò (FBS - Fetal Bovine Serum) hoặc huyết thanh bào thai bê (FSC - Fetal Calf Serum) được bổ sung trong quá trình nuôi cấy tế bào để sản xuất vắc xin. Theo Khuyến cáo của WHO, tất cả các dạng protein có nguồn gốc từ động vật nếu sử dụng trong sản xuất vắc xin đều phải được kiểm soát để hạn chế các phản ứng phụ.

Có thể sử dụng phương pháp điện di miễn dịch đối lưu hoặc các kit thương phẩm (hoặc tự gắn) để xác định BSA tồn dư trong vắc xin.

PHƯƠNG PHÁP ĐIỆN DI MIỄN DỊCH ĐỐI LƯU

Nguyên lý

Điện di miễn dịch đối lưu là kỹ thuật dựa trên sự ngưng kết đặc hiệu giữa kháng nguyên và kháng thể xảy ra khi cho kháng nguyên và kháng thể ở nồng độ đủ để xảy ra phản ứng ngưng kết di chuyển trên gel agarose. Nếu kháng thể và kháng nguyên ngưng kết đặc hiệu sẽ cho cung kết tủa và ngược lại, sẽ không có cung kết tủa nếu kháng nguyên và kháng thể không ngưng kết đặc hiệu. Trong kỹ thuật này, dưới tác dụng của cường độ điện trường, kháng nguyên và kháng thể gặp nhau và kết hợp đặc hiệu với nhau nhanh hơn trên gel agarose.

Thiết bị, dụng cụ

Buồng điện di nằm ngang.

Tấm thủy tinh (85 × 85) mm.

Bàn cân bằng với dụng cụ đo giọt nước.

Ampe kế.

Dục giếng thạch đường kính 3 mm.

Khay giữ ẩm.

Khay thủy tinh dùng để nhuộm và rửa tiêu bản.

Giấy Whatman No.1 và No.3.

Vải gạc lọc Agarose.

Hóa chất, dung dịch thử

Agarose.

Dung dịch đệm barbital 0,1 M pH 8,6.

Dung dịch natri clorid 0,85 % hoặc đệm PBS pH 7,2.

Dung dịch nhuộm màu Amido Black 10B 0,1 % hoặc dung dịch thuốc nhuộm Coomassie Brilliant Blue R250.

Dung dịch tẩy màu: Dung dịch acid acetic 2 % hoặc hỗn hợp ethanol/acid acetic (gồm 100 ml ethanol, 70 ml *acid acetic* và *nước cất* vừa đủ 1000 ml).

Huyết thanh thỏ kháng BSA (Anti-Bovine Albumin antibody produced in rabbit) đặc hiệu.

Chứng dương (BSA) gồm 3 nồng độ: 0,005 %; 0,0005 % và 0,0001 %.

Cách tiến hành

Chuẩn bị tiêu bản

Hòa tan 1,5 g agarose trong 100 ml dung dịch đệm barbital 0,1 M, pH 8,6. Đun sôi nhẹ cho đến khi agarose tan hoàn toàn. Lọc dung dịch trên bằng miếng vải gạc, tính lượng dùng vừa đủ, dùng pipet đổ thạch lên tấm thủy tinh (85 × 85) mm với thể tích khoảng (12 – 14) ml/1 tấm kính. Để 30 min cho agarose đông cứng.

Dùng dụng cụ đục thạch thành 2 dãy và số lượng giếng tùy theo mẫu kiểm tra. Khoảng cách giữa các giếng khoảng 10 mm.

Cho mẫu vào tiêu bản

Hút 16 µl đến 18 µl mẫu vắc xin cần kiểm tra cho vào dãy lỗ cột thứ nhất.

Dãy lỗ cột thứ 2 đối diện cho huyết thanh thỏ kháng BSA với lượng tương đương.

Chứng dương cho tương tự.

Chạy điện di

Đặt tiêu bản đã có vắc xin cần kiểm tra và huyết thanh thỏ kháng BSA trên vào buồng điện di nằm ngang có chứa dung dịch chạy điện di (dung dịch đệm barbital 0,1 M pH 8,6). Dãy có vắc xin nằm về phía cực dương, dãy có huyết thanh thỏ kháng BSA nằm về phía cực âm.

Dùng 2 miếng giấy Whatman thấm nối tiếp giữa bề mặt tiêu bản với dung dịch chạy điện di ở 2 cạnh bên của tiêu bản.

Cho dòng điện chạy vào với dòng điện có hiệu điện thế là 125 V (có thể 140 hoặc 170 V) và cường độ không vượt quá 90 mA. Thời gian chạy từ 30 - 60 min.

Rửa và nhuộm tiêu bản

Sau khi kết thúc chạy điện di, tiêu bản được lấy ra và ngâm trong dung dịch PBS pH 7,2 hoặc dung dịch natri clorid 0,85 % từ 16 h đến 24 h. Trong giai đoạn này, nên thay dung dịch 3 lần.

Rửa tiêu bản lại bằng nước cất và ngâm tiêu bản trong nước cất khoảng 30 min.

Đặt tiêu bản vào khay giữ ẩm.

Làm khô tiêu bản: Làm khô tự nhiên hoặc có thể bằng thổi hơi.

Rửa lại tiêu bản bằng nước cất và đặt tiêu bản vào khay có chứa dung dịch nhuộm Amido Black từ 5 đến 10 min. Đổ thuốc nhuộm đi và tẩy màu tiêu bản bằng dung dịch acid acetic 2 %. Cứ như vậy, nhuộm và tẩy màu 3 lần. Nếu dùng thuốc nhuộm Coomassie Brilliant Blue thì cũng nhuộm và tẩy màu tương tự nhưng dùng dung dịch tẩy màu là hỗn hợp ethanol/acid acetic.

Để tiêu bản khô tự nhiên.

Đọc kết quả

Trên tiêu bản, giữa hai dãy giếng cột 1 và 2 sẽ xuất hiện đường tủa màu xanh. Đường tủa to và đậm tỷ lệ thuận với lượng BSA có trong mẫu thử.

Giếng mẫu vắc xin phải không tạo đường tủa với huyết thanh thỏ kháng BSA đặc hiệu hoặc đường tủa rất nhạt, nhỏ hơn đường tủa chuẩn có nồng độ 0,0001 % bovine albumin. Điều này được cho là lượng BSA trong vắc xin thấp hơn 50 ng trong 1 liều vắc xin.

Giếng chứng dương có nồng độ có đường tủa từ đậm đến rất nhạt (vết) theo nồng độ tương ứng 0,005 %; 0,0005 % và 0,0001 % BSA.

PHƯƠNG PHÁP DÙNG KIT THƯƠNG PHẨM

Yêu cầu thử nghiệm: Phải tuân thủ đầy đủ các bước cơ bản của quy trình thực hiện theo hướng dẫn sử dụng, đánh giá thử nghiệm của từng bộ kit.

Mẫu kiểm tra cần được lặp lại ít nhất 2 giếng/độ pha.

Tính kết quả: Theo phần mềm chuyên dụng.

Ghi chú: Nếu hàm lượng BSA trong mẫu cần kiểm tra tính được lớn hơn giới hạn phát hiện trên của kit thì phải tiếp tục pha loãng tiếp mẫu và làm lại thử nghiệm. Trường hợp pha loãng mẫu quá nhiều cũng dẫn tới kết quả âm tính hoặc cho giá trị nhỏ hơn giới hạn phát hiện của kit, cần phải tính toán lại độ pha (thậm chí không pha loãng) mẫu rồi làm lại thử nghiệm.

TIÊU CHUẨN CHẤP THUẬN

Hàm lượng BSA tồn dư trong mẫu phải nằm trong giới hạn cho phép đối với từng vắc xin hoặc nằm trong giới hạn nhà sản xuất đăng ký.

15.46 CÁC KỸ THUẬT ELISA (PHƯƠNG PHÁP MIỄN DỊCH GẮN MEN, PHƯƠNG PHÁP ELISA)

Nguyên tắc

Nguyên tắc chung: Các kỹ thuật ELISA đôi khi còn được gọi là EIA rất đa dạng và đặc điểm chung là dựa trên sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên và kháng thể, trong đó kháng thể được gắn với một enzym. Khi cho thêm cơ chất thích hợp (thường là nitrophenol phosphat, TMB, ABTS) enzym sẽ thủy phân cơ chất thành một chất có màu. Sự xuất hiện màu hoặc tín hiệu của chất phát quang chứng tỏ đã xảy ra phản ứng đặc hiệu giữa kháng thể với kháng nguyên và thông qua đậm độ màu và cường độ sáng phát ra mà biết được nồng độ kháng nguyên hay kháng thể cần phát hiện.

Các kỹ thuật ELISA có độ nhạy khá cao và đơn giản, cho phép ta xác định kháng nguyên hoặc kháng thể ở một nồng độ rất thấp (khoảng 0,1 ng/ml). So với kĩ thuật miễn dịch phóng xạ (RIA) thì kỹ thuật này rẻ tiền và an toàn hơn mà vẫn đảm bảo độ chính xác như nhau. ELISA được dùng để phát hiện và định lượng nhiều tác nhân gây bệnh như virus, vi khuẩn, nấm, kí sinh và các chất có bản chất là peptid, protein, kháng thể, hormon,... và được sử dụng rất nhiều trong kiểm tra công hiệu, nhận dạng vắc xin và sinh phẩm; định lượng hàm lượng các chất tồn dư trong vắc xin có bản chất là protein như: BSA, ovalbumin, gentamicin, neomycin...

Kĩ thuật ELISA gồm ba thành phần tham gia phản ứng là kháng nguyên, kháng thể và chất tạo màu, phản ứng cần có hoạt tính xúc tác của enzym; thực hiện qua hai bước:

Phản ứng miễn dịch học: Là sự kết hợp giữa kháng nguyên và kháng thể.
Phản ứng hóa học: Thông qua hoạt tính xúc tác của enzym làm giải phóng oxy nguyên tử (oxygen) từ H_2O_2 để oxy hóa cơ chất chỉ thị màu, do đó làm thay đổi màu của hỗn hợp trong dung dịch thử nghiệm.
Nguyên tắc thực hiện thử nghiệm:
Sử dụng kit ELISA chuyên dụng: Phải tuân thủ đầy đủ các bước cơ bản của quy trình theo hướng dẫn sử dụng, đánh giá thử nghiệm của từng bộ kit:
Quy trình ELISA tự gắn kit: Theo Quy trình thao tác chuẩn. Các bước cơ bản bao gồm: Pha hóa chất (kháng thể hoặc kháng nguyên) để gắn phiến; Nhỏ lên phiến chuyên dụng; Ủ phiến; Xử lý phiến sau gắn rồi cũng pha mẫu và làm các bước tương tự như quy trình của kit thương mại. Tuy nhiên kit tự gắn thì bước rửa nên rửa bằng tay để hạn chế sự bong tróc các kháng nguyên/kháng thể đã gắn trên giếng.
Tính kết quả: Theo phần mềm chuyên dụng được công nhận.

Các kỹ thuật ELISA

ELISA trực tiếp
Đây là dạng đơn giản nhất trong các kỹ thuật ELISA. Trong đó, kháng nguyên cần phát hiện sẽ được gắn trực tiếp lên bề mặt phiến và sẽ được phát hiện bằng một kháng thể duy nhất (kháng thể này đã được gắn enzym). Các bước thực hiện được mô tả khái quát trong Sơ đồ 15.46.1. Chi tiết xem QUY TRÌNH I.

Gắn kháng nguyên vào phiến ELISA
↓
Ủ, rửa
↓
Thêm kháng thể có gắn enzym
↓
Ủ, rửa
↓
Thêm cơ chất tạo màu
↓
Ủ, thêm dung dịch dừng phản ứng
↓
Đọc kết quả

Sơ đồ 15.46.1 - Các bước thực hiện trong kỹ thuật ELISA trực tiếp

Ưu điểm: Đơn giản (chỉ cần kháng thể gắn enzym, cơ chất và dung dịch dừng phản ứng); Nhanh (chỉ vài bước đã có kết quả); Hạn chế xảy ra phản ứng chéo vì chỉ sử dụng một loại kháng thể duy nhất.
Nhược điểm:
Độ đặc hiệu bị giới hạn vì thông thường kháng nguyên có ít nhất là 2 epitope (vị trí trình diện kháng nguyên) mà phương pháp này chỉ sử dụng một kháng thể gắn vào một epitope.
Phản ứng miễn dịch của kháng thể sơ cấp bị hạn chế bởi có gắn với enzym đánh dấu hoặc các đuôi.
Phải đánh dấu cho từng kháng thể chuyên biệt với từng đối tượng nên mất thời gian và tốn kém... Không phù hợp cho các vắc xin đa týp.
Từ những ưu và nhược điểm trên nên phương pháp này thường được dùng để phát hiện nhanh kháng nguyên trong mẫu xét nghiệm và rất ít được lựa chọn trong việc định lượng.

ELISA gián tiếp
Trong kỹ thuật này kháng thể kết hợp kháng nguyên không được gắn enzym mà nó là mục tiêu gắn đặc hiệu của một kháng thể khác (kháng thể này mới là kháng thể được gắn với enzym). Các bước thực hiện được mô tả khái quát trong Sơ đồ 15.46.2. Chi tiết xem QUY TRÌNH II.

Gắn kháng nguyên vào phiến ELISA
↓
Ủ, rửa
↓
Thêm kháng thể sơ cấp
↓
Ủ, rửa
↓
Thêm kháng thể thứ cấp có gắn enzym
↓
Ủ, rửa
↓
Thêm cơ chất tạo màu
↓
Ủ, thêm dung dịch dừng phản ứng
↓
Đọc kết quả

Sơ đồ 15.46.2 - Tiến trình thực hiện phản ứng ELISA gián tiếp

Ưu điểm:
Kháng thể gắn enzym có thể sử dụng để đánh dấu cho nhiều loại kháng nguyên (nhất là các vắc xin đa týp) nên tiện lợi và kinh tế hơn, dễ dàng thương mại hóa.
Phản ứng miễn dịch của kháng thể sơ cấp không bị hạn chế bởi nó không gắn với enzym đánh dấu hoặc các đuôi.
Độ nhạy/độ đặc hiệu được tăng lên vì mỗi kháng thể sơ cấp có chứa một số epitope có thể gắn với kháng thể thứ cấp được đánh dấu enzym.
Nhược điểm:
Độ đặc hiệu của từng kháng thể là khác nhau. Điều này dẫn đến kết quả khác nhau giữa các thử nghiệm và do đó cần phải thử nghiệm với nhiều kháng thể khác nhau để kết quả có thể tin tưởng được.
Phản ứng chéo có thể diễn ra với kháng thể thứ cấp tạo phản ứng không đặc hiệu (dương tính giả cao).

Quy trình kéo dài thêm 1 bước ủ.

Từ những ưu-nhược điểm trên nên phương pháp này thường được dùng để phát hiện (nhanh) kháng nguyên trong mẫu xét nghiệm và rất ít được lựa chọn trong việc định lượng. Nếu định lượng nên sử dụng ELISA sandwich.

ELISA Sandwich

Đây là một dạng ELISA được sử dụng phổ biến nhất trong thực tiễn do nó cho phản ứng mạnh và nhạy. Được gọi là "sandwich" là do kết quả thử nghiệm được đánh giá thông qua sự kết hợp của hai loại kháng thể là kháng thể bắt giữ (capture antibodies) và kháng thể phát hiện (detection antibodies). Kỹ thuật này cũng được phân làm hai dạng là ELISA sandwich trực tiếp (DAS-ELISA) và ELISA sandwich gián tiếp (TAS-ELISA).

1) ELISA Sandwich trực tiếp (DAS-ELISA)

DAS ELISA gồm sự dính thụ động của kháng thể vào pha rắn (đáy giếng). Sau ủ, rửa, các giếng được bổ sung dung dịch bão hòa phiến (blocking buffer hay saturation) thích hợp để phủ kín các vị trí còn trống trên giếng sau khi gắn kháng thể. Dung dịch bão hòa phiến thường là PBS 10 mM - 1 % BSA - 0,05 % tween 20; hoặc PBS 10 mM - 1 % Casein - 0,05 % tween 20; hoặc PBS 10 mM - 0,025% Tween 20 - 2 % skim milk; hoặc PBS 10 mM - 0,05 % Tween 20 - 2 % gelatin cá. Những thành phần của dung dịch bão hòa phiến không được chứa bất kỳ kháng nguyên nào có thể kết hợp với kháng thể bắt giữ. Sau đó, cho mẫu thử chứa kháng nguyên vào và để phản ứng kháng nguyên-kháng thể xảy ra. Những kháng nguyên được pha loãng trong dung dịch bão hòa phiến nhằm ngăn sự dính không chuyên biệt của chúng vào pha rắn. Sau khi ủ và rửa, chỉ còn phức hợp kháng nguyên - kháng thể dính vào pha rắn. Kháng thể bắt giữ có gắn enzym sau đó được thêm vào sẽ kết hợp trực tiếp với kháng nguyên đích. Kháng thể thứ hai này có thể giống kháng thể thứ nhất (kháng thể phát hiện) hoặc khác về nguồn động vật hay loài động vật sản xuất kháng thể. Sau khi ủ, rửa, thêm cơ chất vào và đọc kết quả trên máy đo quang phổ.

Chú ý: Nếu sử dụng kháng thể bắt giữ và kháng thể phát hiện giống nhau có thể dẫn đến vấn đề nếu có sự giới hạn vị trí kết hợp sẵn có để phát hiện. Mối quan hệ về kích thước và vị trí không gian của các epitope cũng có ảnh hưởng đến thử nghiệm. Chi tiết xem QUY TRÌNH III A và III B.

Các bước thực hiện được mô tả khái quát trong Sơ đồ 15.46.3.

Gắn kháng thể thứ I vào phiến ELISA

↓

Ủ, rửa

↓

Thêm kháng nguyên

↓

Ủ, rửa

↓

Thêm kháng thể có gắn enzym

↓

Ủ, rửa

↓

Thêm cơ chất tạo màu

↓

Ủ, thêm dung dịch dừng phản ứng

↓

Đọc kết quả

Sơ đồ 15.46.3 - Các bước thực hiện ELISA Sandwich trực tiếp

Trong sơ đồ 15.46.3, có thể thay kháng thể bằng kháng nguyên, lúc đó sẽ sử dụng kháng kháng thể gắn enzym. Biotine được sử dụng như một kháng kháng thể chống lại kháng nguyên đích. Lúc đó để phát hiện Biotin thường dùng streptavidin hoặc aviđin gắn enzym tạo phức hợp: Kháng thể-Biotinylate-Streptavidin-Enzym. Phương pháp này được áp dụng trong sản xuất các kit chẩn đoán HIV, HCV... Một số loại kit thương phẩm để rút ngắn thời gian, sau bước nhỏ kháng nguyên sẽ nhỏ luôn kháng thể có gắn enzym vào rồi ủ. Như vậy sẽ giảm bớt được một bước ủ. Phương pháp này được ứng dụng trong sản xuất các kit thương phẩm để định lượng BSA, Ovalbumin tồn dư trong vắc xin hay trong thử nghiệm kiểm tra hàm lượng HBsAg trong các vắc xin viêm gan B (thử nghiệm kiểm tra công hiệu, nhận dạng *in vitro*).

Ưu điểm: Có thể phát hiện sự khác biệt nhỏ giữa các kháng nguyên nếu sử dụng kháng thể bắt và kháng thể phát hiện khác nhau.

Nhược điểm : Vì sử dụng một kháng thể gắn kết với enzym nên hệ thống bị giới hạn về tính chuyên biệt và những thành phần gắn liền với kháng thể chuyên biệt. Điều này giới hạn sự linh hoạt của phương pháp, ví dụ như mỗi kháng thể được sử dụng phải được đánh dấu riêng (cho những kháng nguyên khác nhau). Theo cách này, DAS-ELISA bị giới hạn về sự chuẩn bị kháng thể. Hệ thống cũng bị giới hạn ở chỗ kháng nguyên phải có ít nhất hai epitope vì cả hai kháng thể bắt giữ và phát hiện đều kết hợp trực tiếp với kháng nguyên.

Kháng thể bắt giữ trên pha rắn và kháng thể phát hiện có thể chống lại những epitope khác nhau trên phức hợp kháng nguyên. Do đó, thuận lợi khi khảo sát sự khác biệt nhỏ giữa những kháng nguyên nếu sử dụng kháng thể phát hiện và kháng thể bắt giữ khác nhau.

2) ELISA Sandvich gián tiếp: Ứng dụng trong thử nghiệm kiểm tra vắc xin đa týp như vắc xin phòng papillomavirus (Gardasil, Cervarix), IPV (bại liệt bất hoạt). Các bước thực hiện được mô tả khái quát trong Sơ đồ 15.46.4.

Biotin được sử dụng như một kháng kháng thể thứ II. Kháng kháng thể thứ hai này có vai trò bắt giữ không cho kháng thể thứ II có gắn emzym bị rửa trôi. Để phát hiện các protein được biotinylated người ta thường sử dụng streptavidin hoặc avidin là hai loại protein có phản ứng tạo ái lực cao với các phân tử protein được biotinylated hóa. Enzym HRP thường được gắn cộng hợp với streptavidin hoặc avidin. Việc sử dụng biotin như một kháng kháng thể thứ II chung cho các vắc xin/chủng virus, vi khuẩn đa týp có nhiều lợi ích là giảm kinh phí và thời gian cho việc tạo liên kết giữa enzym với từng kháng thể II chuyên biệt. Ngoài ra phương pháp này chuyên biệt hơn ELISA sanwich trực tiếp do kháng thể được gắn enzym không phản ứng với kháng thể bắt kháng nguyên.

Phương pháp này có ưu điểm hơn hẳn những phương pháp khác nên thường được chọn để định tính các týp trong các vắc xin đa giá hoặc bệnh virus, vi khuẩn đang nghiên cứu (chưa rõ týp nào).

Gắn kháng thể thứ I vào phiến ELISA

↓

Ủ, rửa

↓

Thêm kháng nguyên

↓

Ủ, rửa

↓

Thêm kháng thể thứ II

↓

Ủ, rửa

↓

Bổ sung kháng thể thứ II có gắn enzym

↓

Ủ, rửa

↓

Thêm cơ chất tạo màu

↓

Ủ, thêm dung dịch dừng phản ứng

↓

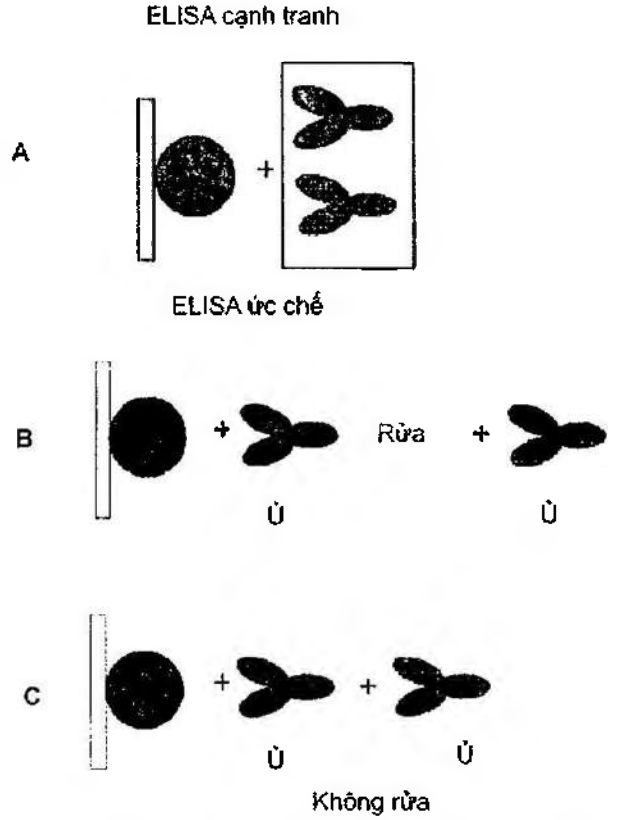
Đọc kết quả

Sơ đồ 15.46.4 - Các bước thực hiện ELISA Sandwich gián tiếp

ELISA ức chế hoặc cạnh tranh

ELISA cạnh tranh (competition ELISA) là thử nghiệm ELISA, trong đó hai chất tham gia phản ứng cùng ái lực bắt cặp với chất thứ ba. Trong phép thử ELISA cạnh tranh (phản ứng cạnh tranh) thì hai chất cạnh tranh phải được đưa vào đồng thời.

Sự khác biệt giữa ức chế và cạnh tranh: Cả hai phản ứng đều có sự tham gia của hai kháng thể phản ứng với kháng nguyên. Nếu một kháng thể được ủ trước phản ứng đó được gọi là ức chế (blocking/ inhibition assays). Phản ứng cạnh tranh mang nghĩa cả hai kháng thể được thêm vào đồng thời với nhau (Hình 15.46.1).



Hình 15.46.1 - Sự khác biệt giữa ức chế và cạnh tranh

1) ELISA cạnh tranh trực tiếp (Direct C-Elisa) kiểm tra kháng nguyên

Trong hệ thống trực tiếp, lượng kháng nguyên trên bề mặt phiến và lượng kháng thể gắn enzym đã được chuẩn độ để tối ưu. Kháng nguyên và kháng thể gắn enzym được thêm vào phiến cùng một lúc để tạo ưu thế cạnh tranh.

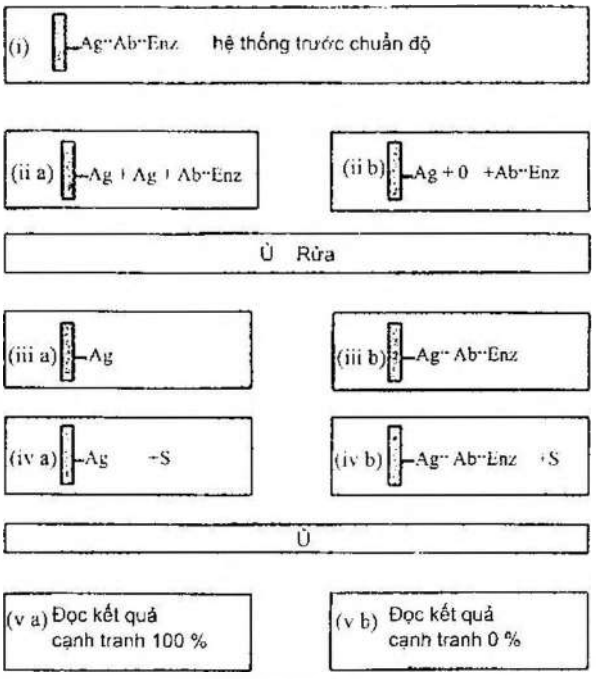
Nếu kháng nguyên tương tự hoặc cùng loại như kháng nguyên đã được gắn trên phiến thì kháng thể gắn enzym sẽ gắn lên kháng nguyên này. Khi nồng độ của kháng nguyên cạnh tranh cao sẽ ngăn cản bất kỳ sự kết hợp của kháng thể gắn enzym với kháng nguyên trên bề mặt phiến (cạnh tranh 100 %). Nếu nồng độ kháng nguyên cạnh tranh giảm (ví dụ do pha loãng) sự cạnh tranh sẽ giảm. Như vậy nồng độ kháng nguyên cạnh tranh càng cao thì độ hấp thu màu càng giảm.

Kháng nguyên cạnh tranh có thể được thêm trực tiếp vào đĩa nếu nó được pha loãng trong dung dịch bão hòa phiến trước khi thêm kháng thể gắn enzym.

Mức độ cạnh tranh theo thời gian phụ thuộc vào mối tương quan của nồng độ phân tử cần kiểm tra và kháng nguyên trên bề mặt phiến (và mức độ tương đồng của kháng nguyên).

Sau khi ủ và rửa, lượng kháng thể có đánh dấu được định lượng sau khi thêm cơ chất. Khi không có kháng nguyên trong mẫu kiểm tra hay không có sự tương đồng của kháng nguyên thì không có sự gắn kết với kháng thể được đánh dấu và không có sự cạnh tranh với kháng nguyên này. Kết quả là mẫu có chứa kháng nguyên thì sự cạnh tranh làm giảm cường độ màu còn đối chứng âm thì không.

ELISA cạnh tranh trực tiếp kiểm tra kháng nguyên được mô tả ở Sơ đồ 15.46.5.



*Ag: kháng nguyên; Ab: kháng thể; **Enz: Enzym gắn cộng hợp; S: cơ chất*

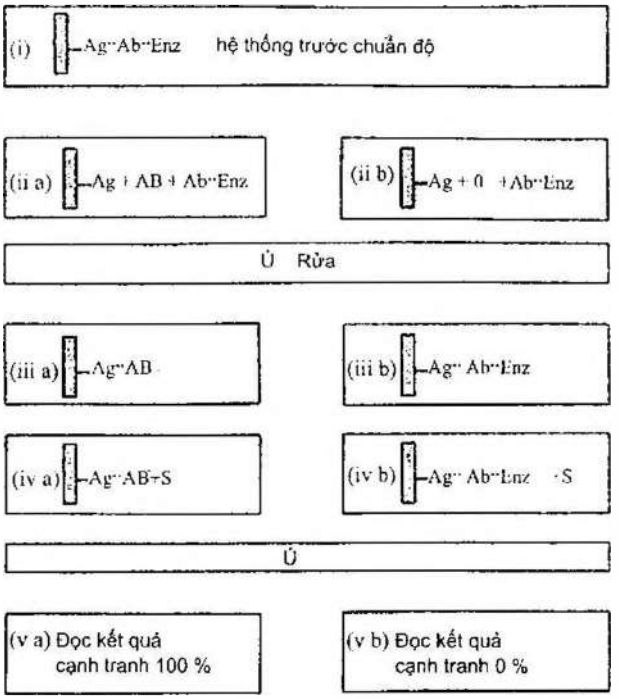
Sơ đồ 15.46.5 - ELISA cạnh tranh trực tiếp kiểm tra kháng nguyên

2) ELISA cạnh tranh trực tiếp (Direct C-Elisa) kiểm tra kháng thể

Direct C-ELISA kiểm tra kháng thể tương tự với Direct C-ELISA kiểm tra kháng nguyên. Sự cạnh tranh ở đây là giữa kháng thể trong mẫu và kháng thể được đánh dấu với các vị trí trên kháng nguyên gắn sẵn trên phiến. Mẫu và kháng thể đánh dấu được trộn với nhau trước khi thêm vào phiến.

Phương pháp này được ứng dụng trong sản xuất các kit thương phẩm định lượng hàm lượng kháng thể của vi rút viêm gan A, viêm gan B trong huyết thanh. Sử dụng nhiều trong kiểm tra công hiệu vắc xin viêm gan A, B theo phương pháp *in vivo*.

Direct C-ELISA kiểm tra kháng thể được mô tả chi tiết ở sơ đồ 15.46.6.



*Ag: kháng nguyên; Ab: kháng thể; AB: kháng thể khác loại hoặc khác nguồn gốc với Ab; **Enz: Enzym gắn cộng hợp; S: cơ chất*

Sơ đồ 15.46.6 - ELISA cạnh tranh trực tiếp kiểm tra kháng thể

3) ELISA cạnh tranh gián tiếp (Indirect C- ELISA)

Nguyên lý: Đầu tiên gắn một lượng kháng nguyên trùng với kháng nguyên cần kiểm tra lên phiến. Sau đó thêm kháng nguyên cần kiểm tra (pha ra một số nồng độ) và kháng thể đặc hiệu. Kháng nguyên cần kiểm tra sẽ phản ứng cạnh tranh với kháng nguyên đã gắn trên phiến. Sau đó thêm kháng thể thứ hai có gắn enzym, ủ, rửa và thêm cơ chất. Thêm dung dịch dừng phản ứng vào và đọc kết quả OD. Lúc đó giá trị OD sẽ tỷ lệ nghịch với hàm lượng kháng nguyên có trong mẫu tức mẫu có nồng độ kháng nguyên cao sẽ cho giá trị OD thấp và ngược lại vì thường thì phản ứng giữa kháng nguyên tự do với kháng thể xảy ra trước rồi mới đến phản ứng giữa kháng nguyên gắn bản với kháng thể.

Phương pháp này được áp dụng trong quy trình xác định công hiệu thành phần HBsAg của vắc xin viêm gan A-B phối hợp; Một số kit thương phẩm trong định lượng hàm lượng kháng sinh tồn dư trong vắc xin như gentamicin, neomycin...

HƯỚNG DẪN XỬ TRÍ CÁC VẤN ĐỀ THƯỜNG GẶP TRONG THỬ NGHIỆM ELISA (xem Bảng 15.46.1)

Bảng 15.46.1 - Các vấn đề thường gặp, nguyên nhân và hướng dẫn xử trí

STT	Các vấn đề thường gặp	Nguyên nhân	Hướng dẫn xử trí
1	Tín hiệu nền cao hoặc quá cao (dương tính giả)	Rửa phiến chưa đạt	- Xem lại bước rửa. - Bổ sung chất tẩy rửa (Tween 20 hoặc Triton X-100) vào đệm rửa; - Tăng số lần rửa; - Thêm 5 min để ngâm giữa các lần rửa. - Thêm các protein bão hòa vào dung dịch rửa.
		Hàm lượng enzym cộng hợp quá cao	Kiểm tra lại khâu pha loãng, chuẩn định lại nếu cần
		Giai đoạn bão hòa phiến chưa đủ	Tăng hàm lượng protein bão hòa; Thay loại protein bão hòa khác; Tăng thời gian bão hòa.
		Thời gian ủ quá lâu	Giảm thời gian ủ
		Có chất gây nhiễu trong mẫu kiểm tra	- Thêm mẫu chứng (control) - Tiến hành thử nghiệm thu hồi (recovery assay) để xác định mức độ ảnh hưởng của yếu tố gây nhiễu. - Thay phương pháp khác phù hợp hơn nếu cần (phương pháp *in vivo*,...)
		Các đệm sử dụng bị nhiễm (đệm gắn phiến, đệm bão hòa, đệm rửa và đệm pha loãng...)	Pha lại các đệm
		Giấy dán phiến hoặc các hóa chất sử dụng bị nhiễm	- Sử dụng giấy dán phiến riêng biệt ở từng bước ủ; - Kiểm tra lại hóa chất và pha lại hoặc thay loại đảm bảo chất lượng.
2	Không có tín hiệu hoặc tín hiệu quá thấp	Các hóa chất thêm vào không đúng với yêu cầu hoặc pha sai	- Nhắc lại thử nghiệm; - Tính toán lại và pha mới các hóa chất (các đệm, chất chuẩn, mẫu) sử dụng trong thử nghiệm.
		Emzym bị nhiễm chất ức chế (azid của HRP hay phosphat của PA)	Pha lại hóa chất
		Kháng thể sử dụng không đủ lượng	- Tăng hàm lượng; - Kiểm tra lại chuẩn; - Sử dụng mẫu mới.
		Kháng thể gắn phiến (hoặc chất phân tích) gắn lên quá ít hoặc không gắn lên phiến	- Kiểm tra lại điều kiện chuẩn/phù hợp cho gắn phiến; - Tăng hàm lượng kháng thể/chất phân tích khi gắn phiến; - Pha kháng thể/chất phân tích trong đệm phosphat để đảm bảo không bị nhiễm protein tạp; - Thay đổi loại phiến gắn tốt hơn; - Thử sử dụng các phiến gắn dạng liên kết cộng hóa trị. - Tăng thời gian gắn phiến.
		Các đệm bị nhiễm	Pha lại
		Mẫu kiểm tra hoặc chuẩn có chất ức chế (các tá chất (Al^{3+}, ion kim loại nặng,...)	- Xử lý chất gây nhiễu bằng phương pháp phù hợp; - Thay đổi phương pháp khác (*in vivo*) hoặc một phương pháp hóa miễn dịch phù hợp hơn.
		Giấy dán phiến không đạt yêu cầu hoặc do sử dụng lại quá nhiều lần	Sử dụng loại giấy dán phiến chuyên dụng và thay mới ở từng bước ủ.
		Thời gian ủ cơ chất không đủ	Tăng thời gian ủ cơ chất
		Phiến sau gắn bảo quản bị hỏng	- Gắn lại; - Ngâm phiến trong dung dịch đường sucrose 2 % từ 5 min đến10 min trước khi làm khô phiến.
		Nhiệt độ ủ không đảm bảo	- Các hóa chất trước khi làm phải được đưa về nhiệt độ phòng hoặc nhiệt độ ủ trước khi thêm vào giếng. - Sử dụng các thiết bị kiểm soát nhiệt độ ủ chuyên dụng trong các bước ủ (máy ủ phiến: tủ ấm, tủ lạnh, tủ mát).

STT	Các vấn đề thường gặp	Nguyên nhân	Hướng dẫn xử trí
3	Đường chuẩn lên nhưng lại có sự sai khác giữa các điểm (các độ pha cho kết quả không tuyến tính hoặc không tạo độ tuyến tính)	Nồng độ enzym cộng hợp không đủ	Kiểm tra lại cách pha, chuẩn định lại nếu cần
		Kháng thể gắn phiến hoặc chất phân tích gắn lên không đều	- Pha kháng thể/chất phân tích trong đệm phosphat để đảm bảo không bị nhiễm protein tạp; - Thay đổi loại phiến gắn tốt hơn.
		Kháng thể phát hiện không đủ	Kiểm tra lại cách pha, chuẩn định lại nếu cần
		Thời gian cho enzym phân hủy cơ chất không đủ	Tăng thời gian ủ.
		Quy trình làm bị sai	Kiểm tra lại và chuẩn thức hóa lại.
		Tính và xây dựng đường chuẩn của chuẩn sai	Tính lại và dựng đường chuẩn mới.
4	Sai số về giá trị OD của các giếng lặp lại quá lớn	Rửa phiến chưa đạt	- Xem lại quy trình rửa. - Nếu rửa bằng máy thì kiểm tra lại hệ thống rửa (thông rửa các đường ống hút/nhả); - Thêm 5 min để ngâm giữa các lần rửa.
		Lớp kháng thể (hoặc chất phân tích) gắn không đồng đều do quy trình làm bị lỗi hoặc phiến gắn không tốt	- Pha lại kháng thể gắn trong đệm không lẫn protein tạp; - Kiểm tra các đệm pha gắn phiến tại các pH khác nhau; - Kiểm tra lại thể tích, thời gian, phương pháp gắn; bão hòa của các hóa chất sử dụng đã phù hợp chưa. - Chọn thời gian ủ phiến gắn qua đêm; - Tăng thời gian bão hòa phiến; - Sử dụng các phiến, dụng cụ làm ELISA chuyên dụng.
		Giấy dán phiến không đạt yêu cầu hoặc do sử dụng lại quá nhiều lần	- Sử dụng loại giấy dán phiến chuyên dụng và thay mới ở từng bước ủ.
		Các đệm sử dụng bị nhiễm	Pha lại.
5	Độ lặp lại kết quả giữa các lần làm thử nghiệm quá thấp	Rửa phiến chưa đạt	- Xem lại quy trình rửa. - Nếu rửa bằng máy thì kiểm tra lại hệ thống rửa (thông rửa các đường ống hút/nhả); - Ngâm thêm 5 min giữa các lần rửa.
		Thay đổi trong nhiệt độ ủ	- Các hóa chất trước khi làm phải được đưa về nhiệt độ phòng hoặc nhiệt độ ủ trước khi thêm vào giếng. - Sử dụng các thiết bị kiểm soát nhiệt độ ủ chuyên dụng trong các bước ủ (máy ủ phiến; tủ ấm, tủ lạnh, tủ mát).
		Do thay đổi quy trình	Đảm bảo tuân thủ theo đúng quy trình chuẩn
		Giấy dán phiến không đạt yêu cầu hoặc do sử dụng lại quá nhiều lần	Sử dụng loại giấy dán phiến chuyên dụng và thay mới ở từng bước ủ.
		Tính toán sai đường cong chuẩn	- Tính lại; - Xây dựng đường chuẩn mới; - Sử dụng mẫu chứng nội bộ (internal control) để kiểm tra lại quy trình và chất chuẩn
6	Không có tín hiệu ở những mẫu mong đợi nhưng chuẩn vẫn tốt	Chất phân tích không có trong mẫu; hoặc hàm lượng quá thấp hoặc có chất ức chế hoặc mẫu phân tích và chuẩn không tương thích. Hoặc chất nền của mẫu làm che đi sự phát hiện.	- Kiểm tra lại sự phù hợp của chuẩn và mẫu; - Tính lại hàm lượng chất phân tích trong mẫu và pha lại; - Kiểm soát kỹ lại quy trình và lặp lại thử nghiệm ; - Tìm và xử lý chất ức chế; - Thay đổi phương pháp khác. - Xem lại "recovery assay" để xác định yếu tố che phủ.

STT	Các vấn đề thường gặp	Nguyên nhân	Hướng dẫn xử trí
7	Không có sự thay đổi về kết quả (OD không thay đổi giữa các độ pha)	Hàm lượng chất phân tích quá cao	Pha lại mẫu và làm lại.
		Hàm lượng chất gắn phiến quá cao	Tính toán và pha lại.
8	Màu lên nhưng đọc bị thấp	Chọn sai bước sóng	- Kiểm tra lại dải bước sóng tối đa phù hợp với từng loại cơ chất sử dụng (*). - Kiểm tra lại filter đọc
9	Kết quả bị ngược hoặc sai	Đọc quá thời gian quy định	- Làm lại và kiểm tra lại thời gian đọc phù hợp
		Đọc sai bước sóng	- Kiểm tra lại dải bước sóng tối đa phù hợp với từng loại cơ chất sử dụng (*).
		Ủ cơ chất quá lâu	- Làm lại và kiểm tra lại thời gian ủ phù hợp - Kiểm tra lại cơ chất và thời gian ủ.

(*): ***Các loại cơ chất và bước sóng phù hợp:***

Cơ chất	**pNPP** (p- nitrophenol phosphat)	**BluePhos/BCIP**	**ABTS** (acid 2,2-Azino-di (3-ethyl-benzathiazolin) sulphonic)	**SureBlue/TMB** (3,5,3`,5`-Tetramethyl benzidin)	**SureBlue Reserve™**
Enzym	AP (Alkalin-phosphat)	AP	HRP (Horseradish Peroxidase)	HRP	HRP
Màu trước khi cho dung dịch dừng phản ứng	Vàng	Xanh	Xanh lá cây	Xanh	Xanh
Bước sóng hấp thụ tối đa trước khi cho dung dịch dừng phản ứng	(405 - 410) nm	(595 - 650) nm	(405 - 410) nm	650 nm	650 nm
Hóa chất dừng phản ứng	5 % EDTA	Dung dịch BluePhos STOP	Dung dịch ABTS STOP	Dung dịch TMB STOP	Dung dịch TMB STOP
Màu sau khi cho dung dịch dừng phản ứng	Vàng	Xanh tía	Xanh lá cây	Vàng	Vàng
Bước sóng hấp thụ tối đa sau khi cho dung dịch dừng phản ứng	(405 - 410) nm	(595 - 650) nm	(405 - 410) nm	450 nm	450 nm

Ngoài ra để đảm bảo kết quả ELISA được chuẩn xác và ít bị nhiễu thì cần phải đặc biệt chú ý đến các vấn đề về dụng cụ, thiết bị, thao tác trong thử nghiệm.

Yêu cầu đối với dụng cụ, thiết bị sử dụng trong thử nghiệm ELISA

Dàn máy ELISA phải được hiệu chuẩn, bảo dưỡng định kỳ. Dụng cụ làm ELISA có rất nhiều, trong đó đặc biệt chú ý là Pipetman (các loại đơn và đa kênh) phải được hiệu chuẩn định kỳ. Cách hiệu chuẩn như sau: Mỗi loại pipetman, chọn 3 khoảng thể tích để hiệu chuẩn (thấp nhất, ở giữa và cao nhất), ví dụ pipet loại (10 - 100) µl thì sẽ chọn thể tích để chuẩn định ở 10 µl, 50 µl và 100 µl. Tại mỗi thể tích sẽ đo 10 lần rồi tính độ lệch chuẩn CV (%). Tiêu chuẩn cho pipet được phép sử dụng làm ELISA: tại độ tin cậy 95 %, CV < (2 - 3) %. Ngoài khoảng này không được phép sử dụng. Với pipet đa kênh việc hiệu chuẩn cũng tiến hành tương tự trên từng kênh. Pipet đa kênh chỉ được sử dụng khi tất cả các kênh đều đạt yêu cầu về độ lệch chuẩn quy định (tại độ tin cậy 95%, CV < 2 - 3 %).

Các dụng cụ đựng hóa chất (chai lọ, tuýp pha loãng hoặc các máng nhựa…): Phải được đánh dấu và tách riêng một bộ.

Cách thao tác khi hút mẫu sử dụng pipetman (Ảnh hưởng trực tiếp đến kết quả thử nghiệm)

Gắn thật chặt các đầu côn vào pipet. Nên sử dụng pipet và đầu côn đúng chủng loại, tránh tình trạng đầu đầu côn của một hãng, pipet của một hãng khác…

Tráng đầu côn vài lần bằng cách hút lên xuống để tránh sai số do sức căng bề mặt của nước.
Hút 2 kỳ, nhả 1 kỳ. Hút phải từ từ để chất lỏng lên đều đạt trạng thái cân bằng về thể tích và không tạo bọt khí ở giữa. Nhả từ từ về 1 kỳ. Khi nhả nghiêng đầu đầu côn về vị trí của giếng, không chạm sót dung dịch có sẵn trong giếng hoặc đáy giếng để tránh lượng chất lỏng có trong giếng bám vào bên ngoài đầu côn gây sai số.
Thay đổi đầu côn khi thay đổi độ pha hoặc hóa chất.
Sử dụng pipet trong giới hạn khuyến cáo. Ví dụ: giới hạn của pipet là (10 - 100) µl thì không sử dụng để hút các thể tích < 10 µl hoặc > 100 µl.
Nếu hóa chất có độ nhớt thì hút từ từ để thể tích về trạng thái cân bằng mới nhắc ra khỏi dịch lỏng.
Trong khi hút nếu thấy có bọt khí thì phải hút lại. Hút lại vài lần vẫn còn bọt khí thì phải thay đầu côn mới.

Cách pha loãng mẫu để giảm sai số

Tránh pha loãng nhiều bước.
Ví dụ, nếu pha 1/1000 chỉ nên pha 2 bước:
Bước 1: Pha 1/100 (1 ml mẫu + 99 ml dung dịch pha loãng);
Bước 2: Lấy 1 ml của độ pha 1/100 + 9 ml dung dịch pha loãng.
Tránh sử dụng thể tích mẫu quá ít khi pha loãng mẫu.
Mẫu phân tích nếu có hàm lượng không quá cao ở mức nguyên chất hoặc đậm đặc; mẫu có nhiều thành phần tá chất, tá dược, chất bảo quản, protein tạp khác như vắc xin, sinh phẩm thì nên sử dụng lượng thể tích theo đơn vị ml.
Ví dụ: Mẫu cần pha 1/100 thì không nên pha: 1 ml mẫu + 99 ml dung dịch pha loãng mà nên pha lượng thể tích nhiều hơn: 5 ml mẫu + 495 ml dung dịch pha loãng.
Các mẫu có độ tinh sạch và nồng độ đậm đặc cao, hàm lượng hàng trăm đến hàng nghìn µg/ml: Nồng độ mẫu cần dùng chỉ 1 µg/ml thì khi pha không nên lấy thể tích dưới 2 µl (≤ 2 µl), nên lấy từ 10 µl trở lên.
Pha loãng mẫu trên tuýp nhựa hoặc tuýp thủy tinh: Dụng cụ pha phải thật sạch; trộn, lắc kỹ trước khi hút; thay đầu côn khi chuyển độ pha hoặc hóa chất…
Pha loãng mẫu trên phiến 96 giếng: Phải sử dụng pipet đa kênh đạt chuẩn. Thao tác như sau: Trộn mẫu bằng hút lên xuống vài lần (4 đến 5 lần) rồi hút lượng hóa chất cần lấy và chuyển sang độ pha loãng cao hơn kế tiếp.
Lưu ý
Thao tác đều tay, tránh bọt khí, tránh thể tích không đều giữa các kênh và không đồng đều về số lần trộn… dẫn đến sai số hệ thống hoặc sai số ở một hoặc một số độ pha.
Trong thời gian trộn có thể xảy ra: hoặc phản ứng giữa kháng nguyên, kháng thể; hoặc phản ứng hấp phụ lên phiến pha mẫu dẫn đến làm mất (thiếu) đi một lượng chất phản ứng nhất định. Để tránh điều này nên sử dụng các dụng cụ pha loãng có khả năng hấp phụ kém như polypropylen hoặc thủy tinh hoặc khi chuyển độ pha thì hút đồng thời vào phiến thử nghiệm luôn. Ví dụ: Cần pha loãng bậc 5 ra 10 độ pha, khi pha mẫu từ độ pha 5^{-1} sang 5^{-2} mà độ pha 5^{-5} cũng sử dụng trong thử nghiệm thì khi hút mẫu từ 5^{-1} sẽ hút luôn cả mẫu vào phiến thử nghiệm. Cách làm sẽ tương tự trong suốt quy trình pha loãng…

Ví dụ về một số quy trình thực hiện kỹ thuật ELISA

Nguyên vật liệu, dụng cụ và thiết bị

Kháng nguyên.
Kháng thể cộng hợp gắn enzym.
Dung dịch đệm pha loãng kháng nguyên.
Dung dịch block (cố định) phiến.
Dung dịch rửa.
Dung dịch cơ chất.
Dung dịch dừng phản ứng.
Giàn máy ELISA.
Pipetman các loại.
Đầu côn các loại từ 10 µl đến 1000 µl.
Máng nhựa.
Phiến ELISA chuyên dụng;
Phiến 96 giếng đáy tròn (để pha loãng mẫu).
Tuýp effendorf 1,5 ml đến 2 ml.
Chai thủy tinh các loại 100 ml đến 1000 ml.
Giấy dán phiến.
Tủ lạnh.
Tủ ấm 37 °C.

Các quy trình

QUY TRÌNH I: *ELISA trực tiếp (Direct ELISA Representative Protocol), quy trình tự gắn phiến*
I. Gắn phiến
Nhỏ 100 µl kháng nguyên đã pha loãng (có hàm lượng từ 1 µg/ml đến 20 µg/ml) trong dung dịch đệm phù hợp vào mỗi giếng của phiến gắn ELISA chuyên dụng.
Ủ ở 2 °C đến 8 °C qua đêm (khoảng 16 h đến 18 h).
II. Cố định phiến sau gắn
Đổ hết dung dịch trong phiến.
Thêm 300 µl dung dịch bão hòa phiến vào các giếng.
Ủ 1 h đến 2 h ở nhiệt độ phòng. Trường hợp làm ngay và để rút ngắn thời gian, ủ ở 37 °C trên máy lắc nhẹ trong 15 min là có thể làm được. Nếu chưa làm ngay có thể ngâm lâu hơn.
Rửa sạch phiến bằng dung dịch rửa (thường là PBS 0,05 % Tween 20) 3 lần đến 5 lần, mỗi lần khoảng 300 - 500 µl/giếng. Lần rửa cuối ngâm 10 min.
III. Thêm kháng thể cộng hợp gắn enzym
Thêm 100 µl kháng thể cộng hợp gắn enzym vào tất cả các giếng.
Dán phiến và ủ ở nhiệt độ phòng 1 h (tốt nhất ủ ở 37 °C). Một số phản ứng có thể phải ủ 3 h đến 4 h phản ứng mới đạt tối ưu.
Đổ hết dung dịch có trong giếng và rửa phiến bằng dung dịch rửa 3 lần đến 5 lần, mỗi lần khoảng 300 - 500 µl/giếng. Lần rửa cuối ngâm 10 min.
IV. Thêm cơ chất
Nhỏ 100 µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
Ủ ở nhiệt độ phòng 25 °C đến 28 °C trong 10 min đến 20 min.
Thêm 100 µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng.
Đọc kết quả OD trên máy đọc ELISA chuyên dụng. Thời gian đọc không quá 30 min từ khi nhỏ dung dịch dừng phản ứng.
Tùy theo loại cơ chất sử dụng trong thử nghiệm để chọn bước sóng phù hợp.

QUY TRÌNH II: *ELISA gián tiếp (Indirect ELISA Representative Protocol), quy trình tự gắn phiến*

I. Gắn phiến

Nhỏ 100 µl kháng nguyên đã pha loãng (có hàm lượng từ 1 - 20 µg/ml) trong dung dịch đệm phù hợp vào mỗi giếng của phiến gắn ELISA chuyên dụng.

Ủ ở 2 °C đến 8 °C qua đêm (khoảng 16 h đến 18 h).

II. Cố định phiến sau gắn

Đổ hết dung dịch trong phiến.

Thêm 300 µl dung dịch bão hòa phiến vào các giếng.

Ủ 1 h đến 2 h ở nhiệt độ phòng. Trường hợp làm ngay và để rút ngắn thời gian, ủ ở 37 °C trên máy lắc nhẹ trong 15 min là có thể làm được. Nếu chưa làm ngay có thể ngâm lâu hơn.

Rửa sạch phiến bằng dung dịch rửa (thường là PBS - 0,05 % Tween 20) 3 lần đến 5 lần, mỗi lần khoảng 300 - 500 µl/giếng. Lần rửa cuối ngâm 10 min.

III. Thêm kháng thể 1 (primary antibody).

Thêm 100 µl kháng thể cộng hợp không gắn enzym vào tất cả các giếng.

Dán phiến và ủ ở nhiệt độ phòng 1 h đến 2 h (tốt nhất ủ ở 37 °C).

Đổ hết dung dịch có trong giếng và rửa phiến bằng dung dịch rửa 3 lần đến 5 lần, mỗi lần khoảng 300 - 500 µl/giếng. Lần rửa cuối ngâm 10 min.

IV. Thêm kháng thể 2 cộng hợp gắn enzym

Thêm 100 µl kháng thể cộng hợp gắn enzym vào tất cả các giếng.

Dán phiến và ủ ở nhiệt độ phòng 1h (tốt nhất ủ ở 37 °C). Một số phản ứng có thể phải ủ 3 h đến 4 h phản ứng mới đạt tối ưu.

Đổ hết dung dịch có trong giếng và rửa phiến bằng dung dịch rửa 3 lần đến 5 lần, mỗi lần khoảng 300 - 500 µl/giếng. Lần rửa cuối ngâm 10 min.

V. Thêm cơ chất

Nhỏ 100 µl cơ chất vào mỗi giếng.

Ủ ở nhiệt độ phòng 25 °C đến 28 °C trong 15 min đến 30 min, tránh ánh sáng.

Thêm 100 µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng.

Đọc kết quả OD trên máy đọc ELISA chuyên dụng. Thời gian đọc không quá 30 min từ khi nhỏ dung dịch dừng phản ứng.

Tùy theo loại cơ chất sử dụng trong thử nghiệm để chọn bước sóng phù hợp.

QUY TRÌNH III A: *ELISA Sandwich trực tiếp (direct sandwich/capture ELISA Representative Protocol), quy trình tự gắn phiến.*

I. Gắn phiến

Nhỏ 100 µl kháng thể 1 (capture antibody) đã pha loãng (có hàm lượng từ 1 - 15 µg/ml) trong dung dịch đệm phù hợp vào mỗi giếng của phiến gắn ELISA chuyên dụng.

Ủ ở 2 °C đến 8 °C qua đêm (khoảng 16 h đến 18 h).

II. Cố định phiến sau gắn

Đổ hết dung dịch trong phiến.

Thêm 300 µl dung dịch bão hòa phiến vào các giếng.

Ủ 1 h đến 6 h ở nhiệt độ phòng. Trường hợp làm ngay và để rút ngắn thời gian, ủ ở 37 °C trên máy lắc nhẹ trong 15 min đến 60 min là có thể làm được. Nếu chưa làm ngay có thể ngâm lâu hơn.

Rửa sạch phiến bằng dung dịch rửa (thường là PBS - 0,05 % Tween 20) 3 lần đến 5 lần, mỗi lần khoảng 300 - 500 µl/giếng. Lần rửa cuối ngâm 10 min.

III. Thêm kháng nguyên của mẫu

Thêm 100 µl kháng nguyên của mẫu thử vào tất cả các giếng.

Dán phiến và ủ ở nhiệt độ phòng 1 h đến 2 h (tốt nhất ủ ở 37 °C).

Đổ hết dung dịch có trong giếng và rửa phiến bằng dung dịch rửa 3 lần đến 5 lần, mỗi lần khoảng 300 - 500 µl/giếng. Lần rửa cuối ngâm 10 min.

IV. Thêm kháng thể 2 cộng hợp gắn Enzym.

Thêm 100 µl kháng thể 2 vào tất cả các giếng.

Dán phiến và ủ ở nhiệt độ phòng 1 h đến 2 h (tốt nhất ủ ở 37 °C).

Đổ hết dung dịch có trong giếng và rửa phiến bằng dung dịch rửa 3 lần đến 5 lần, mỗi lần khoảng 300 - 500 µl/giếng. Lần rửa cuối ngâm 10 min.

V. Thêm cơ chất

Nhỏ 100 µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.

Ủ ở nhiệt độ phòng 25 °C đến 28 °C trong 15 min đến 30 min, tránh ánh sáng.

Thêm 100 µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng.

Đọc kết quả OD trên máy đọc ELISA chuyên dụng. Thời gian đọc không quá 30 min từ khi nhỏ dung dịch dừng phản ứng.

Tùy theo loại cơ chất sử dụng trong thử nghiệm để chọn bước sóng phù hợp.

QUY TRÌNH III B: *ELISA Sandwich gián tiếp (indirect sandwich/capture ELISA Representative Protocol), quy trình tự gắn phiến*

I. Gắn phiến

Nhỏ 100 µl kháng nguyên đã pha loãng (có hàm lượng từ 1 - 20 µg/ml) trong dung dịch đệm phù hợp vào mỗi giếng của phiến gắn ELISA chuyên dụng.

Ủ ở 2 °C đến 8 °C qua đêm (khoảng 16 h đến 18 h).

II. Cố định phiến sau gắn

Đổ hết dung dịch trong phiến.

Thêm 300 µl dung dịch bão hòa phiến vào các giếng.

Ủ 1 h đến 6 h ở nhiệt độ phòng. Trường hợp làm ngay và để rút ngắn thời gian, ủ ở 37 °C trên máy lắc nhẹ trong 15 - 60 min. Nếu chưa làm ngay có thể ngâm lâu hơn.

Rửa sạch phiến bằng dung dịch rửa (thường là PBS - 0,05 % Tween 20) 3 lần đến 5 lần, mỗi lần khoảng 300 - 500 µl/giếng. Lần rửa cuối ngâm 10 min.

III. Thêm kháng nguyên của mẫu

Thêm 100 µl kháng nguyên của mẫu thử vào tất cả các giếng.

Dán phiến và ủ ở nhiệt độ phòng 1 h đến 2 h (tốt nhất ủ ở 37 °C).

Đổ hết dung dịch có trong giếng và rửa phiến bằng dung dịch rửa 3 lần đến 5 lần, mỗi lần khoảng 300 - 500 µl/giếng. Lần rửa cuối ngâm 10 min.

IV. Thêm kháng thể sơ cấp
Thêm 100 µl kháng thể 2 vào tất cả các giếng.
Dán phiến và ủ ở nhiệt độ phòng 1 h đến 2 h (tốt nhất ủ ở 37 °C).
Đổ hết dung dịch có trong giếng và rửa phiến bằng dung dịch rửa 3 lần đến 5 lần, mỗi lần khoảng 300 - 500 µl/giếng. Lần rửa cuối ngâm 10 min.
V. Thêm kháng kháng thể 2 cộng hợp gắn enzym
Thêm 100 µl kháng thể cộng hợp gắn enzym vào tất cả các giếng.
Dán phiến và ủ ở nhiệt độ phòng 1 h (tốt nhất ủ ở 37 °C). Một số phản ứng có thể phải ủ 3 h đến 4 h phản ứng mới đạt tối ưu.
Đổ hết dung dịch có trong giếng và rửa phiến bằng dung dịch rửa 3 lần đến 5 lần, mỗi lần khoảng 300 - 500 µl/giếng. Lần rửa cuối ngâm 10 min.
VI. Thêm cơ chất
Nhỏ 100 µl dung dịch cơ chất vào mỗi giếng.
Ủ ở nhiệt độ phòng 25 °C đến 28 °C trong 15 min đến 30 min, tránh ánh sáng.
Thêm 100 µl dung dịch dừng phản ứng vào mỗi giếng.
Đọc kết quả OD trên máy đọc ELISA chuyên dụng. Thời gian đọc không quá 30 min từ khi nhỏ dung dịch dừng phản ứng.
Tùy theo loại cơ chất sử dụng trong thử nghiệm để chọn bước sóng phù hợp.

15.47 KIỂM TRA *MYCOPLASMA* TRONG VẮC XIN/ SINH PHẨM (Phương pháp nuôi cấy hoặc dùng chỉ thị tế bào)

Chi *Mycoplasma* có hơn 120 loài, chúng là một nhóm các vi khuẩn có kích thước nhỏ, không có thành tế bào, có kích thước và hình dạng khác nhau, không bắt màu Gram.
Mycoplasma thường gây ra các nhiễm trùng nặng cho tế bào và mô. Nhiễm *Mycoplasma* trong tế bào nuôi trong một thời gian dài mà không hề có biểu hiện tổn thương bên ngoài tế bào, nó ảnh hưởng tới chuyển hoá và sự phát triển bình thường của tế bào. Nhiễm *Mycoplasma* trong tế bào nuôi thường không gây đục môi trường.
Kiểm tra *Mycoplasma* là một phần của kiểm tra các tác nhân ngoại lai có nguồn gốc từ chủng virus sản xuất vắc xin/sinh phẩm mà trong quá trình sản xuất sử dụng tế bào nuôi.

Phạm vi áp dụng
Áp dụng để kiểm tra:
Tế bào gốc giống, tế bào sản xuất, chủng virus gốc giống, chủng virus sản xuất, tế bào sử dụng làm chứng;
Mẻ gặt virus, vắc xin bán thành phẩm, vắc xin bán thành phẩm cuối cùng, vắc xin thành phẩm mà theo Tổ chức Y tế Thế giới cần phải kiểm tra *Mycoplasma*.

Các phương pháp
Thử nghiệm kiểm tra *Mycoplasma* trong vắc xin/sinh phẩm có thể được thực hiện bằng các phương pháp sau:
Phương pháp nuôi cấy trong môi trường lỏng và môi trường đặc.
Phương pháp dùng chỉ thị tế bào.
Cả hai phương pháp nuôi cấy và phương pháp dùng chỉ thị tế bào đều được sử dụng để kiểm tra *Mycoplasma* trong tế bào gốc giống, tế bào sản xuất, chủng virus gốc giống, chủng virus sản xuất, tế bào sử dụng làm chứng.
Khi kiểm tra *Mycoplasma* trong mẻ gặt virus, vắc xin bán thành phẩm hoặc vắc xin bán thành phẩm cuối cùng thì sử dụng phương pháp nuôi cấy. Phương pháp dùng chỉ thị tế bào có thể cũng được sử dụng.
Kỹ thuật khuếch đại acid nucleic (Nucleic acid amplification techniques: NAT) có thể dùng để thay thế một trong hai phương pháp trên. Tuy nhiên, nên thẩm định trước khi dùng về ít nhất hai chỉ số: Độ đặc hiệu và giới hạn phát hiện.
Phương pháp dựa trên hoạt động của enzym cũng có thể sử dụng nhưng phải thẩm định để chứng tỏ nó có khả năng phát hiện *Mycoplasma* tương đương như phương pháp nuôi cấy và phương pháp dùng chỉ thị tế bào. Các phương pháp khác có thể được sử dụng nếu cơ quan Kiểm định Quốc gia đã chấp thuận.

Phương pháp nuôi cấy
Môi trường sử dụng: Sử dụng cả hai loại môi trường đặc và môi trường lỏng với số lượng đủ lớn để đảm bảo phát hiện được số lượng nhỏ *Mycoplasma* có thể có trong vắc xin/sinh phẩm. Mỗi loại môi trường (lỏng, đặc) nên sử dụng ít nhất hai môi trường, một để đánh giá tính chất lên men glucose, một để đánh giá tính chất thuỷ phân arginin. Môi trường lỏng cần chứa đỏ phenol.
Kiểm tra dinh dưỡng môi trường: Cần kiểm tra khả năng cung cấp chất dinh dưỡng cho chủng phát triển (kiểm tra dinh dưỡng) của từng loạt môi trường.
Các loài *Mycoplasma* sử dụng cho kiểm tra dinh dưỡng môi trường như sau:
Acholeplasma laidlawii (nếu trong quá trình sản xuất vắc xin/sinh phẩm có sử dụng kháng sinh); *Mycoplasma orale, Mycoplasma pneumoniae* (hoặc những loài *Mycoplasma* có lên men D-glucose khác).
Nên sử dụng ít nhất hai chủng: Một chủng lên men glucose, một chủng thuỷ phân arginin. Các chủng này không được cấy chuyển quá 15 lần.
Qui trình thực hiện:
Cấy chủng vào môi trường theo tỷ lệ không quá 100 CFU cho một đĩa đường kính 60 mm có chứa 9 ml môi trường đặc hoặc một chai chứa 100 ml môi trường lỏng.
Ủ các chai và đĩa môi trường này ở nhiệt độ tương tự như trong thử nghiệm kiểm tra vô trùng vắc xin/sinh phẩm đối với *Mycoplasma*.
Lấy 0,2 ml từ mỗi chai môi trường lỏng, cấy chuyển sang môi trường đặc ở các thời điểm giống như trong thử nghiệm kiểm tra vô trùng vắc xin/sinh phẩm đối với *Mycoplasma*.
Môi trường lỏng đạt yêu cầu về dinh dưỡng nếu mỗi chủng đều có khuẩn lạc mọc trên đĩa thạch của ít nhất một lần cấy chuyển. Môi trường đặc đạt yêu cầu về dinh dưỡng nếu

mỗi chủng có số lượng khuẩn lạc tính trung bình trên các đĩa ít hơn không quá 1/5 số lượng đưa vào.

Kiểm tra ảnh hưởng của chất ức chế (thử nghiệm ức chế)
Thử nghiệm này nhằm xác định trong sản phẩm có chứa chất ức chế mà ảnh hưởng đến sự phát triển của *Mycoplasma* hay không. Nếu có, cần phải loại bỏ ảnh hưởng của chất ức chế trước khi kiểm tra *Mycoplasma* trên vắc xin/sinh phẩm bằng cách thích hợp như trung hoà, pha loãng hoặc cấy chuyền không dùng chất ức chế,...
Thực hiện lại *thử nghiệm ức chế* sau khi đã sử dụng các biện pháp trên. Nếu sử dụng biện pháp pha loãng, phải sử dụng thể tích lớn môi trường hoặc chia vắc xin/sinh phẩm vào nhiều chai môi trường dung tích 100 ml.
Nguyên lý: Thử nghiệm ức chế được thực hiện bằng cách cho sản phẩm cần kiểm tra vào môi trường với lượng giống như thử nghiệm kiểm tra *Mycoplasma* trong sản phẩm, sau đó cấy chủng thử thách vào môi trường với lượng giống như thử nghiệm *kiểm tra dinh dưỡng* môi trường. Thực hiện thử nghiệm *kiểm tra dinh dưỡng* môi trường để làm chứng dương cho thử nghiệm này.
Đánh giá kết quả: Chất ức chế ảnh hưởng đến sự phát triển của *Mycoplasma* nếu có ít nhất một trong hai trường hợp sau:
Môi trường lỏng: Một chủng thử thách trong các chai môi trường có vắc xin/sinh phẩm mọc chậm hơn các ống không có vắc xin-sinh phẩm từ hai lần cấy chuyền trở lên.
Môi trường đặc: Một chủng thử thách có số lượng khuẩn lạc ở các đĩa chứa vắc xin/sinh phẩm ít hơn số lượng khuẩn lạc ở các đĩa không có vắc xin/sinh phẩm từ 1/5 số lượng khuẩn lạc của các đĩa không có vắc xin/sinh phẩm trở lên.
Mỗi sản phẩm nên thực hiện *thử nghiệm ức chế* một lần trước khi thực hiện thử nghiệm kiểm tra *Mycoplasma* trong sản phẩm. Chỉ phải làm lại *thử nghiệm ức chế* khi thay đổi phương pháp sản xuất làm ảnh hưởng tới việc xác định *Mycoplasma*.

Kiểm tra Mycoplasma trong vắc xin/sinh phẩm
Cấy lần đầu:
Môi trường lỏng: Mỗi loại môi trường cấy ít nhất 10 ml vắc xin/sinh phẩm vào một chai 100 ml. Nếu có sự đổi màu của môi trường sau cấy vắc xin/sinh phẩm, chỉnh pH của môi trường về pH ban đầu bằng dung dịch natri hydroxyd hoặc acid hydrocloric.
Môi trường đặc: Cấy 0,2 ml vắc xin/sinh phẩm vào mỗi đĩa, mỗi loại môi trường dùng ít nhất hai đĩa.
Cấy chuyền:
Thời điểm cấy chuyền như sau (kể từ ngày cấy đầu tiên):
Lần 1: Vào khoảng từ ngày thứ 2 đến ngày thứ 4.
Lần 2: Vào khoảng từ ngày thứ 6 đến ngày thứ 8.
Lần 3: Vào khoảng từ ngày thứ 13 đến ngày thứ 15.
Lần 4: Vào khoảng từ ngày thứ 19 đến ngày thứ 21.
Cách cấy chuyền: Từ mỗi chai môi trường cấy chuyền 0,2 ml/đĩa, mỗi loại môi trường đặc cấy ít nhất một đĩa.
Ủ, theo dõi môi trường sau cấy:
Nhiệt độ ủ: 35 °C đến 38 °C.
Thời gian ủ: Các chai môi trường ủ 20 - 21 ngày. Các đĩa môi trường ủ ít nhất 14 ngày, riêng các đĩa cấy chuyền vào ngày thứ 19 - 21 theo dõi 7 ngày.
Ủ đồng thời một chai 100 ml mỗi loại môi trường không cấy vắc xin/sinh phẩm và một đĩa thạch không cấy vắc xin/sinh phẩm cùng loạt với đĩa thạch cấy chuyền để làm chứng âm.
Kết quả kiểm tra dinh dưỡng môi trường làm chứng dương.
Điều kiện nuôi cấy: Một nửa các chai và đĩa ủ ở điều kiện vi hiếu khí (khí trường chứa 5 - 10 % CO_2 và độ ẩm thích hợp), một nửa ở điều kiện kỵ khí (khí trường chứa nitrogen, 5 - 10 % CO_2 và độ ẩm thích hợp).
Theo dõi các chai môi trường 2 - 3 ngày/lần. Nếu có sự đổi màu của môi trường, cấy chuyền sang môi trường đặc (xem phần *Cấy chuyền* ở trên).
Theo dõi các đĩa môi trường 7 ngày/lần bằng kính hiển vi quang học để kiểm tra xem có khuẩn lạc *Mycoplasma* hay không.
Khuẩn lạc được cho là của *Mycoplasma* nếu có hình dạng điển hình như sau: Trung tâm khuẩn lạc tối và dày, mọc lẫn xuống thạch; rìa khuẩn lạc mỏng, bẹt. Khuẩn lạc có dạng trứng ốp mà trung tâm khuẩn lạc là phần lòng đỏ để nguyên.
Đánh giá kết quả:
– Vắc xin/sinh phẩm đạt yêu cầu về vô trùng đối với *Mycoplasma* nếu sau nuôi cấy không có dấu hiệu phát triển của *Mycoplasma* trong các đĩa môi trường cấy vắc xin/sinh phẩm.
– Vắc xin/sinh phẩm không đạt yêu cầu về vô trùng đối với vắc xin/sinh phẩm nếu sau nuôi cấy có dấu hiệu phát triển của *Mycoplasma* trong các đĩa môi trường cấy vắc xin/sinh phẩm.
– Thử nghiệm không có giá trị nếu có một hoặc nhiều hơn các trường hợp sau xảy ra:
Môi trường sử dụng không đạt yêu cầu của thử nghiệm Kiểm tra dinh dưỡng.
Có dấu hiệu mọc của *Mycoplasma* trong chứng âm.
Có sự phát triển của vi khuẩn khác hoặc nấm trong các chai môi trường,
Vỡ ít nhất hai đĩa môi trường,
Có ít nhất hai đĩa môi trường nhiễm vi khuẩn khác và nấm.
Trường hợp sau nuôi cấy trên 7 ngày mà chỉ có một đĩa môi trường nhiễm vi khuẩn/nấm hoặc chỉ vỡ một đĩa môi trường thì các đĩa này có thể bỏ qua khi không có dấu hiệu mọc của *Mycoplasma*.
– Các trường hợp thử nghiệm không có giá trị: Nhắc lại thử nghiệm với số mẫu như lần 1. Đánh giá kết quả của lần thử nghiệm lại cũng giống như đánh giá lần đầu.
– Các trường hợp thử nghiệm có giá trị, có sự xuất hiện của *Mycoplasma* nhắc lại thử nghiệm với số mẫu và môi trường gấp đôi lần 1. Đánh giá kết quả thử nghiệm lại cũng giống như đánh giá lần đầu.

Phương pháp dùng chỉ thị tế bào
Nguyên lý: Tế bào được nhuộm bằng thuốc nhuộm huỳnh quang. Nếu bị nhiễm *Mycoplasma*, trên bề mặt tế bào sẽ có các hạt hoặc các sợi đặc trưng. Các hạt, sợi đặc trưng

này thậm chí còn có cả ở vùng gian bào nếu bị nhiễm nặng.
Tế bào sử dụng: Vero hoặc tế bào khác có hiệu quả tương đương trong việc xác định *Mycoplasma*. VD: Các dòng tế bào sản xuất.
Kiểm tra chất lượng của tế bào bằng cách áp dụng quì trình giống như qui trình kiểm tra vắc xin/sinh phẩm, sau đó cấy vào tế bào không quá 100 CFU các chủng thích hợp của *M. hyorhinis* và *M. orale*. Tế bào đạt yêu cầu nếu cả hai chủng trên đều mọc được.
Cần cấy chuyển tế bào mà không dùng kháng sinh trước khi sử dụng vào thử nghiệm.

Pha các dung dịch
Dung dịch kali dihydrophosphat 2 M: Hoà tan 13,61 g *kali dihydrophosphat khan (TT)* trong 50 ml *nước*.
Dung dịch kali hydrophosphat 2 M: Hoà 17,42 g *kali hydrophosphat khan (TT)* trong 50 ml *nước*.
Dung dịch đệm phosphat (pH 7,4): Trộn đều 3,6 ml *dung dịch kali dihydrophosphat* 2 M; 14,6 ml *dung dịch kali hydrophosphat* 2 M; 8 g *natri clorid* với 1 L *nước*. Điều chỉnh pH nếu cần bằng dung dịch natri hydroxyd hoặc acid hydrocloric.
Dung dịch bisbenzimid gốc: Hoà tan 5 mg *bisbenzimid (TT)* trong một ít *nước*, thêm *nước* vừa đủ 100 ml, bảo quản tránh ánh sáng.
Dung dịch làm việc bisbenzimid: Pha loãng 100 µL dung dịch bisbenzimid gốc bằng dung dịch đệm phosphat (pH 7,4) để được 100 ml hỗn hợp dung dịch.
Dung dịch natri hydrophosphat: Hoà tan 28,4 g *natri hydrophosphat khan (TT)* trong 1 L *nước*.
Dung dịch acid citric: Hoà tan 21 g *acid citric (TT)* trong 1 L *nước*.
Dung dịch đệm phosphat-citrat (pH 5,5): Trộn đều 56,85 ml dung dịch natri hydrophosphat và 43,15 ml dung dịch acid citric.

Phương pháp thực hiện
Nuôi tế bào ở nồng độ thích hợp (Khoảng 2.10^4 - 2.10^5 tế bào/ml, 4.10^3 - $2,5.10^4$ tế bào/cm^2).
Cấy 1 ml vắc xin/sinh phẩm vào chai tế bào.
Ủ ở nhiệt độ 35 °C đến 38 °C.
Sau ít nhất 3 ngày, cấy chuyển lên một lá kính. Tế bào được nuôi ở mật độ thấp để chỉ phủ kín khoảng 50 % bề mặt sau (3 – 5) ngày. Tế bào phủ kín hoàn toàn làm khó quan sát *Mycoplasma* sau khi nhuộm.
Bỏ môi trường, rửa tế bào bằng đệm phosphat, cố định tế bào [có thể sử dụng hỗn hợp dung dịch *acid acetic băng : methanol* (1 :3)]
Bỏ dung dịch cố định, rửa tế bào bằng *nước* vô trùng, để khô.
Phủ tế bào bằng dung dịch làm việc bisbenzimid hoặc thuốc nhuộm thích hợp khác. Để trong khoảng 10 min.
Bỏ thuốc nhuộm và rửa tế bào bằng *nước* vô trùng.
Phủ mỗi lá kính bằng một giọt hỗn hợp của glycerol và dung dịch đệm phosphat-citrat với lượng bằng nhau.
Soi dưới kính hiển vi huỳnh quang vật kính có độ phóng đại từ 400 lần trở lên.
Làm song song với chứng âm và chứng dương.

Đánh giá kết quả
Vắc xin/sinh phẩm đạt yêu cầu nếu không có hình dạng điển hình của *Mycoplasma* (Các hạt hoặc sợi đặc trưng dưới kính hiển vi huỳnh quang khắp bề mặt tế bào hoặc ở khoảng gian bào).
Thử nghiệm không có giá trị nếu xảy ra một trong hai trường hợp sau:
Chứng dương không có hình dạng điển hình của *Mycoplasma*.
Chứng âm có hình dạng điển hình của *Mycoplasma*.

PHỤ LỤC 16

16.1 CÁC PHƯƠNG PHÁP TIỆT KHUẨN

Một sản phẩm được coi là vô khuẩn nếu nó hoàn toàn không chứa bất kỳ vi sinh vật sống nào. Phương pháp tiệt khuẩn là phương pháp làm cho một sản phẩm trở thành vô khuẩn. Do không thể đảm bảo độ vô khuẩn của sản phẩm bằng cách thử vô khuẩn, nên độ vô khuẩn của sản phẩm chỉ có thể đảm bảo bằng cách áp dụng một qui trình sản xuất đã được thẩm định thích hợp. Đối với mỗi qui trình tiệt khuẩn đã chọn phải tiến hành khảo sát để đảm bảo hiệu quả tiệt khuẩn và tính toàn vẹn của sản phẩm, bao gồm cả vật chứa và bao gói bên ngoài, trước khi áp dụng vào thực tế. Trong quá trình sản xuất phải tuân thủ đúng qui trình tiệt khuẩn đã thẩm định. Nếu có thay đổi lớn trong qui trình tiệt khuẩn, bao gồm cả sự thay đổi kích cỡ lô, phải tái thẩm định qui trình. Trong khi xây dựng qui trình sản xuất thuốc vô khuẩn phải tuân theo các nguyên tắc thực hành tốt sản xuất GMP, cụ thể là:

Sử dụng công nhân lành nghề đã trải qua quá trình huấn luyện thích hợp;

Thiết kế nhà xưởng phù hợp;

Thiết kế máy móc, thiết bị sản xuất sao cho dễ vệ sinh và tiệt khuẩn;

Áp dụng các biện pháp phòng ngừa thích hợp nhằm làm giảm số lượng vi sinh vật trong sản phẩm trước khi tiệt khuẩn;

Thẩm định qui trình sản xuất cho tất cả các công đoạn trong dây chuyền sản xuất có nguy cơ nhiễm khuẩn;

Thiết lập và thực thi chương trình giám sát chất lượng môi trường sản xuất và các qui trình kiểm tra trong quá trình sản xuất.

Các phương pháp mô tả dưới đây chủ yếu dùng để diệt hoặc loại bỏ vi khuẩn, nấm men và nấm mốc ra khỏi sản phẩm cần tiệt khuẩn. Đối với các sản phẩm sinh học có nguồn gốc từ người hay động vật, trong quá trình thẩm định phải chứng minh khả năng loại bỏ hay làm bất hoạt virus của qui trình tiệt khuẩn.

Nếu có thể, nên ưu tiên chọn phương pháp tiệt khuẩn thành phẩm. Nếu không thể tiệt khuẩn thành phẩm được, có thể loại vi khuẩn bằng phương pháp lọc qua màng lọc giữ lại vi khuẩn hay phương pháp sản xuất vô khuẩn. Trong mọi trường hợp, vật chứa và nút đậy phải có khả năng duy trì được tính vô khuẩn của sản phẩm cho đến khi hết hạn dùng.

Mức bảo đảm vô khuẩn

Sự khử khuẩn bằng tác nhân vật lý và hóa học tuân theo qui luật số mũ, do đó luôn luôn có khả năng còn vi sinh vật sống tồn tại trong sản phẩm sau khi tiệt khuẩn với một xác suất thống kê nhất định. Mức bảo đảm vô khuẩn SAL (sterility assurance level) của một qui trình tiệt khuẩn đã cho là xác suất tồn tại một đơn vị đóng gói không vô khuẩn trong toàn bộ lô sản phẩm sau khi tiệt khuẩn bằng qui trình đó. Ví dụ:

SAL = 10^{-6} có nghĩa là có khả năng có không nhiều hơn một vi sinh vật sống trong 1×10^6 đơn vị đóng gói của sản phẩm đã tiệt khuẩn. Đối với một qui trình tiệt khuẩn đã cho, SAL phụ thuộc số lượng vi sinh vật có trong sản phẩm trước khi tiệt khuẩn, sức đề kháng của nó với tác nhân tiệt khuẩn và môi trường trong đó vi sinh vật tồn tại trong quá trình xử lý. Khi có thể, sử dụng mức bảo đảm vô khuẩn SAL để đánh giá hiệu quả tiệt khuẩn của các phương pháp mô tả trong chuyên luận này. SAL của mỗi qui trình tiệt khuẩn được thiết lập trong khi thẩm định qui trình.

Phương pháp và điều kiện tiệt khuẩn

Tiến hành tiệt khuẩn theo một trong các phương pháp giới thiệu dưới đây. Có thể cải tiến hoặc kết hợp các phương pháp đã giới thiệu, tuy nhiên phải tiến hành thẩm định phương pháp đã cải tiến để bảo đảm hiệu quả tiệt khuẩn của phương pháp cũng như để đảm bảo tính toàn vẹn của sản phẩm cần tiệt khuẩn, bao gồm cả bao bì sản phẩm. Đối với mọi phương pháp tiệt khuẩn, phải theo dõi các thông số vận hành quan trọng trong suốt quá trình tiệt khuẩn của mỗi lô sản phẩm nhằm đảm bảo các thông số đo được phù hợp với các thông số kỹ thuật đã thiết lập trước đó trong quá trình thẩm định phương pháp, kể cả trường hợp tiệt khuẩn trong điều kiện chuẩn.

Phương pháp tiệt khuẩn thành phẩm

Đối với phương pháp tiệt khuẩn thành phẩm, điểm quan trọng cần phải chú ý là sự phân bố không đồng đều của tác nhân tiệt khuẩn trong buồng tiệt khuẩn. Phải xác định được vị trí trong buồng tiệt khuẩn mà tác nhân tiệt khuẩn khó đến nhất (ví dụ vị trí có nhiệt độ thấp nhất trong nồi hấp) để bố trí sắp xếp sản phẩm có kiểu dáng và kích thước bao bì khác nhau.

Tiệt khuẩn bằng nhiệt ẩm

Phương pháp tiệt khuẩn bằng nhiệt ẩm được tiến hành trong một thiết bị chuyên dùng gọi là nồi hấp, tác nhân tiệt khuẩn là hơi nước bão hòa dưới áp suất cao. Đây là phương pháp ưu tiên chọn lựa, khi có thể, nhất là đối với các dung dịch nước. Điều kiện chuẩn của phương pháp tiệt khuẩn bằng nhiệt ẩm là đun nóng ở 121 °C trong ít nhất 15 min đối với các thành phẩm là dung dịch nước. Có thể tiến hành tiệt khuẩn ở điều kiện nhiệt độ và thời gian khác với điều kiện chuẩn nếu chứng minh được hiệu quả của chế độ tiệt khuẩn đã chọn. Phải khống chế số lượng vi sinh vật trong sản phẩm trước khi tiệt khuẩn bằng cách áp dụng qui trình sản xuất và các biện pháp phòng ngừa thích hợp để đạt được mức bảo đảm vô khuẩn SAL là 10^{-6} hay nhỏ hơn.

Trong quá trình tiệt khuẩn, phải theo dõi và ghi chép lại nhiệt độ và áp suất bên trong nồi hấp. Nhiệt độ thường được theo dõi bằng các đầu dò nhiệt đặt ở phần nguội nhất của nồi hấp. Thông số vận hành của mỗi chu trình tiệt khuẩn được ghi lại dưới dạng biểu đồ nhiệt độ - thời gian, hay bằng một cách thích hợp khác.

Khi đánh giá hiệu quả của quá trình tiệt khuẩn bằng phương pháp sinh học, dùng chỉ thị sinh học thích hợp theo Phụ lục 16.2 Chỉ thị sinh học dùng cho tiệt khuẩn.

Tiệt khuẩn bằng nhiệt khô

Tiệt khuẩn bằng nhiệt khô được thực hiện trong tủ sấy có gắn thiết bị đối lưu không khí để đảm bảo sự phân phối nhiệt đồng đều trong toàn bộ khoang tiệt khuẩn. Điều kiện chuẩn của phương pháp tiệt khuẩn bằng nhiệt khô là sấy ở nhiệt độ tối thiểu 160 °C trong ít nhất 2 h. Có thể tiến hành tiệt khuẩn ở điều kiện nhiệt độ và thời gian khác với điều kiện chuẩn nếu chứng minh được hiệu quả của chế độ tiệt khuẩn đã chọn. Phải khống chế số lượng vi sinh vật trong sản phẩm trước khi tiệt khuẩn bằng cách áp dụng qui trình sản xuất và các biện pháp phòng ngừa thích hợp để đạt được mức bảo đảm vô khuẩn SAL là 10^{-6} hay nhỏ hơn.

Trong quá trình tiệt khuẩn phải tiến hành theo dõi nhiệt độ bên trong tủ sấy. Nhiệt độ thường được đo bằng các đầu dò nhiệt đặt ở phần nguội nhất của tủ sấy. Phải ghi chép và lưu trữ thông số nhiệt độ của mỗi chu trình tiệt khuẩn.

Khi đánh giá hiệu quả của quá trình tiệt khuẩn bằng phương pháp sinh học, dùng chỉ thị sinh học thích hợp theo Phụ lục 16.2 Chỉ thị sinh học dùng cho tiệt khuẩn.

Tiệt khuẩn và khử chất gây sốt các dụng cụ thủy tinh thường tiến hành ở nhiệt độ cao hơn 220 °C. Trong trường hợp này, có thể thay chỉ thị sinh học bằng nội độc tố vi khuẩn bền nhiệt. Để kiểm tra quá trình tiệt khuẩn, cấy một hay nhiều vật liệu cần tiệt khuẩn với ít nhất 1000 đơn vị nội độc tố vi khuẩn. Lượng nội độc tố còn lại sau khi sấy tiệt khuẩn phải không được nhiều hơn 1/1000 so với lượng nội độc tố ban đầu (xem Phụ lục 13.2. Phép thử nội độc tố vi khuẩn).

Tiệt khuẩn bằng bức xạ ion hóa

Phương pháp này được tiến hành bằng cách cho sản phẩm trong bao bì cuối tiếp xúc với bức xạ ion hóa. Hai nguồn bức xạ ion hóa thường dùng là: tia γ phát ra từ nguồn phóng xạ thích hợp (ví dụ đồng vị phóng xạ Cobalt 60), và chùm electron năng lượng cao được gia tốc bởi máy gia tốc electron.

Đối với phương pháp tiệt khuẩn bằng bức xạ ion hóa, liều hấp thu chuẩn là 25 kGy. Có thể tiến hành tiệt khuẩn với liều hấp thu khác với liều hấp thu chuẩn nếu chứng minh được hiệu quả của chế độ tiệt khuẩn đã chọn. Phải khống chế số lượng vi sinh vật trong sản phẩm trước khi tiệt khuẩn bằng cách áp dụng qui trình sản xuất và các biện pháp phòng ngừa thích hợp để đạt được mức bảo đảm vô khuẩn SAL là 10^{-6} hay nhỏ hơn.

Trong quá trình tiệt khuẩn phải định kỳ đo bức xạ hấp thu bởi sản phẩm cần tiệt khuẩn bằng thiết bị đo liều thích hợp. Thiết bị đo liều phải được hiệu chỉnh với nguồn bức xạ chuẩn ít nhất mỗi năm một lần.

Khi đánh giá hiệu quả của quá trình tiệt khuẩn bằng phương pháp sinh học, dùng chỉ thị sinh học thích hợp theo Phụ lục 16.2. Chỉ thị sinh học dùng cho tiệt khuẩn.

Tiệt khuẩn bằng chất khí

Chất khí thường dùng trong phương pháp này là ethylen oxyd. Đây là loại khí dễ cháy, có khả năng gây đột biến và có thể để lại vết chất độc trong vật liệu đem tiệt khuẩn, do đó chỉ nên chọn phương pháp này khi không thể chọn phương pháp nào khác. Phải có biện pháp thích hợp để bảo đảm sự thẩm thấu của khí và hơi ẩm vào bên trong vật liệu cần tiệt khuẩn cũng như làm giảm lượng ethylen oxyd hoặc sản phẩm phân hủy của nó trong sản phẩm đã tiệt khuẩn xuống dưới mức có thể gây nguy hiểm khi sử dụng sản phẩm.

Khi có thể, nên theo dõi và ghi chép nồng độ khí, độ ẩm tương đối, nhiệt độ và thời gian tiệt khuẩn của mỗi lô tiệt khuẩn.

Đánh giá hiệu quả của mỗi lô tiệt khuẩn bằng chỉ thị sinh học thích hợp (xem Phụ lục 16.2 Chỉ thị sinh học dùng cho tiệt khuẩn).

Tiệt khuẩn bằng phương pháp lọc

Phương pháp lọc thường được dùng để tiệt khuẩn các dung dịch kém bền nhiệt, không thể tiệt khuẩn trong bao bì cuối. Nguyên tắc của phương pháp là dẫn dung dịch cần tiệt khuẩn qua vật liệu lọc có khả năng giữ vi khuẩn. Vật liệu lọc thường dùng là các màng lọc có kích thước lỗ lọc 0,22 µm hay nhỏ hơn, có khả năng giữ lại 100 % vi khuẩn *Pseudomonas diminuta* (ATCC 19146, NCIMB 11091, CIP 103020) trong điều kiện thí nghiệm thích hợp. Kiểm tra khả năng giữ khuẩn của màng lọc bằng cách lọc qua màng lọc một hỗn dịch vi khuẩn *Pseudomonas diminuta* trong môi trường nuôi cấy tryptone soya broth, hay môi trường dinh dưỡng tương đương, có nồng độ thích hợp sao cho mỗi cm^2 bề mặt màng lọc có ít nhất 10^7 CFU và tốc độ lọc lớn hơn 30 Psi. Ủ dịch lọc ở 32 °C trong điều kiện hiếu khí, phải không được có vi khuẩn phát triển.

Qui trình sản xuất và môi trường sản xuất các sản phẩm tiệt khuẩn bằng phương pháp lọc phải được thiết kế thích hợp để giảm thiểu tối đa sự nhiễm khuẩn. Phải thường xuyên kiểm tra chất lượng môi trường sản xuất bằng một chương trình giám sát chất lượng môi trường đã được thẩm định. Các máy móc, thiết bị, vật chứa và nắp đậy phải được tiệt khuẩn trước khi sử dụng bằng phương pháp thích hợp. Vị trí lọc tiệt khuẩn nên bố trí càng gần nơi đóng ống càng tốt và thời điểm tiệt khuẩn nên bố trí càng gần thời điểm đóng ống càng tốt. Tất cả các thao tác sau khi lọc tiệt khuẩn phải thực hiện trong điều kiện vô khuẩn.

Cần có biện pháp thích hợp để tránh sự hấp thu hoạt chất trên màng lọc, cũng như để tránh sự thôi tạp chất từ màng lọc vào dịch lọc.

Trước khi lọc phải kiểm tra để đảm bảo màng lọc không bị rách trong quá trình lắp ráp và tiệt khuẩn hệ thống lọc, sau khi lọc xong cũng phải kiểm tra tính toàn vẹn của màng lọc bằng phương pháp thích hợp, ví dụ phương pháp đo áp suất điểm sủi bọt (bubble-point test) hay phương pháp đo chênh áp suất trước và sau khi qua màng lọc (pressure hold test).

Vì hiệu quả của quá trình lọc tiệt khuẩn phụ thuộc vào số lượng vi sinh vật trong sản phẩm trước khi lọc nên nếu không thể làm giảm số lượng vi sinh vật bằng phương pháp khác, nên lọc trước dung dịch cần tiệt khuẩn qua tiền lọc có khả năng giữ vi khuẩn.

Sản xuất vô khuẩn

Trong quá trình sản xuất vô khuẩn, sản phẩm chờ đóng gói, vật chứa rỗng và nắp đậy được tiệt khuẩn riêng rẽ sau đó kết hợp với nhau trong điều kiện vô khuẩn để thu được sản phẩm cuối. Bởi vì sản phẩm đã đóng gói không được tiệt khuẩn bổ sung bằng bất kỳ phương pháp nào khác nên quá trình sản xuất phải tiến hành trong điều kiện môi trường có chất lượng rất cao. Trước khi phối hợp, mỗi thành phần của sản phẩm cuối phải được tiệt khuẩn riêng bằng phương pháp thích hợp, ví dụ bằng nhiệt khô với vật chứa bằng thủy tinh, bằng nhiệt ẩm với nắp đậy bằng nhựa và bằng phương pháp lọc đối với các dung dịch. Để duy trì tính vô khuẩn của mỗi thành phần trong quá trình sản xuất phải chú ý đến các yếu tố sau:

Môi trường sản xuất;

Con người;

Các bề mặt tiếp xúc trực tiếp với sản phẩm hở;

Qui trình tiệt khuẩn các vật liệu bao gói và qui trình vận chuyển chúng vào khu vực đóng gói;

Thời gian lưu trữ tối đa của sản phẩm chờ đóng gói trước khi đóng vào bao bì cuối.

Để đảm bảo tính vô khuẩn của thành phẩm, cả qui trình tiệt khuẩn và qui trình đóng gói đều phải được thẩm định bằng phương pháp thích hợp trước khi áp dụng trong thực tế. Thẩm định qui trình đóng gói phải bao gồm thử nghiệm dùng môi trường dinh dưỡng nuôi cấy vi sinh vật thay cho sản phẩm thật (media fill test). Phải lấy mẫu để kiểm tra độ vô khuẩn tất cả các lô của bất kỳ sản phẩm nào được tiệt khuẩn bằng phương pháp lọc và/hoặc sản xuất vô khuẩn trước khi xuất xưởng (Xem Phụ lục 13.7 Thử vô khuẩn để biết thêm chi tiết).

16.2 CHỈ THỊ SINH HỌC DÙNG CHO TIỆT KHUẨN

Chỉ thị sinh học dùng cho tiệt khuẩn là những chế phẩm sinh học đã tiêu chuẩn hóa, được sản xuất từ các vi sinh vật chọn lọc, dùng để đánh giá hiệu quả của các qui trình tiệt khuẩn. Chỉ thị sinh học thường được sản xuất bằng cách cấy một lượng bào tử vi sinh vật chỉ thị lên vật mang trơ, ví dụ băng giấy lọc, bản mỏng thủy tinh hay ống plastic, sau đó đóng gói vật mang đã cấy khuẩn vào bao bì thích hợp nhằm bảo vệ sản phẩm tránh bị biến chất và tạp nhiễm. Vật liệu dùng làm bao gói phải bền, không bị phân hủy trong quá trình tiệt khuẩn, nhưng phải cho tác nhân tiệt khuẩn thấm vào bên trong để tiếp xúc với vi khuẩn. Hỗn dịch bào tử vi khuẩn đóng trong ống thủy tinh kín cũng có thể được dùng làm chỉ thị sinh học.

Đối với các chế phẩm lỏng, có thể cấy trực tiếp bào tử vi khuẩn chỉ thị vào một số đơn vị đóng gói đại diện của sản phẩm cần tiệt khuẩn hay vào chất lỏng có thành phần gần giống sản phẩm, nếu không thể cấy trực tiếp vào sản phẩm thật. Trong trường hợp này, phải có biện pháp kiểm tra thích hợp để đảm bảo bản thân chế phẩm hay sản phẩm giả đều không có khả năng ức chế vi khuẩn chỉ thị.

Các thông tin bắt buộc phải cung cấp kèm theo mỗi chỉ thị sinh học bao gồm: tên loài vi khuẩn dùng làm vi sinh vật đối chiếu, số định danh loài của bảo tàng giống gốc, số lượng bào tử sống trên mỗi vật mang, hạn dùng và trị số D. Trị số D là tham số tiệt khuẩn (khoảng thời gian hoặc liều hấp thụ) cần để làm giảm lượng bào tử sống xuống còn 10 % so với lượng ban đầu. Chỉ thị sinh học có thể gồm hai hay nhiều loài vi khuẩn trên một vật mang, nhưng không được lẫn tạp khuẩn. Ngoài ra, trên nhãn chỉ thị sinh học phải cung cấp thông tin về môi trường nuôi cấy và điều kiện ủ.

Để kiểm tra một qui trình tiệt khuẩn, đặt chỉ thị sinh học tại vị trí được giả định, hoặc đã được xác định trước bằng phương pháp vật lý thích hợp khi có thể, là nơi mà tác nhân tiệt khuẩn khó luân chuyển đến nhất trong buồng tiệt khuẩn. Sau khi cho tiếp xúc với tác nhân tiệt khuẩn, chuyển vật mang vào trong môi trường dinh dưỡng thích hợp trong điều kiện vô khuẩn và đem ủ. Đối với chỉ thị sinh học đóng trong ống thủy tinh kín có chứa sẵn môi trường dinh dưỡng thì đem ủ ngay.

Các vi khuẩn chỉ thị được chọn lựa theo nguyên tắc:

a) Sức đề kháng của vi khuẩn chỉ thị đối với phương pháp tiệt khuẩn đã cho phải lớn hơn sức đề kháng của tất cả các vi khuẩn gây bệnh và các vi khuẩn có khả năng nhiễm vào sản phẩm cần tiệt khuẩn;

b) Không gây bệnh;

c) Dễ nuôi cấy.

Sau khi ủ, nếu quan sát thấy vi khuẩn chỉ thị phát triển, chứng tỏ qui trình tiệt khuẩn đã sử dụng không đạt yêu cầu.

Tiệt khuẩn bằng nhiệt ẩm

Chỉ thị sinh học được dùng để thẩm định qui trình tiệt khuẩn bằng nhiệt ẩm là bào tử của vi khuẩn *Bacillus stearothermophilus* (ví dụ: ATCC 7953, NCTC 10007, NCIMB 8157, hay CIP 52.81). Số lượng bào tử sống trên mỗi vật mang phải từ 5×10^5 trở lên. Trị số D ở 121 °C ± 1 °C (ký hiệu D_{121}) phải lớn hơn 1,5 min. Phải kiểm tra để bảo đảm ở chế độ tiệt khuẩn ở 121 °C ± 1 °C trong 6 min chỉ thị sinh học vẫn còn vi khuẩn sống, nhưng bị diệt hoàn toàn ở chế độ tiệt khuẩn 121 °C ± 1 °C trong 15 min.

Tiệt khuẩn bằng nhiệt khô

Chỉ thị sinh học được dùng để thẩm định qui trình tiệt khuẩn bằng nhiệt khô là bào tử của vi khuẩn *Bacillus subtilis* (ví dụ: var. *niger* ATCC 9372, NCIMB 8058, CIP 77.18). Số lượng bào tử sống trên mỗi vật mang không được ít hơn 1×10^5 và trị số D ở 160 °C phải từ 1 min đến 3 min. Trong trường hợp tiệt khuẩn ở nhiệt độ cao hơn 220 °C, ví dụ tiệt khuẩn và khử chất gây sốt các dụng cụ thủy tinh, có thể dùng nội độc tố vi khuẩn bền nhiệt thay cho bào tử vi khuẩn (xem Phụ lục 16.1. Các phương pháp tiệt khuẩn để biết thêm chi tiết).

Tiệt khuẩn bằng bức xạ ion hóa

Chỉ thị sinh học có thể được sử dụng để kiểm tra mỗi lô tiệt khuẩn trong điều kiện sản xuất bình thường như

một biện pháp bổ sung để thẩm định phương pháp tiệt khuẩn bằng bức xạ ion hóa. Thường dùng bào tử của vi khuẩn *Bacillus pumilus* (ví dụ: ATCC 27.142, NCTC 10327, NCIMB 10692, CIP 77.25). Số lượng bào tử sống trên mỗi vật mang không được ít hơn 1×10^7. Trị số D không được nhỏ hơn 1,9 kGy. Phải kiểm tra để bảo đảm không còn vi khuẩn sống sau khi cho chỉ thị sinh học tiếp xúc với bức xạ ion hóa ở liều hấp thu 25 kGy (liều hấp thu tối thiểu).

Tiệt khuẩn bằng chất khí

Chỉ thị sinh học được sử dụng trong tất cả các qui trình tiệt khuẩn bằng chất khí, cả trong thẩm định hiệu quả tiệt khuẩn của qui trình lẫn trong điều kiện vận hành bình thường. Với tác nhân tiệt khuẩn là ethylen oxyd, thường dùng bào tử của vi khuẩn *Bacillus subtilis* (ví dụ: var. *niger* ATCC 9372, NCIMB 8058, CIP 77.18). Số lượng bào tử sống trên mỗi vật mang không được ít hơn 5×10^5. Trị số D phải lớn hơn 2,5 min khi tiến hành tiệt khuẩn ở 54 °C, độ ẩm tương đối là 60 % và nồng độ ethylen oxyd trong khí mang là 600 mg/l. Phải kiểm tra để bảo đảm không còn vi khuẩn sống sau khi xử lý chỉ thị sinh học trong 60 min ở điều kiện nêu trên, nhưng phải còn vi khuẩn sống khi xử lý trong 15 min ở 30 °C (30 °C, độ ẩm tương đối là 60 %, 600 mg/l). Để kiểm tra khả năng sức đề kháng của bào tử với tác nhân tiệt khuẩn khi thiếu độ ẩm, cho chỉ thị sinh học tiếp xúc với ethylen oxyd nồng độ 600 mg/l ở nhiệt độ 54 °C trong 60 min không có độ ẩm, phải còn vi khuẩn sống.

PHỤ LỤC 17

ĐỒ ĐỰNG CẤP 1 DÙNG CHO CHẾ PHẨM DƯỢC

Đồ đựng dùng cho chế phẩm dược hay bao bì đựng thuốc là phần gần bó hữu cơ với cấu trúc của dạng bào chế vì chúng giữ thuốc ở liều lượng mong muốn và đảm bảo cho thuốc ổn định chất lượng ở nhiều chỉ tiêu liên quan. Mặt trong của đồ đựng thuốc (bao bì cấp 1) do tiếp xúc trực tiếp với thuốc nên phải được chọn lựa cẩn thận để khi dùng không ảnh hưởng tới bản chất, độ ổn định của thuốc trong quá trình chứa đựng, vận chuyển, bảo quản dù chỉ là thời gian ngắn. Việc làm kín như hàn ống thủy tinh hay nút, nắp và xi sáp kín cũng là một phần của đồ đựng cấp 1. Chuyên luận này cung cấp những thông tin cần thiết và những tiêu chuẩn cần đáp ứng đối với những nguyên liệu chính như thủy tinh và chất dẻo dùng để chế tạo đồ đựng thuốc cấp 1.

17.1 ĐỒ DỰNG BẰNG THỦY TINH DÙNG CHO CHẾ PHẨM DƯỢC

Đồ đựng bằng thủy tinh dùng cho chế phẩm dược là vật dụng mà mặt trong của chúng tiếp xúc trực tiếp với thuốc, nên tùy vào bản chất của thuốc mà chọn loại thủy tinh thích hợp để chế tạo đồ đựng. Trước khi đóng thuốc, đồ đựng phải được xử lý đạt độ sạch theo yêu cầu của từng dạng thuốc như giới hạn hạt bụi và vi sinh vật...

Đồ đựng thủy tinh có thể là đồng chất như ống tiêm, nhưng với chai lọ thì phải có nắp, nút thích hợp bằng thủy tinh hoặc vật liệu khác, như cao su, chất dẻo... Nhóm đồ dựng chế tạo từ thủy tinh có nhiều loại như: Chai, lọ, ống, bơm tiêm...

Chai, lọ đựng thuốc

Chai, lọ đựng thuốc là loại đồ đựng có thành tương đối dày và được đóng kín bằng một loại nắp, nút và các phụ tùng thích hợp. Nút có thể là thủy tinh, cao su hoặc chất dẻo. Những chất đựng ở trong chai, lọ có thể được lấy ra dùng một lần (bao bì đơn liều) hoặc nhiều lần (đồ dựng đa liều). Chai, lọ có thể in, khắc vạch đánh dấu thể tích. Riêng với chai đựng thuốc tiêm truyền và các chế phẩm tương tự phải khắc vạch đánh dấu thể tích từ 2 hướng lên xuống theo chiều cao của chai.

Chai, lọ đựng thuốc tiêm phải dùng loại thủy tinh trung tính phù hợp, trong suốt, không màu hoặc trường hợp thủy tinh có xử lý đặc biệt có thể làm thủy tinh hơi mờ nhưng vẫn phải giữ mức trong suốt đủ để quan sát thuốc đựng bên trong.

Chai, lọ bằng thủy tinh để đựng thuốc đặc biệt như khi dùng ở áp suất cao phải được chế tạo đặc biệt để chịu áp lực cao của khí đẩy và an toàn như độ dày hoặc bao bọc chai, lọ bằng nhựa.

Chai, lọ đựng máu và những chế phẩm của máu

Là những đồ đựng hình trụ, có thành dày thích hợp đáp ứng yêu cầu về độ bền trong điều kiện sử dụng, có dung tích khác nhau và là những thủy tinh trung tính, trong và không màu.

Ống tiêm rỗng

Là ống có thành mỏng, đầu và miệng ống có thể thuôn nhỏ hoặc cổ bồng miệng loe, miệng ống để hở và được hàn kín sau khi đã đóng đủ thuốc.

Thuốc ở trong ống thường chỉ lấy ra dùng một lần.

Ống dựng thuốc tiêm phải dùng loại thủy tinh trung tính phù hợp.

Cũng có thể sản xuất ống tiêm rỗng đạt độ sạch theo yêu cầu và hàn kín. Khi đóng thuốc, ống được đưa vào máy tự động đốt cắt làm hở miệng ống, đóng thuốc và hàn kín.

Bơm tiêm dựng thuốc bằng thủy tinh

Bơm tiêm bằng thủy tinh để đựng thuốc có thể gặp trong thực tế, theo đó thuốc được đóng trong bơm tiêm và cung cấp đi liền với kim tiêm và phụ tùng khác. Đó là loại đồ dựng đặc biệt dùng cho một số loại thuốc tiêm pha liều, thường ở dạng lỏng và được đóng gói kín, vô trùng và dùng một lần.

Chất lượng của thủy tinh

Thủy tinh là muối silicat như natri silicat, calci silicat... chế tạo bằng cách nấu chảy hỗn hợp của silic oxyd (SiO_2) và các chất phụ gia. Thủy tinh thường trong suốt, không màu. Thủy tinh màu là có thêm một lượng nhỏ oxyd kim loại mà sự lựa chọn tùy thuộc vào sự hấp thụ quang phổ người ta mong muốn.

Thủy tinh trung tính chứa một lượng đáng kể bor oxyd, nhôm oxyd thay cho một phần oxyd kim loại kiềm. Do thành phần khác biệt của chúng nên thủy tinh trung tính có độ bền với nhiệt cao và độ bền với nước rất cao.

Thủy tinh kiềm chứa oxyd kim loại kiềm, chủ yếu là natri oxyd và oxyd kim loại kiềm thổ, chủ yếu là calci oxyd. Với những thành phần như vậy nên thủy tinh kiềm có độ bền với nước vừa phải.

Độ bền hoá học của đồ đựng thủy tinh đối với thuốc được biểu thị bằng độ bền với nước trong những điều kiện quy định của thử nghiệm. Khi tiếp xúc với nước, thủy tinh có thể giải phóng, hòa tan những chất gốc kim loại từ cấu trúc phân tử của thủy tinh nhất là ion natri và ion kim loại kiềm, kiềm thổ tạo ra dịch có tính kiềm ít hoặc nhiều. Định lượng độ kiềm này có thể đánh giá được độ bền với nước của thủy tinh, qua đó phân loại và chọn loại đồ đựng thủy tinh phù hợp với dạng thuốc. Khi thử nghiệm bằng cách cho nước tiếp xúc với mặt trong của đồ đựng thủy tinh trong điều kiện quy định, sau đó định lượng độ kiềm của dịch, kết quả này gọi là độ kiềm hay độ bền bề mặt của đồ đựng thủy tinh. Khi thử nghiệm bằng cách đập vỡ bao bì thủy tinh rồi lấy lượng chính xác, tán bột và cho tiếp xúc với nước trong điều kiện quy định, sau đó định lượng độ kiềm của dịch thu được, kết quả này gọi là độ kiềm hay độ bền tổng cộng của vật liệu làm đồ dựng thủy tinh.

Chuyên luận này quy định đánh giá độ bền bề mặt với nước của đồ đựng thủy tinh và được tiến hành bằng chuẩn độ kiềm giải phóng ra trong điều kiện xác định. Tùy theo độ bền bề mặt với nước mà đồ đựng thủy tinh được phân loại theo các cấp như sau:

Đồ đựng thủy tinh cấp I: Là thủy tinh trung tính có độ bền với nước cao do thành phần hóa học của thủy tinh.

Đồ đựng thủy tinh cấp II: Thường là thủy tinh kiềm đã xử lý bề mặt thích hợp nên có độ bền với nước khá cao.

Đồ đựng thủy tinh cấp III: Thường là thủy tinh kiềm, chỉ có độ bền với nước vừa phải.

Đồ đựng thủy tinh cấp IV: Thường là thủy tinh kiềm, có độ bền với nước ở mức thấp.

Nhà sản xuất thuốc phải chịu trách nhiệm chọn những đồ đựng thích hợp cho từng loại thuốc khác nhau.

Đồ đựng thủy tinh cấp I nói chung thích hợp với tất cả những chế phẩm tiêm, máu và những sản phẩm của máu.

Đồ đựng thủy tinh cấp II nói chung thích hợp cho những chế phẩm có tính acid hay trung tính dùng để tiêm.

Đồ đựng thủy tinh cấp III nói chung thích hợp cho những chế phẩm không có nước hay thuốc trong dung môi dầu dùng để tiêm, những bột dùng để tiêm và những chế phẩm dùng ngoài đường tiêm.

Đồ đựng thủy tinh cấp IV hay gọi là thủy tinh thường, chỉ dùng cho những chế phẩm không dùng để tiêm.

Có thể dùng thủy tinh màu hay không màu cho những chế phẩm không dùng để tiêm.

Các thuốc tiêm thường được đóng trong đồ đựng thủy tinh không màu.

Đồ đựng thủy tinh màu cũng có thể được dùng cho những thuốc tiêm chứa hoạt chất nhạy cảm với ánh sáng. Những đồ đựng thủy tinh cho chế phẩm để tiêm dù ở dạng lỏng hoặc bột đều phải đảm bảo cho việc quan sát kiểm tra được tính chất cảm quan của thuốc đựng ở bên trong.

Những đồ đựng thủy tinh cho chế phẩm tiêm không được đem dùng lại, trừ đồ đựng thủy tinh cấp I, thường là chai, lọ nhưng phải có những quy định cụ thể cho vấn đề này. Những đồ đựng thủy tinh để đựng máu và những sản phẩm từ máu thì không được dùng lại.

Mặt trong của đồ đựng thủy tinh để đóng thuốc có thể được xử lý đặc biệt để cải thiện độ bền đối với nước hoặc tạo ra tính không thấm nước... nhưng phải chứng minh tính an toàn của các biện pháp này. Mặt ngoài cũng có thể được xử lý để làm giảm độ ma sát và tăng khả năng chống sự mài mòn, nhưng không để nhiễm bẩn mặt trong.

Khi những đồ đựng thuốc bằng thủy tinh có những bộ phận không phải thủy tinh thì chỉ áp dụng những thử nghiệm đối với phần thủy tinh của đồ đựng.

ĐỘ BỀN ĐỐI VỚI NƯỚC CỦA MẶT TRONG ĐỒ ĐỰNG BẰNG THỦY TINH

Phép thử này đánh giá độ bền bề mặt trong của đồ đựng bằng thủy tinh đối với nước và chỉ áp dụng cho đồ đựng mới, chưa qua sử dụng.

Số lượng mẫu thử nghiệm và thể tích dung dịch cần lấy để định lượng phụ thuộc vào dung tích của đồ đựng, theo chỉ dẫn ở Bảng 17.1.1.

Bảng 17.1.1 - Số lượng mẫu và thể tích dung dịch cần lấy để định lượng

Dung tích quy định của đồ đựng (ml)	Số lượng mẫu	Thể tích dung dịch để định lượng (ml)
Đến 3	Ít nhất 20	25,0
5 hoặc ít hơn	Ít nhất 10	50,0
6 đến 30	Ít nhất 5	50,0
Trên 30	Ít nhất 3	100,0

Phương pháp thử

Rửa sạch mẫu ngay trước khi thử nghiệm bằng cách súc với *nước cất không có carbon dioxyd (TT)* ít nhất 3 lần. Đổ hết nước rửa ra và đóng *nước cất không có carbon dioxyd (TT)* vào trong đồ đựng với lượng quy định. Với chai, lọ thì đậy kín miệng bằng một đĩa thủy tinh trung tính hoặc giấy nhôm mà trước đó đã rửa sạch bằng *nước cất không có carbon dioxyd (TT)*. Với ống thì hàn kín bằng đèn gas. Đặt đồ đựng đã đóng đầy nước cất vào khay của nồi hấp, các khay không được chạm vào nước trong nồi và nước của nồi hấp phải là nước cất. Đậy chặt nắp nồi hấp. Điều chỉnh nhiệt độ của nồi như sau:

Để ở 100 °C trong 10 min cho khí trong nồi thoát ra hết qua van xả.

Nâng nhiệt độ từ 100 °C lên 121 °C trong 20 min.

Duy trì nhiệt độ 121 °C ± 1 °C trong 60 min.

Hạ nhiệt độ từ 121 °C xuống 100 °C trong khoảng 40 min, thông hơi để tránh chân không.

Lấy mẫu thử ra khỏi nồi hấp theo các thao tác chung và làm nguội nhanh mẫu bằng nước thường. Thời gian tiến hành định lượng trong vòng 60 min sau khi lấy ra khỏi nồi hấp. Lấy dung dịch ra khỏi đồ đựng và trộn lẫn với nhau. Cho vào một bình nón một lượng dung dịch đã chỉ dẫn ở Bảng 17.1.1. Cho vào bình nón thứ 2 một lượng *nước cất không có carbon dioxyd (TT)* tương đương lượng dung dịch ở bình 1 (mẫu trắng). Thêm vào mỗi bình 0,05 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)* tính cho mỗi 25 ml dung dịch thử. Định lượng bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (CĐ)* cho tới khi chuyển sang màu tương đương với màu của mẫu trắng. Số ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (CĐ)* dùng để trung hòa lượng kiềm do đồ đựng thủy tinh nhả vào nước là hiệu số giữa kết quả của mẫu thử và mẫu trắng và được gọi là độ bền đối với nước của mặt trong đồ đựng, được quy định theo 100 ml dung dịch sau khi hấp và đem định lượng. Giới hạn quy định cho thử độ bền đối với nước của đồ đựng thủy tinh đựng thuốc không được vượt quy định ở Bảng 17.1.2.

Bảng 17.1.2 - Giới hạn quy định cho thử độ bền đối với nước của đồ dựng thủy tinh.

Dung tích của đồ đựng (ml)	Thể tích dung dịch acid hydrocloric 0,01 M tính cho 100 ml dung dịch thử (ml)	
	Thủy tinh cấp I hoặc cấp II	Thủy tinh cấp III
Đến 1	2,0	20,0
Trên 1 đến 2	1,8	17,6
Trên 2 đến 5	1,3	13,2
Trên 5 đến 10	1,0	10,2
Trên 10 đến 20	0,80	8,1
Trên 20 đến 50	0,60	6,1
Trên 50 đến 100	0,50	4,8
Trên 100 đến 200	0,40	3,8
Trên 200 đến 500	0,30	2,9
Trên 500	0,20	2,2

Ghi chú: Lượng nước đóng đủ vào đồ đựng thủy tinh khi thử nghiệm như sau:
Với chai, lọ: Đóng đến 90 % dung tích tràn đầy.
Với ống: Đóng đến vai của ống hay tương đương với dung tích của thuốc sẽ đóng vào ống theo quy định.

Phân biệt thủy tinh cấp I và cấp II
Số lượng mẫu thử nghiệm và thể tích dung dịch cần lấy để định lượng theo chỉ dẫn ở Bảng 17.1.1.

Phương pháp thử
Súc sạch đồ đựng 2 lần với *nước*, sau đó đóng đầy *dung dịch acid hydrofluoric 4 % (tt/tt)* và để yên 10 min ở nhiệt độ phòng rồi đổ đi, súc lại đồ đựng bằng *nước* ít nhất 5 lần. Tiến hành ngay thử độ bền đối với nước của mặt trong đồ đựng bằng thủy tinh. Kết quả thu được đem so sánh theo Bảng 17.1.2. Mẫu thủy tinh đã xử lý với acid hydrofluoric 4 % (tt/tt) đạt cấp độ:
Thủy tinh cấp I: Nếu thể tích *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (CĐ)* định lượng không vượt quá qui định cho thủy tinh cấp I hoặc cấp II ghi tại Bảng 17.1.2.
Thủy tinh cấp II: Nếu thể tích *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (CĐ)* định lượng vượt quá qui định cho thủy tinh cấp I hoặc cấp II, nhưng không vượt quá qui định cho thủy tinh cấp III, ghi tại Bảng 17.1.2.

Giới hạn arsen
Áp dụng cho đồ đựng thủy tinh đựng thuốc tiêm dung môi là nước.
Những ống thủy tinh phải thử nghiệm như sau: Tiến hành thử trên những ống đã được rửa 5 lần với nước vừa mới cất. Chuẩn bị một dung dịch thử như trong thử độ bền đối với nước với một số ống thích hợp để tạo ra 50 ml dịch thử. Dùng ống hút để lấy 10 ml dung dịch thử cho vào bình nút mài, thêm 10 ml *acid nitric (TT)* và làm bay hơi cho tới khô trên cách thủy. Làm khô cắn trong tủ sấy ở 130 °C trong 30 min. Để nguội, thêm vào cắn 10,0 ml *dung dịch hydrazin molybdat*, lắc để hòa tan và đun 20 min trên cách thủy có ống sinh hàn ngược. Để nguội tới nhiệt độ phòng. Xác định độ hấp thụ của dung dịch ở bước sóng cực đại khoảng 840 nm (Phụ lục 4.1) và dùng mẫu trắng là 10,0 ml *dung dịch hydrazin molybdat*.
Độ hấp thụ của dung dịch thử không được vượt quá độ hấp thụ của dung dịch chuẩn được chuẩn bị trong cùng điều kiện bằng cách dùng 0,1 ml *dung dịch arsen mẫu 10 phần triệu As (TT)* thay cho dung dịch thử.
Dung dịch hydrazin molybdat: Hòa tan 0,1 g *amoni molybdat (TT)* vào 10 ml *nước* có chứa 1,5 ml *acid sulfuric (TT)*. Pha loãng thành 90 ml với *nước*, thêm 1 ml *dung dịch hydrazin sulfat 0,15 % (TT)* và thêm *nước* vừa đủ 100 ml.

17.2 ĐỒ ĐỰNG BẰNG KIM LOẠI CHO THUỐC MỠ TRA MẮT

Ống bằng kim loại có thể gấp được dùng đóng thuốc mỡ tra mắt phải đáp ứng thử nghiệm sau đây về tiểu phân kim loại:
Lấy ngẫu nhiên 50 ống trong một lô ống cần kiểm tra. Rửa sạch từng ống bằng máy rung hay máy thổi. Đun chảy một lượng tá dược thuốc mỡ tra mắt thích hợp và đóng đầy vào từng ống. Gấp kín đáy ống bằng 2 nếp gấp và để qua đêm ở nhiệt độ 15 °C đến 20 °C.
Dùng một hệ thống lọc chân không có lắp phễu lọc hình trụ bằng thép không gỉ hoặc bằng sứ, đáy phễu phẳng có đục nhiều lỗ thủng nhỏ, có thể đun nóng được, đường kính trong của phễu đặt vừa giấy lọc kích thước 4,25 cm. Cho vào phễu miếng giấy lọc có lỗ xốp thích hợp. Đun nóng phễu lên nhiệt độ cao hơn nhiệt độ nóng chảy của tá dược. Mở nắp ống tá dược đã để qua đêm, đốc ngược ống, bóp đều từ phía đầu kín của ống cho tá dược đi qua đầu ống đã mở vào phễu đã đun nóng, thời gian bóp hết ống tá dược không dưới 20 s, hút chân không để lọc. Bóp và lọc hết toàn bộ 50 ống. Khi đã lọc hết tá dược chảy lỏng, rửa thành phễu và giấy lọc liên tiếp ba lần, mỗi lần với 30 ml *cloroform (TT)*. Để cho giấy lọc khô, kẹp giấy lọc giữa 2 phiến kính để quan sát.
Dùng một kính phóng đại có thước đo được chia ô vuông có cạnh 1 mm, mỗi cạnh lại được chia nhỏ thành 0,2 mm để quan sát giấy lọc dưới ánh sáng chiếu xiên góc. Đếm số tiểu phân quan sát được trong thị trường và ghi lại số tiểu phân kim loại dài từ 1 mm trở lên, số tiểu phân kim loại dài từ 0,5 mm đến dưới 1 mm và số tiểu phân kim loại dài từ 0,2 mm đến dưới 0,5 mm.
Thực hiện tiếp 2 lần nữa việc quan sát giấy lọc ở 2 vị trí khác, sao cho ánh sáng chiếu tới từ các hướng khác nhau. Tính số trung bình của những tiểu phân kim loại đếm được ứng với 3 khoảng giới hạn kích thước nêu trên có trong 3 thị trường đã quan sát.
Mỗi tiểu phân kim loại phát hiện được trên giấy lọc ứng với một số điểm cụ thể như sau:

Tiểu phân từ 1 mm trở lên	50 điểm
Tiểu phân từ 0,5 mm đến dưới 1 mm	10 điểm
Tiểu phân từ 0,2 mm đến dưới 0,5 mm	2 điểm
Tiểu phân dưới 0,2 mm	0 điểm

Cộng toàn bộ số điểm để đánh giá (không tính điểm đối với các tiểu phân dưới 0,2 mm)

Lô ống đạt yêu cầu nếu tổng số điểm dưới 100 điểm. Lô ống không đạt yêu cầu nếu tổng số điểm trên 150 điểm. Trường hợp tổng số điểm là từ 100 điểm đến 150 điểm, thì thử lại với 50 ống khác và lô thử đạt yêu cầu nếu tổng số điểm trong 2 lần thử ít hơn 150 điểm.

17.3 ĐỒ ĐỰNG VÀ NÚT BẰNG CHẤT DẺO

Chất dẻo hay nhựa dẻo là các hợp chất cao phân tử thiên nhiên hoặc tổng hợp. Đồ đựng bằng chất dẻo dùng cho chế phẩm dược là những vật dụng được chế tạo theo khuôn mẫu phù hợp để đựng thuốc và mặt trong của chúng tiếp xúc trực tiếp với thuốc. Nếu đồ dựng là chai, lọ, ống hoặc loại tương tự thì thường phải có nút đi kèm. Nút để đậy kín đồ đựng là một phần của đồ đựng, đồng thời phải có biện pháp thích hợp như xi sáp, hàn... để khi đóng nút đồ đựng phải có độ kín đạt yêu cầu.

Ở phạm vi rộng hơn, đồ dựng chế tạo bằng chất dẻo còn có những loại khác không cần có nút để làm kín, như túi, ống hàn kín bằng nhiệt...

Nguyên liệu chất dẻo dùng chế tạo đồ đựng thuốc có thể là một hay phối chế từ nhiều polymer và có thể thêm một số chất. Những chất thêm vào có thể là chất chống oxy hóa, chất ổn định, chất làm dẻo, chất làm bóng, chất màu.

Đồ đựng và nút làm bằng chất dẻo có thể dùng để đựng nhiều dạng thuốc theo đường dùng khác nhau:

Đựng thuốc tiêm như chai, túi, ống.

Đựng thuốc nhỏ mắt, thuốc tra mắt như lọ, ống.

Đựng thuốc uống và thuốc dùng ngoài như chai, lọ, hoặc vài loại đặc biệt khác.

Các chất dẻo để chế tạo đồ đựng thuốc thường dùng như polyethylen (loại tỷ trọng thấp hoặc cao) ký hiệu là: PE, polypropylen ký hiệu là PP, polyvinyl clorid ký hiệu là PVC, ethylen vinyl acetat copolymer, polyethylen terephthalat...

Đồ đựng và nút làm bằng chất dẻo có nhiều ưu điểm như nhẹ, bền, rẻ tiền... nhưng cũng có những nhược điểm như có thể thấm hơi nước, thấm khí từ môi trường, chống tia cực tím không cao, nhà chất phụ gia có thể gây độc cho người sử dụng, làm ô nhiễm môi trường.

Yêu cầu chất lượng chung

Đồ đựng và nút làm bằng chất dẻo phải có chất lượng riêng biệt cho đồ đựng thuốc tiêm, đồ đựng thuốc nhỏ mắt, thuốc tra mắt và đồ đựng thuốc uống và thuốc dùng ngoài hay đồ đựng cho các dạng thuốc ngoài đường tiêm.

Những nguyên liệu làm đồ đựng không được có thành phần có thể chiết ra một lượng chất làm giảm hoạt lực và giảm tính ổn định hoặc làm tăng độc tính của thuốc. Những chất giảm tính điện, những chất giải phóng khuôn chỉ có thể dùng cho đồ đựng thuốc dùng ngoài khi được phép. Những nguyên liệu làm chất phụ gia nào được phép dùng phải mô tả đặc tính và được ghi trong Dược điển; những chất phụ gia khác cũng có thể được dùng nếu được cơ quan có thẩm quyền cho phép trong từng trường hợp.

Để chọn một đồ đựng bằng chất dẻo thích hợp và có thể đánh giá được khả năng rủi ro thì cần phải biết đầy đủ về công thức sản xuất chất dẻo đó, bao gồm tất cả những nguyên liệu cho thêm vào trong quá trình sản xuất đồ đựng.

Đồ đựng bằng chất dẻo được lựa chọn cho bất kỳ một chế phẩm đặc biệt nào cũng phải đảm bảo các yêu cầu sau:

Khi đựng thuốc, chất dẻo không được hấp thụ hoạt chất thuốc lên bề mặt và không được để cho thuốc thấm vào trong chất dẻo.

Chất dẻo không được tạo ra một lượng chất đủ để làm ảnh hưởng đến sự bền vững của thuốc đựng ở trong hoặc tạo ra khả năng gây độc.

Để kiểm tra sự tương hợp của đồ đựng và chất đựng ở trong, đảm bảo không có sự thay đổi có hại đến chất lượng chế phẩm thì phải thực hiện nhiều phép thử khác nhau như: Kiểm tra không có sự thay đổi về tính chất lý học; xác định chất bị mất và chất được thêm do sự thấm hút, phát hiện sự thay đổi pH; đánh giá về những thay đổi gây ra bởi ánh sáng; những thử nghiệm hóa học và những thử nghiệm sinh học cần thiết.

Những đồ đựng sản xuất hàng loạt phải phù hợp với mẫu vật về mọi phương diện. Chúng phải đảm bảo không có thay đổi về thành phần, về phương pháp sản xuất và quan trọng nhất là không dùng nguyên liệu phế loại. Những mẫu lấy từ nơi sản xuất phải được kiểm tra để đảm bảo phù hợp với vật mẫu.

Quy trình thử nghiệm hóa học, sinh học mô tả dưới đây được áp dụng cho đồ dựng bằng chất dẻo dùng cho chế phẩm dược. Phải thấy rằng những thử nghiệm này chưa đủ để xác định độ an toàn hoặc sự thích hợp của đồ đựng bằng chất dẻo mà cần thiết phải xem xét kết quả những thử nghiệm kết hợp với thông tin ở trên. Nếu có rủi ro, nhà sản xuất phải xem xét lại tiêu chuẩn của đồ đựng và thành phần của chất dẻo hoặc chất lượng của thành phần bị hư hoặc quy trình sản xuất và chế biến bị thay đổi.

17.3.1 ĐỒ DỰNG BẰNG CHẤT DẺO DÙNG CHO NHỮNG CHẾ PHẨM KHÔNG PHẢI THUỐC TIÊM

Những thử nghiệm chung

Độ kín

Đóng đầy 10 bình với nước, đậy bình bằng những nút thích hợp, lộn ngược bình và giữ ở nhiệt độ phòng trong 24 h. Bất cứ bình nào cũng không có hiện tượng rò rỉ.

Độ gấp uốn

Phép thử này áp dụng cho những đồ dựng có thể bóp để lấy những chất đựng ở trong ra. Khi bóp ống phải lấy ra ít nhất 90 % thể tích hay khối lượng chứa danh định với tốc độ chảy qui định ở nhiệt độ phòng.

Những thử nghiệm áp dụng cho đồ đựng thuốc dạng lỏng để uống

Gồm 2 thử nghiệm là Độ trong của nước chiết và Cắn không bay hơi.

Độ trong của nước chiết

Chọn những phần không có nhãn, không có vết in và không dát mỏng từ những đồ đựng thích hợp theo cách lấy tự nhiên để cho đủ diện tích tổng cộng của mẫu yêu cầu và phải tính diện tích của cả hai mặt. Cắt những phần này thành những miếng hẹp và dài, để không có mảnh nào có diện tích tổng cộng lớn hơn 20 cm^2. Rửa những mảnh này cho hết những chất ở bên ngoài bằng cách lắc chúng ít nhất 2 lần riêng biệt với *nước*, mỗi lần 30 s, sau đó để ráo hết nước.

Chọn những phần đã cắt và đã rửa của mẫu thử, với diện tích bề mặt tổng cộng là 1250 cm^2, cho vào một bình (vừa mới được làm sạch với *hỗn hợp acid cromic* và rửa nhiều lần với *nước*) và thêm 250 ml *nước*. Đậy bình bằng một cốc và hấp ở 121 °C trong 30 min. Làm một mẫu trắng để so sánh, dùng 250 ml *nước*. Để nguội rồi quan sát nước chiết. Nước chiết phải không màu, không đục hơn mẫu trắng.

Cắn không bay hơi

Bốc hơi 100 ml nước chiết từ phép thử Độ trong của nước chiết tới khô, sấy ở 105 °C tới khối lượng không đổi. Cắn không được nhiều hơn 12,5 mg.

Độ thấm hơi nước

Độ thấm hơi nước hay độ ngấm hơi nước qua bao bì có ảnh hưởng rất lớn đến các thuốc cần mức độ chống ẩm cao như thuốc nang, thuốc bột và những thuốc nhạy cảm khác... Do vậy tùy yêu cầu có thể thử nghiệm đặc tính này cho đồ đựng bằng nhựa như chỉ dẫn ở mục: Đồ đựng bằng chất dẻo dùng cho chế phẩm thuốc tiêm (Phụ lục 17.3.2).

17.3.2 ĐỒ ĐỰNG BẰNG CHẤT DẺO DÙNG CHO CHẾ PHẨM THUỐC TIÊM

Yêu cầu chung

Nguyên liệu

Chỉ những chất dẻo tinh khiết, không màu, không mùi, mới được dùng làm nguyên liệu để chế tạo đồ đựng thuốc tiêm. Đồ đựng thuốc tiêm có thể được chế tạo từ một hay nhiều polymer như polyethylen, polypropylen, polyvinyl clorid và có thể thêm các chất phụ gia để chống oxy hóa, làm trơn, hóa dẻo, ổn định nhưng không được dùng các chất để tạo màu.

Đặc tính

Đồ đựng phải đủ trong để kiểm tra được bằng mắt thường thuốc chứa bên trong. Đồ đựng đã đóng thuốc phải chịu được phương pháp tiệt khuẩn bằng nhiệt hoặc các phương pháp tiệt khuẩn khác. Sau khi tiệt khuẩn, đồ đựng không được có dấu hiệu bị co lại, méo mó, biến màu, mất độ trong, rạn nứt, chảy dính hoặc bất kỳ sự hư hỏng nào khác. Đồ đựng phải không cho vi sinh vật thâm nhập vào thuốc sau khi đã hàn kín. Đồ đựng có thể là túi hoặc chai có kích thước, hình dáng thích hợp cho việc sử dụng (có thể thêm các nút gắn, dây treo khi tiêm truyền).

Thử nghiệm về tính chất của đồ đựng

Thử độ kín, độ gấp uốn

Phải đáp ứng những thử nghiệm trong chuyên luận Đồ đựng chất dẻo cho những chế phẩm không phải thuốc tiêm (Phụ lục 17.3.1).

Độ trong của đồ đựng

Hỗn dịch chuẩn: Hòa tan 1,0 g *hydrazin sulfat (TT)* trong một ít *nước*, thêm *nước* vừa đủ 100 ml, để yên trong 6 h. Thêm 25,0 ml *dung dịch hexamin 10 % (TT)* vào 25 ml dung dịch này, trộn kỹ và để yên trong 24 h. Hỗn dịch thu được bền trong khoảng 2 tháng. Pha loãng 15 ml hỗn dịch này với *nước* vừa đủ 1000 ml. Hỗn dịch chuẩn chỉ dùng trong vòng 24 h.

Pha loãng hỗn dịch chuẩn để thu được hỗn dịch có độ hấp thụ ở bước sóng khoảng 640 nm là 0,37 đến 0,43 (pha loãng khoảng 16 lần). Cho một thể tích hỗn dịch thu được bằng dung tích qui định vào 5 đồ đựng. Độ đục của hỗn dịch khi nhìn qua đồ đựng phải đục hơn so với nước cất đựng trong đồ dựng tương ứng.

Độ ngấm hơi nước

Cho nước vào 5 đồ đựng theo dung tích qui định và hàn kín bằng một miếng polyethylen, nhôm mỏng hay một cách khác thích hợp. Cân chính xác mỗi đồ đựng và để yên (không phủ gì ở trên) trong 14 ngày ở độ ẩm tương đối 60 % ± 5 % và ở nhiệt độ trong khoảng 20 °C đến 25 °C. Cân lại các đồ đựng. Khối lượng giảm đi không được vượt quá 0,2 %.

Những đồ đựng bằng chất dẻo polyvinyl clorid (PVC) dùng cho thuốc tiêm (tiêm truyền tĩnh mạch) phải đạt thêm những phép thử sau:

Chất di(2-ethylhexyl)phthalat chiết được: Không quá 0,010 % (kl/tl).

Dùng một ống cấp, kim hoặc bộ phận nối thích hợp. Cho vào đồ đựng một thể tích dung môi chiết bằng khoảng một nửa dung tích. Hút hết không khí ra và hàn kín ống cấp. Đặt đồ đựng theo hướng nằm ngang vào một nồi cách thủy và giữ nhiệt độ ở 36 °C đến 38 °C trong 60 min ± 1 min, không lắc. Lấy đồ đựng ra khỏi nồi cách thủy, đảo ngược đồ đựng cẩn thận 10 lần và chuyển dịch chứa ở trong sang một bình thủy tinh. Đo ngay độ hấp thụ ở cực đại khoảng 272 nm (Phụ lục 4.1). Tính phần trăm của di(2-ethylhexyl) phthalat theo đường chuẩn.

Dung môi chiết: Ethanol đã pha loãng để có tỷ trọng tương đối từ 0,9373 đến 0,9378 và làm ấm tới 37 °C trong một bình có nút kín.

Đường chuẩn di(2-ethylhexyl) phthalat: Pha 5 dung dịch chuẩn có chứa 0,020 %; 0,010 %; 0,0050 %; 0,0020 %; 0,0010 % (kl/tt) di(2-ethylhexyl) phthalat trong dung môi chiết. Đo độ hấp thụ trong cùng điều kiện.

Thử nghiệm về chất liệu của đồ đựng

Dùng phần đồ đựng không có nhãn, không có vết in hoặc không bị dát mỏng hoặc hạt chất dẻo trong trường hợp đồ đựng được chế tạo đồng thời với quá trình đóng thuốc và hàn kín.

Bari

Làm ẩm 2 g mẫu thử với *acid hydrocloric (TT)* và nung trong một chén bạch kim. Hòa tan tro trong 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*, lọc và thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* vào dịch lọc. Độ đục không lớn hơn hỗn dịch đục chuẩn thu được bằng cách cho 1ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)* vào một hỗn hợp 10 ml dung dịch bari chuẩn (10 phần triệu Ba) và 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*.

Kim loại nặng

Cho 2,5 g mẫu thử vào một bình đáy tròn, cổ dài, thêm 20 ml *acid sulfuric (TT)* và đốt thành than trong khoảng 10 min. Thêm từng giọt *nước oxy già (100 thể tích)* vào dung dịch nóng cho tới khi hết màu, đun nóng sau mỗi lần thêm cho tới khi có khói trắng bay lên. Để nguội, dùng 10 ml *nước cất* để chuyển hết cắn từ bình sang đĩa bạch kim và bốc hơi đến khô. Hòa tan cắn vào 10 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*. Lọc nếu cần, thêm *nước* để được 25 ml (dung dịch A).

Thêm 1,2 ml *dung dịch thioacetamid (TT)* vào hỗn hợp gồm 10 ml dung dịch A và 2 ml *đệm acetat pH 3,5 (TT)*, lắc trộn đều ngay và để yên trong 2 min. Nếu dung dịch tạo thành có màu vàng, màu phải không được đậm hơn màu vàng thu được bằng cách dùng 10 ml *dung dịch cadmi mẫu 10 phần triệu Cd (TT)* thay cho dung dịch A. Nếu là màu nâu phải không được đậm hơn màu nâu thu được bằng cách dùng một hỗn hợp 5 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* và 5 ml *nước* thay cho dung dịch A.

Thiếc

Thêm 5 ml *dung dịch acid sulfuric 20 % (TT)*, 1 ml *dung dịch natri dodecyl sulfat 1 % (kl/tt)* và 1 ml *thuốc thử kẽm dithiol (TT)* vào 10 ml dung dịch A trong phép thử kim loại nặng. Đun nóng trong nồi cách thủy đúng 1 min. Làm nguội và để yên trong 30 min. Nếu dung dịch tạo thành có màu đỏ thì không được đậm hơn màu đỏ thu được bằng cách dùng 10 ml *dung dịch thiếc mẫu 5 phần triệu Sn (TT)* thay cho dung dịch A.

Kẽm

Lấy 1 ml dung dịch A trong phép thử kim loại nặng, thêm *nước cất* vừa đủ 100 ml. Lấy 10 ml dung dịch thu được, thêm 5 ml *dung dịch đệm acetat pH 4,4 (TT)* và 1 ml *dung dịch natri thiosulfat 0,1 M (TT)*, 5 ml *dung dịch dithizon 0,001 %* trong *cloroform (TT)*. Lắc và để yên 2 min. Màu tím trong lớp cloroform không được đậm hơn màu thu được bằng cách dùng hỗn hợp 2 ml *dung dịch kẽm mẫu 10 phần triệu Zn (TT)* và 8 ml *nước* thay cho dung dịch thử. Tiến hành một mẫu trắng kiểm tra, dùng 10 ml *nước* thay cho 10 ml dung dịch thử. Thử nghiệm không có giá trị nếu lớp cloroform thu được trong mẫu trắng có màu xanh lục.

Cắn nung

Lấy 5 g đồ dựng đã cắt nhỏ cho vào một chén nung thích hợp đã cân bì. Nung ở 800 °C ± 25 °C tới khối lượng không đổi. Để chén nung cho nguội trong bình hút ẩm sau mỗi lần nung, lượng cắn không được quá 0,1 %.

Thử nghiệm trên dịch chiết

Thử nghiệm hóa lý

Những thử nghiệm sau đây thực hiện trên dịch chiết từ đồ đựng là chất dẻo, lượng chất dẻo tính theo diện tích bề mặt (cả 2 mặt) và chiết ở nhiệt độ qui định. Mẫu chất dẻo đồng nhất về chất liệu được cắt thành những miếng dài khoảng 5 cm và rộng khoảng 0,3 cm. Chuyển mẫu đã chia nhỏ vào một bình thủy tinh hình trụ dung tích 250 ml có nút mài, thêm khoảng 150 ml *nước*. Lắc khoảng 30 s, gạn bỏ *nước* và rửa lại một lần nữa. Cho vào bình chiết thích hợp một lượng mẫu đã chuẩn bị có diện tích bề mặt khoảng 1200 cm^2 nếu bề dày của mẫu là 0,5 mm hoặc mỏng hơn, hoặc 600 cm^2 nếu bề dày lớn hơn 0,5 mm. Thêm 200 ml *nước* và chiết nóng trong nồi cách thủy ở 70 °C trong 24 h hoặc trong nồi hấp ở 120 °C trong 30 min. Làm nguội nhưng không dưới 20 °C. Lấy 20,0 ml dịch chiết vào một bình thích hợp để dùng cho phép thử dung lượng đệm. Gạn ngay dịch chiết còn lại vào một bình sạch và đậy kín để thử các phép thử dưới đây. Dùng *nước* để làm mẫu trắng trong những phép thử sau:

Độ trong và màu sắc: Dịch chiết phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3).

Độ hấp thụ ánh sáng: Lọc dịch chiết nếu cần và dịch lọc có độ hấp thụ ánh sáng không quá 0,08 ở 220 nm đến 240 nm và không quá 0,05 ở 240 nm đến 360 nm (Phụ lục 4.1). Dùng *nước* để làm mẫu trắng.

pH: Cứ mỗi 20 ml dịch chiết và mẫu trắng cho thêm 1 ml *dung dịch kali clorid 0,1 % (TT)*, xác định pH của dung dịch (Phụ lục 6.2). Hiệu số pH của hai dung dịch không được lớn hơn 1,5.

Chất không bay hơi: Cho 50,0 ml dịch chiết vào một chén nung thích hợp đã cân bì và được làm sạch bằng acid. Bốc hơi trên cách thủy cho tới khô và sấy cắn ở 105 °C trong 1 h. Song song làm mẫu trắng. Hiệu số giữa cắn của dịch chiết và mẫu trắng không được vượt quá 15 mg.

Ghi chú: Nếu là cắn dầu thì kiểm tra lại quá trình bay hơi, giai đoạn làm khô, và giảm nhiệt nếu dầu có xu hướng bám vào thành của chén nung.

Cắn nung (Không cần phải làm thử nghiệm này nếu kết quả thử nghiệm cắn không bay hơi không vượt quá 5 mg): Tiến hành với chất không bay hơi thu được từ mẫu thử và mẫu trắng, nhưng cho thêm cùng một lượng *acid sulfuric (TT)* vào mỗi chén nung. Hiệu số giữa cắn nung của mẫu thử và mẫu trắng không vượt quá 5 mg.

Kim loại nặng:

Dịch chiết có thể lọc nếu cần, lấy 20,0 ml cho vào 1 trong 2 ống Nessler, điều chỉnh pH tới khoảng giữa 3,0 và

4,0 với *dung dịch acid acetic 1 M (TT)* hay *dung dịch amoniac 5 M (TT)*, pha loãng với *nước* để thành 35 ml và trộn đều.

Cho vào ống Nessler khác 2,0 ml *dung dịch chì mẫu 1 phần triệu Pb (TT)* và 20 ml *nước*. Điều chỉnh pH vào khoảng giữa 3,0 và 4,0 với *dung dịch acid acetic 1 M (TT)* hay *dung dịch amoniac 5 M (TT)*. Pha loãng với *nước* để thành 35 ml và trộn đều.

Cho vào mỗi ống 10 ml *dung dịch dihydrosulfid (TT)* vừa mới pha, thêm *nước* thành 50 ml và trộn đều. Trong 10 min, nếu dịch chiết có màu nâu thì không được đậm hơn màu trong ống chuẩn.

Dung lượng dệm: Lấy 20 ml dịch chiết đem chuẩn độ với *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (CĐ)* hay dung dịch *natri hydroxyd 0,01 M (CĐ)* tới pH 7,0 xác định bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Song song chuẩn độ với 20 ml mẫu trắng. Nếu mẫu thử và mẫu trắng dùng cùng loại dung dịch chuẩn độ thì hiệu của hai thể tích đã dùng ở trên không vượt quá 10,0 ml, nếu dùng hai dung dịch chuẩn độ khác loại cho mẫu thử hay mẫu trắng thì tổng số thể tích không lớn hơn 10,0 ml.

Những chất bị oxy hóa: Cho 20,0 ml dịch chiết vào một bình thủy tinh nút mài, thêm 20,0 ml *dung dịch kali permanganat 0,002 M (CĐ)* và 1 ml *dung dịch acid sulfuric 10 %* (kl/kl), đun sôi 3 min. Để nguội, thêm 0,1 g *kali iodid (TT)*, lắc trộn đều và để yên 10 min trong tối. Chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,01 M (CĐ)*. Dùng 0,25 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* cho vào khoảng cuối chuẩn độ làm chỉ thị màu. Song song làm mẫu trắng, hiệu số giữa hai lần định lượng không khác nhau quá 1,0 ml.

Thử nghiệm sinh học

Những thử nghiệm sau đây được xây dựng để đánh giá đáp ứng sinh học của động vật đối với những vật liệu là chất dẻo hay polymer khác khi tiêm các chất chiết từ mẫu thử nghiệm.

Lượng mẫu thử được lấy theo diện tích bề mặt đem chiết. Khi diện tích bề mặt không thể xác định được thì dùng 0,2 g mẫu thử cho mỗi ml dịch chiết. Cần thận trọng khi chuẩn bị các mẫu thử để tiêm, tránh nhiễm khuẩn và các chất lạ.

Thử nghiệm áp dụng cho các loại chất dẻo và các polymer đúng với điều kiện sử dụng. Khi các đồ đựng phải rửa hoặc tiệt khuẩn trước khi dùng thì thử nghiệm cũng phải tiến hành trên mẫu đồ đựng đã được xử lý với cùng qui trình rửa và tiệt khuẩn.

Mẫu thử là dịch chiết từ mẫu đồ dựng cần thử. Mẫu trắng là dung môi dùng để chiết được xử lý trong cùng điều kiện và qui trình như mẫu thử. Mẫu đối chiếu âm tính là mẫu không cho phản ứng trong cùng điều kiện thử.

a) Thử nghiệm toàn thân

Thử nghiệm dùng để đánh giá đáp ứng toàn thân của chuột nhắt sau khi tiêm dịch chiết từ mẫu cần thử.

Động vật thí nghiệm: Chuột nhắt trắng khỏe mạnh, cùng nguồn gốc, cân nặng 18 g đến 22 g, chưa dùng vào thí nghiệm nào trước đó. Chuột được cho ăn và uống nước bình thường.

Dụng cụ:

Nồi hấp có khả năng duy trì nhiệt độ ở 121 °C ± 2 °C, có thêm hệ thống nước làm lạnh để làm nguội bình đựng mẫu thử đến khoảng 20 °C ngay sau khi hấp.

Tủ sấy có khả năng duy trì nhiệt độ ở 50 °C ± 2 °C hoặc 70 °C ± 2 °C.

Dùng ống nghiệm hoặc ống nuôi cấy có nắp xoáy là thủy tinh trung tính (thủy tinh loại I) để chiết mẫu.

Chuẩn bị dụng cụ:

Các dụng cụ thủy tinh cần tráng bằng hỗn hợp acid cromic hoặc acid nitric nóng, súc rửa kỹ với nước, tráng lại bằng *nước cất*. Rửa các dụng cụ để cất lần lượt với aceton và dicloromethan trước khi dùng để cất mẫu. Tất cả các dụng cụ khác phải được rửa với chất tẩy rửa thích hợp rồi tráng kỹ bằng *nước cất*. Làm khô và tiệt khuẩn các dụng cụ bằng phương pháp thích hợp.

Dung môi chiết: Việc lựa chọn dung môi chiết, trong số các dung môi chiết dưới đây, cần đại diện cho thành phần dung môi có trong chế phẩm sẽ tiếp xúc trực tiếp với đồ đựng chất dẻo đem thử nghiệm.

Dung dịch tiêm natri clorid 0,9 % (vô khuẩn và không có chất gây sốt).

Dung dịch 5 % của ethanol trong dung dịch tiêm natri clorid 0,9 %.

Polyethylen glycol 400.

Dầu thực vật: Dùng dầu vừng, dầu lạc hoặc dầu hạt bông mới tinh chế và phải đạt thêm các yêu cầu sau: Dùng 3 thỏ thí nghiệm theo qui định phép thử tiêm trong da. Tiêm trong da 0,2 ml vào mỗi điểm, tiêm 10 điểm trên mỗi thỏ. Quan sát chỗ tiêm 24 h, 48 h và 72 h sau khi tiêm. Không được có điểm nào có phản ứng dưới dạng vết đỏ hay phồng có đường kính lớn hơn 0,5 cm.

Chuẩn bị mẫu thử:

Chọn và cắt mẫu thử thành những mảnh nhỏ theo kích thước hướng dẫn trong Bảng 17.3.2.1. Loại bỏ những vật lạ như xơ vải và những mảnh vụn quá nhỏ bằng cách cho mẫu đã cắt vào ống đong thủy tinh loại I, dung tích 100 ml, có nút mài, thêm 70 ml nước để pha thuốc tiêm. Lắc trong khoảng 30 s, gạn bỏ hết nước, làm lại một lần nữa. Với phần mẫu dùng chiết bằng dung môi là dầu thực vật, cần sấy khô mẫu thử ở nhiệt độ không quá 50 °C.

Ghi chú: Không lau mẫu bằng khăn khô/ẩm hoặc rửa bằng dung môi hữu cơ.

Chuẩn bị dịch chiết: Cho lượng mẫu thử đã xử lý đúng yêu cầu vào dụng cụ chiết, thêm 20 ml dung môi chiết. Chuẩn bị như vậy với từng loại dung môi chiết theo yêu cầu phép thử. Song song chuẩn bị một mẫu trắng dùng 20 ml cho mỗi loại dung môi và xử lý trong cùng điều kiện. Chiết bằng cách hấp trong nồi hấp ở 120 °C trong 60 min hoặc trong tủ ấm ở 70 °C trong 24 h hoặc ở 50 °C trong 72 h, tùy thuộc vào loại chất dẻo đem thử.

Làm nguội ngay đến nhiệt độ phòng nhưng không dưới 20 °C, lắc mạnh trong vài phút và gạn ngay mỗi dịch chiết vào một bình khô, vô khuẩn. Bảo quản các dịch chiết ở nhiệt độ từ 20 °C đến 30 °C nhưng không dùng để thử nếu để quá 24 h.

Bảng 17.3.2.1

Dạng chất dẻo	Bề dày	Lượng mẫu cho mỗi 20 ml dung môi chiết	Chia nhỏ thành
Màng mỏng hay tờ	< 0,5 mm	Tương đương diện tích bề mặt 120 cm^2 (cả hai mặt)	Những dải khoảng 5 cm × 0,3 cm
	Từ 0,5 mm đến 1 mm	Tương đương diện tích bề mặt 60 cm^2 (cả hai mặt)	
Ống	< 0,5 mm (thành ống)	Chiều dài (cm) = 120 (cm^2) : [Chu vi đường tròn trong + chu vi đường tròn ngoài của ống] (cm)	Những phần khoảng 5 cm × 0,3 cm
	Từ 0,5 mm đến 1 mm (thành ống)	Chiều dài (cm) = 60 (cm^2) : [Chu vi đường tròn trong + chu vi đường tròn ngoài của ống] (cm)	
Phiến mỏng, ống hoặc đã tạo khuôn	> 1 mm	Tương đương với tổng diện tích bề mặt 60 cm^2 (toàn bộ bề mặt tiếp xúc)	Những miếng khoảng 5 cm × 0,3 cm

Ghi chú: Điều kiện chiết không được làm thay đổi trạng thái vật lý của mẫu thử, như làm chảy hoặc làm nóng chảy mẫu thử, dẫn tới làm giảm diện tích bề mặt mẫu thử. Có thể cho phép các mảnh dính nhẹ vào nhau. Nên cho từng mảnh nhỏ đã rửa sạch vào dung môi chiết. Nếu dùng các ống nuôi cấy để chiết với dầu thực vật trong nồi hấp thì phải dán kín mép quanh nút với băng dính tốt để ngăn hơi nước không vào trong dịch chiết.

Tiến hành:

Lắc mạnh dịch chiết trước mỗi liều tiêm để đảm bảo chất chiết được phân bố đều. Chú ý không lấy các tiểu phân nhìn thấy được để tiêm tĩnh mạch.

Dùng 5 chuột cho một nhóm, mỗi nhóm thử với một dịch chiết của mẫu thử hoặc mẫu trắng. Liều tiêm và đường tiêm theo hướng dẫn ở Bảng 17.3.2.2. Riêng dịch chiết với dung môi polyethylen glycol và mẫu trắng tương ứng cần pha loãng với 4,1 thể tích dung dịch tiêm natri clorid 0,9 % để được dung dịch có nồng độ khoảng 200 mg polyethylen glycol trong 1 ml.

Bảng 17.3.2.2

Dịch chiết hay mẫu trắng	Liều cho 1 kg	Đường tiêm	Tốc độ tiêm (µl cho 1 s)
Dung dịch tiêm natri clorid 0,9 %	50 ml	Tĩnh mạch	100
Dung dịch 5 % (tt/tt) của ethanol trong dung dịch tiêm natri clorid 0,9 %	50 ml	Tĩnh mạch	100
Polyethylenglycol 400	10 g	Trong màng bụng	
Dầu thực vật	50 ml	Trong màng bụng	

Quan sát tất cả các chuột ngay sau khi tiêm, sau 4 h và ít nhất vào các thời điểm 24 h, 28 h và 72 h sau khi tiêm. Nếu trong thời gian theo dõi không có chuột nào của nhóm tiêm mẫu thử có phản ứng sinh học lớn hơn đáng kể so với nhóm tiêm mẫu trắng thì mẫu thử đạt yêu cầu. Nếu có 2 chuột hoặc nhiều hơn bị chết hoặc có 2 chuột hoặc nhiều hơn có biểu hiện bất thường như co giật, suy nhược hoặc có 3 chuột trở lên bị giảm cân (> 2 g) thì mẫu thử không đạt yêu cầu.

Nếu có một chuột bị chết hoặc có dấu hiệu phản ứng sinh học thì thử lại trên 10 chuột khác. Với lần thử lại, mẫu thử đạt yêu cầu nếu tất cả 10 chuột đều sống và không có biểu hiện sinh học khác nhau đáng kể so với nhóm chứng.

b) Thử nghiệm tiêm trong da

Thử nghiệm này được xây dựng để đánh giá phản ứng tại chỗ của thỏ với dịch chiết mẫu thử sau khi tiêm vào trong da.

Động vật thí nghiệm: Chọn thỏ trắng, da mỏng, có thể cắt lông thật ngắn và da không bị tổn thương hoặc bị kích ứng do cọ xát. Trong thời gian theo dõi, tránh tiếp xúc vào những chỗ tiêm trừ khi cần phân biệt giữa nốt phù nề với vết dầu đọng.

Ghi chú: Những thỏ trước đó đã dùng cho các phép thử không liên quan như thử chất gây sốt hoặc thỏ đã nghỉ một thời gian sau lần thử trước, có thể dùng vào phép thử này nếu da sạch và không bị tổn thương.

Tiến hành: Trong ngày thí nghiệm, cắt lông trên phần lưng thỏ, về cả hai bên sống lưng, một khoảng đủ rộng để thử. Tránh gây kích ứng và làm tổn thương da. Dùng máy hút để loại hết lông rơi ra, khi cần có thể lau nhẹ da bằng ethanol loãng và để khô trước khi tiêm. Mỗi loại dịch chiết cần thử trên 2 thỏ, một bên tiêm dịch chiết và một bên tiêm mẫu trắng theo hướng dẫn trong Bảng 17.3.2.3. Để tránh lãng phí, trên cùng một thỏ có thể tiêm một vài loại dịch chiết hoặc dịch chiết của vài mẫu khác nếu kết quả không ảnh hưởng lẫn nhau. Lắc mạnh mỗi dịch chiết trước khi lấy để tiêm. Mẫu dịch chiết với polyethylen glycol 400 và mẫu trắng tương ứng, cần pha loãng với dung dịch tiêm natri clorid 0,9 % để có nồng độ polyethylen glycol khoảng 120 mg trong 1 ml.

Bảng 17.3.2.3

Dịch chiết hay mẫu trắng	Số vị trí (cho mỗi thỏ)	Liều cho mỗi vị trí (µl)
Mẫu thử	5	200
Mẫu trắng	5	200

Quan sát các chỗ tiêm để phát hiện các phản ứng của mô như ban đỏ, phù nề hoặc hoại tử. Có thể lau nhẹ bằng ethanol loãng để dễ quan sát và đánh giá kết quả. Quan sát tất cả các thỏ thí nghiệm tại các thời điểm 24 h, 48 h và 72 h sau khi tiêm. Chấm điểm tất cả các chỗ tiêm của mẫu trắng và mẫu thử theo thang điểm qui định trong Bảng 17.3.2.4.

Bảng 17.3.2.4

Ban đỏ và tạo thành vẩy	Điểm	Tạo thành phù nề *	Điểm
Không có ban đỏ	0	Không có phù nề	0
Ban đỏ rất nhẹ (vừa đủ nhận thấy)	1	Phù nề rất nhẹ (vừa đủ nhận thấy)	1
Ban đỏ nhận thấy rõ	2	Phù nề nhẹ (viền phù nề nổi rõ)	2
Ban đỏ vừa phải tới đậm	3	Phù nề vừa phải (phù nề cao khoảng 1 mm)	3
Ban đỏ đậm (sặc đỏ) tới tạo thành vẩy nhẹ	4	Phù nề nặng (phù nề cao trên 1 mm và lan rộng hơn khoảng tiếp xúc)	4

* Không kể những vết nề (cơ học) không phải viêm.

Trong thời gian theo dõi, nếu cần có thể cắt lại lông thỏ để dễ quan sát. Tính điểm ban đỏ và phù nề trung bình cho mẫu trắng và mẫu thử ở mỗi lần chấm điểm (24 h, 28 h và 72 h) cho mỗi thỏ. Sau 72 h, cộng tất cả các điểm ban đỏ và phù nề cho riêng mẫu thử và mẫu trắng. Chia tổng số điểm của từng mẫu cho 12 (2 thỏ × 3 lần ghi điểm × 2 lần ghi loại điểm) để xác định điểm trung bình chung với mỗi mẫu thử và mẫu trắng tương ứng. Phép thử đạt yêu cầu nếu hiệu số giữa điểm trung bình của mẫu thử và mẫu trắng tương ứng nhỏ hơn hoặc bằng 1. Nếu ở bất kỳ lần ghi điểm nào đó, điểm phản ứng trung bình của mẫu thử nghi ngờ cao hơn mẫu trắng, làm lại thêm trên 3 thỏ khác. Phép thử đạt yêu cầu nếu điểm trung bình giữa mẫu thử và mẫu trắng khác nhau nhỏ hơn hoặc bằng 1,0.

c) Thử nghiệm chất gây sốt

Thử nghiệm này được qui định cho các đồ đựng bằng chất dẻo dùng cho thuốc tiêm truyền. Dùng dung môi chiết là dung dịch tiêm natri clorid 0,9 % không có chất gây sốt. Chuẩn bị mẫu thử và dịch chiết như hướng dẫn trong phép thử tiêm toàn thân. Các dụng cụ chiết phải đảm bảo không có chất gây sốt.

Tiến hành theo thử nghiệm chất gây sốt (Phụ lục 13.4), tiêm 10 ml dịch chiết cho 1 kg thỏ.

17.3.3 ĐỒ ĐỰNG BẰNG CHẤT DẺO DÙNG CHO CHẾ PHẨM NHỎ MẮT

Đồ đựng bằng chất dẻo cho các chế phẩm nhỏ mắt có thể được chế tạo từ các polymer có khối lượng phân tử đồng nhất trong một khoảng nhất định. Có thể dùng polypropylen hoặc đồng polymer của propylen với không quá 25 % ethylen hoặc hỗn hợp polypropylen và không quá 25 % polyethylen và thường có thêm các chất hóa dẻo, ổn định, chống oxy hóa, tạo màu, làm trơn.

Để lựa chọn đồ đựng bằng chất dẻo phù hợp với chế phẩm nhỏ mắt cần phải tiến hành các thử nghiệm về thành phần của chất dẻo, qui trình xử lý đồ đựng, môi trường tiếp xúc, khả năng hấp thụ và tính thấm của các chất thêm vào, điều kiện bảo quản... có thể ảnh hưởng đến chế phẩm.

Đồ đựng bằng chất dẻo cho chế phẩm thuốc nhỏ mắt phải đáp ứng những thử nghiệm sau:

Thử độ kín, độ gấp uốn, độ trong của dịch chiết, cắn không bay hơi

Phải đáp ứng những thử nghiệm qui định cho đồ đựng bằng chất dẻo dùng cho chế phẩm không phải thuốc tiêm (Phụ lục 17.3.1).

Thử nghiệm tiêm toàn thân, tiêm trong da

Phải đáp ứng những thử nghiệm qui định cho đồ đựng bằng chất dẻo dùng cho chế phẩm thuốc tiêm (Phụ lục 17.3.2).

Thử kích ứng mắt

Thử nghiệm này để đánh giá đáp ứng khi nhỏ dịch chiết của mẫu thử vào mắt thỏ.

Dung môi chiết:

(a) Dung dịch tiêm natri clorid 0,9 %.

(b) Dầu thực vật.

Chuẩn bị mẫu thử và dịch chiết: Tiến hành giống như chuẩn bị dịch chiết để thử nghiệm tiêm toàn thân.

Động vật thí nghiệm:

Chọn những thỏ trắng khỏe mạnh, trước đó chưa dùng để thử kích ứng mắt. Nhà chăn nuôi phải không có mùn cưa, vỏ bào hay những vật liệu khác có thể làm kích ứng mắt thỏ. Kiểm tra cả hai mắt thỏ trước khi thử và chỉ dùng những thỏ mà mắt không bị kích ứng để thí nghiệm.

Thử sự thích ứng của mắt thỏ: Dùng một thỏ, nhỏ vào một mắt 100 µl mẫu trắng đã chuẩn bị trong thử nghiệm tiêm toàn thân và nhỏ vào mắt kia 100 µl nước cất vô khuẩn để tiêm. Mắt thỏ được coi là thích ứng nếu không nhận thấy sự khác nhau có ý nghĩa giữa hai mắt.

Qui trình thử: Dùng 3 thỏ trắng cho mỗi dịch chiết đem thử. Nhốt thỏ ở nơi chắc chắn nhưng cần nhẹ nhàng và yên tĩnh. Kéo nhẹ và lật mí mắt dưới xa con ngươi để làm thành một hốc lõm và nhỏ khoảng 100 µl nước cất vô khuẩn để tiêm, giữ mi mắt khoảng 30 s. Làm tương tự để nhỏ vào mắt kia 100 µl dịch chiết mẫu thử đã chuẩn bị ở thử nghiệm tiêm toàn thân. Quan sát mắt thỏ vào các thời điểm 24 h, 48 h và 72 h sau khi nhỏ. Phép thử đạt yêu cầu nếu dịch chiết của mẫu thử chứng tỏ không có kích ứng đáng kể trong quá trình theo dõi so với mẫu trắng và mắt thỏ thích ứng với thử

nghiệm. Nếu có hiện tượng kích ứng với mắt nhỏ nước cất vô khuẩn để tiêm [hoặc mắt thỏ không thích ứng với thử nghiệm] thì làm lại thí nghiệm với 3 thỏ khác. Trong lần thử lại, tất cả các thỏ phải đạt yêu cầu thử nghiệm.

17.4 DỤNG CỤ TIÊM TRUYỀN ĐÃ TIỆT KHUẨN (Bộ dây truyền dịch)

Dụng cụ tiêm truyền (Bộ dây truyền dịch) dùng để dẫn các chế phẩm như thuốc tiêm thể tích lớn, máu và các chế phẩm từ máu qua đường tĩnh mạch hoặc đường khác thích hợp trong điều trị và dinh dưỡng.

Cấu tạo

Bộ dây truyền dịch có phần chính là một ống dẫn hình trụ bằng chất dẻo gắn chặt với các bộ phận khác gồm: Kim chọc nút chai, bầu đếm giọt, màng lọc máu, khóa (bộ phận điều chỉnh lưu lượng chảy), kim tiêm, màng lọc không khí. Dụng cụ này được sản xuất với các kích cỡ khác nhau theo yêu cầu của trị liệu.

Vật liệu và thiết kế sản xuất

Vật liệu dùng để chế tạo ra bộ dây truyền dịch thường gồm nhựa dẻo như polyvinyl clorid (PVC), ethylenvinyl acetat (EVA) và kim loại không gỉ. Những vật liệu này phải là loại dùng cho y tế. Vật liệu dùng làm ống dẫn, bầu đếm giọt phải là loại trong suốt. Việc chọn vật liệu cho sản phẩm phải không ảnh hưởng tới chất lượng của dịch được dẫn truyền, đặt biệt không tác động đến các thành phần của máu, cũng như đảm bảo an toàn trong khi dùng.

Bộ dây truyền dịch phải vô khuẩn và không có chất gây sốt; chỉ dùng một lần, không được tiệt trùng để dùng lại.

Tiêu chuẩn kỹ thuật chung

Bộ dây truyền dịch đã tiệt khuẩn, đóng gói đúng quy định phải đáp ứng các phép thử sau:

Chuẩn bị dung dịch thử nghiệm (dung dịch T): Thiết lập một hệ thống quay vòng khép kín gồm 3 bộ dây truyền dịch (được nối liền với nhau) và một bình thủy tinh borosilicat dung tích 300 ml. Lắp một bộ phận cấp và điều chỉnh nhiệt vào bình. Rót 250 ml nước để pha thuốc tiêm vào bình và điều nhiệt ở 37 °C ± 1 °C. Cho nước lưu thông trong hệ thống qua các bộ dây theo chiều sẽ được dùng để truyền dịch làm thành một vòng khép kín (nước từ bình - qua dây - trở lại bình) với tốc độ 1000 ml/h trong 2 h. Trong quá trình chiết rửa có thể dùng một bơm kiểu nhu động thích hợp để đẩy nước lưu thông dễ dàng, nhưng không ảnh hưởng tới kết quả các thử nghiệm sau đó. Thu toàn bộ dịch và để nguội (dán nhãn dung dịch T).

Độ trong và màu sắc dung dịch

Dung dịch T phải trong suốt (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Độ hấp thụ ánh sáng

Đo độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch T trong khoảng từ 230 nm đến 360 nm (Phụ lục 4.1).

Độ hấp thụ đọc được là không quá 0,3 tại bất kỳ bước sóng nào trong khoảng từ 230 nm đến 250 nm, và không quá 0,15 tại bất kỳ bước sóng nào trong khoảng từ 251 nm đến 360 nm.

Giới hạn acid - kiềm

Lấy 25 ml dung dịch T, thêm 0,15 ml dung dịch chứa 0,1 % *xanh bromothymol (TT)*, 0,02 % *đỏ methyl (TT)* và 0,2 % *phenolphtalein (TT)* trong *ethanol 96 % (TT)*. Màu của dung dịch phải chuyển sang xanh khi thêm không quá 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (CĐ)*.

Lấy 25 ml dung dịch T, thêm 0,2 ml *dung dịch da cam methyl (TT)*. Dung dịch phải bắt đầu chuyển màu khi thêm không quá 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (CĐ)*.

Cắn không bay hơi

Bốc hơi 50 ml dung dịch T đến khô trên cách thủy và sấy đến khối lượng không đổi ở 100 °C đến 105 °C. Song song làm mẫu trắng với 50 ml *nước để pha thuốc tiêm*. Lượng cắn thu được của mẫu thử không lớn hơn quá 1,5 mg so với lượng cắn thu được của mẫu trắng.

Chất khử

Phép thử này được tiến hành trong vòng 4 h từ khi chuẩn bị dung dịch T. Lấy 20 ml dung dịch T, thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (TT)*, 20 ml *dung dịch kali permanganat 0,002 M (CĐ)*. Đun sôi 3 min, sau đó làm nguội nhanh. Thêm 1 g *kali iodid (TT)*, chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,01 M (CĐ)*, dùng 0,25 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị. Song song làm mẫu trắng với 20 ml *nước để pha thuốc tiêm*. Lượng *dung dịch natri thiosulfat 0,01 M (CĐ)* dùng cho mẫu thử không lớn hơn quá 2,0 ml so với lượng dùng cho mẫu trắng.

Tiểu phân lạ

Đóng đầy *dung dịch natri lauryl sulfat 0,01 % (kl/tt) (TT)* đã được lọc trước qua phễu thủy tinh xốp với đường kính lỗ lọc khoảng 10 µm đến 16 µm và làm nóng đến 37 °C vào bộ dây truyền dịch qua đường vào thông thường. Thu dung dịch từ đường ra của bộ dây và quan sát. Dung dịch phải trong suốt và thực tế không có các tiểu phân hoặc sợi khi quan sát bằng mắt thường (coi các tiểu phân hoặc sợi với đường kính bằng hoặc lớn hơn 50 µm là có thể quan sát được bằng mắt thường).

Tốc độ dòng chảy

Đặt đầu vào của một bộ dây truyền dịch ở độ cao 1 m. Cho 50 ml một dung dịch có độ nhớt bằng 3 mPa·s (dung dịch polyethylen glycol 4000 3,3 % (kl/tt) trong nước ở 20 °C là thích hợp) chảy qua bộ dây với khóa để ở trạng thái mở hoàn toàn. Thời gian chảy hết lượng dung dịch thử nghiệm phải không quá 90 s.

Độ bền áp lực

Bịt kín một đầu của bộ dây truyền dịch, kể cả ống thông khí (nếu có). Mở các khóa. Gắn đầu kia của bộ dây với đầu ống chứa khí nén, ống có gắn sẵn thiết bị điều áp. Nhúng

chìm một bộ dây vào một thùng nước ở 20 °C đến 23 °C. Nén khí vào dây với áp suất 100 kPa trong 1 min. Không được có bọt khí thoát ra từ bộ dây.

Độ trong suốt của dây truyền dịch

Pha hỗn dịch chuẩn: Trộn đều 25 ml dung dịch hydrazin sulfat 1 % trong nước (đã pha sau 4 h đến 6 h) với một dung dịch có chứa 2,5 g *hexamin (TT)* trong 25,0 ml *nước* và để yên trong trong 24 h. Hỗn dịch này phải được bảo quản trong bình thủy tinh có bề mặt trong thật nhẵn, có thể ổn định trong vòng 2 tháng. Trước khi dùng phải lắc đều sau đó lấy 15 ml hỗn dịch cho vào bình định mức, pha loãng với *nước cất* tới vừa đủ 1000 ml, thu được hỗn dịch chuẩn.

Pha loãng hỗn dịch chuẩn 8 lần để thử các bộ dây truyền dịch có đường kính ngoài của ống dẫn nhỏ hơn 5 mm; pha loãng hỗn dịch chuẩn 16 lần để thử các bộ dây truyền dịch có đường kính ngoài của ống dẫn bằng hoặc lớn hơn 5 mm. Cho hỗn dịch chuẩn đã pha loãng phù hợp chạy qua bộ dây cần thử. Độ đục và các bọt khí của hỗn dịch chuẩn đã pha loãng khi chảy qua bộ dây phải được nhận biết rõ bằng mắt thường khi so sánh với bộ dây khác cùng lô đã đóng đầy *nước cất*.

Thử vô khuẩn

Tiến hành phép thử vô khuẩn (Phụ lục 13.7) với các chỉ dẫn thêm sau:

Nếu bộ dây truyền dịch quy định chỉ có mặt trong là vô khuẩn: Cho 50 ml dung môi A (được chuẩn bị theo chỉ dẫn ở Phụ lục 13.7), chảy qua bộ dây truyền dịch và thu lấy toàn bộ lượng dung môi này để thử. Tiến hành thử theo phương pháp màng lọc. Nếu bộ dây truyền dịch quy định cả mặt trong và mặt ngoài đều vô khuẩn: Mở đồ bao gói bằng các dụng cụ tiệt khuẩn. Nếu dùng phương pháp màng lọc để thử: Đặt bộ dây vào một đồ đựng vô khuẩn thích hợp có chứa sẵn một lượng dung môi A đủ để làm ngập bộ dây và ngâm rửa một bộ dây trong 10 min. Nếu dùng phương pháp cấy trực tiếp để thử: Đặt cả bộ dây vào trong một đồ đựng vô khuẩn thích hợp có chứa sẵn một lượng môi trường đủ để ngâm chìm toàn bộ dây đem thử. Bộ dây truyền dịch phải vô khuẩn.

Chất gây sốt

Nối kết liên tiếp 5 bộ dây truyền dịch với nhau. Cho chảy qua hệ thống này 250 ml dung dịch natri clorid 0,9 % vô khuẩn, không có chất gây sốt với tốc độ chảy không quá 10 ml/min. Hứng dịch rửa vào một đồ đựng không có chất gây sốt, dung dịch thu được để tiến hành thử chất gây sốt với liều 10 ml/kg thể trọng thỏ (Phụ lục 13.4).

Bộ dây truyền dịch không được chứa chất gây sốt.

Ethylen oxyd

Nếu trên nhãn có ghi là bộ dây truyền dịch được tiệt khuẩn bằng ethylen oxyd thì dư lượng chất này không vượt quá 0,001 % (kl/kl).

Tiến hành theo phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Dung dịch thử: Lấy bộ dây truyền dịch ra khỏi đồ bao gói và cân. Cắt dây thành từng đoạn dài không quá 1 cm và bỏ vào một lọ thủy tinh dung tích 250 ml đến 500 ml đã có sẵn 150 ml *dimethylacetamid (TT)*. Nút lọ lại bằng một nút thích hợp và cột nút thật chắc chắn. Đặt lọ ở 69 °C đến 71 °C trong 16 h. Dùng khí nóng thu được từ lọ để tiêm vào cột.

Dung dịch chuẩn gốc: Tiến hành trong tủ hút như sau: Chuyển 50 ml *dimethylacetamid (TT)* vào một lọ thủy tinh 50 ml, nút lọ lại và cột nút chắc chắn. Cân khối lượng lọ (chính xác đến 0,1 mg). Làm đầy một bơm tiêm (bằng polyethylen hoặc polypropylen) có dung tích 50 ml với khí *ethylen oxyd (TT)*. Giữ cho khí tiếp xúc với mặt trong của bơm tiêm khoảng 3 min rồi đẩy hết khí ra khỏi bơm tiêm. Làm đầy lại bơm tiêm với 50 ml khí *ethylen oxyd (TT)* khác. Lắp một kim tiêm (loại dùng tiêm dưới da) vào bơm tiêm, đẩy bớt khí ra khỏi bơm tiêm đến khi thể tích khí trong bơm tiêm còn 25 ml. Tiêm từ từ lượng khí trong bơm tiêm này vào lọ đã chuẩn bị trên. Lắc nhẹ nhàng, tránh không cho kim tiêm tiếp xúc với dimethylacetamid trong lọ. Cân lại khối lượng lọ. Sự tăng khối lượng lọ chính là lượng khí ethylen oxyd đã được hòa tan. Từ sự tăng khối lượng này (khoảng 45 mg đến 60 mg), tính toán nồng độ chính xác của dung dịch khí ethylen oxyd trong dimethylacetamid (khoảng 1 g/L).

Pha các dung dịch chuẩn từ 1 đến 7: Chuẩn bị 7 lọ (cùng loại như đã dùng để chuẩn bị dung dịch thử), đánh số từ 1 đến 7, trong mỗi lọ đã có sẵn 150 ml *dimethylacetamid (TT)*. Lần lượt cho vào các lọ, theo thứ tự từ 1 đến 7, các thể tích chính xác dung dịch chuẩn gốc sau: 0 ml; 0,05 ml; 0,10 ml; 0,20 ml; 0,50 ml; 1,00 ml và 2,00 ml (tương ứng với khoảng 0 µg; 50 µg; 100 g; 200 µg; 500 µg; 1000 µg và 2000 µg ethylen oxyd). Đậy nút các lọ và cột nút vào cổ lọ cho thật chắc chắn. Đặt các lọ ở 69 °C đến 71 °C trong 16 h. Dùng khí nóng thu được từ các lọ để tiêm vào cột.

Điều kiện sắc ký

Cột thép không gỉ (1,5 m × 6,4 mm) nhồi diatomit silan hóa được tẩm 30 % (kl/kl) *polyethylen glycol 1500*.

Khí mang: Heli với tốc độ dòng 20 ml/min.

Detector: Ion hóa ngọn lửa.

Nhiệt độ vận hành: Cột ở 40 °C; buồng tiêm ở 100 °C; detector ở 150 °C.

Cách tiến hành:

Xây dựng đường chuẩn: Lần lượt tiêm riêng biệt 1 ml khí nóng thu được từ các lọ đựng dung dịch chuẩn từ 1 đến 7 vào cột sắc ký và xây dựng đường chuẩn từ các chiều cao của các pic đáp ứng thu được và lượng ethylen oxyd có trong mỗi lọ tương ứng.

Tiêm 1 ml khí nóng thu được từ lọ đựng dung dịch thử. Dựa vào chiều cao của pic đáp ứng thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử và căn cứ vào đường cong chuẩn đã được xây dựng ở trên, tính ra lượng ethylen oxyd có trong mẫu thử.

Cần kiểm tra để đảm bảo rằng không có sự ảnh hưởng của các pic khác lên pic của ethylen oxyd bằng một trong hai cách sau: 1) Tiến hành sắc ký một dung dịch được chuẩn bị như dung dịch thử quy định ở trên, nhưng thay một bộ dây truyền dịch cần thử bằng một bộ dây không được tiệt

khuẩn; 2) Tiến hành quy trình sắc ký theo quy định ở trên, nhưng dùng cột thép không gỉ (3 m × 3,2 mm) nhồi diatomit silan hóa được tẩm 20 % (kl/kl) *triscyanoethoxypropan*, duy trì ở nhiệt độ cột 60 °C.

Đóng gói, bảo quản
Mỗi bộ dây truyền dịch được đóng trong bao bì kín thích hợp, duy trì được trạng thái vô khuẩn. Dán nhãn đáp ứng quy cách và ghi rõ kỹ thuật vô khuẩn trong sản xuất.
Bảo quản nơi khô ráo, mát và tránh va chạm.

17.5 NÚT CAO SU DÙNG CHO CHAI ĐỰNG THUỐC TIÊM VÀ THUỐC TIÊM TRUYỀN

Nút cao su dùng cho chai, lọ đựng các chế phẩm thuốc tiêm nước, bột, hay bột đông khô, được làm từ các nguyên liệu thu được bằng cách lưu hóa các chất hữu cơ cao phân tử có tính đàn hồi, có nguồn gốc thiên nhiên hay tổng hợp, với các chất phụ gia thích hợp (chất lưu hóa, chất tăng tốc độ lưu hóa, chất ổn định, chất màu...).
Nút cao su được dùng cho nhiều chế phẩm thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền khác nhau, đòi hỏi nút có những tính chất khác nhau. Việc lựa chọn nút cao su cho một chế phẩm thuốc cần đảm bảo để trong quá trình tiếp xúc trực tiếp với thuốc, nút cao su không hấp phụ các thành phần của thuốc, cũng như không nhả tạp chất vào thuốc, với mức có thể làm biến đổi chất lượng thuốc hoặc gây độc hại. Nút cao su phải không cho các chất thấm qua vào thuốc làm ảnh hưởng đến chất lượng thuốc, có độ đàn hồi tốt, đảm bảo nút chặt khít miệng chai, lọ, cho phép kim tiêm xuyên qua mà không rơi ra các mảnh vụn, khi rút kim ra lỗ thủng phải tự bịt kín ngay để không gây ô nhiễm thuốc, nút phải ổn định trong suốt thời gian bảo quản và sử dụng. Nút cao su phải không gây tương kỵ với thuốc chứa bên trong.
Nút cao su có thể được phân thành 2 loại:
Loại I: Đáp ứng được các yêu cầu nghiêm ngặt nhất và được ưa dùng.
Loại II: Là loại có các tính chất cơ học phù hợp cho các trường hợp sử dụng đặc biệt (ví dụ như loại dùng cho nhiều liều, chọc chai nhiều lần), do cấu tạo thành phần hoá học mà nút loại II không thể đáp ứng được các yêu cầu nghiêm ngặt như loại I.

Tính chất
Nút cao su là loại nút đàn hồi, trong mờ hoặc đục mờ, màu phụ thuộc vào thành phần các chất có trong nút. Nút phải đồng nhất và không có các vật lạ ngẫu nhiên rơi vào thuốc như sợi, tiểu phân lạ hay mảnh vụn cao su. Nút cao su phải không tan trong tetrahydrofuran nhưng có thể trương nở.

Độ bền của nút khi đâm kim
Đối với phép thử độ bền của nút khi đâm kim, khả năng tự bịt kín lỗ đâm kim, nút được xử lý như xử lý nút ở phần chuẩn bị dịch chiết, sau đó làm khô nút.
Đối với nút thiết kế đâm qua bằng kim tiêm dưới da, tiến hành thu như sau: Lấy 12 chai đã rửa sạch, sấy khô. Cho vào mỗi chai một thể tích nước bằng dung tích danh định bớt đi 4 ml. Đậy chai bằng nút cần kiểm tra. Đóng nắp nhôm bên ngoài và để yên trong 16 h. Dùng kim tiêm dưới da đã được bôi trơn có mũi kim nhọn vát một góc 12° ± 2°, đường kính ngoài 0,8 mm, dài 40 mm, gắn vào một bơm tiêm sạch. Đâm kim xuyên qua nút chai, bơm vào chai 1 ml nước và hút ra 1 ml không khí. Tiến hành 4 lần trên mỗi nút chai, mỗi lần đâm ở một vị trí khác nhau. Mỗi kim chỉ sử dụng cho một nút. Nếu kim bị cùn phải thay kim mới. Lọc nước ở trong chai qua màng có lỗ lọc khoảng 0,45 µm. Đếm các mảnh cao su có thể nhìn thấy bằng mắt thường đã rơi ra. Tổng số mảnh cao su đếm được ở 12 chai không được quá 5.

Độ bền của nút khi tiệt khuẩn
Cho nước vào chai sạch với thể tích bằng khoảng 2/3 dung tích, đậy bằng nút cần kiểm tra, đóng nắp nhôm bên ngoài. Sau khi hấp ở 121 °C ± 2 °C trong 20 min, nút không được biến dạng hay chảy dính.

Độ kín của nút
Cho nước theo đúng dung tích vào 5 chai. Đậy chai bằng nút cần thử. Đóng nắp nhôm bên ngoài. Hấp ở 121 °C ± 2 °C trong 30 min. Nhúng chìm các chai vào *dung dịch xanh methylen 0,1 % (TT)* trong 1 h ở áp suất 650 mmHg. Khi áp suất trở lại bình thường, dung dịch không được thấm vào bên trong chai.

Khả năng tự bịt kín lỗ đâm kim
Phép thử này chỉ áp dụng với nút cao su dùng cho chế phẩm thuốc tiêm đóng nhiều liều.
Cho nước theo đúng thể tích danh định vào 10 chai. Đậy chai bằng nút cần thử. Đóng nắp nhôm bên ngoài. Dùng kim tiêm có đường kính ngoài 0,8 mm, dài 40 mm, đâm xuyên qua nút, tiến hành 10 lần trên mỗi nút chai, mỗi lần đâm ở một vị trí khác nhau. Mỗi nút dùng một kim tiêm mới. Xếp chai theo chiều thẳng đứng, chìm trong *dung dịch xanh methylen 0,1 % (TT)*. Giảm áp suất bên ngoài tới 27 kPa trong 10 min. Trả lại áp suất khí quyển nhưng vẫn để chai chìm trong đó 30 min. Rửa sạch bên ngoài chai. Không có chai nào có vết dung dịch màu.

Giới hạn sulfid dễ bay hơi
Cho nút (có thể cắt nếu cần) với diện tích bề mặt 20 $cm^2 \pm 2$ cm^2 vào bình nón dung tích 100 ml và thêm 50 ml dung dịch acid citric 2 %. Đặt giấy tẩm chì acetat lên trên miệng bình và giữ giấy bằng cách úp một cốc thuỷ tinh lên miệng bình. Hấp ở 121 °C ± 2 °C trong 30 min, màu đen hiện lên không được đậm hơn màu của mẫu chuẩn (gồm 0,154 mg *natri sulfid (TT)* và 50 ml dung dịch *acid citric (TT)* 2 %), thực hiện giống như mẫu thử trong cùng thời gian.

Các phép thử đối với dịch chiết
Chuẩn bị dịch chiết (mẫu thử):
Lấy một số nút cao su tương ứng với diện tích bề mặt 100 cm^2 cho vào bình thủy tinh, thêm *nước cất* ngập nút, đun sôi 5 min rồi đem rửa lại nút 5 lần bằng *nước cất* nguội. Cho các nút đã rửa sạch vào bình thủy tinh trung tính (thủy tinh loại I) có miệng rộng, thêm 200 ml *nước cất* và cân

bình. Đậy bình bằng một cốc thủy tinh trung tính hoặc giấy nhôm đã rửa sạch. Cho vào nồi hấp và nâng nhiệt độ đến 121 °C ± 2 °C trong thời gian từ 20 min đến 30 min và duy trì ở nhiệt độ này trong 30 min. Để nguội đến nhiệt độ phòng trong khoảng 30 min. Thêm *nước* đến bằng khối lượng ban đầu. Lắc đều và gạn ngay lấy phần dung dịch bên trên (dung dịch A). Lắc dung dịch A trước khi thực hiện mỗi phép thử.

Mẫu trắng:

Cho 200 ml *nước cất* vào một bình thủy tinh trung tính (thủy tinh loại I) và thực hiện các bước tiếp theo trong cùng điều kiện như khi chuẩn bị mẫu thử.

Độ đục của dịch chiết từ nút

Dung dịch A không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (với nút loại I) và hỗn dịch đối chiếu III (với nút loại II) (Phụ lục 9.2).

Màu sắc của dịch chiết từ nút

Dung dịch A không được có màu đậm hơn màu của dung dịch VL_5 (Phụ lục 9.3).

Giới hạn acid - kiềm

Cho 20 ml dung dịch A vào bình nón, thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)*. Dung dịch phải chuyển sang màu xanh khi thêm không quá 0,3 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (CĐ)* hoặc dung dịch phải chuyển sang màu vàng khi thêm không quá 0,8 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (CĐ)*.

Giới hạn kim loại nặng

Không được quá 2 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Lấy 12 ml dung dịch A cho vào ống nghiệm, thêm 2 ml *dung dịch đệm acetat pH 3,5 (TT)*, lắc đều. Thêm 1,2 ml *dung dịch thioacetamid (TT)*. Để yên trong 2 min. Màu tạo thành không được đậm hơn mẫu chuẩn làm trong cùng điều kiện được chuẩn bị bằng cách thay 12 ml dung dịch A bằng 10 ml *dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb (TT)* và 2 ml dung dịch A.

Giới hạn chất khử

Lấy 20 ml dung dịch A (mới được điều chế trong vòng 4 h), thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric 1 M (CĐ)* và 20 ml *dung dịch kali permanganat 0,002 M (CĐ)*. Đun sôi 3 min. Làm nguội. Thêm 1 g *kali iodid (TT)* và chuẩn độ ngay bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,01 M (CĐ)*, chỉ thị hồ tinh bột.

Tiến hành song song với 20 ml mẫu trắng.

Thể tích *dung dịch natri thiosulfat 0,01 M (CĐ)* sử dụng cho mẫu thử so với mẫu trắng không được vượt quá 3 ml (với nút loại I) và 7 ml (với nút loại II).

Giới hạn cắn khô

Làm bay hơi trên cách thủy 50 ml dung dịch A đến khô, sấy cắn ở 100 °C đến 105 °C đến khối lượng không đổi. Lượng cắn khô không được quá 2 mg (với nút loại I) và 4 mg (với nút loại II).

Giới hạn amoni

Kiềm hóa 5 ml dung dịch A bằng *dung dịch natri hydroxyd 2 M (CĐ)*, pha loãng bằng *nước cất* đến 15 ml, thêm 0,3 ml *thuốc thử Nessler (TT)*, để yên 30 s. Màu tạo thành không được đậm hơn mẫu chuẩn. Mẫu chuẩn gồm 10 ml *dung dịch amoni mẫu 1 phần triệu NH_4 (TT)*, một thể tích *dung dịch natri hydroxyd 2 M (TT)* bằng thể tích đã cho vào mẫu thử, thêm *nước* đến 15 ml và 0,3 ml *thuốc thử Nessler (TT)*.

Độ hấp thụ ánh sáng

Lấy dung dịch A (mới được điều chế trong vòng 5 h) lọc qua màng có lỗ lọc 0,45 µm, bỏ đi vài ml dịch lọc đầu. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dịch lọc trong dải bước sóng từ 220 nm đến 360 nm, dùng *nước cất* làm mẫu trắng để hiệu chuẩn. Độ hấp thụ ánh sáng không được vượt quá 0,2 (loại I) và 0,4 (loại II).

Giới hạn kẽm hòa tan

Không được quá 5 µg kẽm trong 1 ml dung dịch A.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4).

Dung dịch thử: Lấy 10 ml dung dịch A cho vào bình định mức 100 ml, thêm *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* đến vạch, lắc đều.

Dãy dung dịch chuẩn: Chuẩn bị dãy dung dịch chuẩn bằng cách dùng *dung dịch kẽm mẫu 10 phần triệu Zn (TT)* pha loãng với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.

Bước sóng: 213,9 nm.

Nguồn sáng: Đèn cathod rỗng kẽm.

Ngọn lửa: Không khí - acetylen.

17.6 BƠM TIÊM VÔ KHUẨN BẰNG CHẤT DẺO SỬ DỤNG MỘT LẦN

Bơm tiêm vô khuẩn bằng chất dẻo sử dụng một lần là dụng cụ y tế sử dụng được ngay để đưa thuốc tiêm vào cơ thể. Loại bơm tiêm này đáp ứng vô khuẩn và không có chất gây sốt, chỉ sử dụng một lần không được tái tiệt khuẩn hoặc dùng lại. Bơm tiêm gồm có một ống bơm tiêm hình trụ và một pít tông, giữa ống bơm tiêm và pít tông có thể có một vòng đàn hồi để làm kín khít, kim tiêm có thể gắn vào ống bơm tiêm và không tháo rời được. Mỗi bơm tiêm được bao gói bảo quản riêng để đảm bảo vô khuẩn.

Ống bơm tiêm phải trong để có thể đọc được dễ dàng lượng thuốc cần dùng và có thể kiểm tra bằng mắt thường bọt khí và các phần tử lạ.

Chất dẻo và nguyên liệu có tính đàn hồi làm ống bơm tiêm và pít tông phải đáp ứng các yêu cầu kỹ thuật thích hợp hoặc các yêu cầu của cơ quan y tế có thẩm quyền. Nguyên liệu thông dụng nhất là polypropylen và polyethylen. Loại bơm tiêm này phải đáp ứng các tiêu chuẩn hiện hành về kích cỡ và tính năng.

Có thể tráng dầu silicon (Phụ lục 17.7) vào mặt trong của ống bơm tiêm để giúp vận hành bơm tiêm được nhẹ nhàng nhưng không được thừa dư làm ảnh hưởng tới chất lượng thuốc tiêm khi sử dụng.

Mực, hồ dán, chất kết dính dùng để đánh dấu trên bơm tiêm hoặc trên đồ bao gói và tại những nơi cần thiết khi lắp ráp và đóng gói bơm tiêm, không được để ngấm qua các thành ống.

Dung dịch S: Pha chế dung dịch S một cách cẩn thận không để bị nhiễm bẩn bởi các tiểu phân lạ. Lấy một số lượng bơm tiêm đủ để tạo 50 ml dung dịch. Cho nước để pha thuốc tiêm vào các bơm tiêm đến dung tích qui định và để ở nhiệt độ 37 °C trong 24 h. Gộp các dung dịch lấy ra từ bơm tiêm vào trong một bình thủy tinh borosilicat thích hợp.

Độ trong và màu sắc dung dịch: Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3 Phương pháp 2) và không được có các tiểu phân rắn lạ.

Giới hạn acid - kiềm: Lấy 20 ml dung dịch S, thêm 0,1 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)*. Dung dịch phải chuyển màu khi thêm không quá 0,3 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (CĐ)* hoặc *dung dịch acid hydrocloric 0,01 M (CĐ)*.

Độ hấp thụ ánh sáng: Độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch S (Phụ lục 4.1) không được quá 0,4 trong khoảng bước sóng từ 220 nm đến 360 nm.

Ethylen oxyd: Nếu nhãn ghi rõ có dùng ethylen oxyd để tiệt khuẩn thì lượng ethylen oxyd không được lớn hơn 10 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp sắc ký khí (Phụ lục 5.2).

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ (1,5 m × 6,4 mm) được nhồi *diatomit silan hóa* và tẩm 30 % (kl/kl) *macrogol 1500*.

Khí mang: Heli dùng cho sắc ký.

Tốc độ dòng: 20 ml/min.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Duy trì nhiệt độ vận hành cột ở 40 °C, buồng tiêm ở 100 °C, detector ở 150 °C.

Kiểm tra đảm bảo không có các pic khác ảnh hưởng lên pic của ethylen oxyd bằng một trong hai cách sau: 1) Tiến hành sắc ký sử dụng bơm tiêm không được tiệt khuẩn hoặc; 2) Tiến hành qui trình sắc ký theo qui định như trên nhưng dùng cột thép không gỉ (3 m × 3,2 mm) được nhồi diatomit silan hóa được tẩm 20 % (kl/kl) *triscyanoethoxypropan (TT)*. Duy trì nhiệt độ cột ở 60 °C.

Dung dịch ethylen oxyd: Tiến hành trong tủ hút. Lấy 50,0 ml *dimethylacetamid (TT)* vào một lọ thủy tinh dung tích 50 ml, nút lọ lại và đóng nút chắc chắn. Cân khối lượng lọ (chính xác đến 0,1 mg). Nạp đầy khí *ethylen oxyd (TT)* vào một bơm tiêm (bằng polyethylen hoặc polypropylen) có dung tích 50 ml. Giữ cho khí tiếp xúc với mặt trong của bơm tiêm khoảng 3 min, rồi đẩy hết khí ra khỏi bơm tiêm và lại nạp đầy 50 ml khí *ethylen oxyd (TT)* vào bơm tiêm. Lắp một kim tiêm (loại tiêm dưới da) vào bơm tiêm và đẩy bớt khí ra khỏi bơm tiêm đến khi thể tích khí trong bơm tiêm còn 25 ml. Tiêm từ từ lượng khí trong bơm tiêm này vào lọ đã chuẩn bị trên. Lắc nhẹ nhàng, tránh không cho kim tiếp xúc với dimethylacetamid trong lọ. Cân lại khối lượng lọ. Khối lượng tăng khoảng 45 mg đến 60 mg. Dùng khối lượng tăng này để tính toán nồng độ chính xác của dung dịch khí ethylen oxyd trong dimethylacetamid (khoảng 1 g/L).

Xây dựng đường chuẩn: Chuẩn bị 7 lọ thủy tinh (cùng loại như đã dùng để chuẩn bị dung dịch thử), trong mỗi lọ đã có sẵn 150 ml *dimethylacetamid (TT)*. Lần lượt cho vào các lọ 0 ml; 0,05 ml; 0,10 ml; 0,20 ml; 0,50 ml; 1,00 ml và 2,00 ml dung dịch ethylen oxyd tương ứng với khoảng 0 µg; 50 µg; 100 µg; 200 µg; 500 µg; 1000 µg và 2000 µg ethylen oxyd. Đậy nút các lọ và đóng nút chắc chắn. Đặt các lọ này vào tủ sấy ở nhiệt độ 70 °C ± 1 °C trong 16 h. Tiêm 1 ml khí nóng của từng lọ vào cột và vẽ đường cong chuẩn từ chiều cao của các pic và khối lượng ethylen oxyd có trong mỗi lọ.

Cách tiến hành: Lấy bơm tiêm ra khỏi đồ bao gói và cân bơm tiêm. Cắt bơm tiêm thành từng mảnh có kích thước cạnh không quá 1 cm và cho vào trong một lọ thủy tinh dung tích 250 ml đến 500 ml đã có sẵn 150 ml *dimethylacetamid (TT)*. Nút lọ bằng một nút thích hợp và đóng nút chắc chắn. Đặt lọ vào tủ sấy ở nhiệt độ 70 °C ± 1 °C trong 16 h. Lấy 1 ml khí nóng từ lọ và tiêm vào cột. Tính khối lượng ethylen oxyd trong lọ dựa vào đường chuẩn và chiều cao của pic thu được.

Dầu silicon

Tính diện tích bề mặt trong (cm^2) của một bơm tiêm theo biểu thức:

$$2\sqrt{v.\pi.h}$$

Trong đó:

v là dung tích qui định của bơm tiêm (cm^3);

h là chiều cao của phần chia vạch khắc (cm).

Lấy một lượng bơm tiêm đủ để có diện tích bề mặt trong khoảng từ 100 cm^2 đến 200 cm^2. Hút vào mỗi bơm tiêm một lượng *methylen clorid (TT)* bằng một nửa dung tích qui định và hút tiếp không khí vào cho tới dung tích qui định. Rửa bề mặt trong tương ứng dung tích qui định với dung môi này bằng cách đảo ngược bơm tiêm 10 lần liên tiếp, dùng ngón tay có bọc màng chất dẻo (trơ với methylen clorid) để bịt kín kim tiêm. Đẩy các dịch chiết trong bơm tiêm vào một đĩa đã cân bì và tiến hành chiết như vậy với các bơm tiêm còn lại. Bốc hơi dịch chiết đến khô trên cách thủy. Sấy khô ở nhiệt độ 100 °C đến 105 °C trong 1 h. Khối lượng cặn không được quá 0,25 mg/cm^2 diện tích bề mặt trong.

Định tính cặn bằng phương pháp quang phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2). Cặn có dải hấp thụ đặc trưng của dầu silicon ở 805 cm^{-1}, 1020 cm^{-1}, 1095 cm^{-1}, 1260 cm^{-1} và 2960 cm^{-1}.

Chất khử

Lấy 20,0 ml dung dịch S, thêm 2 ml *acid sulfuric (TT)* và 20,0 ml *dung dịch kali permanganat 0.002 M (CĐ)*. Đun sôi 3 min. Sau đó làm nguội ngay. Thêm 1 g *kali iodid (TT)*

và chuẩn độ ngay bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,01 M (CD)*, dùng 0,25 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị. Song song làm mẫu trắng với 20,0 ml *nước để pha thuốc tiêm (TT)*. Hiệu số giữa hai thể tích dung dịch chuẩn độ đã tiêu thụ không được lớn hơn 3,0 ml.

Độ trong suốt

Đóng đầy *nước* vào một bơm tiêm (mẫu trắng) và đóng đầy hỗn dịch chuẩn đục gốc (Phụ lục 9.2) đã pha loãng 10 lần vào một bơm tiêm khác. Dùng hỗn dịch chuẩn đục gốc đã để yên ở 20 °C ± 2 °C trong 24 h. Quan sát bằng mắt thường trong ánh sáng khuếch tán trên nền đen. Độ đục của hỗn dịch phải được nhận biết rõ khi so sánh với mẫu trắng.

Thử vô khuẩn (Phụ lục 13.7)

Bơm tiêm qui định vô khuẩn phải đáp ứng phép thử vô khuẩn tiến hành như sau: Sử dụng kỹ thuật vô khuẩn, mở đồ bao gói, tháo rời các bộ phận và đặt mỗi thứ vào một bình chứa thích hợp có chứa sẵn một lượng môi trường cấy thích hợp đủ để ngâm chìm hoàn toàn bộ phận đó.

Bơm tiêm qui định chỉ mặt trong là vô khuẩn phải đáp ứng phép thử vô khuẩn tiến hành như sau: Dùng 50 ml môi trường cấy cho mỗi bơm tiêm để thử. Sử dụng kỹ thuật vô khuẩn, tháo bộ phận bảo vệ kim tiêm ra và ngâm chìm kim tiêm trong môi trường cấy. Rửa xịt bơm tiêm 5 lần bằng cách kéo pít tông tới mức cao nhất có thể được.

Chất gây sốt (Phụ lục 13.4)

Bơm tiêm có dung tích qui định từ 15 ml trở lên phải đáp ứng phép thử chất gây sốt. Dùng ít nhất 3 bơm tiêm để thử. Cho *dung dịch natri clorid 0,9 % (TT)* không có chất gây sốt vào bơm tiêm tới dung tích qui định và giữ ở nhiệt độ 37 °C trong 2 h. Gộp toàn bộ các dung dịch này trong điều kiện vô khuẩn vào một bình chứa không có chất gây sốt và tiến hành thử nghiệm ngay. Dùng dung dịch này để thử chất gây sốt với liều 10 ml/kg cân nặng thỏ.

Ghi nhãn

Nhãn trên bao bì ghi rõ:

Số lô;

Mô tả bơm tiêm;

Bơm tiêm này chỉ được sử dụng một lần.

Nhãn trên bao bì ngoài ghi rõ:

Phương pháp tiệt khuẩn;

Bơm tiêm này vô khuẩn hoặc chỉ mặt trong bơm tiêm là vô khuẩn;

Tên, địa chỉ và logo nhà sản xuất;

Không được sử dụng bơm tiêm này nếu đồ bao gói bị hỏng hoặc bộ phận bảo vệ vô khuẩn không khít.

17.7 SILICON

1. DẦU SILICON DÙNG BÔI TRƠN

Dầu silicon dùng bôi trơn là một poly(dimethylsiloxan) được tạo thành bằng cách thủy phân và đa trùng ngưng của dicloromethylsilan và clorotrimethylsilan. Dầu silicon dùng bôi trơn có nhiều loại khác nhau, mỗi loại có chỉ số độ nhớt qui định đặt sau tên sản phẩm.

Dầu silicon dùng bôi trơn có độ polymer hóa (n = 400 đến 1200) tương đương độ nhớt động học của chúng trong khoảng từ 1000 $mm^2 \cdot s^{-1}$ đến 30000 $mm^2 \cdot s^{-1}$.

Tính chất

Chất lỏng không màu, trong, có độ nhớt khác nhau. Thực tế không tan trong nước và trong methanol, trộn lẫn được với ethyl acetat, methyl ethylceton và toluen, rất khó tan trong ethanol khan.

Định tính

A. Độ nhớt động học ở 25 °C (Xem phép thử Độ nhớt).

B. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của dầu silicon dùng bôi trơn chuẩn. Không tính đến miền phổ từ 850 cm^{-1} đến 750 cm^{-1} vì ở dải phổ này có sự khác biệt nhỏ tùy theo độ polymer hóa.

C. Đốt nóng 0,5 g chế phẩm trong một ống nghiệm trên ngọn lửa nhỏ đến khi bắt đầu có khói trắng xuất hiện. Úp ngược ống nghiệm này lên một ống nghiệm thứ hai có chứa 1 ml dung dịch *muối natri của acid cromotropic (TT)* 0,1 % trong *acid sulphuric (TT)* sao cho khói tiếp xúc với dung dịch. Lắc ống nghiệm thứ hai trong khoảng 10 s và đun nóng trên cách thủy trong 5 min. Dung dịch có màu tím.

D. Trong một chén platin, chuẩn bị như phép thử tro sulfat (Phụ lục 9.9); dùng 50 mg chế phẩm. Cắn thu được là bột màu trắng và cho phản ứng của silicat (Phụ lục 8.1).

Độ acid

Lấy 2,0 g chế phẩm, thêm 25 ml hỗn hợp đồng thể tích *ethanol (TT)* và *ether (TT)* đã được trung hòa trước với 0,2 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)* làm chỉ thị và lắc. Lượng *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (CD)* dùng để chuyển màu của dung dịch thành màu xanh lam không được quá 0,15 ml.

Độ nhớt

Xác định độ nhớt lực học ở 25 °C (Phụ lục 6.3). Tính độ nhớt động học, lấy tỷ trọng tương đối là 0,97. Độ nhớt động học không được nhỏ hơn 95 % và không lớn hơn 105 % độ nhớt qui định trên nhãn.

Dầu khoáng

Lấy 2 ml chế phẩm vào ống nghiệm và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở 365 nm. Huỳnh quang của chế phẩm không được đậm hơn huỳnh quang của 2 ml dung dịch có chứa 0,1 phần triệu quinin sulfat trong *dung dịch acid sulfuric 0,005 M* được quan sát trong cùng điều kiện.

Hợp phần phenylat

Chỉ số khúc xạ (Phụ lục 6.1) không được lớn hơn 1,410.

Kim loại nặng

Không được quá 5 phần triệu.

Hỗn hợp dung môi: *Dung dịch amoniac 2 M - dung dịch hydroxylamin hydroclorid 0,2 %* (1 : 9)

Dung dịch thử: Trộn 1,0 g chế phẩm với *dicloromethan (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi. Thêm 1,0 ml *dung dịch dithizon 0,002 % trong dicloromethan (TT)* mới pha, 0,5 ml *nước* và 0,5 ml hỗn hợp dung môi. Lắc kỹ ngay trong 1 min.

Dung dịch đối chiếu: Song song chuẩn bị dung dịch đối chiếu như sau: Lấy 20 ml *dicloromethan (TT)* thêm 1 ml *dung dịch dithizon 0,002 % trong dicloromethan (TT)* mới pha, 0,5 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* và 0,5 ml hỗn hợp dung môi. Lắc kỹ ngay trong 1 min.

Màu đỏ của dung dịch thử không được đậm hơn màu đỏ của dung dịch đối chiếu.

Chất bay hơi

Không được quá 2,0 %.

Lấy 2,00 g chế phẩm vào một đĩa có đường kính 60 mm và sâu 10 mm, sấy ở nhiệt độ 150 °C trong 24 h.

Nhãn

Theo qui định hiện hành và cần có thông tin sau:

Độ nhớt qui định bằng con số đặt ở sau tên của sản phẩm.

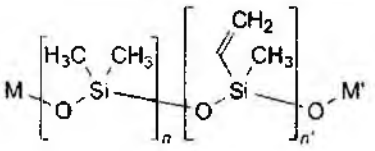
Chế phẩm được sử dụng làm chất bôi trơn.

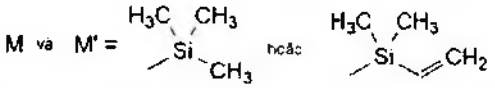
2. CAO SU SILICON DÙNG LÀM NÚT CHAI VÀ ỐNG DẪN

Cao su silicon đáp ứng các yêu cầu dưới đây thì phù hợp để sản xuất nút chai và ống dẫn.

Cao su silicon được điều chế bằng phản ứng liên kết chéo một polysiloxan mạch thẳng cấu tạo chủ yếu từ những nhóm dimethylsiloxy cùng với một số ít nhóm methylvinylsiloxy; các đầu mạch được khóa bằng các nhóm trimethylsiloxy hoặc dimethylvinylsiloxy.

Công thức tổng quát của polysiloxan như sau:



M và M' = 

Phản ứng liên kết chéo được thực hiện ở nhiệt độ nóng với:

- 2,4-diclorobenzoyl peroxyd đối với các sản phẩm được chế tạo bằng phương pháp đùn;
- 2,4-diclorobenzoyl peroxyd, hoặc dicumyl peroxyd, hoặc *OO*-(1,1-dimethylethyl) *O*-isopropyl monoperoxycarbonat, hoặc 2,5-bis[(1,1-dimethylethyl)dioxy]-2,5-dimethylhexan cho các sản phẩm được chế tạo bằng phương pháp đúc; hoặc,
- bằng phản ứng hydrosilyl hóa polysiloxan có nhóm SiH với xúc tác platin.

Trong tất cả các trường hợp, chất phụ gia thích hợp được dùng là silic dioxyd và đôi khi là một lượng nhỏ phụ gia cơ silic (α,ω-dihydroxypolydimethylsiloxan).

Tính chất

Vật liệu trong suốt hay trong mờ, thực tế không tan trong các dung môi hữu cơ; một số dung môi như cyclohexan, hexan và dicloromethan làm cho vật liệu phồng nở nhưng hồi phục được.

Định tính

A. Phổ hồng ngoại thu được bằng phương pháp phản xạ nhiều lần đối với chất rắn (Phụ lục 4.2) của chế phẩm phải phù hợp với phổ hồng ngoại đối chiếu của của silicon đàn hồi chuẩn.

B. Đun nóng 1,0 g chế phẩm trong ống nghiệm trên ngọn lửa nhỏ cho đến khi khói trắng xuất hiện. Lật ngược ống nghiệm lên trên một ống nghiệm khác chứa 1 ml dung dịch *muối natri của acid cromotropic (TT)* 0,1 % trong *acid sulfuric (TT)* sao cho khói trắng tiếp xúc với thuốc thử. Lắc ống nghiệm chứa thuốc thử trong 10 s rồi đun nóng trên cách thủy trong 5 min. Dung dịch trong ống nghiệm chuyển thành màu tím.

C. 50 mg cắn còn lại sau khi nung phải cho phản ứng của silicat (Phụ lục 8.1).

Chuẩn bị dung dịch S

Nếu cần thiết, đem cắt nguyên liệu cần kiểm tra thành những mảnh nhỏ có kích thước mỗi cạnh không quá 1 cm.

Lấy 25 g mẫu thử cho vào một bình thủy tinh borosilicat cổ mài. Thêm 500 ml *nước* rồi đun sôi hồi lưu trong 5 h. Để nguội, gạn lấy dung dịch.

Độ trong của dung dịch

Dung dịch S phải trong (Phụ lục 9.2).

Giới hạn acid - kiềm

Lấy 100 ml dung dịch S, thêm 0,15 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)*. Khi thêm không quá 2,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CD)*, dung dịch phải chuyển sang màu xanh lam. Lấy 100 ml dung dịch S khác, thêm 0,2 ml *dung dịch da cam methyl (TT)*. Khi thêm không quá 1,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CD)*, dung dịch phải bắt đầu chuyển từ vàng sang da cam.

Tỷ trọng tương đối

Từ 1,05 đến 1,25. Xác định bằng phương pháp dùng lọ đo tỷ trọng pycnomet (Phụ lục 6.5), như sau: Cân chính xác lọ pycnomet rỗng (M_1), đổ đầy *ethanol (TT)* vào lọ pycnomet, giữ ở 20 °C rồi cân lại (M_4). Đổ ethanol đi, làm khô pycnomet. Cho chế phẩm đã được cắt nhỏ vào pycnomet đến khoảng 1/3 - 1/2 thể tích. Đậy nút rồi cân lại (M_2). Thêm *ethanol (TT)* đến vạch, lau khô mặt ngoài lọ rồi lại cân (M_3). Chú ý không được để bọt khí còn lại giữa lớp ethanol và mẫu thử.

Tính kết quả theo công thức sau:

$$d_{20}^{20} = \frac{(M_2 - M_1) \cdot 0,79}{(M_4 + M_2) - (M_1 + M_3)}$$

Chất khử

Thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)* và 20 ml *dung dịch kali permanganat 0,002 M (CĐ)* vào 20 ml dung dịch S. Để yên 15 min. Thêm 1 g *kali iodid (TT)* rồi chuẩn độ ngay bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)*, dùng 0,25 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị. Tiến hành làm một mẫu trắng với 20 ml *nước cất* thay cho 20 ml dung dịch S. Chênh lệch thể tích dung dịch chuẩn độ của mẫu thử và mẫu trắng không được quá 1,0 ml.

Chất tan trong hexan

Không được quá 3 %.

Bốc hơi trên cách thủy 25 ml dung dịch thu được trong phép thử Hợp phần phenylat trong một cốc thủy tinh rồi sấy khô ở 100 °C đến 105 °C trong 1 h. Khối lượng cắn không được quá 15 mg.

Hợp phần phenylat

Cho 2,0 g mẫu thử vào một bình thủy tinh borosilicat cổ mài, thêm 100 ml *hexan (TT)*. Đun sôi hồi lưu trong 4 h. Làm nguội, lọc nhanh dung dịch qua phễu thủy tinh xốp, số độ xốp 16 (Phụ lục 3.4). Gộp dịch lọc vào một bình kín, đậy nút để tránh bay hơi. Đo độ hấp thụ tử ngoại của dung dịch ở dải sóng từ 250 nm đến 340 nm (Phụ lục 4.1); độ hấp thụ đo được không được quá 0,4.

Dầu khoáng

Lấy 2 g mẫu thử cho vào một bình nón dung tích 100 ml có chứa 30 ml hỗn hợp 5 thể tích *amoniac (TT)* và 95 thể tích *pyridin (TT)*. Để yên 2 h, thỉnh thoảng lắc. Gạn lấy dung dịch pyridin đem quan sát dưới ánh sáng tử ngoại có bước sóng 365 nm. Huỳnh quang của dung dịch thu được không được đậm hơn huỳnh quang của dung dịch mẫu đối chiếu có chứa 1 phần triệu *quinin sulfat (TT)* trong *dung dịch acid sulfuric 0,01 N (CĐ)* khi quan sát trong cùng điều kiện.

Chất dễ bay hơi

Không được quá 0,5 % đối với cao su silicon được điều chế với peroxyd.

Không được quá 2,0 % đối với cao su silicon khi điều chế có dùng platin làm xúc tác.

Cân 10,0 g chế phẩm đã được làm khô trước trong bình hút ẩm có *calci clorid khan (TT)* trong 48 h. Sấy ở 200 °C trong 4 h, để nguội trong bình hút ẩm rồi cân lại.

Cao su Silicon được điều chế với peroxyd phải đáp ứng các phép thử bổ sung như sau:

Peroxyd tồn dư

Không được quá 0,08 % tính theo diclorobenzoyl peroxyd. Lấy 5 g mẫu thử cho vào một bình thủy tinh borosilicat, thêm 150 ml *diclorometan (TT)* rồi đậy nút bình. Lắc bình bằng máy lắc cơ học trong 16 h. Lọc nhanh và thu dịch lọc vào một bình cổ mài. Đuổi không khí trong bình bằng khí *nitrogen không có oxygen (TT)*, thêm 1 ml *dung dịch natri iodid 20 % (TT)* trong *acid acetic khan (TT)*, đậy nút bình, lắc mạnh rồi để yên trong 30 min tránh ánh sáng. Thêm 50 ml *nước cất* rồi chuẩn độ ngay bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)*, dùng 0,25 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị. Tiến hành song song một mẫu trắng. Chênh lệch thể tích dung dịch chuẩn độ của mẫu thử và mẫu trắng không được lớn hơn 2,0 ml.

Cao su silicon được điều chế với xúc tác platin cần phải đáp ứng phép thử bổ sung sau:

Platin

Không được quá 30 phần triệu.

Nung 1,0 g mẫu thử trong một chén nung bằng thạch anh, nâng nhiệt độ từ từ cho đến khi thu được cắn màu trắng. Chuyển cắn vào một chén nung graphit. Thêm vào chén nung thạch anh 10 ml hỗn hợp mới pha của 1 thể tích *acid nitric (TT)* và 3 thể tích *acid hydrocloric (TT)*, đun nóng trên cách thủy trong 1 đến 2 min rồi chuyển hỗn hợp vào chén nung graphit. Thêm 5 mg *kali clorid (TT)* và 5 ml *acid hydrofluoric (TT)* rồi làm bay hơi đến khô trên cách thủy. Lại thêm 5 ml *acid hydrofluoric (TT)* rồi làm bay hơi đến khô; lặp lại quá trình này thêm 2 lần nữa. Hòa tan cắn trong 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* có làm ấm trên cách thủy. Để nguội, thêm dung dịch thu được vào 1 ml dung dịch *thiếc (II) clorid (TT)* 25 % trong *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)*, rửa chén nung graphit bằng vài mililít *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* rồi pha loãng đến đủ 10,0 ml bằng dung dịch acid trên. Chuẩn bị đồng thời một dung dịch so sánh như sau: Thêm 1,0 ml *dung dịch platin mẫu 30 phần triệu Pt (TT)* vào 1 ml dung dịch *thiếc (II) clorid (TT)* 25 % trong *dung dịch acid hydrocloric 1 M (TT)* rồi pha loãng đến đủ 10,0 ml bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 M*. Màu của dung dịch thử không được đậm hơn màu của dung dịch so sánh.

Ghi nhãn

Theo qui định hiện hành và cần ghi rõ phương pháp điều chế dùng peroxyd hay dùng xúc tác platin.

17.8 ĐỒ ĐỰNG MÁU VÀ CÁC CHẾ PHẨM MÁU

1. Đồ đựng vô khuẩn bằng chất dẻo dùng cho máu và các chế phẩm máu

Đồ đựng bằng chất dẻo dùng để lấy, bảo quản, xử lý và sử dụng máu và các chế phẩm máu được sản xuất từ một hoặc nhiều polymer, có thể cho thêm các chất phụ gia. Công thức và quy trình sản xuất của đồ đựng phải được đăng ký với cơ quan quản lý theo quy định hiện hành và phù hợp với thỏa thuận quốc tế.

Khi thành phần nguyên liệu để sản xuất những bộ phận khác nhau của đồ đựng đáp ứng các tiêu chuẩn thích hợp, kiểm tra chất lượng các bộ phận này theo phương pháp đã nêu của những tiêu chuẩn đó (xem tiêu chuẩn Nguyên liệu để sản xuất đồ đựng máu và các chế phẩm máu).

Những đồ đựng sản xuất theo công thức đã được phê duyệt từ nguyên liệu khác với loại mô tả trong dược điển có thể

được sử dụng khi đạt các yêu cầu mô tả trong chuyên mục *Đồ đựng vô khuẩn bằng chất dẻo dùng cho máu và các chế phẩm máu* này.

Trong điều kiện sử dụng bình thường, đồ đựng không được phóng thích ra các monomer hoặc các chất khác, với những lượng được cho là có hại cũng như không gây ra bất kỳ một thay đổi bất thường nào cho máu.

Đồ đựng có thể chứa các dung dịch chống đông, tùy thuộc vào mục đích sử dụng và được cung cấp dưới dạng vô khuẩn.

Mỗi đồ đựng có thể được lắp kèm với những chi tiết thích hợp tiện cho mục đích sử dụng. Đồ đựng có thể ở dạng đơn chiếc hoặc nối với một hoặc nhiều ống dẫn tới đồ đựng thứ cấp để tách các thành phần máu trong một hệ thống kín.

Hình dạng, kích thước của đồ đựng sao cho có thể nối được với thiết bị cấp máu. Những phần bao bọc kim lấy máu và phần phụ để bảo vệ phải đảm bảo duy trì độ vô khuẩn. Những phần này có thể đóng mở dễ dàng, nhưng phải không dễ bị làm giả.

Dung tích của đồ đựng có thể theo quy định của từng quốc gia và phù hợp với dung dịch chống đông. Dung tích quy định là thể tích máu sẽ lấy vào đồ đựng. Đồ đựng phải có hình dáng sao cho có thể ly tâm được khi đã đựng đầy máu.

Đồ đựng có gắn dây hay vòng thích hợp để treo hoặc cố định phải không được ảnh hưởng tới việc lấy máu, bảo quản, xử lý hoặc sử dụng.

Đồ đựng được đóng trong các bao bì bảo vệ, hàn kín.

Tính chất

Đồ đựng phải đủ trong để kiểm tra được bằng mắt thường chất đông bên trong trước và sau khi lấy máu, có đủ độ mềm dẻo và độ bền tối thiểu trong khi lấy và hút máu ra ở điều kiện sử dụng bình thường. Đồ đựng không được có nhiều hơn 5 ml không khí.

Các phép thử

Dung dịch S1: Cho vào đồ đựng 100 ml *dung dịch natri clorid đẳng trương (TT)*, vô khuẩn không có chất gây sốt. Đậy kín và hấp ở 110 °C trong 30 min.

Nếu đồ đựng cần kiểm tra có chứa dung dịch chống đông, phải bỏ chất chống đông, tráng với 250 ml *nước để pha thuốc tiêm* ở (20 ± 1) °C, bỏ nước tráng.

Dung dịch S2: Cho vào đồ đựng một thể tích *nước để pha thuốc tiêm* tương ứng với dung tích quy định của dung dịch chống đông. Đậy kín và hấp ở 110 °C trong 30 min. Để nguội, thêm lượng *nước để pha thuốc tiêm* tới dung tích quy định.

Nếu đồ đựng cần kiểm tra có chứa dung dịch chống đông, phải bỏ chất chống đông và tráng như đã hướng dẫn ở trên

Độ bền khi ly tâm: Cho một thể tích *nước* đã được acid hóa bằng 1 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* vào đồ đựng tới vừa đủ dung tích quy định. Bọc đồ đựng bằng giấy thấm có tâm *dung dịch xanh bromophenol (TT_1)* pha loãng 1/5 hoặc một chỉ thị thích hợp khác đã làm khô. Ly tâm với lực 5000 g trong 10 min. Không được nhận thấy vết rò rỉ trên giấy chỉ thị và đồ đựng không bị méo mó, biến dạng.

Độ bền khi kéo giãn: Cho một thể tích *nước* đã được acid hóa bằng 1 ml *dung dịch acid hydrocloric loãng (TT)* vào đồ đựng tới vừa đủ dung tích quy định. Treo đồ đựng bằng móc treo ở đầu đối diện với ống lấy máu và kéo dọc theo trục của ống này một lực trực tiếp 20 N (2,05 kgf). Giữ lực kéo trong 5 s. Lặp lại phép thử với lực đã dùng theo từng thao tác như khi lấy máu vào và cho máu ra. Đồ đựng không được hư hỏng hoặc nứt, vỡ.

Độ kín: Đặt đồ đựng đã dùng để thử độ bền khi kéo giãn vào giữa hai tấm kính hoặc kim loại được bọc bằng giấy thấm có tâm *dung dịch xanh bromophenol (TT_1)* pha loãng 1/5 hoặc một chỉ thị thích hợp đã làm khô. Ép lên mặt kính hoặc mặt kim loại một lực tăng dần sao cho áp suất trong của nó đạt tới 67 kPa (chênh lệch giữa lực nén và áp suất khí quyển) trong vòng 1 min. Duy trì lực nén trong 10 min. Không được có dấu hiệu rò rỉ trên giấy chỉ thị hoặc ở bất kỳ điểm nào trên các mép dán kín, khớp nối...

Độ thấm hơi nước:

Với đồ đựng có chứa dung dịch chống đông, cho vào đồ đựng *dung dịch natri clorid đẳng trương (TT)* bằng thể tích máu theo quy định.

Với đồ đựng rỗng, cho vào đồ đựng cùng hỗn hợp dung dịch chống đông và *dung dịch natri clorid đẳng trương (TT)*. Đóng kín đồ đựng, cân và để ở điều kiện nhiệt độ khoảng (5 ± 1) °C, độ ẩm (50 ± 5) % trong 21 ngày. Cân lại, khối lượng giảm đi sau thời gian theo dõi không được lớn hơn 1 %.

Khả năng tháo rỗng khi ép, nén: Cho vào đồ đựng một lượng nước có nhiệt độ (5 ± 1) °C đến thể tích quy định. Lắp bộ dây truyền không có kim luồn tĩnh mạch vào một trong các đầu nối. Bóp hoặc nén đồ đựng sao cho áp suất trong (chênh lệch giữa lực nén và áp suất khí quyển) duy trì ở mức 40 kPa để nước chảy ra hết. Lượng nước trong đồ đựng phải tháo hết ra trong vòng 2 min.

Tốc độ dòng đầy: Dùng một ống lấy máu có gắn kim để nối đồ đựng với bình chứa dung dịch thích hợp có độ nhớt tương đương với độ nhớt của máu, ví dụ như dung dịch đường trắng 335 g/l ở 37 °C. Duy trì áp suất trong của bình chứa ở 9,3 kPa, đáy của bình chứa và phần trên của đồ đựng phải ở cùng độ cao. Trong 8 min, thể tích chất lỏng chảy vào đồ đựng không được ít hơn dung tích quy định của đồ đựng.

Đồ bền khi thay đổi nhiệt độ: Đặt đồ đựng trong một hộp thích hợp có nhiệt độ ban đầu 20 °C đến 23 °C. Làm lạnh nhanh đến âm 80 °C (-80 °C) và duy trì ở nhiệt độ này trong 24 h. Tăng nhiệt độ lên 50 °C và giữ trong 12 h. Để nguội đến nhiệt độ phòng. Đồ đựng phải đạt yêu cầu các phép thử về độ bền khi ly tâm, kéo giãn, độ kín, độ thấm hơi nước, khả năng tháo rỗng khi nén và tốc độ dòng đầy như đã mô tả ở trên.

Độ trong: Cho vào đồ đựng đến dung tích quy định hỗn dịch đục gốc (Phụ lục 9.2) đã pha loãng để có độ hấp thụ khoảng từ 0,37 đến 0,43 ở bước sóng 640 nm (hệ số pha

loãng khoảng 1 : 16). Độ đục của hỗn dịch phải nhận thấy rõ khi nhìn qua túi, so với một đồ đựng tương tự có đóng *nước*.

Các chất có thể chiết ra: Thực hiện phép thử bằng những phương pháp được thiết kế sao cho gần giống nhất với điều kiện tiếp xúc của đồ dựng và các chất chứa bên trong khi sử dụng.
Các phép thử phải được thực hiện trên dịch đã cho tiếp xúc như mô tả, tùy theo bản chất của nguyên liệu chế tạo có những yêu cầu đặc biệt cho mỗi loại đồ đựng.

Ảnh hưởng gây tan huyết trong các hệ đệm
Dung dịch đệm gốc: Hòa tan 90,0 g *natri clorid (TT)*, 34,6 g *dinatri hydrophosphat (TT)* và 2,43 g *natri dihydrophosphat (TT)* trong *nước* và thêm *nước* đến đủ 1000 ml.
Dung dịch đệm A_0: Thêm 10,0 ml *nước* vào 30,0 ml dung dịch đệm gốc.
Dung dịch đệm B_0: Thêm 20,0 ml *nước* vào 30,0 ml dung dịch đệm gốc.
Dung dịch đệm C_0: Thêm 85,0 ml *nước* vào 15,0 ml dung dịch đệm gốc.
Lấy 3 ống ly tâm, cho vào mỗi ống 1,4 ml dung dịch S2. Thêm 0,1 ml dung dịch đệm A_0 vào ống 1; 0,1 ml dung dịch đệm B_0 vào ống 2 và 0,1 ml dung dịch đệm C_0 vào ống 3. Thêm 0,02 ml máu người mới lấy đã chống đông bằng heparin vào mỗi ống, trộn đều và ủ trên cách thủy ở (30 ± 1) °C trong 40 min. Sử dụng máu đã lấy trước đó không quá 3 h hoặc máu đã lấy vào dung dịch chống đông dextrose-citrat-phosphat (CPD) trong vòng 24 h trước.
Chuẩn bị 3 dung dịch có chứa theo thứ tự như sau:
3,0 ml dung dịch đệm A_0 và 12,0 ml *nước* (dung dịch A_1).
4,0 ml dung dịch đệm B_0 và 11,0 ml *nước* (dung dịch B_1).
4,75 ml dung dịch đệm B_0 và 10,25 ml *nước* (dung dịch C_1).
Thêm lần lượt 1,5 ml dung dịch A_1; 1,5 ml dung dịch B_1 và 1,5 ml dung dịch C_1 vào các ống I, II và III. Song song, chuẩn bị 3 ống nghiệm khác làm đối chứng, thay dung dịch S2 bằng *nước*. Ly tâm đồng thời các ống mẫu thử và các ống đối chứng ở chính xác 2500 g trong 5 min trên máy ly tâm ngang. Sau khi ly tâm, đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của chất lỏng ở bước sóng 540 nm, dùng dung dịch đệm gốc làm mẫu trắng. Tính giá trị tan huyết bằng phần trăm theo biểu thức:

$$\frac{A_{exp}}{A_{100}} \times 100$$

Trong đó:
A_{100} là độ hấp thụ của ống III.
A_{exp} là độ hấp thụ của ống I, hoặc ống II hoặc ống đối chứng tương ứng.
Giá trị tan huyết của ống I không lớn hơn 10 % và giá trị tan huyết của ống 2 khác không quá 10 % so với ống chứng tương ứng.

Thử vô khuẩn: Đồ đựng phải đạt phép thử vô khuẩn (Phụ lục 13.7). Trong điều kiện vô khuẩn, cho vào đồ dựng 100 ml *dung dịch natri clorid đẳng trương (TT)* vô khuẩn, lắc đồ dựng để đảm bảo bề mặt bên trong được tiếp xúc hoàn toàn với dung dịch. Lọc dung dịch qua màng lọc và đặt màng lọc vào môi trường nuôi cấy thích hợp như mô tả trong chuyên luận *Thử vô khuẩn*.

Chất gây sốt: Dung dịch S1 phải đạt phép thử chất gây sốt (Phụ lục 13.4). Tiêm liều 10 ml dung dịch cho mỗi kg khối lượng thỏ thí nghiệm.

Độc tính bất thường: Dung dịch S1 phải đạt phép thử độc tính bất thường (Phụ lục 13.5). Tiêm liều 0,5 ml dung dịch cho mỗi chuột nhắt trắng.

Đóng gói và ghi nhãn

Đóng gói: Đóng gói đồ đựng trong các bao bì bảo vệ.
Khi lấy đồ đựng ra khỏi bao bì, đồ đựng phải không được bị rách, thủng và không bị nhiễm khuẩn. Bao bì bảo vệ phải đủ tốt để chịu được điều kiện vận chuyển bình thường. Bao bì bảo vệ phải được hàn kín theo cách nào đó để đảm bảo có thể nhìn thấy và phát hiện được dấu vết có thể mối hàn bị hở hoặc bao bì đã được mở ra rồi.

Ghi nhãn: Nhãn đồ đựng phải đáp ứng những quy định hiện hành và những thỏa thuận quốc tế. Trên nhãn cần có các thông tin sau đây:
Tên và địa chỉ nhà sản xuất.
Số lô để có thể tra cứu được nguồn gốc của đồ đựng và nguyên liệu chất dẻo đã dùng để chế tạo.
Một phần nhãn được dành để ghi:
Thông tin về nhóm máu, số tham chiếu và tất cả thông tin cần thiết khác theo những thỏa thuận quốc tế hoặc quy định của từng quốc gia và một khoảng trống để ghi thêm thông tin khi cần thiết (nhãn phụ).
Nhãn trên bao bì bảo vệ hoặc nhãn trên đồ đựng có thể nhìn thấy qua bao bì cần ghi rõ:
Hạn sử dụng.
Khi lấy ra khỏi bao bì bảo vệ, đồ đựng phải được sử dụng trong vòng 10 ngày.
Mực in hoặc những chất khác dùng để in hoặc viết lên nhãn phải không được thấm vào nguyên liệu chất dẻo của đồ đựng và phải giữ được nét chữ rõ ràng, dễ đọc cho đến thời gian sử dụng.

2. Đồ đựng vô khuẩn bằng polyvinyl clorid (PVC) hóa dẻo dùng cho máu và chế phẩm máu

Trừ khi có quy định nào khác như đã mô tả trong phần *Đồ đựng vô khuẩn bằng chất dẻo dùng cho máu và các chế phẩm máu*, bản chất và công thức của chất liệu chế tạo đồ đựng phải đạt các yêu cầu quy định trong chuyên mục *PVC hóa dẻo dùng chế tạo đồ đựng máu và các chế phẩm máu* này.

Các phép thử

Đồ đựng phải đạt các phép thử mô tả với *Đồ đựng vô khuẩn bằng chất dẻo dùng cho máu và các chế phẩm máu* và các phép thử sau đây để phát hiện các chất có thể chiết ra.

Dung dịch đối chiếu: Làm nóng *nước để pha thuốc tiêm* trong một bình thủy tinh borosilicat bằng cách hấp ở 110 °C trong 30 min.

Các chất oxy hóa: Ngay sau khi chuẩn bị dung dịch S2 (mục *Đồ đựng vô khuẩn bằng chất dẻo dùng cho máu và các chế phẩm máu)* chuyển vào bình thủy tinh borosilicat một lượng dung dịch S2 tương ứng 8 % dung tích quy định của đồ đựng. Đồng thời, làm mẫu trắng trong một bình khác với cùng thể tích dung dịch đối chiếu mới pha. Thêm 20,0 ml *dung dịch kali permanganat 0,01 N (CĐ)* và 1 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)* vào mỗi bình. Để yên, tránh ánh sáng trong 15 min. Thêm 0,1 g *kali iodid (TT)* vào mỗi bình. Để yên và tránh ánh sáng trong 5 min, chuẩn độ ngay bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)*, dùng 0,25 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị. Chênh lệch thể tích giữa hai lần chuẩn độ mẫu thử và mẫu trắng không quá 2,0 ml.

Giới hạn acid - kiềm: Cho 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* vào một thể tích dung dịch S2 tương ứng với 4 % dung tích quy định của đồ đựng. Dung dịch phải không có màu. Thêm 0,4 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N* (CĐ), dung dịch phải chuyển màu hồng. Thêm 0,8 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N* (CĐ) và 0,1 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)*. Dung dịch phải có màu đỏ hoặc đỏ cam.

Clorid: Không được quá 0,4 phần triệu (Phụ lục 9.4.5). Dùng 15 ml dung dịch S2 để thử.
Pha hỗn hợp 1,2 ml *dung dịch mẫu clorid 5 phần triệu Cl (TT)* và 13,8 ml *nước* làm dung dịch đối chiếu.

Amoni: Không được quá 2 phần triệu (Phụ lục 9.4.1). Pha 5 ml dung dịch S2 thành 14 ml với *nước* để thử.

Cắn sau khi bay hơi: Bốc hơi đến khô 100 ml dung dịch S2 trong một cốc thủy tinh borosilicat có dung tích thích hợp, đã làm nóng trước đến 105 °C. Trong cùng điều kiện, bốc hơi đến khô 100 ml dung dịch đối chiếu (mẫu trắng). Sấy ở 100 °C - 105 °C đến khối lượng không đổi. Khối lượng cắn của dung dịch S2 so với mẫu trắng không được lớn hơn 3 mg.

Độ hấp thụ ánh sáng: Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch S2 ở khoảng bước sóng từ 230 nm đến 360 nm, dùng dung dịch đối chiếu làm mẫu trắng. Độ hấp thụ ở khoảng bước sóng từ 230 nm đến 250 nm không được lớn hơn 0,30. Độ hấp thụ ở khoảng bước sóng từ 251 nm đến 360 nm không được lớn hơn 0,10.

Di(2-ethylhexyl) phthalat có thể chiết được: Pha loãng *ethanol (TT)* với *nước* để có tỷ trọng tương đối từ 0,9389 đến 0,9395 (Phụ lục 6.5, phương pháp pycnomet) làm dung môi chiết.
Dung dịch gốc: Hòa tan 0,100 g *di(2-ethylhexyl) phthalat* trong dung môi chiết, thêm dung môi chiết đến đủ 100,0 ml.
Dãy dung dịch chuẩn: Pha dãy dung dịch chuẩn bằng cách lấy lần lượt các thể tích dung dịch gốc: 20,0 ml; 10,0 ml; 5,0 ml; 2,0 ml và 1,0 ml. Thêm dung môi chiết đến đủ thể tích 100,0 ml.
Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của các dung dịch chuẩn ở cực đại 272 nm, dùng dung môi chiết làm mẫu trắng. Vẽ đường chuẩn tương quan độ hấp thụ - nồng độ di(2-ethylhexyl) phthalat.

Quy trình chiết: Sử dụng một ống cấp gắn kim hoặc ống nối thích hợp, cho vào đồ đựng một lượng dung môi chiết bằng một nửa dung tích quy định, dùng dung môi chiết đã được làm nóng đến 37 °C trong bình nút kín trước khi dùng. Đuổi hết không khí ra khỏi đồ đựng và hàn kín ống cấp. Nhấn chìm đồ đựng đã có dung môi theo chiều thẳng đứng vào một nồi cách thủy ở (37 ± 1) °C trong khoảng (60 ± 1) min, không lắc. Lấy đồ đựng ra khỏi nồi cách thủy, dốc ngược nhẹ nhàng 10 lần rồi đổ dung dịch bên trong ra một bình thủy tinh. Đo ngay độ hấp thụ ở cực đại 272 nm, dùng dung môi chiết làm mẫu trắng.
Xác định nồng độ di(2-ethylhexyl) phthalat (mg/100 ml) chiết được theo đường chuẩn. Giới hạn cho phép với các đồ đựng như sau:
Đồ đựng dung tích từ trên 300 ml đến 500 ml: Không quá 10 mg/100 ml dịch chiết.
Đồ đựng dung tích từ trên 150 ml đến 300 ml: Không quá 13 mg/100 ml dịch chiết.
Đồ đựng dung tích đến 150 ml: Không quá 14 mg/100 ml dịch chiết.

Đóng gói và ghi nhãn
Quy định về đóng gói và ghi nhãn tương tự như với *Đồ đựng vô khuẩn bằng chất dẻo dùng cho máu và các chế phẩm máu.*

3. Đồ đựng vô khuẩn bằng polyvinyl clorid (PVC) hóa dẻo đựng máu có dung dịch chống đông
Đồ đựng vô khuẩn bằng chất dẻo có chứa chất chống đông được dùng để lấy máu, bảo quản và sử dụng máu. Các dung dịch chống đông chứa trong đồ đựng phải đạt tiêu chuẩn chất lượng đăng ký và được thẩm định bởi cơ quan chức năng. Trước khi đựng máu, đồ đựng phải đạt các chỉ tiêu quy định cho *Đồ đựng vô khuẩn bằng PVC hóa dẻo dùng cho máu và chế phẩm máu.*
Trừ khi có những quy định khác với mô tả trong phần *Đồ đựng vô khuẩn bằng chất dẻo dùng cho máu và các chế phẩm máu,* bản chất và công thức của nguyên liệu dùng chế tạo đồ đựng phải đạt những yêu cầu mô tả đối với *PVC hóa dẻo dùng chế tạo đồ đựng máu và các chế phẩm máu.*

Các phép thử
Đồ đựng phải đạt các phép thử mô tả trong phần *Đồ đựng vô khuẩn bằng chất dẻo dùng cho máu và các chế phẩm máu* và các phép thử sau đây để xác định thể tích dung dịch chống đông và phát hiện các chất có thể chiết ra được.

Thể tích dung dịch chống đông: Cho toàn bộ dung dịch chống đông trong đồ đựng vào ống đong. Thể tích đo được không được khác quá ±10 % thể tích đã ghi trên nhãn.

Độ hấp thụ ánh sáng: Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch chống đông trong đồ đựng trong khoảng bước sóng từ 250 nm đến 350 nm, dùng dung dịch chống đông có cùng công thức nhưng chưa tiếp xúc với đồ đựng chất dẻo làm mẫu trắng. Độ hấp thụ của dung dịch chống đông ở bước sóng 280 nm không được lớn hơn 0,5.

Di(2-ethylhexyl) phthalat: Lấy dung dịch chống đông cẩn thận bằng một ống thích hợp. Dùng một phễu vừa với ống. Đổ *nước* đầy đồ đựng, để tiếp xúc trong 1 min, nhẹ nhàng tháo hết nước ra khỏi đồ đựng. Tráng rửa lại.
Đồ dựng đã tráng rửa phải đạt phép thử di(2-ethylhexyl) - phthalat có thể chiết được đã mô tả trong *Đồ dựng vô khuẩn bằng PVC hóa dẻo dùng cho máu và chế phẩm máu.*

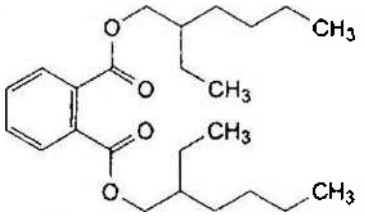
Đóng gói và ghi nhãn
Quy định về đóng gói và ghi nhãn tương tự như với Đồ *dựng vô khuẩn bằng chất dẻo dùng cho máu và các chế phẩm máu.*

17.9 NGUYÊN LIỆU LÀM ĐỒ ĐỰNG

17.9.1 CÁC PHỤ GIA CHO CHẤT DẺO

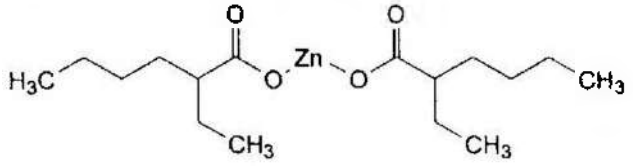
Danh sách dưới đây liệt kê những chất có thể được dùng làm phụ gia cho các sản phẩm polymer. Tương ứng với mỗi chất là tên, công thức cấu tạo, công thức hóa học, danh pháp hóa học, trong đó tên viết đậm là tên thông dụng nhất.

PG01 $C_{24}H_{38}O_4$



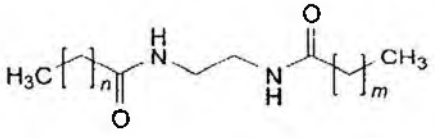
(2RS)-2-Ethylhexyl benzen-1,2-dicarboxylat.
Di(2-ethylhexyl) phthalat.
Bis(2-ethylhexyl) ester của acid 1,2-benzendicarboxylic.

PG02 $C_{16}H_{30}O_4Zn$



Kẽm *(2RS)*-2-ethylhexanoat.
Kẽm octanoat.
Muối kẽm (2:1) của acid 2-ethylhexanoic.
Kẽm 2-ethylcaproat.

PG03



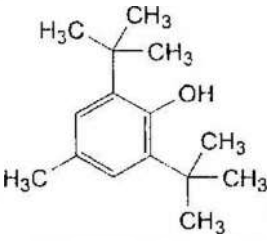
N,N'-Ethylendialcanamid (trong đó n và m = 14 hoặc 16).
***N,N'*-Diacylethylendiamin** (ở đây acyl chủ yếu muốn nói đến palmitoyl và stearoyl).

PG04
Dầu đậu nành epoxy hóa.

PG05
Dầu hạt lanh epoxy hóa.

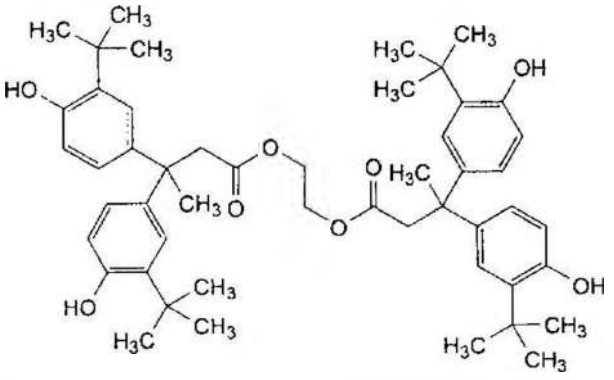
PG06
Xanh ultramarin.

PG07 $C_{15}H_{24}O$



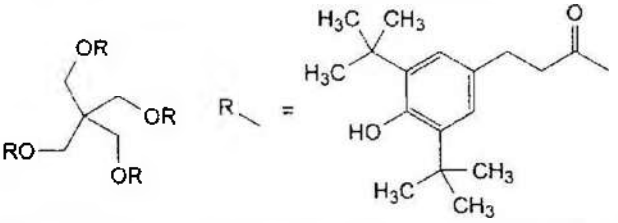
2,6-Bis(1,1-dimethylethyl)-4-methylphenol.
Butylhydroxytoluen.
2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol.

PG08 $C_{58}H_{58}O_8$



Ethylenbis[3,3-bis[3-(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxyphenyl] butanoat].
3,3-Bis[3-(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxyphenyl]-, 1,2-ethandiyl ester của acid butanoic.
Ethylenbis[3,3-bis(3-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)butyrat].

PG09 $C_{73}H_{108}O_{12}$

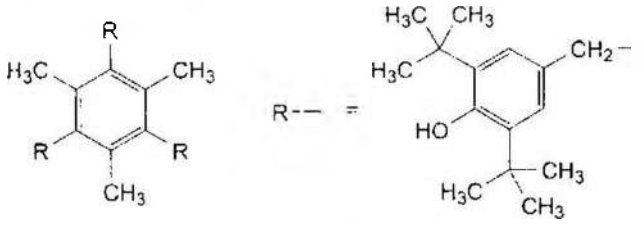


Methantetryltetramethyl tetrakis[3-[3,5-bis(1,1-dimethyl-ethyl)-4-hydroxyphenyl]propanoat].
Pentaerythrityltetrakis[3-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxy-phenyl) propionat].
2,2-Bis[[[3-[3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxyphenyl]-propanoyl]oxy]methyl]propan-1,3-diyl 3-[3,5-bis-(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxyphenyl]propanoat.

3,5-Bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxy-2,2-bis(hydroxymethyl)-propan-1,3-diol ester (4:1) của acid benzenpropanoic.

2,2-Bis(hydroxymethyl)propan-1,3-diol tetrakis[3-(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxyphenyl)propionat].

PG10 $C_{54}H_{78}O_3$



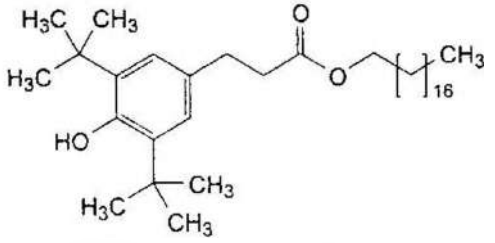
4,4',4''-[(2,4,6-Trimethylbenzen-1,3,5-triyl) tris(methylen)]-tris[2,6-bis(1,1-dimethylethyl)phenol].

2,2',2",6,6',6"-Hexa-*tert*-butyl-4,4',4"-[(2,4,6-trimethyl- 1,3,5-benzentriyl)trismethylen]triphenol.

1,3,5-Tris[3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxybenzyl]-2,4,6-trimethylbenzen.

Phenol,4,4',4''-[(2,4,6-trimethyl-1,3,5-benzentriyl)tris-(methylen)]tris[2,6-bis(1,1-dimethylethyl)-.

PG11 $C_{35}H_{62}O_3$

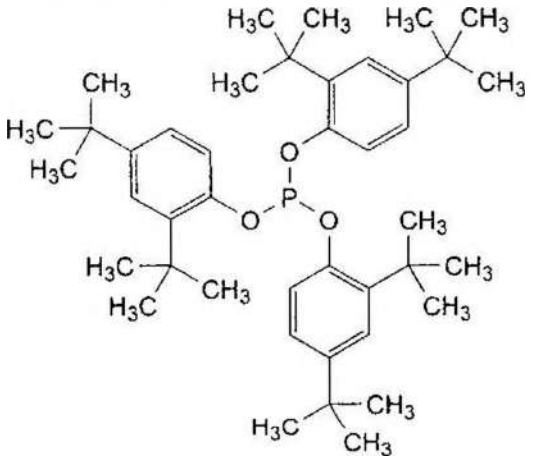


Octadecyl 3-[3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxyphenyl]-propanoat.

Octadecyl 3-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)propionat.

3-[3,5-Bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxyphenyl]-, octadecyl ester của acid propanoic.

PG12 $C_{42}H_{63}O_3P$



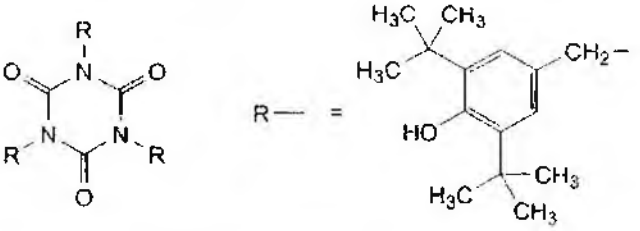
Tris[2,4-bis(1,1-dimethylethyl)phenyl] phosphit.

Tris(2,4-di-*tert*-butylphenyl) phosphit.

Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)-, phosphit (3:1).

2,4-Bis(1,1-dimethylethyl)phenyl phosphit.

PG13 $C_{48}H_{69}N_3O_6$

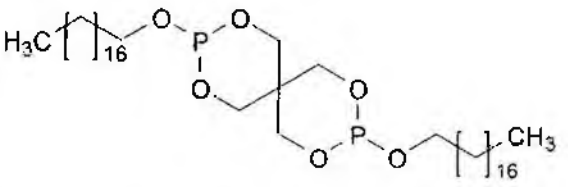


1,3,5-Tris[3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxybenzyl]-1,3,5-triazin-2,4,6*(1H,3H,5H)*-trion.

1,3,5-Tris(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxybenzyl)-s-triazin-2,4,6*(1H,3H,5H)*-trion.

1,3,5-Triazin-2,4,6*(1H,3H,5H)*-trion,1,3,5-tris[[3,5-bis-(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxyphenyl]methyl]-.

PG14 $C_{41}H_{82}O_6P_2$

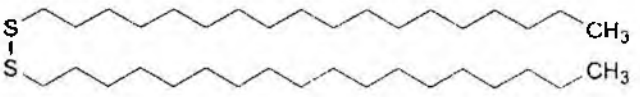


3,9-Bis(octadecyloxy)-2,4,8,10-tetraoxa-3,9-diphosphaspiro[5.5]undecan.

2,2'-Bis(octadecyloxy)-5,5'-spirobi[1,3,2-dioxaphosphinan].

2,4,8,10-Tetraoxa-3,9-diphosphaspiro[5.5]undecan, 3,9-bis(octadecyloxy)-.

PG15 $C_{36}H_{74}S_2$

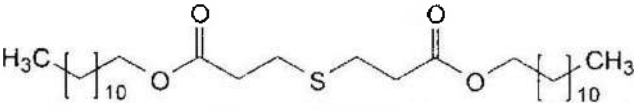


1,1'-Disulphandiyldioctadecan.

Dioctadecyl disulphid.

Octadecan, 1,1'-dithio-.

PG16 $C_{30}H_{58}O_4S$



Didodecyl 3,3'-sulphandiyldipropanoat.

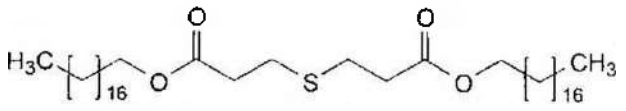
Didodecyl 3,3'-thiodipropionat.

Didodecyl 3,3'-sulfandiyldipropanoat.

3,3'-Thiobis-, dodecyl diester của acid propanoic.

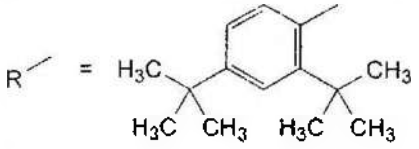
Lauryl thiodipropionat.

PG17 $C_{72}H_{82}O_4S$

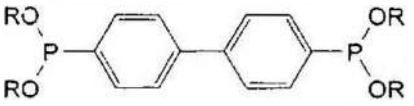


Dioctadecyl 3,3'-sulphandiyldipropanoat.
Dioctadecyl 3,3'-thiodipropionat.
3,3'-Thiobis-, octadecyl diester cua acid propanoic.
Stearyl thiodipropionat.

PG18
Hỗn hợp của 7 sản phẩm phản ứng của di-*tert*-butyl phosphonit với diphosphor triclorid, những sản phẩm phản ứng với biphenyl và 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)phenol:

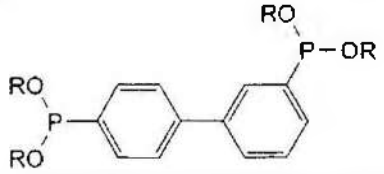


Hợp phần I



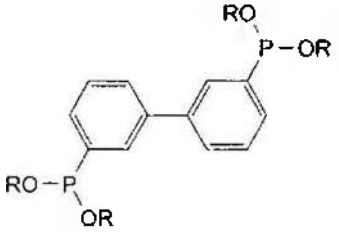
2,4-Bis(1,1-dimethylethyl)phenyl biphenyl-4,4'-diyldiphosphonit.

Hợp phần II



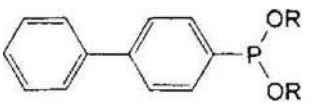
2,4-Bis(1,1-dimethylethyl)phenylbiphenyl-3,4'-diyldiphosphonit.

Hợp phần III



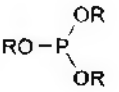
2,4-Bis(1,1-dimethylethyl)phenyl biphenyl-3,3'-diyldiphosphonit.

Hợp phần IV



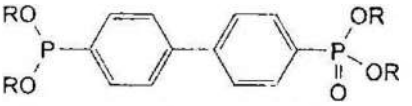
2,4-Bis(1,1-dimethylethyl)phenyl biphenyl-4-ylphosphonit.

Hợp phần V



2,4-Bis(1,1-dimethylethyl)phenyl phosphit.

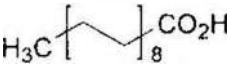
Hợp phần VI



2,4-Bis(1,1-dimethylethyl)phenyl 4'-[bis[2,4-bis(1,1-dimethylethyl)phenoxy]phosphanyl]biphenyl-4-yl-phosphonat.

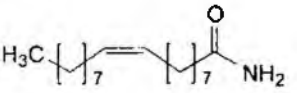
Hợp phần VII
R-OH: 2,4-Bis(1,1-dimethylethyl)phenol.

PG19 $C_{18}H_{36}O_2$



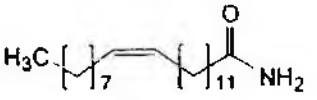
Acid stearic.
Acid octadecanoic.

PG20 $C_{18}H_{35}NO$



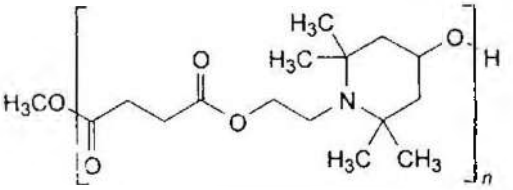
(*Z*)-Octadec-9-enamid.
Oleamid
9-Octadecenamid, (*Z*)-.
9-*cis*-Oleamid.

PG21 $C_{22}H_{43}NO$



(*Z*)-Docos-13-enamid.
Erucamid.
13-Docosenamid, (*Z*)-.
13-*cis*-Docosenamid.

PG22



Copolymer của dimethyl butandioat và 1-(2-hydroxyethyl)-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-4-ol.
Copolymer của dimethyl succinat và (4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl) ethanol.

17.9.2 NGUYÊN LIỆU ĐỂ SẢN XUẤT ĐỒ ĐỰNG MÁU VÀ CHẾ PHẨM MÁU

Đồ đựng bằng chất dẻo dùng để lấy, bảo quản, xử lý và sử dụng máu và các chế phẩm máu có thể được chế tạo từ một hoặc nhiều polymer, có thể cho thêm phụ gia.

Trong điều kiện sử dụng thông thường, nguyên liệu hoặc đồ đựng làm từ các nguyên liệu này không được phóng thích ra các monomer hoặc các chất với một lượng có thể gây hại cho cơ thể, hoặc làm biến đổi máu cũng như các thành phần máu.

1. Polyvinyl clorid (PVC) hóa dẻo dùng chế tạo đồ đựng máu và các chế phẩm máu

Nguyên liệu thuộc loại polyvinyl clorid hóa dẻo có chứa không ít hơn 55 % polyvinyl clorid và các chất phụ gia, ngoài ra còn có các polymer phân tử lượng cao thu được khi polymer hóa vinyl clorid.

Nguyên liệu PVC hóa dẻo dùng chế tạo đồ đựng máu và các chế phẩm máu được quy định rõ về bản chất và tỷ lệ các chất đã dùng trong chế tạo.

Chế tạo

Nguyên liệu thuộc loại PVC hóa dẻo được chế tạo bằng phương pháp polymer hóa, đảm bảo dư lượng vinyl clorid phải ít hơn 1 phần triệu. Phương pháp sản xuất phải được thẩm định, sản phẩm phải đạt các phép thử sau đây.

Vinyl clorid: Không được quá 1 phần triệu. Phương pháp sắc ký khí pha hơi (head-space), dùng *ether (TT)* làm chuẩn nội (Phụ lục 5.2).

Dung dịch chuẩn nội: Sử dụng microsyring, tiêm 10 µl *ether (TT)* vào 20,0 ml *dimethylacetamid (TT),* chú ý để ngập đầu kim vào trong dung môi. Ngay trước khi dùng, pha loãng dung dịch 1000 lần bằng *dimethylacetamid (TT).*

Dung dịch thử: Cho 1,000 g nguyên liệu cần kiểm tra vào lọ dung tích 50 ml, thêm 10,0 ml dung dịch chuẩn nội. Đậy kín và kẹp nắp lọ chắc chắn. Lắc, tránh để chất lỏng tiếp xúc với nút. Đặt lọ vào trong cách thủy ở (60 ± 1) °C trong 2 h.

Dung dịch gốc vinyl clorid: Chuẩn bị trong tủ hốt. Cho 50 ml *dimethylacetamid (TT)* vào lọ dung tích 50 ml. Đậy kín và kẹp nắp lọ chắc chắn, cân với độ chính xác tới 0,1 mg. Dùng bơm tiêm polyethylen hoặc polypropylen dung tích 50 ml, hút khí *vinyl clorid* vào bơm tiêm, để cho khí tiếp xúc trong khoảng 3 min, đẩy khí ra khỏi bơm tiêm và hút lấy 50 ml khí *vinyl clorid.* Lắp kim vào bơm tiêm, đẩy piston để giảm thể tích, giữ lại 25 ml khí trong bơm. Tiêm chậm 25 ml khí *vinyl clorid* còn lại vào lọ, lắc nhẹ và tránh để chất lỏng tiếp xúc với kim. Cân lại lọ, khối lượng tăng lên khoảng 60 mg (1 µl dung dịch thu được có chứa khoảng 1,2 µg vinyl clorid). Để yên trong 2 h. Bảo quản dung dịch gốc này trong tủ lạnh.

Dung dịch vinyl clorid chuẩn: Thêm 3 thể tích *dimethylacetamid (TT)* vào 1 thể tích dung dịch gốc vinyl clorid.

Dung dịch đối chiếu: Lấy 6 lọ dung tích 50 ml, thêm vào mỗi lọ 10,0 ml dung dịch chuẩn nội. Đậy kín và kẹp nắp lọ chắc chắn. Tiêm lần lượt 1 µl, 2 µl, 3 µl, 5 µl và 10 µl dung dịch vinyl clorid chuẩn vào 5 lọ. Sáu dung dịch thu được có chứa, lần lượt là 0 µg, khoảng 0,3 µg; 0,6 µg; 0,9 µg; 1,5 µg và 3 µg *vinyl clorid.* Lắc, tránh để chất lỏng tiếp xúc với nút. Đặt lọ vào trong cách thủy ở (60 ± 1) °C trong 2 h.

Điều kiện sắc ký:

Cột thép không gỉ dài 3 m, đường kính trong 3 mm được nhồi diatomit silan hóa dùng cho sắc ký khí đã tẩm *dimethylstearylamid 5 % (kl/kl)* và *macrogol 400 5 % (kl/kl).*

Khí mang: Nitrogen dùng cho sắc ký, tốc độ 30 ml/min.

Detector ion hóa ngọn lửa.

Nhiệt độ cột: 45 °C, buồng tiêm: 100 °C và detector 150 °C.

Thể tích tiêm: 1 ml mẫu đã hóa hơi (head-space) của mỗi lọ.

Tính hàm lượng vinyl clorid.

Các chất phụ gia

Một số chất phụ gia được thêm vào polymer để nguyên liệu có đặc tính cơ, hóa lý phù hợp với mục đích sử dụng. Giới hạn chất phụ gia được phép tối đa có trong mỗi sản phẩm như sau:

Không được quá 40 % di(2-ethylhexyl) phthalat (phụ gia chất dẻo 01).

Không được quá 1 % kẽm octanoat (kẽm 2-ethylhexanoat, phụ gia chất dẻo 02).

Không được quá 1 % calci stearat hoặc kẽm stearat hoặc 1 % hỗn hợp của 2 chất này.

Không được quá 1 % *N,N'*-diacylethylendiamin (phụ gia chất dẻo 03).

Không được quá 10 % của một trong các loại dầu epoxy hóa dưới đây hoặc 10 % hỗn hợp 2 dầu này:

– dầu đậu nành epoxy hóa (phụ gia chất dẻo 04), có hàm lượng oxy oxiran (tỷ lệ oxy trong liên kết epoxy) từ 6 % đến 8 %, và chỉ số iod không lớn hơn 6.

– dầu hạt lanh epoxy hóa (phụ gia chất dẻo 05), có hàm lượng oxy oxiran không lớn hơn 10 % và chỉ số iod không lớn hơn 7.

Không được thêm phụ gia chống oxy hóa vào polymer. Có thể phát hiện được trong polymer những lượng rất nhỏ chất chống oxy hóa đã cho vào vinyl clorid monomer.

Chỉ có chất màu ultramarin blue được phép thêm vào polymer.

Nhà cung cấp phải chứng minh được thành phần của mẫu thử phù hợp cho từng lô sản phẩm.

Tính chất

Nguyên liệu dưới dạng bột, hạt không màu hoặc vàng nhạt, hoặc đã được chế tạo thành các đồ đựng hay các phiến dày mỏng khác nhau, trong hoặc mờ, có mùi nhẹ. Khi đốt có khói đen, dày đặc.

Định tính

Nếu cần, có thể cắt mẫu nguyên liệu cần kiểm tra thành các mảnh có kích thước mỗi cạnh không lớn hơn 1 cm.

Thêm 200 ml *ether không có peroxyd (TT)* vào 2,0 g nguyên liệu cần kiểm tra và chiết nóng với sinh hàn hồi lưu trong 8 h. Lọc để tách riêng cặn B và dung dịch A.

Bốc hơi dung dịch A đến khô dưới áp suất giảm trong cách thủy ở 30 °C. Hòa tan cắn trong 10 ml *toluen* (dung dịch A1). Hòa tan cắn B trong 60 ml *ethylen clorid (TT)*, làm nóng trên cách thủy với sinh hàn hồi lưu. Lọc. Vừa thêm vừa lắc mạnh từng giọt dung dịch thu được vào 600 ml *heptan (TT)* đã đun nóng đến gần sôi. Lọc nóng để tách khối đông đặc B1 và dung dịch hữu cơ. Để nguội, tách tủa B2 tạo thành và lọc qua phễu thủy tinh xốp có đường kính lỗ xốp từ 10 - 16 µm đã cân bì trước.

A. Hòa tan khối đông đặc B1 trong 30 ml *tetrahydrofuran (TT)*, vừa lắc vừa thêm dần dần 40 ml *ethanol (TT)*. Lọc để tách tủa B3, làm khô trong chân không với *diphosphor pentoxyd (TT)* ở nhiệt độ không quá 50 °C. Hòa tan vài miligam tủa B3 trong 1 ml *tetrahydrofuran (TT)*, cho vài giọt dung dịch thu được lên phiến natri clorid, bốc hơi tới khô trong tủ sấy từ 100 °C đến 105 °C. Đo phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2), phổ hấp thụ hồng ngoại thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của nguyên liệu polyvinyl clorid chuẩn.

B. Đo phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của cắn C thu được trong phép thử phụ gia chất dẻo 01, 04 và 05, phổ hấp thụ hồng ngoại thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của phụ gia chất dẻo 01 chuẩn.

Các phép thử

Nếu cần, có thể cắt mẫu nguyên liệu cần kiểm tra thành các mảnh có kích thước mỗi cạnh không lớn hơn 1 cm.

Dung dịch S1: Cho 5,0 g nguyên liệu cần kiểm tra vào một bình đốt. Thêm 30 ml *acid sulfuric (TT)* và đun nóng đến khi tạo thành khối sền sệt màu đen. Để nguội và thêm từ từ 10 ml *dung dịch hydrogen peroxyd đậm đặc*. Đun nóng nhẹ. Để nguội và thêm 1 ml *dung dịch hydrogen peroxyd đậm đặc;* bốc hơi và thêm tiếp dung dịch hydrogen peroxyd, làm liên tục như vậy cho đến khi thu được chất lỏng không màu. Bốc hơi để giảm thể tích còn khoảng 10 ml. Để nguội và pha loãng với *nước* đến 50 ml.

Dung dịch S2: Cho 25 g nguyên liệu cần kiểm tra vào một bình thủy tinh borosilicat. Thêm 500 ml *nước để pha thuốc tiêm* và đậy bình bằng 1 cốc thủy tinh borosilicat. Làm nóng bằng cách hấp ở (121 ± 2) °C trong 20 min. Để nguội và gạn lấy dung dịch. Thêm *nước* đến vừa đủ 500 ml.

Độ trong và màu sắc của dung dịch S2: Dung dịch S2 phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm: Thêm 0,15 ml *dung dịch xanh bromothymol* (TT_1) vào 100 ml dung dịch S2. Dung dịch phải chuyển thành màu xanh lam khi thêm không quá 1,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)*. Thêm 0,2 ml *dung dịch methyl da cam (TT)* vào 100 ml dung dịch S2. Dung dịch phải chuyển từ màu vàng thành màu cam khi thêm không quá 1,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*.

Độ hấp thụ: Bốc hơi 100,0 ml dung dịch S2 tới khô. Hòa tan cắn trong 5,0 ml *hexan (TT)*. Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch ở bước sóng từ 250 nm đến 310 nm không được lớn hơn 0,25.

Các chất khử: Tiến hành phép thử với dung dịch S2 trong vòng 4 h sau khi chuẩn bị. Thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)* và 20,0 ml *dung dịch kali permanganat 0,01 N (CĐ)* vào 20 ml dung dịch S2. Đun sôi hồi lưu trong 3 min và làm nguội nhanh. Thêm 1 g *kali iodid (TT)* và chuẩn độ ngay với *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)*, dùng 0,25 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị. Tiến hành chuẩn độ mẫu trắng, dùng 20 ml *nước để pha thuốc tiêm*. Chênh lệch thể tích giữa hai lần chuẩn độ mẫu trắng và mẫu thử không quá 2,0 ml.

Các amin thơm bậc 1: Không được quá 20 phần triệu. Thêm 6 ml *nước* và 4 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* vào 2,5 ml dung dịch A1 thu được khi định tính. Lắc mạnh và bỏ lớp trên. Thêm 0,4 ml *dung dịch natri nitrit 1 % (TT)* mới pha vào lớp nước. Trộn và để yên trong 1 min. Thêm 0,8 ml *dung dịch amoni sulphamat* 2,5 %, để yên trong 1 min và thêm 2 ml *dung dịch N-(1-naphthyl) ethylendiamin dihydroclorid 0,5 % (TT)*. Sau 30 min, màu của dung dịch tạo thành không được đậm hơn màu của dung dịch chuẩn chuẩn bị tương tự, nhưng thay lớp nước bằng hỗn hợp 1 ml *dung dịch naphthylamin 0,001 % (TT)* pha trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, 5 ml *nước* và 4 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.

Phụ gia chất dẻo 01, 04 và 05: Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.3).

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}, tráng dày 1 mm.

Các dung dịch đối chiếu: Chuẩn bị các dung dịch có chứa 0,1 mg/ml chuẩn phụ gia chất dẻo 01, 04 và 05 trong *toluen (TT)*.

Cách tiến hành: Chấm lên bản mỏng 0,5 ml dung dịch A1 thu được từ phép thử định tính thành một dải kích thước 30 mm × 3 mm.

Chấm lên bản mỏng 5 µl mỗi dung dịch đối chiếu. Triển khai với pha động là *toluen (TT)* đến 15 cm. Để khô bản mỏng. Kiểm tra dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm và đánh dấu vùng tương ứng với phụ gia chất dẻo 01 (R_f khoảng 0,4). Cạo lấy phần silica gel của vùng tương ứng và lắc với 40 ml *ether (TT)* trong 1 min. Lọc, tráng 2 lần, mỗi lần với 10 ml *ether (TT)*, gộp dịch tráng vào dịch lọc và bốc hơi tới khô. Lượng cắn C thu được không được quá 40 mg. Cho bản mỏng tiếp xúc với hơi iod trong 5 min. Kiểm tra sắc ký đồ và đánh dấu vùng tương ứng với phụ gia chất dẻo 04 và 05 (R_f = 0). Cạo lấy phần silica gel của vùng tương ứng. Tương tự lấy một phần silica gel vùng ngoài làm mẫu trắng. Lắc riêng hai mẫu này với 40 ml *methanol (TT)* trong 15 min. Lọc, tráng 2 lần, mỗi lần với 10 ml *methanol (TT)*, gộp dịch tráng vào dịch lọc và bốc hơi tới khô. Chênh lệch khối lượng của 2 cắn không được quá 10 mg.

Phụ gia chất dẻo 03: Rửa tủa B2 thu được trong phép thử định tính có chứa trên phễu lọc xốp với *ethanol (TT)*. Làm khô trên *phosphor pentoxyd (TT)* tới khối lượng không đổi. Khối lượng tủa không được quá 20 mg.

Đo phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của tủa thu được ở trên, phổ hấp thụ hồng ngoại thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của phụ gia chất dẻo 03 chuẩn.

Bari

Không được quá 5 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử trong plasma argon (Phụ lục 4.4).

Dung dịch thử: Nung 1,0 g chất cần kiểm tra trong chén nung bằng silica. Hòa cắn bằng 10 ml *acid hydrocloric (TT)* và bốc hơi tới khô trên cách thủy. Thêm vào cắn 20 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*

Dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch bari mẫu 50 phần triệu Ba (TT)* trong *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* để được dung dịch có chứa 0,25 phần triệu bari.

Đo phổ tại bước sóng phát xạ của bari là 455,40 nm, phổ nền được xác định ở bước sóng 455,30 nm.

Sử dụng dung dịch acid hydrocloric 0,1 M và acid hydrocloric không có bari.

Cadmi

Không được quá 0,6 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Bốc hơi 10 ml dung dịch S1 tới khô. Hòa cắn bằng 5 ml *dung dịch acid hydrocloric 1 % (TT),* lọc và thêm acid vào dịch lọc đến đủ 10,0 ml.

Dãy dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch cadmi mẫu 1000 phần triệu Cd (TT)* bằng *dung dịch acid hydrocloric 1 % (TT).*

Đo phổ hấp thụ ở bước sóng 228,8 nm, dùng đèn cathod rỗng của cadmi làm nguồn phát xạ và ngọn lửa khí acetylen để nguyên tử hóa mẫu.

Sử dụng dung dịch acid hydrocloric 1 % không có cadmi.

Calci

Không được quá 0,07 %.

Xác định bằng phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử trong plasma argon (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Dùng dung dịch thử đã chuẩn bị để xác định bari.

Dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch calci mẫu 400 phần triệu Ca (TT) với dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* để được dung dịch có chứa 50 phần triệu calci.

Đo phổ tại bước sóng phát xạ của calci là 315,89 nm, phổ nền được xác định ở bước sóng 315,60 nm.

Sử dụng dung dịch acid hydrocloric 0,1 M không có calci.

Thiếc

Không được quá 20 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử trong plasma argon (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Pha loãng 10 lần dung dịch S1 với *nước* ngay trước khi dùng.

Dung dịch chuẩn: Lấy 2 ml *dung dịch thiếc mẫu 5 phần triệu Sn (TT)* cho vào bình định mức 50 ml có chứa 5 ml *dung dịch acid sulfuric 20 % (TT),* thêm *nước* đến đủ 50 ml, pha ngay trước khi dùng.

Đo phổ tại bước sóng phát xạ của thiếc là 189,99 nm, phổ nền được xác định ở bước sóng 190,10 nm.

Sử dụng dung dịch acid sulfuric 20 % không có thiếc.

Kẽm

Không được quá 0,2 %.

Xác định bằng phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Pha loãng 100 lần dung dịch S1 với *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*

Dãy dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch kẽm mẫu 100 phần triệu Zn (TT)* bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*

Đo độ hấp thụ ở bước sóng 213,9 nm, dùng đèn cathod rỗng của kẽm làm nguồn phát xạ và đèn khí acetylen để nguyên tử hóa mẫu.

Sử dụng dung dịch acid hydrocloric 0,1 M không có kẽm.

Kim loại nặng

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

Thêm 0,5 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* vào 10 ml dung dịch S1, sau đó cho thêm *dung dịch natri hydroxyd 40 % (TT)* cho đến khi có màu hồng nhạt. Thêm *nước* đến đủ 25 ml. Lấy 12 ml dung dịch thử theo phương pháp 1. Dùng *dung dịch chì mẫu 2 phần triệu Pb (TT)* để pha dung dịch đối chiếu.

Các chất chiết được bằng nước

Không được quá 0,3 %.

Bốc hơi 50 ml dung dịch S2 đến khô trên cách thủy và sấy khô ở 100 °C đến 105 °C đến khối lượng không đổi. Dùng mẫu trắng là 50 ml *nước để pha thuốc tiêm.* Khối lượng cắn so với mẫu trắng không được lớn hơn 7,5 mg.

Định lượng

Lấy 50,0 mg mẫu thử, tiến hành đốt trong oxygen (Phụ lục 10.19). Thêm vào bình chứa sản phẩm đốt cháy 20 ml *dung dịch natri hydroxyd 1 M (TT).* Thêm vào dung dịch thu được 2,5 ml *acid nitric (TT),* 10,0 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ),* 5 ml *dung dịch sắt (III) amoni sulfat 10 % (TT)* và 1 ml *dibutyl phtalat (TT).* Chuẩn độ với *dung dịch amoni sulfocyanid 0,05 N (CĐ)* cho tới khi thu được màu vàng đỏ. Song song tiến hành mẫu trắng.

1 ml *dung dịch bạc nitrat 0,1 N (CĐ)* tương đương với 6,25 mg polyvinyl clorid.

Với các đồ đựng vô khuẩn, kiểm tra thêm các phép thử sau:

Dung dịch S3: Nếu đồ đựng cần kiểm tra có chứa dung dịch chống đông, bỏ chất chống đông và rửa với 250 ml *nước để pha thuốc tiêm* ở (20 ± 1) °C và bỏ nước rửa trước khi chuẩn bị dung dịch S3. Cho vào đồ đựng một thể tích *nước để pha thuốc tiêm* tương ứng với thể tích dung dịch. Đậy nút và làm nóng trong nồi hấp ở 110 °C trong 30 min. Sau khi để nguội, cho *nước để pha thuốc tiêm* vào đồ đựng đến thể tích quy định và lắc đều.

Dung dịch đối chiếu: Làm nóng *nước để pha thuốc tiêm* trong một bình thủy tinh borosilicat trong nồi hấp ở 110 °C trong 30 min.

Các chất khử

Tiến hành phép thử với dung dịch S3 ngay sau khi pha. Cho một thể tích bằng 8 % dung tích quy định của đồ đựng vào một bình thủy tinh borosilicat. Tiến hành đồng thời mẫu trắng dùng cùng thể tích dung dịch đối chiếu mới pha cho vào một bình khác. Thêm 20,0 ml *dung dịch kali permanganat 0,01 N (CĐ)* và 1 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)* vào mỗi bình. Để yên và tránh ánh sáng trong 15 min. Thêm 0,1 g *kali iodid (TT)* vào mỗi bình, để yên và tránh ánh sáng trong 5 min, sau đó chuẩn độ ngay với *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)*, dùng 0,25 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị. Chênh lệch thể tích giữa hai lần chuẩn độ mẫu trắng và mẫu thử không được quá 2,0 ml.

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 0,1 ml *dung dịch phenolphtalein (TT)* vào một thể tích dung dịch S3 tương ứng với 4 % dung tích quy định của đồ đựng. Dung dịch phải không có màu. Thêm 0,4 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)*, dung dịch phải chuyển thành màu hồng. Thêm 0,8 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)* và 0,1 ml *dung dịch đỏ methyl (TT)*, dung dịch chuyển sang màu đỏ hoặc đỏ - cam.

Clorid

Không được quá 0,4 phần triệu (Phụ lục 9.4.5).

Lấy 15 ml dung dịch S3 làm dung dịch thử. Dùng hỗn hợp 1,2 ml *dung dịch clorid mẫu 5 phần triệu Cl (TT)* và 13,8 ml *nước* làm dung dịch mẫu đối chiếu.

Amoni

Không được quá 2 phần triệu (Phụ lục 9.4.1, phương pháp A). Pha loãng 5 ml dung dịch S3 với *nước* để được 14 ml dùng làm dung dịch thử.

Chất chiết được bằng nước

Bốc hơi 100 ml dung dịch S3 đến khô trên cách thủy. Sấy khô cắn ở 100 °C đến 105 °C tới khối lượng không đổi. Tiến hành song song với mẫu trắng, dùng 100 ml dung dịch đối chiếu. Khối lượng cắn của dung dịch S3 không được lớn hơn 3 mg so với mẫu trắng.

Độ hấp thụ ánh sáng

Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) dung dịch S3 trong khoảng bước sóng từ 230 nm đến 360 nm, dùng dung dịch đối chiếu làm mẫu trắng. Độ hấp thụ không được lớn hơn 0,30 ở khoảng bước sóng từ 230 nm đến 250 nm, và không được lớn hơn 0,10 ở khoảng bước sóng từ 251 nm đến 360 nm.

Phụ gia chất dẻo 01 có thể chiết được

Pha *ethanol 96 % (TT)* với *nước* để được hỗn hợp có tỷ trọng tương đối từ 0,9389 đến 0,9395 (Phụ lục 6.5) làm dung môi chiết.

Dung dịch gốc: Hòa tan 0,100 g chuẩn phụ gia chất dẻo 01 trong dung môi chiết và thêm dung môi đến 100,0 ml.

Dãy dung dịch chuẩn: Lấy lần lượt 20,0 ml; 10,0 ml; 5,0 ml; 2,0 ml; 1,0 ml dung dịch gốc cho vào các bình định mức 100 ml. Thêm dung môi chiết đến đủ thể tích.

Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của các dung dịch chuẩn ở cực đại 272 nm, dùng dung môi chiết làm mẫu trắng và vẽ đường chuẩn độ hấp thụ - nồng độ phụ gia chất dẻo 01.

Quy trình chiết: Dùng một ống cấp có gắn kim hoặc ống nối thích hợp, cho vào đồ đựng một thể tích dung môi chiết (đã làm nóng đến 37 °C trong một bình kín) bằng một nửa dung tích quy định. Đuổi hết không khí còn lại trong đồ đựng ra và hàn kín ống cấp. Nhúng ngập đồ đựng theo chiều ngang trong một nồi cách thủy ở (37 ± 1) °C trong khoảng (60 ± 1) min, không lắc. Lấy đồ đựng ra khỏi nồi cách thủy, dốc ngược đồ đựng nhẹ nhàng 10 lần, đổ dịch chiết bên trong ra một bình thủy tinh. Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) ngay ở cực đại 272 nm, dùng dung môi chiết làm mẫu trắng.

Xác định nồng độ phụ gia chất dẻo 01, tính ra miligam trong 100 ml dịch chiết theo đường chuẩn đã lập. Giới hạn phụ gia chất dẻo 01 cho phép:

Đồ đựng dung tích từ trên 300 ml đến 500 ml: Không quá 10 mg/100 ml dịch chiết.

Đồ đựng dung tích từ trên 150 ml đến 300 ml: Không quá 13 mg/100 ml dịch chiết.

Đồ đựng dung tích đến 150 ml: Không quá 14 mg/100 ml dịch chiết.

Khi đồ đựng có chứa dung dịch chống đông, dung dịch này phải đạt yêu cầu về dung dịch bảo quản và chống đông cho chế phẩm máu và đạt phép thử sau:

Độ hấp thụ ánh sáng

Đo độ hấp thụ (Phụ lục 4.1) của dung dịch chống đông trong khoảng bước sóng từ 250 nm đến 350 nm, dùng dung dịch chống đông có cùng công thức nhưng không cho tiếp xúc với đồ đựng chất dẻo làm mẫu trắng. Độ hấp thụ ở bước sóng 280 nm không được lớn hơn 0,5.

2. Polyvinyl clorid (PVC) hóa dẻo dùng làm bộ dây truyền máu và các thành phần máu

Nguyên liệu là PVC hóa dẻo dùng làm dây truyền máu và các thành phần máu có chứa không ít hơn 55 % polyvinyl clorid với di(2-ethylhexyl)phthalat làm chất hóa dẻo (phụ gia chất dẻo 01).

Chế tạo

Nguyên liệu làm polyvinyl clorid hóa dẻo được chế tạo bằng phương pháp polymer hóa, đảm bảo hàm lượng vinyl clorid còn lại phải ít hơn 1 phần triệu. Phương pháp sản xuất phải được thẩm định để sản phẩm đạt các phép thử sau đây.

Vinyl clorid

Không được quá 1 phần triệu.

Xác định bằng sắc ký khí pha hơi (head-space) (Phụ lục 5.2), dùng *ether* làm chuẩn nội.

Thực hiện tương tự như đã mô tả ở Phần 1. *Polyvinyl clorid (PVC) hóa dẻo dùng chế tạo đồ đựng máu và các chế phẩm máu.*
Nhà cung cấp nguyên liệu phải có thể chứng minh được công thức của mẫu thử phù hợp cho mỗi lô sản phẩm.

Tính chất
Nguyên liệu dưới dạng bột, hạt không màu hoặc vàng nhạt hoặc đã chế tạo thành các dây hoặc dạng ống rỗng, mùi nhẹ. Khi đốt có khói đen, dày đặc.

Định tính
Nếu cần, có thể cắt mẫu nguyên liệu cần kiểm tra thành các mảnh có kích thước mỗi cạnh không lớn hơn 1 cm.
A. Thêm 30 ml *tetrahydrofuran (TT)* vào 0,5 g nguyên liệu cần kiểm tra. Đun nóng trên cách thủy trong hốt, vừa đun vừa khuấy trong 10 min. Mẫu thử tan hoàn toàn. Thêm từng giọt *methanol (TT)* và khuấy, có tủa tạo thành ở dạng hạt. Lọc và sấy tủa ở 60 °C. Đo phổ hấp thụ hồng ngoại của tủa thu được để kiểm tra (Phụ lục 4.2). Hòa tan 50 mg trong 2 ml *tetrahydrofuran (TT)* và cho lên một lam kính mỏng. Sấy khô ở 80 °C, lấy lớp phim mỏng và cố định trên một giá thích hợp. Đo phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2), phổ hấp thụ hồng ngoại thu được phải phù hợp với phổ thu được của polyvinyl clorid chuẩn.
B. Kiểm tra cặn thu được trong phép thử phụ gia chất dẻo 01 bằng đo phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2), phổ hấp thụ hồng ngoại thu được phải phù hợp với phổ thu được của phụ gia chất dẻo 01 chuẩn.

Các phép thử
Nếu cần, có thể cắt mẫu nguyên liệu cần kiểm tra thành các mảnh có kích thước mỗi cạnh không lớn hơn 1 cm.

Dung dịch S1: Cho 5,0 g nguyên liệu cần kiểm tra vào một bình đốt. Thêm 30 ml *acid sulfuric (TT)* và đun nóng đến khi tạo thành khối sền sệt màu đen. Để nguội và thêm từ từ 10 ml *dung dịch hydrogen peroxyd đậm đặc*. Đun nóng nhẹ. Để nguội và thêm 1 ml *dung dịch hydrogen peroxyd đậm đặc*; bốc hơi và thêm tiếp dung dịch hydrogen peroxyd, làm liên tục như vậy cho đến khi thu được chất lỏng không màu. Bốc hơi để giảm thể tích còn khoảng 10 ml. Để nguội và pha loãng với *nước* đến 50 ml.

Dung dịch S2: Cho 25 g nguyên liệu cần kiểm tra vào một bình thủy tinh borosilicat. Thêm 500 ml *nước* và đậy bình bằng 1 cốc thủy tinh borosilicat. Đun nóng trong nồi hấp ở (121 ± 2) °C trong 20 min. Để nguội và gạn lấy dung dịch. Thêm *nước* vừa đủ 500 ml.

Độ trong và màu sắc dung dịch S2: Dung dịch S2 phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Phụ gia chất dẻo 01
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.3).
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung dịch thử: Thêm 200 ml *ether không có peroxyd (TT)* vào 2,0 g nguyên liệu cần kiểm tra và đun nóng với sinh hàn hồi lưu trong 8 h. Lọc để tách riêng cặn và bốc hơi dịch lọc đến khô dưới áp suất giảm trong cách thủy ở 30 °C. Hòa tan cặn trong 10 ml *toluen (TT)*.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 0,8 g phụ gia chất dẻo 01 chuẩn trong 10 ml *toluen (TT)*.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 0,5 ml dung dịch thử thành một dải kích thước 30 mm × 3 mm và 5 µl dung dịch đối chiếu. Triển khai với pha động là *toluen (TT)* đến 15 cm. Để khô bản mỏng. Kiểm tra sắc đồ dưới đèn tử ngoại ở bước sóng 254 nm và đánh dấu vùng tương ứng với phụ gia chất dẻo 01. Cạo lấy phần silica gel của vùng tương ứng và lắc với 40 ml *ether (TT)*. Lọc, tránh làm mất mẫu và bốc hơi tới khô. Lượng cặn thu được không được quá 40 mg.

Bari
Không được quá 5 phần triệu.
Xác định bằng phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử trong plasma argon (Phụ lục 4.4).
Thực hiện tương tự như đã mô tả trong phép thử Bari, *Phần 1. Polyvinyl clorid (PVC) hóa dẻo dùng chế tạo đồ đựng máu và các chế phẩm máu.*

Cadmi
Không được quá 0,6 phần triệu.
Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Thực hiện tương tự như đã mô tả trong phép thử Cadmi, *Phần 1. Polyvinyl clorid (PVC) hóa dẻo dùng chế tạo đồ đựng máu và các chế phẩm máu.*

Thiếc
Không được quá 20 phần triệu.
Xác định bằng phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử trong plasma argon (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Thực hiện tương tự như đã mô tả trong phép thử Thiếc, *Phần 1. Polyvinyl clorid (PVC) hóa dẻo dùng chế tạo đồ đựng máu và các chế phẩm máu.*

Kim loại nặng
Không được quá 50 phần triệu.
Thực hiện tương tự như đã mô tả trong phép thử Kim loại nặng, *Phần 1. Polyvinyl clorid (PVC) hóa dẻo dùng chế tạo đồ đựng máu và các chế phẩm máu.*

Định lượng
Thêm 30 ml *tetrahydrofuran (TT)* vào 0,500 g nguyên liệu cần kiểm tra, đun nóng trên cách thủy trong tủ hốt và khuấy trong 10 min. Mẫu thử tan hoàn toàn. Thêm từng giọt 60 ml *methanol (TT)*, vừa thêm vừa khuấy, tủa polyvinyl clorid tạo thành dưới dạng hạt. Để yên vài phút. Tiếp tục thêm *methanol (TT)* cho đến khi không thấy có thêm tủa. Cho tủa lên phễu xốp thủy tinh xốp, có số độ xốp 40, tráng bình và rửa tủa 3 lần với từng lượng nhỏ *methanol (TT)*. Sấy phễu lọc đến khối lượng không đổi ở 60 °C, cân tủa.

Với bộ dây truyền dịch vô khuẩn, thực hiện thêm một số phép thử sau:

Dung dịch S3: Lắp nối 3 bộ dây truyền thành một hệ kín với một bình thủy tinh borosilicat 300 ml. Cho bình vào một thiết bị điều nhiệt có thể duy trì nhiệt độ chất lỏng trong bình ở (37 ± 1) °C. Cho 250 ml *nước để pha thuốc tiêm* chảy tuần hoàn trong hệ dây nối theo chiều chảy của dịch truyền trong 2 h với tốc độ 1 L/h (có thể dùng một bơm nhu động lắp vào hệ nối qua một ống silicon càng ngắn càng tốt). Thu lấy toàn bộ dung dịch và để nguội.

Độ trong và màu sắc của dung dịch S3: Dung dịch S3 phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Cho 0,15 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)* vào 25 ml dung dịch S3. Dung dịch phải chuyển thành màu xanh lam khi thêm không quá 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ).*
Cho 0,2 ml *dung dịch methyl đacam (TT)* vào 25 ml dung dịch S3. Dung dịch phải bắt đầu chuyển màu từ vàng sang cam khi thêm không quá 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ).*

Độ hấp thụ ánh sáng
Độ hấp thụ của dung dịch S3 không được lớn hơn 0,30 trong khoảng bước sóng từ 230 nm đến 250 nm và không được lớn hơn 0,15 trong khoảng bước sóng từ 251 nm đến 360 nm.

Các chất khử
Tiến hành phép thử với dung dịch S3 trong vòng 4 h sau khi pha. Cho 1 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)* và 20,0 ml *dung dịch kali permanganat 0,01 N (CĐ)* vào 20,0 ml dung dịch S3. Đun sôi trong 3 min và làm nguội nhanh. Thêm 1 g *kali iodid (TT),* chuẩn độ với *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ),* dùng 0,25 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị. Tiến hành song song mẫu trắng, dùng 20 ml *nước để pha thuốc tiêm.* Chênh lệch thể tích giữa hai lần chuẩn độ mẫu trắng và mẫu thử không được quá 2,0 ml.

Chất chiết được bằng nước
Bốc hơi 50 ml dung dịch S3 đến khô trên cách thủy. Sấy cắn ở 100 °C đến 105 °C tới khối lượng không đổi. Tiến hành song song mẫu trắng với 50 ml *nước để pha thuốc tiêm.* Khối lượng cắn của dung dịch S3 so với mẫu trắng không được lớn hơn 1,5 mg.

17.9.3 POLYETHYLEN

1. Polyethylen không chứa phụ gia chất dẻo dùng để sản xuất đồ đựng thuốc tiêm truyền và thuốc dùng trong nhãn khoa

Polyethylen không chứa phụ gia chất dẻo thu được bằng cách polyme hoá ethylen dưới áp suất cao với chất xúc tác là oxygen hoặc chất tạo gốc tự do.

Tính chất
Nguyên liệu ở dạng hạt, bột hoặc đã được chuyển thành dạng phiến trong suốt, độ dày mỏng khác khau hoặc các đồ đựng; thực tế không tan trong nước, ethanol, hexan và trong methanol; tan trong hydrocarbon thơm nóng. Nguyên liệu trở nên mềm từ 65 °C trở lên.
Tỷ trọng tương đối từ 0,910 đến 0,937.

Định tính
Nếu cần, có thể cắt nguyên liệu cần kiểm tra thành các mảnh nhỏ có kích thước mỗi cạnh không quá 1 cm.
A. Lấy 0,25 g nguyên liệu cần kiểm tra, thêm 10 ml *toluen (TT)* và đun sôi hồi lưu trong 15 min. Nhỏ vài giọt dung dịch lên đĩa natri clorid và bay hơi dung môi trong tủ sấy ở 80 °C. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của nguyên liệu cần kiểm tra phải cho các cực đại hấp thụ tại số sóng 2920 cm^{-1}, 2850 cm^{-1}, 1465 cm^{-1}, 730 cm^{-1}, 720 cm^{-1}; Phổ hấp thụ hồng ngoại thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của mẫu nguyên liệu điển hình. Nếu nguyên liệu cần kiểm tra ở dạng phiến mỏng, có thể xác định phổ hấp thụ hồng ngoại trực tiếp trên phiến mỏng có kích thước thích hợp.
B. Nguyên liệu cần kiểm tra đáp ứng yêu cầu của phép thử Phụ gia chất dẻo.

Chuẩn bị các dung dịch S1, S2, S3
Nếu cần, cắt nguyên liệu cần kiểm tra thành các mảnh nhỏ có kích thước mỗi chiều không quá 1 cm.

Dung dịch S1: Cho 25 g nguyên liệu cần kiểm tra vào một bình thủy tinh borosilicat cổ mài. Thêm 500 ml *nước dùng để pha thuốc tiêm* và đun nóng hồi lưu trong 5 h. Để nguội và lắng gạn. Giữ một phần dung dịch để dùng cho phép thử Độ trong và màu sắc của dung dịch. Lọc phần còn lại qua phễu lọc thuỷ tinh xốp có đường kính lỗ xốp từ 10 µm đến 16 µm. Dùng dung dịch S1 trong vòng 4 h sau khi pha.

Dung dịch S2: Cho 2,0 g nguyên liệu cần kiểm tra vào một bình thủy tinh borosilicat cổ mài. Thêm 80 ml *toluen (TT),* đun sôi hồi lưu và khuấy liên tục trong 1,5 h. Để nguội đến 60 °C, vừa khuấy vừa thêm 120 ml *methanol (TT).* Lọc dung dịch qua phễu lọc thủy tinh xốp có đường kính lỗ xốp từ 10 µm đến 16 µm. Rửa bình và phễu lọc bằng 25 ml hỗn hợp gồm 40 ml *toluen (TT)* và 60 ml *methanol (TT),* gộp dịch rửa vào dịch lọc và pha loãng thành 250 ml với cùng hỗn hợp dung môi. Chuẩn bị dung dịch mẫu trắng trong cùng điều kiện.

Dung dịch S3: Cho 100 g nguyên liệu vào một bình thủy tinh borosilicat cổ mài. Thêm 250 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT),* đun sôi hồi lưu và khuấy liên tục trong 1 h. Để nguội và gạn lấy phần dung dịch.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S1 phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Lấy 100 ml dung dịch S1 thêm 0,15 ml *dung dịch xanh bromothylmol (TT)*. Dung dịch thu được phải chuyển sang màu xanh dương khi thêm không quá 1,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)*.
Lấy 100 ml dung dịch S1, thêm 0,2 ml *dung dịch methyl da cam (TT)*. Dung dịch thu được phải chuyển từ màu vàng sang da cam khi thêm không quá 1,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*.

Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1)
Độ hấp thụ của dung dịch S1 tại các bước sóng trong khoảng từ 220 nm đến 340 nm không được quá 0,2.

Chất khử
Lấy 20 ml dung dịch S1, thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)* và 20 ml *dung dịch kali permanganat 0,01 N (CĐ)*. Đun sôi hồi lưu trong 3 min rồi làm nguội ngay. Thêm 1 g *kali iodid (TT)* và chuẩn độ ngay bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)*, dùng 0,25 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị. Đồng thời tiến hành với mẫu trắng trong cùng điều kiện. Chênh lệch thể tích dung dịch chuẩn độ của mẫu thử và mẫu trắng không được quá 0,5 ml.

Chất tan trong hexan
Cho 10 g nguyên liệu vào một bình thủy tinh borosilicat cổ mài dung tích 250 ml. Thêm 100 ml *hexan (TT)*, đun sôi hồi lưu và khuấy liên tục trong 4 h. Làm nguội trong nước đá và lọc nhanh qua phễu lọc thủy tinh xốp có đường kính lỗ xốp từ 10 - 16 µm, duy trì nhiệt độ của dung dịch ở 0 °C (thời gian lọc phải ít hơn 5 min; nếu cần thiết có thể tăng tốc độ lọc bằng cách tăng áp suất lọc). Bốc hơi 20 ml dịch lọc trong đĩa thuỷ tinh đến khô trên cách thủy. Sấy khô cắn ở 100 °C đến 105 °C trong 1 h. Khối lượng cắn thu được phải trong giới hạn 10 % của khối lượng cắn thu được khi tiến hành với mẫu nguyên liệu điển hình và không được quá 5 %.

Phụ gia chất dẻo
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel G.
Dung môi khai triển:
Dung môi 1: *Hexan (TT)*.
Dung môi 2: *Methanol - methylen clorid* (5 : 95).
Dung dịch thử: Bay hơi 50 ml dung dịch S2 đến khô ở 45 °C trong chân không. Hòa tan cắn trong 5 ml *methylen clorid (TT)*. Chuẩn bị một dung dịch mẫu trắng từ dung dịch mẫu trắng S2.
Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 20 mg phụ gia chất dẻo 15 chuẩn và 20 mg phụ gia chất dẻo 08 chuẩn trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng đến 10 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt 10 µl mỗi dung dịch trên lên bản mỏng. Triển khai sắc ký với dung môi 1 đến khoảng 13 cm. Để khô bản mỏng trong không khí. Tiến hành triển khai sắc ký lần hai với dung môi 2 đến khoảng 10 cm. Để khô bản mỏng trong không khí. Phun *dung dịch acid phosphomolybdic 4 %* trong *ethanol (TT)*, sấy ở nhiệt độ 120 °C đến khi các vết hiện rõ trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Không được có vết nào xuất hiện trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, trừ vết tại đường xuất phát của dung môi khi khai triển sắc ký với pha động là Dung môi 1 và các vết tương ứng với các oligomer. Bỏ qua các vết tương ứng với những vết thu được trên sắc ký đồ của dung dịch mẫu trắng.
Trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu phải có 2 vết tách biệt.

Kim loại nặng
Không được quá 2,5 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).
Bay hơi trên cách thuỷ 50 ml dung dịch S3 tới còn 5 ml và pha loãng thành 20 ml bằng *nước*. Lấy 12 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng 2,5 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị dung dịch đối chiếu.

Tro sulfat
Không được quá 0,02 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 1).
Dùng 5,0 g nguyên liệu cần kiểm tra.

2. Polyethylen chứa phụ gia chất dẻo dùng để sản xuất đồ đựng thuốc tiêm truyền và thuốc dùng trong nhãn khoa
Polyethylen chứa phụ gia chất dẻo thu được bằng cách polymer hóa ethylen dưới áp suất cao với sự có mặt của chất xúc tác hoặc bằng cách copolymer hoá ethylen với không quá 25 % đồng đẳng cao hơn (C_3 tới C_{10}).

Điều chế
Một số phụ gia chất dẻo được thêm vào trong quá trình polymer hóa nhằm tối ưu hóa các tính chất vật lý, hóa học và cơ học để đáp ứng yêu cầu sử dụng. Tất cả các phụ gia chất dẻo này đều phải được lựa chọn từ Danh mục phụ gia chất dẻo với hàm lượng tối đa trong giới hạn cho phép được quy định với từng sản phẩm.
Polyethylen có thể chứa nhiều nhất là 3 chất chống oxy hóa, một vài chất làm trơn hoặc chất chống đông vón, chất chắn sáng như titan dioxyd khi nguyên liệu dùng để sản xuất bao bì chống ánh sáng.
– butylhydroxytoluen (Phụ gia chất dẻo 07): Không quá 0,125 %,
– pentaerythrityl tetrakis[3-(3,5-di-*tert*-butyl-4- hydroxy phenyl)propionat] (Phụ gia chất dẻo 09): Không quá 0,3 %,
– 1,3,5-tris(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxybenzyl)-*s*-triazin-2,4,6*(1H,3H,5H)*-trion (Phụ gia chất dẻo 13): Không quá 0,3 %,
– octadecyl 3-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl) propionat, (Phụ gia chất dẻo 11): Không quá 0,3 %,
– ethylen bis[3,3-bis[3-(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxy phenyl] butanoat] (Phụ gia chất dẻo 08): Không quá 0,3 %,
– dioctadecyl disulfid (Phụ gia chất dẻo 15): Không quá 0,3 %,
– 4,4',4''-(2,4,6-trimethylbenzen-1,3,5-triyltrismethylen) tris[2,6-bis(1,1-dimethylethyl)phenol] (Phụ gia chất dẻo 10): Không quá 0,3 %,

– 2,2'-bis(octadecyloxy)-5,5'-spirobi[1,3,2-dioxaphosphinan] (Phụ gia chất dẻo 14): Không quá 0,3 %,
– didodecyl 3,3'-thiodipropionat (Phụ gia chất dẻo 16): Không quá 0,3 %,
– dioctadecyl 3,3'-thiodipropionat (Phụ gia chất dẻo 17): Không quá 0,3 %,
– tris [2,4-bis(1,1-dimethylethyl)phenyl] phosphit (Phụ gia chất dẻo 12): Không quá 0,3 %,

Tổng lượng các phụ gia chất dẻo chống oxy hoá đã được liệt kê ở trên phải không vượt quá 0,3 %.

– hydrotalcit: Không quá 0,5 %,
– các alkanamid: Không quá 0,5 %,
– các alkenamid: Không quá 0,5 %,
– natri silico-aluminat: Không quá 0,5 %,
– silica: Không quá 0,5 %,
– natri benzoat: Không quá 0,5 %,
– các muối hoặc ester của acid béo: Không quá 0,5 %,
– trinatri phosphat: Không quá 0,5 %,
– parafin lỏng: Không quá 0,5 %,
– kẽm oxyd: Không quá 0,5 %,
– magnesi oxyd: Không quá 0,2 %,
– calci stearat hoặc kẽm stearat hoặc hỗn hợp của 2 chất: Không quá 0,5 %,
– titan dioxyd: Không quá 0,4 %, chỉ sử dụng cho nguyên liệu dùng để sản xuất bao bì cho chế phẩm dùng trong nhãn khoa.

Nhà cung cấp nguyên liệu phải có khả năng để chứng minh rằng thành phần định tính, định lượng của mẫu điển hình là đạt yêu cầu đối với từng lô sản xuất.

Tính chất

Nguyên liệu ở dạng hạt, bột hoặc đã được chuyển thành dạng phiến trong suốt, độ dày mỏng khác nhau hoặc các đồ đựng; thực tế không tan trong nước, ethanol, hexan và trong methanol; tan trong hydrocarbon thơm nóng. Nguyên liệu trở nên mềm ở nhiệt độ 70 °C đến 140 °C.

Tỷ trọng tương đối (Phụ lục 6.5) của nguyên liệu từ 0,890 đến 0,965.

Định tính

Nếu cần, cắt nguyên liệu cần kiểm tra thành các mảnh nhỏ có kích thước mỗi chiều không quá 1 cm.

Lấy 0,25 g nguyên liệu, thêm 10 ml *toluen (TT)* và đun sôi hồi lưu trong khoảng 15 min. Nhỏ một vài giọt dung dịch thu được lên 1 đĩa natri clorid, bay hơi dung môi ở 80 °C trong tủ sấy. Xác định phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2). Phổ hấp thụ hồng ngoại thu được phải có các cực đại hấp thụ ở các số sóng 2920 cm^{-1} đến 2850 cm^{-1}, 1465 cm^{-1}, 1375 cm^{-1}, 1170 cm^{-1}, 730 cm^{-1}, 720 cm^{-1}. Phổ thu được phải phù hợp với phổ của mẫu nguyên liệu chuẩn. Nếu nguyên liệu cần kiểm tra ở dạng phiến mỏng, có thể xác định trực tiếp phổ hấp thụ hồng ngoại trên phiến có kích thước thích hợp.

B. Nguyên liệu cần kiểm tra phải đáp ứng Các phép thử bổ sung tương ứng với phụ gia chất dẻo có trong thành phần.

C. Trộn 20 mg nguyên liệu với 1 g *kali hydrosulfat (TT)* trong chén platin và đun nóng cho đến khi hỗn hợp chảy hoàn toàn. Để nguội và thêm 20 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)*. Đun nóng nhẹ. Lọc. Thêm vào dịch lọc 1 ml *acid phosphoric (TT)* và 1 ml *dung dịch nước oxy già đậm đặc*. Màu vàng cam xuất hiện nếu nguyên liệu cần kiểm tra được thêm chất chắn sáng là titan dioxyd.

Chuẩn bị các dung dịch S1, S2, S3

Nếu cần, cắt nguyên liệu cần kiểm tra thành các mảnh nhỏ có kích thước mỗi chiều không quá 1 cm.

Dung dịch S1: Cho 25 g nguyên liệu cần kiểm tra vào một bình thủy tinh borosilicat cổ mài. Thêm 500 ml *nước dùng để pha thuốc tiêm* và đun sôi hồi lưu trong 5 h. Để nguội và lắng gạn. Giữ một phần dung dịch cho phép thử Độ trong và màu sắc dung dịch. Lọc phần còn lại qua phễu lọc thuỷ tinh xốp có đường kính lỗ xốp từ 10 µm đến 16 µm. Dùng dung dịch S1 trong vòng 4 h sau khi pha.

Dung dịch S2: Cho 2,0 g nguyên liệu vào một bình thủy tinh borosilicat cổ mài. Thêm 80 ml *toluen (TT)*, đun sôi hồi lưu và khuấy liên tục trong 90 min. Để nguội đến 60 °C, vừa khuấy vừa thêm 120 ml *methanol (TT)*. Lọc dung dịch qua phễu lọc thủy tinh xốp có đường kính lỗ xốp từ 10 µm đến 16 µm. Rửa bình và phễu lọc bằng 25 ml hỗn hợp gồm 40 ml *toluen (TT)* và 60 ml *methanol (TT)*, gộp dịch rửa vào dịch lọc và pha loãng thành 250,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi. Chuẩn bị dung dịch mẫu trắng trong cùng điều kiện.

Dung dịch S3: Cho 100 g nguyên liệu vào một bình thủy tinh borosilicat cổ mài. Thêm 250 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, đun sôi hồi lưu và khuấy liên tục trong 1 h. Để nguội và gạn lấy phần dung dịch.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S1 phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Lấy 100 ml dung dịch S1 thêm 0,15 ml *dung dịch xanh bromothylmol (TT)*. Dung dịch thu được phải chuyển sang màu xanh dương khi thêm không quá 1,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)*.

Lấy 100 ml dung dịch S1, thêm 0,2 ml *dung dịch methyl da cam (TT)*. Dung dịch thu được phải chuyển từ màu vàng sang da cam khi thêm không quá 1,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*.

Độ hấp thụ ánh sáng (Phụ lục 4.1)

Độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch S1 tại các bước sóng trong khoảng từ 220 nm đến 340 nm không được quá 0,2.

Chất khử

Lấy 20 ml dung dịch S1, thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)* và 20 ml *dung dịch kali permanganat 0,01 M (TT)*. Đun sôi hồi lưu trong 3 min rồi làm nguội ngay. Thêm 1 g *kali iodid (TT)* và chuẩn độ ngay bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)*, dùng 0,25 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị. Song song tiến hành với mẫu trắng trong

cùng điều kiện. Chênh lệch thể tích dung dịch chuẩn độ của mẫu thử và mẫu trắng không được quá 0,5 ml.

Chất tan trong hexan

Cho 10 g nguyên liệu cần kiểm tra vào một bình thủy tinh borosilicat cổ mài. Thêm 100 ml *hexan (TT)*, đun sôi hồi lưu và khuấy liên tục trong 4 h. Làm nguội trong nước đá và lọc nhanh qua phễu lọc thủy tinh xốp có đường kính lỗ xốp từ 10 - 16 µm khi nhiệt độ của dung dịch được duy trì tại 0 °C (thời gian lọc phải ít hơn 5 min; nếu cần thiết có thể tăng tốc độ lọc bằng cách lọc giảm áp). Bay hơi 20 ml dịch lọc trong đĩa thuỷ tinh đến khô trên cách thủy. Sấy khô cắn ở 100 °C đến 105 °C trong tủ sấy trong 1 h. Khối lượng cắn thu được phải trong giới hạn 10 % của khối lượng cắn thu được khi tiến hành với mẫu nguyên liệu điển hình và không quá 5 %.

Nhôm

Không được quá 1,0 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử trong plasma argon (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Dung dịch S3.

Dãy dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch nhôm mẫu 200 phần triệu Al (TT)* bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.

Đo cường độ phát xạ của nhôm tại bước sóng 396,15 nm, hiệu chỉnh đường nền tại bước sóng 396,25 nm.

Sử dụng dung dịch acid hydrocloric 0,1 M không chứa nhôm.

Crom

Không được quá 0,05 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử trong plasma argon (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Dung dịch S3.

Dãy dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch crom mẫu 100 phần triệu Cr (TT)* bằng hỗn hợp dung môi gồm 2 thể tích *acid hydrocloric (TT)* và 8 thể tích *nước*.

Đo cường độ phát xạ của nguyên tố Cr tại bước sóng 205,55 nm, hiệu chỉnh đường nền tại bước sóng 205,50 nm.

Sử dụng acid hydrocloric không chứa crom.

Titan

Không được quá 1,0 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử trong plasma của argon (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Dung dịch S3.

Dãy dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch titan mẫu 100 phần triệu Ti (TT)* bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.

Đo cường độ phát xạ của titan tại bước sóng 336,12 nm, hiệu chỉnh đường nền tại bước sóng 336,16 nm.

Sử dụng dung dịch acid hydrocloric 0,1 M không chứa titan.

Vanadi

Không được quá 0,1 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử trong plasma của argon (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Dung dịch S3.

Dãy dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch vanadi mẫu 1 g/l V (TT)* bằng hỗn hợp dung môi gồm 2 thể tích *acid hydrocloric (TT)* và 8 thể tích *nước*.

Đo cường độ phát xạ của vanandi tại bước sóng 292,40 nm, hiệu chỉnh đường nền tại bước sóng 292,35 nm.

Sử dụng acid hydrocloric không chứa vanadi.

Kẽm

Không được quá 1,0 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Dung dịch S3.

Dãy dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch kẽm mẫu 10 phần triệu Zn (TT)* bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.

Đo độ hấp thụ tại bước sóng 213,9 nm, sử dụng đèn cathod rỗng kẽm làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - acetylen.

Sử dụng dung dịch acid hydrocloric 0,1 M không chứa kẽm.

Zirconi

Không được quá 0,1 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử trong plasma của argon (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Dung dịch S3.

Dãy dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch zirconi mẫu 1 g/l Zr (TT)* bằng hỗn hợp dung môi gồm 2 thể tích *acid hydrocloric (TT)* và 8 thể tích *nước*.

Đo cường độ phát xạ của zirconi tại bước sóng 343,82 nm, hiệu chỉnh đường nền tại bước sóng 343,92 nm.

Sử dụng acid hydrocloric không chứa zirconi.

Kim loại nặng

Không được quá 2,5 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Bốc hơi trên cách thuỷ 50 ml dung dịch S3 tới còn 5 ml, pha loãng thành 20,0 ml bằng *nước*. Lấy 12 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng 2,5 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Tro sulfat

Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 1).

Dùng 5,0 g nguyên liệu cần kiểm tra.

Giới hạn này không được áp dụng cho nguyên liệu có dùng titan dioxyd làm chất chắn sáng.

Các phép thử bổ sung

Tùy theo yêu cầu đối với nguyên liệu cần kiểm tra, sẽ phải thực hiện toàn bộ hoặc một số những phép thử sau đây:

Chất chống oxy hoá phenolic

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Hỗn hợp dung môi: Acetonitril - tetrahydrofuran (50 : 50).

Dung dịch thử (1): Bay hơi 50 ml dung dịch S2 trong chân không ở 45 °C tới khô. Hòa tan cắn trong 5,0 ml hỗn hợp dung môi. Song song chuẩn bị mẫu trắng từ dung dịch S2 mẫu trắng.

Dung dịch thử (2): Bay hơi 50 ml dung dịch S2 trong chân không ở 45 °C tới khô. Hòa tan cặn trong 5,0 ml *methylen clorid (TT)*. Song song chuẩn bị mẫu trắng từ dung dịch S2 mẫu trắng.

Trong các dung dịch đối chiếu dưới đây chỉ cần chuẩn bị các dung dịch đối chiếu cần thiết cho việc phân tích chất chống oxy hoá phenolic có trong nguyên liệu cần kiểm tra.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25,0 mg butylhydroxytoluen chuẩn (phụ gia chất dẻo 07) và 60,0 mg phụ gia chất dẻo 08 chuẩn trong 10,0 ml hỗn hợp dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 60,0 mg phụ gia chất dẻo 09 chuẩn và 60,0 mg phụ gia chất dẻo 10 chuẩn trong 10,0 ml hỗn hợp dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 60,0 mg phụ gia chất dẻo 11 chuẩn và 60,0 mg phụ gia chất dẻo 12 chuẩn trong 10,0 ml *methylen clorid (TT)*. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 25,0 mg butylhydroxytoluen chuẩn (phụ gia chất dẻo 07) trong 10,0 ml hỗn hợp dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (5): Hòa tan 60,0 mg phụ gia chất dẻo 08 chuẩn trong 10,0 ml hỗn hợp dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (6): Hòa tan 60,0 mg phụ gia chất dẻo 13 chuẩn trong 10,0 ml hỗn hợp dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (7): Hòa tan 60,0 mg phụ gia chất dẻo 09 chuẩn trong 10,0 ml hỗn hợp dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (8): Hòa tan 60,0 mg phụ gia chất dẻo 10 chuẩn trong 10,0 ml hỗn hợp dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (9): Hòa tan 60,0 mg phụ gia chất dẻo 11 chuẩn trong 10,0 ml *methylen clorid (TT)*. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (10): Hòa tan 60,0 mg phụ gia chất dẻo 12 chuẩn trong 10,0 ml *methylen clorid (TT)*. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với cùng dung môi.

A. Nếu nguyên liệu cần kiểm tra có chứa phụ gia chất dẻo 07 hoặc/và phụ gia chất dẻo 08, tiến hành như sau:

Pha động: Nước - acetonitril (30 : 70).

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

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

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (1), dung dịch mẫu trắng của dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1), mỗi dung dịch đối chiếu (4) hoặc (5), hoặc dung dịch đối chiếu (4) và (5). Tiến hành sắc ký trong 30 min.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống:

Độ phân giải giữa pic của chất phụ gia chất dẻo 07 và phụ gia chất dẻo 08 trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) không được nhỏ hơn 8,0.

Sắc ký đồ của dung dịch thử (1) chỉ cho các pic của các chất chống oxy hóa trong thành phần đã đăng ký và và những pic nhỏ tương ứng với các pic trên sắc ký đồ của dung dịch mẫu trắng.

Giới hạn:

Diện tích các pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (1) phải nhỏ hơn các diện tích pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) và/hoặc (5).

B. Nếu nguyên liệu cần kiểm tra có chứa một hoặc nhiều hơn các phụ gia chất dẻo sau đây:

Phụ gia chất dẻo 09,

Phụ gia chất dẻo 10,

Phụ gia chất dẻo 11,

Phụ gia chất dẻo 12,

Phụ gia chất dẻo 13

thì tiến hành sắc ký với điều kiện đã nêu ở trên phần A nhưng có thay đổi như sau:

Pha động: Nước - tetrahydrofuran - acetonitril (10 : 30 : 60).

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (1), dung dịch mẫu trắng của dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (2) và các dung dịch đối chiếu tương ứng với các chất chống oxy hóa đã đăng ký có trong nguyên liệu cần kiểm tra thuộc danh mục trên.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống:

Độ phân giải giữa pic của phụ gia chất dẻo 09 và phụ gia chất dẻo 10 trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) không được nhỏ hơn 2,0.

Sắc ký đồ của dung dịch thử (1) chỉ cho các pic của các chất chống oxy hóa trong thành phần đã đăng ký và các pic nhỏ tương ứng với các pic trên sắc ký đồ của dung dịch mẫu trắng.

Giới hạn:

Diện tích các pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (1) phải nhỏ hơn diện tích các pic tương ứng trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu của các chất chống oxy hóa đã nêu ở trên có trong thành phần nguyên liệu.

C. Nếu chất kiểm tra có chứa phụ gia chất dẻo 11 và/hoặc 12 thì tiến hành sắc ký với điều kiện đã nêu ở phần A, nhưng có thay đổi như sau:

Pha động: Nước - 2-propanol - methanol (5 : 45 : 50).

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (2), dung dịch mẫu trắng của dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (3) và dung dịch đối chiếu (9) hoặc (10), hoặc dung dịch đối chiếu (9) và (10).

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống:
Độ phân giải giữa pic của phụ gia chất dẻo 11 và phụ gia chất dẻo 12 trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3) không được nhỏ hơn 2,0.
Sắc ký đồ của dung dịch thử (2) chỉ cho các pic của các chất chống oxy hóa trong thành phần đã đăng ký và và các pic nhỏ tương ứng với các pic trong sắc ký đồ của dung dịch mẫu trắng.
Giới hạn:
Diện tích các pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (2) phải nhỏ hơn diện tích các pic tương ứng trên các sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (9) và/hoặc (10).

Chất chống oxy hoá non-phenolic
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}
Dung môi khai triển:
Dung môi 1: *Hexan (TT).*
Dung môi 2: *Methylen clorid (TT).*
Dung dịch thử: Bay hơi 100 ml dung dịch S2 trong chân không ở 45 °C tới khô. Hòa tan cặn trong 2 ml *methylen clorid đã được acid hoá (TT).*
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 60 mg phụ gia chất dẻo 14 chuẩn trong *methylen clorid (TT) và* pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng *methylen clorid đã được acid hoá (TT).*
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 60 mg phụ gia chất dẻo 15 chuẩn trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng *methylen clorid đã được acid hóa (TT).*
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 60 mg phụ gia chất dẻo 16 chuẩn trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng *methylen clorid đã được acid hóa (TT).*
Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 60 mg phụ gia chất dẻo 17 chuẩn trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng *methylen clorid đã được acid hóa (TT).*
Dung dịch đối chiếu (5): Hòa tan 60 mg phụ gia chất dẻo 16 chuẩn và 60 mg phụ gia chất dẻo 17 chuẩn trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng *methylen clorid đã được acid hóa (TT).*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl dung dịch thử, 20 µl dung dịch đối chiếu (5) và 20 µl dung dịch đối chiếu tương ứng với chất chống oxy hoá phenolic và non-phenolic có trong thành phần chất kiểm tra.
Triển khai sắc ký với hệ dung môi 1 tới khoảng 18 cm. Để khô bản mỏng. Triển khai sắc ký lần hai với hệ dung môi 2 đến khoảng 17 cm. Để khô bản mỏng và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Phun *dung dịch iod 1% trong ethanol (TT),* sau 10 - 15 min, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết nào thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử phải không được có màu đậm hơn màu của các vết tương tự về vị trí thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (5) cho 2 vết tách nhau rõ rệt.

Các amid và stearat
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}
Dung môi khai triển:
Dung môi 1: *Ethanol - trimethylpentan* (25 : 75).
Dung môi 2: *Hexan (TT).*
Dung dịch thử: Dùng dung dịch thử của phép thử Chất chống oxy hoá non-phenolic.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg acid stearic chuẩn (phụ gia chất dẻo 19) trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 40 mg phụ gia chất dẻo 20 chuẩn trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.
Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 40 mg phụ gia chất dẻo 21 chuẩn trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Dùng 2 bản mỏng.
Chấm lên mỗi bản mỏng 10 µl dung dịch thử.
Chấm lên bản mỏng thứ nhất 10 µl dung dịch đối chiếu (1).
Chấm riêng biệt lên bản mỏng thứ hai 10 µl dung dịch đối chiếu (2) và (3).
Bản mỏng thứ nhất: Triển khai sắc ký với hệ dung môi (1) đến khoảng 10 cm. Để khô bản mỏng trong không khí. Phun *dung dịch muối natri diclorophenolindophenol 0,2 % (TT)* và sấy bản mỏng ở 120 °C trong vài phút tới khi các vết hiện rõ. Bất kỳ vết nào thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử tương ứng với vết của phụ gia chất dẻo 19 (có giá trị R_f khoảng 0,5) không được đậm hơn vết tương tự về vị trí thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
Bản mỏng thứ 2: Triển khai sắc ký với hệ dung môi (2) đến khoảng 13 cm. Để khô bản mỏng trong không khí. Khai triển lần 2 với hệ dung môi là hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (5 : 95) đến khoảng 10 cm, để khô bản mỏng. Phun *dung dịch acid phosphomolybdic trong ethanol 4 % (TT)* và sấy bản mỏng ở 120 °C tới khi các vết hiện rõ. Bất kỳ vết nào thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử tương ứng với vết của phụ gia chất dẻo 20 hoặc 21 (có giá trị R_f khoảng 0,2) không được đậm hơn vết có cùng giá trị R_f thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2) và (3).

17.9.4 POLYETHYLEN TEREPHTHALAT ĐỂ SẢN XUẤT ĐỒ ĐỰNG CHẾ PHẨM KHÔNG PHẢI LÀ THUỐC TIÊM

Polyethylen terephthalat thu được bằng cách polymer hóa acid terephthalic hoặc dimethyl terephthahlat với ethylen glycol. Acid isophthalic, dimethyl isophthalat, 1,4-bis(hydroxymethyl)cyclohexan(cyclohexan-1,4-dimethanol) hoặc diethylen glycol có thể được dùng trong quá trình polymer hóa. Nguyên liệu không được chứa quá

0,5 % silica hoặc silicat và các chất màu trong danh mục Các phụ gia cho chất dẻo được phép sử dụng.

Sản xuất
Quá trình sản xuất phải được đánh giá để chứng minh là hàm lượng acetaldehyd tồn dư trong nguyên liệu không quá 10 phần triệu.

Tính chất
Dạng hạt trong hoặc hơi đục. Thực tế không tan trong nước, alcohol và trong methylen clorid. Bị thủy phân bởi base mạnh.

Định tính
A. Lấy 0,10 g nguyên liệu cần kiểm tra vào bình thủy tinh borosilicat cổ mài. Thêm 25 ml *dung dịch kali hydroxyd 20 % trong ethanol 50 % (TT)*. Đun hồi lưu 30 min. Để nguội và pha loãng thành 100 ml bằng *nước*. Lọc nếu cần. Pha loãng 1,0 ml dung dịch thu được thành 100 ml bằng *nước*. Đo độ hấp thụ của dung dịch ở bước sóng từ 210 nm đến 330 nm (Phụ lục 4.1). Dung dịch phải cho độ hấp thụ cực đại tại 240 nm.
B. Hòa tan 0,05 g nguyên liệu cần kiểm tra trong 2 ml *1,1,1,3,3,3-hexafluoropropan-2-ol (TT)*. Lấy vài giọt dung dịch thu được vào một đĩa thủy tinh đặt trên cách thủy trong tủ hốt để tạo thành một lớp phim mỏng có kích thước 15 mm × 15 mm. Để dung môi bay hơi và di chuyển lớp phim bằng một dòng nước và một cái kẹp. Sấy khô phim ở 100 °C đến 105 °C trong 1 h đến 2 h. Phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2) của nguyên liệu cần kiểm tra phải cho các cực đại hấp thụ tại số sóng 1725 cm^{-1}, 1410 cm^{-1}, 1265 cm^{-1}, 1120 cm^{-1}, 1100 cm^{-1}, 1020 cm^{-1}, 875 cm^{-1}, 725 cm^{-1}. Ngoài ra, phổ hấp thụ hồng ngoại thu được phải phù hợp với phổ hấp thụ hồng ngoại của nguyên liệu làm mẫu điển hình.

Chuẩn bị các dung dịch S1, S2, S3, S4
Nếu cần, cắt nguyên liệu cần kiểm tra thành các mảnh nhỏ có kích thước mỗi chiều không quá 1 cm.

Dung dịch S1: Lấy 10,0 g nguyên liệu cần kiểm tra vào bình thủy tinh borosilicat cổ mài. Thêm 200 ml *nước* và đun ở 50 °C trong 5 h. Để nguội và gạn lấy phần dung dịch. Dùng dung dịch S1 trong vòng 4 h sau khi pha.

Dung dịch S2: Lấy 10 g nguyên liệu cần kiểm tra vào bình thủy tinh borosilicat cổ mài. Thêm 100 ml *ethanol 96 % (TT)* và đun ở 50 °C trong 5 h. Để nguội và gạn lấy phần dung dịch. Dùng dung dịch S2 trong vòng 4 h sau khi pha.

Dung dịch S3: Lấy 20,0 g nguyên liệu cần kiểm tra vào bình thủy tinh borosilicat cổ mài. Thêm 50 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)* và đun ở 50 °C trong 5 h. Để nguội và gạn lấy phần dung dịch. Dùng dung dịch S3 trong vòng 4 h sau khi pha.

Dung dịch S4: Lấy 20,0 g nguyên liệu cần kiểm tra vào bình thủy tinh borosilicat cổ mài. Thêm 50 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT)* và đun ở 50 °C trong 5 h. Để nguội và gạn lấy phần dung dịch. Dùng dung dịch S4 trong vòng 4 h sau khi pha.

Độ trong và màu sắc của dung dịch
Dung dịch S1 phải trong (Phụ lục 9.2).
Dung dịch S2 phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm
Lấy 50 ml dung dịch S1 thêm 0,15 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT_1)*. Dung dịch chuyển thành màu vàng. Dung dịch này phải chuyển sang màu xanh dương khi thêm không quá 0,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)*.
Lấy 50 ml dung dịch S1 khác, thêm 0,2 ml *dung dịch methyl da cam (TT)*. Dung dịch chuyển thành màu vàng. Dung dịch này phải chuyển từ màu vàng sang da cam khi thêm không quá 0,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*.

Độ hấp thụ (Phụ lục 4.1)
Độ hấp thụ của dung dịch S1 tại các bước sóng trong khoảng từ 220 nm đến 340 nm không được quá 0,20. Thêm vào đó, đối với các polyethylen terephthalat có màu thì độ hấp thụ của dung dịch S1 tại các bước sóng trong khoảng từ 400 nm đến 800 nm không được quá 0,05.
Độ hấp thụ của dung dịch S2 tại các bước sóng trong khoảng từ 400 nm đến 800 nm không được quá 0,05.

Chất khử
Lấy 20 ml dung dịch S1, thêm 2 ml *dung dịch acid sulfuric 0,5 M (TT)* và 20 ml *dung dịch kali permanganat 0,01 N (CĐ)*. Đun sôi trong 3 min rồi làm nguội ngay đến nhiệt độ phòng. Thêm 1 g *kali iodid (TT)*, 0,25 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị và chuẩn độ bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)*. Dùng 20,0 ml *nước* để chuẩn bị mẫu trắng trong cùng điều kiện. Chênh lệch thể tích dung dịch chuẩn độ của mẫu thử và mẫu trắng không được quá 0,5 ml.

Chất tan trong dioxan
Không được quá 3 %.
Lấy 2 g nguyên liệu cần kiểm tra vào bình thủy tinh borosilicat cổ mài. Thêm 20 ml *dioxan (TT)* và đun hồi lưu trong 2 h. Bay hơi 10 ml dung dịch thu được đến cắn khô trên cách thủy, sấy khô cắn ở 100 °C đến 105 °C. Khối lượng cắn thu được không quá 30 mg.

Nhôm
Không được quá 1,0 phần triệu.
Xác định bằng phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử trong plasma argon (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Dung dịch S3.
Dãy dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch nhôm mẫu 200 phần triệu Al (TT)* bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Đo cường độ phát xạ của nhôm tại bước sóng 396,15 nm, hiệu chỉnh đường nền tại bước sóng 396,25 nm.
Sử dụng dung dịch acid hydrocloric 0,1 M không chứa nhôm.

Antimony
Không được quá 1,0 phần triệu.
Xác định bằng phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử trong plasma argon (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Dung dịch S4.
Dãy dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch antimony mẫu 100 phần triệu Sb (TT)* bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT).*
Đo cường độ phát xạ của antimony tại bước sóng 231,15 nm hoặc 217,58 nm, hiệu chỉnh đường nền tại bước sóng 231,05 nm.

Bari
Không được quá 1,0 phần triệu.
Xác định bằng phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử trong plasma argon (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Dung dịch S3.
Dãy dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch bari mẫu 50 phần triệu Ba (TT)* bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*
Đo cường độ phát xạ của bari tại bước sóng 455,40 nm, hiệu chỉnh đường nền tại bước sóng 455,30 nm.
Sử dụng dung dịch acid hydrocloric 0,1 M không chứa bari.

Cobalt
Không được quá 1,0 phần triệu.
Xác định bằng phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử trong plasma argon (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Dung dịch S3.
Dãy dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch cobalt mẫu 100 phần triệu Co (TT)* bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*
Đo cường độ phát xạ của cobalt tại bước sóng 228,62 nm, hiệu chỉnh đường nền tại bước sóng 228,50 nm.
Sử dụng dung dịch acid hydrocloric 0,1 M không chứa cobalt.

Germani
Không được quá 1,0 phần triệu.
Xác định bằng phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử trong plasma argon (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Dung dịch S4.
Dãy dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch germani mẫu 100 phần triệu Ge (TT)* bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,01 M (TT).*
Đo cường độ phát xạ của germani tại bước sóng 206,87 nm hoặc 265,12 nm, hiệu chỉnh đường nền tại bước sóng 206,75 nm.

Mangan
Không được quá 1,0 phần triệu.
Xác định bằng phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử trong plasma argon (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Dung dịch S3.
Dãy dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch mangan mẫu 100 phần triệu Mn (TT)* bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*
Đo cường độ phát xạ của mangan tại bước sóng 257,61 nm, hiệu chỉnh đường nền tại bước sóng 257,50 nm.
Sử dụng dung dịch acid hydrocloric 0,1 M không chứa mangan.

Titan
Không được quá 1,0 phần triệu.
Xác định bằng phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử trong plasma argon (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Dung dịch S3.
Dãy dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch titan mẫu 100 phần triệu Ti (TT)* bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*
Đo cường độ phát xạ của titan tại bước sóng 323,45 nm hoặc 334,94 nm, hiệu chỉnh đường nền tại bước sóng 323,35 nm.
Sử dụng dung dịch acid hydrocloric 0,1 M không chứa titan.

Kẽm
Không được quá 1,0 phần triệu.
Xác định bằng phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử trong plasma argon (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Dung dịch S3.
Dãy dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch kẽm mẫu 100 phần triệu Zn (TT)* bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT).*
Đo cường độ phát xạ của kẽm tại bước sóng 213,86 nm, hiệu chỉnh đường nền tại bước sóng 213,75 nm.
Sử dụng dung dịch acid hydrocloric 0,1 M không chứa kẽm.

Tro sulfat
Không được quá 0,5 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).
Dùng 1,0 g nguyên liệu cần kiểm tra.

17.9.5 POLY(ETHYLEN-VINYL ACETAT) DÙNG SẢN XUẤT ĐỒ ĐỰNG VÀ DÂY TRUYỀN DỊCH DINH DƯỠNG

Định nghĩa
Poly(ethylen-vinyl acetat), đáp ứng các yêu cầu dưới đây thì được sử dụng để sản xuất đồ đựng (như bình/lọ/túi chứa) và dây truyền dịch dinh dưỡng.
Poly(ethylen-vinyl acetat) thu được bằng cách copolymer hóa hỗn hợp ethylen và vinyl acetat. Copolymer này chứa không quá 25 % vinyl acetat đối với nguyên liệu sản xuất đồ đựng và không quá 30 % vinyl acetat đối với nguyên liệu sản xuất dây truyền dịch.

Điều chế
Một số phụ gia chất dẻo được thêm vào trong quá trình polymer hóa nhằm tối ưu hóa các tính chất vật lý, hóa học và cơ học đáp ứng yêu cầu sử dụng. Tất cả các phụ gia chất dẻo này đều phải có trong Danh sách phụ gia chất dẻo cho phép với hàm lượng tối đa nằm trong giới hạn cho phép quy định với từng sản phẩm.
Poly(ethylen-vinyl acetat) có thể chứa không quá 3 trong số các chất chống oxy hóa sau:
– butylhydroxytoluen (phụ gia chất dẻo 07): Không quá 0,125 %.

– pentaerythrityl tetrakis[3-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl) propionat] (phụ gia chất dẻo 09): Không quá 0,2 %,
– octadecyl 3-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl) propionat (phụ gia chất dẻo 11): Không quá 0,2 %,
– tris(2,4-di-*tert*-butylphenyl) phosphit (phụ gia chất dẻo 12): Không quá 0,2 %,
– 2,2',2",6,6',6"-hexa-*tert*-butyl-4,4',4"-[(2,4,6-trimethyl-1,3,5benzentriyl)trismethylen]tri-phenol (phụ gia chất dẻo 10): Không quá 0,2 %.

Các copolymer này cũng có thể chứa:
– oleamid (phụ gia chất dẻo 20): Không quá 0,5 %,
– erucamid (phụ gia chất dẻo 21): Không quá 0,5 %,
– calci stearat hoặc kẽm stearat hoặc hỗn hợp của cả 2 chất: Không quá 0,5 %,
– calci carbonat hoặc kali hydroxyd: Không quá 0,5 % mỗi chất,
– silic oxyd keo (colloidal silica): Không quá 0,2 %.

Nhà cung cấp nguyên liệu phải chứng minh được các thành phần trong nguyên liệu làm mẫu điển hình cho mỗi lô sản phẩm đều có chất lượng và hàm lượng đạt yêu cầu.

Tính chất

Dạng hạt nhỏ, cốm, hoặc chuyển dạng thành các phiến mỏ, hoặc ở dạng dây có độ dày khác nhau, hoặc ở dạng đồ đựng; thực tế không tan trong nước, tan trong hydrocarbon thơm nóng, thực tế không tan trong ethanol, methanol và hexan là các dung môi hòa tan các polymer có phân tử lượng thấp. Khi cháy cho ngọn lửa màu xanh. Nhiệt độ làm mềm chất dẻo thay đổi theo hàm lượng vinyl acetat, giảm từ 100 °C (tương ứng với vài phần trăm vinyl acetat) tới 70 °C (tương ứng với 30 % vinyl acetat).

Định tính

Nếu cần, cắt nguyên liệu cần kiểm tra thành các mảnh nhỏ có kích thước mỗi chiều không quá 1 cm.

Thêm 10 ml *toluen (TT)* vào 0,25 g nguyên liệu cần kiểm tra và đun sôi với sinh hàn hồi lưu trong khoảng 15 min. Nhỏ một vài giọt dung dịch thu được lên một đĩa natri clorid, bay hơi dung môi ở 80 °C trong tủ sấy. Đo phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2). Phổ hấp thụ hồng ngoại thu được phải có các cực đại hấp thụ tương ứng với vinyl acetat ở các vị trí 1740 cm^{-1}, 1375 cm^{-1}, 1240 cm^{-1}, 1020 cm^{-1}, 610 cm^{-1}; tương ứng với ethylen ở các vị trí 2920 cm^{-1} đến 2850 cm^{-1}, 1470 cm^{-1}, 1460 cm^{-1}, 1375 cm^{-1}, 730 cm^{-1}, 720 cm^{-1}. Ngoài ra, phổ hấp thụ hồng ngoại thu được phải giống với phổ của chất đối chiếu do nhà sản xuất cung cấp. Nếu nguyên liệu cần kiểm tra ở dạng phiến mỏng, có thể cắt lấy một mảnh nhỏ có kích thước thích hợp để xác định trực tiếp phổ hấp thụ hồng ngoại.

Chuẩn bị các dung dịch S1, S2

Nếu cần, cắt nguyên liệu cần kiểm tra thành các mảnh nhỏ có kích thước mỗi chiều không quá 1 cm.

Dung dịch S1: Cho 2,0 g nguyên liệu cần kiểm tra vào một bình thủy tinh borosilicat cổ mài. Thêm 80 ml *toluen (TT)* và đun nóng với sinh hàn hồi lưu trong 90 min, khuấy liên tục. Để dung dịch nguội đến 60 °C, vừa thêm 120 ml *methanol (TT)* vừa khuấy liên tục. Lọc dung dịch qua phễu lọc thủy tinh xốp, số độ xốp 16 (Phụ lục 3.4). Rửa bình và phễu lọc bằng 25 ml hỗn hợp gồm 40 ml *toluen (TT)* và 60 ml *methanol (TT)*, gộp dịch rửa vào dịch lọc và pha loãng thành 250 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch S2: *Sử dụng trong vòng 4 h sau khi pha.* Cho 25 g nguyên liệu vào một bình thủy tinh borosilicat cổ mài. Thêm 500 ml *nước để pha thuốc tiêm* và đun sôi với sinh hàn hồi lưu trong 5 min. Để nguội và gạn. Giữ một phần dung dịch để thử Độ trong và màu sắc của dung dịch S2, lọc phần còn lại qua phễu lọc thủy tinh xốp, số độ xốp 16 (Phụ lục 3.4).

Độ trong và màu sắc của dung dịch S2

Dung dịch S2 phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 0,15 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT)* vào 100 ml dung dịch S2. Dung dịch thu được phải chuyển sang màu xanh khi thêm không quá 1,0 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)*. Thêm 0,2 ml *dung dịch methyl da cam (TT)* vào 100 ml dung dịch S2. Dung dịch thu được phải chuyển từ màu vàng sang da cam khi thêm không quá 1,5 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*.

Độ hấp thụ

Độ hấp thụ của dung dịch S2 (Phụ lục 4.1) tại các bước sóng trong khoảng từ 220 nm đến 340 nm không được quá 0,2.

Chất khử

Thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)* và 20 ml *dung dịch kali permanganat 0,01 N (CĐ)* vào 20 ml dung dịch S2. Đun sôi với sinh hàn hồi lưu trong 3 min, làm nguội ngay. Thêm 1 g *kali iodid (TT)* và chuẩn độ ngay bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)*, sử dụng 0,25 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chất chỉ thị. Đồng thời tiến hành mẫu trắng. Chênh lệch thể tích giữa 2 lần chuẩn độ mẫu thử và mẫu trắng không được quá 0,5 ml.

Các amid và acid stearic

Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4)

Bản mỏng: Dùng 2 bản mỏng *silica gel* GF_{254}.

Dung môi khai triển:

Dung môi 1: *Ethanol - trimethylpentan* (25 : 75).

Dung môi 2: *Hexan (TT)*.

Dung môi 3: *Methanol - methylen clorid* (5 : 95).

Dung dịch thử: Bay hơi 100 ml dung dịch S1 đến khô ở 45 °C trong chân không. Hòa tan cắn trong 2 ml *methylen clorid (TT)* đã được acid hóa.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 20 mg acid stearic chuẩn (phụ gia chất dẻo 19) trong 10 ml *methylen clorid (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 40 mg phụ gia chất dẻo 20 chuẩn trong 10 ml *methylen clorid (TT)*. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 5 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 40 mg phụ gia chất dẻo 21 chuẩn trong 10 ml *methylen clorid (TT)*. Pha loãng 1 ml dung dịch thu được thành 5 ml với cùng dung môi.
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên 2 bản mỏng 10 µl mỗi dung dịch trên.
Bản mỏng thứ nhất: Sử dụng dung môi 1, triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm. Để khô bản mỏng. Phun *dung dịch muối natri diclorophenolindophenol 0,2 % trong ethanol (TT)*, sấy khô vài phút trong tủ sấy ở nhiệt độ 120 °C để hiện vết rõ. Bất kỳ vết nào tương ứng với phụ gia chất dẻo 19 trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1).
Bản mỏng thứ hai: Sử dụng dung môi 2, triển khai sắc ký đến khi dung môi đi được khoảng 13 cm. Để khô bản mỏng; tiếp tục triển khai bản mỏng này lần 2 với dung môi 3 đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm. Để khô bản mỏng. Phun *dung dịch acid phosphomolybdic 4 % trong ethanol (TT)*. Sấy trong tủ sấy ở 120 °C cho tới khi xuất hiện vết. Bất kỳ vết nào tương ứng với phụ gia chất dẻo 21 hoặc phụ gia chất dẻo 20 trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử đều không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) và (3) tương ứng.

Chất chống oxy hóa phenolic

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: *Nước - tetrahydrofuran - acetonitril* (10 : 30 : 60).
Hỗn hợp dung môi: *Acetonitril - tetrahydrofuran* (50 : 50).
Dung dịch thử (1): Bay hơi 50 ml dung dịch S1 trong chân không ở 45 °C tới khô. Hòa tan cắn trong 5,0 ml hỗn hợp dung môi.
Dung dịch thử (2): Bay hơi 50 ml dung dịch S1 trong chân không ở 45 °C tới khô. Hòa tan cắn trong 5,0 ml *methylen clorid (TT)*.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25 mg butylhydroxytoluen chuẩn (phụ gia chất dẻo 07), 40 mg phụ gia chất dẻo 10 chuẩn, 40 mg phụ gia chất dẻo 09 chuẩn và 40 mg phụ gia chất dẻo 11 chuẩn trong 10 ml hỗn hợp dung môi. Pha loãng 2 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 40 mg phụ gia chất dẻo 11 chuẩn và 40 mg phụ gia chất dẻo 12 chuẩn trong 10 ml *methylen clorid (TT)*. Pha loãng 2 ml dung dịch thu được thành 50 ml với cùng dung môi.
Điều kiện sắc ký:
Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), nhồi pha tĩnh C (5 µm).
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 280 nm.
Thể tích tiêm: 20 µl.
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (1) và dung dịch đối chiếu (1).
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), độ phân giải giữa pic tương ứng với phụ gia chất dẻo 09 và phụ gia chất dẻo 10 không nhỏ hơn 2,0. Số đĩa lý thuyết của cột tính theo pic của phụ gia chất dẻo 07 phải không nhỏ hơn 2500.
Giới hạn:
Sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (1) chỉ có những pic chính tương ứng với các pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (1) với thời gian lưu trên 2 min.
Diện tích của các pic trên sắc ký đồ của dung dịch thử (1) không được lớn hơn diện tích của các pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1), trừ pic rửa giải cuối cùng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1).
Nếu trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (1) có 1 pic cùng thời gian lưu với pic chất chống oxy hóa rửa giải cuối cùng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (1) thì tiến hành phép thử với các thay đổi như sau:
Pha động: Nước - 2-propanol - methanol (5 : 45 : 50).
Cách tiến hành:
Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (2) và dung dịch đối chiếu (2).
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống: Trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (2), độ phân giải giữa pic của phụ gia chất dẻo 11 và phụ gia chất dẻo 12 không nhỏ hơn 2,0.
Giới hạn:
Sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (2) chỉ có những pic chính tương ứng với các pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (2) với thời gian lưu trên 3 min.
Diện tích của các pic thu được từ dung dịch thử (2) không được lớn hơn diện tích các pic tương ứng thu được từ dung dịch đối chiếu (2).

Chất tan trong hexan

Cho 5 g nguyên liệu cần kiểm tra vào một bình thủy tinh borosilicat cổ mài. Thêm 50 ml *hexan (TT)*, đun sôi với sinh hàn hồi lưu trên cách thủy trong 4 h, khuấy liên tục. Làm nguội trong nước đá, có thể tạo thành một lớp gel. Chuẩn bị một bộ phễu lọc thủy tinh xốp, số độ xốp 16 (Phụ lục 3.4) có bộ vỏ làm lạnh bằng nước đá và có thể dùng lọc hút dưới áp suất giảm để tăng tốc độ lọc. Để lạnh bộ lọc 15 min, sau đó lọc dung dịch hexan dưới áp suất 27 kPa, không rửa cắn. Thời gian lọc không được quá 5 min. Bay hơi 20 ml dịch lọc đến khô trên cách thủy. Làm khô ở 100 °C trong 1 h. Khối lượng cắn thu được không được quá 40 mg (2 %) đối với copolymer dùng làm đồ đựng và không quá 0,1 g (5 %) với chất copolymer dùng làm dây truyền dịch.

Tro sulfat

Không được quá 1,2 % (Phụ lục 9.9, Phương pháp 2).
Dùng 5,0 g nguyên liệu cần kiểm tra.

Định lượng

Cho từ 0,250 g đến 1,000 g nguyên liệu cần kiểm tra (tùy theo hàm lượng vinyl acetat trong copolymer cần định lượng) vào một bình nón nút mài 300 ml, có sẵn khuấy từ. Thêm 40 ml *xylen (TT)*. Đun sôi với sinh hàn hồi lưu trong 4 h, khuấy liên tục. Tiếp tục khuấy từ, để nguội cho tới khi bắt đầu xuất hiện tủa thì thêm từ từ 25,0 ml *dung dịch kali hydroxyd trong ethanol (TT_1)*. Tiếp tục đun sôi với sinh hàn hồi lưu và khuấy liên tục trong 3 h. Để nguội trong khi

vẫn khuấy liên tục, rửa sinh hàn hồi lưu bằng 50 ml *nước* và thêm 30,0 ml *dung dịch acid sulfuric 0,1 N (CD)* vào bình. Chuyển toàn bộ hỗn hợp trong bình vào cốc có dung tích 400 ml, rửa bình 2 lần, mỗi lần với 50 ml *dung dịch natri sulfat khan 20 % (TT)* và tiếp tục rửa 3 lần, mỗi lần 20 ml *nước*. Gộp toàn bộ dịch rửa vào cốc chứa dung dịch ban đầu. Chuẩn độ acid sulfuric thừa bằng *dung dịch natri hydroxyd 0,1 N (CD)*, xác định điểm tương đương bằng phương pháp chuẩn độ đo điện thế (Phụ lục 10.2). Song song tiến hành chuẩn độ mẫu trắng.

1 ml *dung dịch acid sulfuric 0,1 N (CD)* tương ứng với 8,609 mg vinyl acetat.

17.9.6 POLYOLEFIN

Định nghĩa

Polyolefin thu được bằng cách polymer hóa ethylen hoặc propylen, hoặc bằng cách copolymer hóa hỗn hợp cả hai chất trên mà chứa không quá 25 % các đồng dẳng cao hơn (C_4 tới C_{10}) hoặc các acid carboxylic hoặc các ester. Một số nguyên liệu có thể là hỗn hợp các polyolefin.

Điều chế

Một số phụ gia chất dẻo được thêm vào trong quá trình polymer hóa nhằm tối ưu hóa các đặc tính hóa học, vật lý và cơ học để đáp ứng yêu cầu của mục đích sử dụng. Tất cả các phụ gia chất dẻo này đều phải có trong Danh sách phụ gia chất dẻo cho phép với hàm lượng tối đa nằm trong giới hạn cho phép quy định với từng sản phẩm.

Polyolefin có thể chứa tối đa 3 chất chống oxy hóa, một hoặc một vài chất bôi trơn hoặc titan dioxyd được dùng như chất chắn sáng khi nguyên liệu yêu cầu phải có khả năng chống ánh sáng.

Các chất chống oxy hóa và giới hạn cho phép quy định như sau:

- butylhydroxytoluen (phụ gia chất dẻo 07): Không quá 0,125 %,
- pentaerythrityl tetrakis[3-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)propionat] (phụ gia chất dẻo 09): Không quá 0,3 %;
- 1,3,5-tris(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxybenzyl)-*s*-triazin-2,4,6(*1H,3H,5H*)-trion (phụ gia chất dẻo 13): Không quá 0,3 %;
- octadecyl 3-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)propionat (phụ gia chất dẻo 11): Không quá 0,3 %;
- ethylen bis[3,3-bis[3-(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxyphenyl]-butanoat] (phụ gia chất dẻo 08): Không quá 0,3 %;
- dioctadecyl disulfid (phụ gia chất dẻo 15): Không quá 0,3 %;
- 4,4',4''-(2,4,6-trimethylbenzen-1,3,5-triyltrismethylen)-trio[2,6-bis(1,1-dimethylethyl)phenol] (phụ gia chất dẻo 10): Không quá 0,3 %;
- 2,2'-bis(octadecyloxy)-5,5'-spirobi[1,3,2-dioxa-phosphinan] (phụ gia chất dẻo 14): Không quá 0,3 %;
- didodecyl 3,3'-thiodipropionat (phụ gia chất dẻo 16): Không quá 0,3 %;
- dioctadecyl 3,3'-thiodipropionat (phụ gia chất dẻo 17): Không quá 0,3 %;
- tris[2,4-bis(1,1-dimethylethyl)phenyl] phosphit (phụ gia chất dẻo 12): Không quá 0,3 %;
- phụ gia chất dẻo 18: Không quá 0,1 %;
- copolymer của hỗn hợp dimethyl succinat và (4-hydroxy-2,2,6,6-tetramethylpiperidin-1-yl) ethanol (phụ gia chất dẻo 22): Không quá 0,3 %;

Tổng lượng các phụ gia chất dẻo chống oxy hóa kể trên không được quá 0,3 %.

Các copolymer này cũng có thể chứa:

- hydrotalcit: Không quá 0,5 %,
- các alkanamid: Không quá 0,5 %,
- các alkenamid: Không quá 0,5 %,
- natri silico-aluminat: Không quá 0,5 %,
- silica: Không quá 0,5 %,
- natri benzoat: Không quá 0,5 %,
- ester hoặc muối của acid béo: Không quá 0,5 %,
- trinatri phosphat: Không quá 0,5 %,
- parafin lỏng: Không quá 0,5 %,
- kẽm oxyd: Không quá 0,5 %,
- talc: Không quá 0,5 %,
- magnesi oxyd: Không quá 0,2 %,
- calci stearat hoặc kẽm stearat hoặc hỗn hợp cả 2 chất trên: Không quá 0,5 %,
- titan dioxyd: Không quá 4 %.

Nhà cung cấp nguyên liệu phải chứng minh được các thành phần của nguyên liệu làm mẫu điển hình cho mỗi lô sản xuất đều có chất lượng và hàm lượng đạt yêu cầu.

Tính chất

Dạng bột, hạt, cốm, hoặc chuyển dạng thành các phiến mỏng có độ dày khác nhau, hoặc các dạng đồ đựng; thực tế không tan trong nước, tan trong các hydrocarbon thơm nóng, thực tế không tan trong ethanol, hexan và methanol; trở nên mềm ở nhiệt độ từ 65 °C và 165 °C; khi cháy cho ngọn lửa màu xanh.

Định tính

Nếu cần, cắt nhỏ nguyên liệu cần kiểm tra thành các mảnh nhỏ có kích thước mỗi chiều không quá 1 cm.

A. Thêm 10 ml *toluen (TT)* vào 0,25 g nguyên liệu cần kiểm tra và đun sôi hồi lưu trong khoảng 15 min. Nhỏ vài giọt dung dịch thu được lên một phiến natri clorid, bay hơi dung môi ở 80 °C trong tủ sấy. Đo phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2). Phổ hấp thụ hồng ngoại của nguyên liệu cần kiểm tra phải có các cực đại đặc trưng ở các số sóng sau: 2920 cm^{-1}, 2850 cm^{-1}, 1475 cm^{-1}, 1465 cm^{-1}, 1380 cm^{-1}, 1170 cm^{-1}, 725 cm^{-1}, 720 cm^{-1}; phổ thu được phải giống với phổ của nguyên liệu đối chiếu. Nếu nguyên liệu cần kiểm tra ở dạng phiến mỏng, có thể xác định trực tiếp phổ hấp thụ hồng ngoại trên một mảnh có kích thước phù hợp.

B. Nguyên liệu cần kiểm tra phải đáp ứng Các phép thử bổ sung tương ứng với các phụ gia chất dẻo có trong thành phần.

C. Trộn khoảng 20 mg nguyên liệu cần kiểm tra với 1 g *kali hydrosulfat (TT)* trong một chén platin và đun nóng tới

khi chảy hoàn toàn. Để nguội, thêm 20 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)*. Đun nóng nhẹ, lọc. Thêm vào dịch lọc thu được 1 ml *acid phosphoric (TT)* và 1 ml *dung dịch hydrogen peroxyd đậm đặc*. Nếu nguyên liệu cần kiểm tra có dùng titan dioxyd để làm chất chắn sáng thì sẽ xuất hiện màu vàng cam.

Chuẩn bị các dung dịch S1, S2, S3

Nếu cần, cắt các nguyên liệu cần kiểm tra thành các mảnh nhỏ có kích thước mỗi chiều không quá 1 cm.

Dung dịch S1: Cho 25 g nguyên liệu cần kiểm tra vào một bình thủy tinh borosilicat cổ mài. Thêm 500 ml *nước để pha thuốc tiêm* và đun sôi dưới sinh hàn hồi lưu trong 5 h. Để nguội và gạn. Giữ một phần dung dịch để kiểm tra độ trong và màu sắc của dung dịch, lọc phần còn lại qua phễu lọc thủy tinh xốp, số độ xốp 16 (Phụ lục 3.4). Sử dụng dung dịch S1 trong vòng 4 h sau khi pha.

Dung dịch S2: Cho 2,0 g nguyên liệu cần kiểm tra vào một bình thủy tinh borosilicat cổ mài. Thêm 80 ml *toluen (TT)*, đun sôi dưới sinh hàn hồi lưu trong 90 min, khuấy liên tục. Để nguội đến 60 °C, vừa thêm 120 ml *methanol (TT)* vừa khuấy liên tục. Lọc dung dịch thu được qua phễu lọc thủy tinh xốp, số độ xốp 16 (Phụ lục 3.4). Rửa bình và phễu lọc bằng 25 ml hỗn hợp gồm 40 ml *toluen (TT)* và 60 ml *methanol (TT)*. Gộp dịch rửa và dịch lọc, pha loãng hỗn hợp thu được thành 250 ml với cùng hỗn hợp dung môi. Song song tiến hành mẫu trắng.

Dung dịch S3: Cho 100 g nguyên liệu cần kiểm tra vào một bình nón thủy tinh borosilicat cổ mài. Thêm 250 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,1 N (CĐ)* và đun sôi dưới sinh hàn hồi lưu trong 1 h, khuấy liên tục. Để nguội, gạn lấy dung dịch.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S1 phải trong (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Thêm 0,15 ml *dung dịch xanh bromothymol (TT_1)* vào 100 ml dung dịch S1. Màu của dung dịch thu được phải chuyển sang xanh khi thêm không quá 1,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)*.

Thêm 0,2 ml *dung dịch methyl đỏ cam (TT)* vào 100 ml dung dịch S1. Màu của dung dịch thu được phải chuyển từ vàng sang đỏ cam khi thêm không quá 1 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*.

Độ hấp thụ

Độ hấp thụ của dung dịch S1 (Phụ lục 4.1) tại các bước sóng từ 220 nm đến 340 nm không được quá 0,2.

Chất khử

Thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)* và 20 ml *dung dịch kali permanganat 0,01 N (CĐ)* vào 20 ml dung dịch S1. Đun sôi hồi lưu trong 3 h và làm lạnh ngay. Thêm 1 g *kali iodid (TT)*, chuẩn độ ngay bằng *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)* với chỉ thị là 0,25 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)*. Song song tiến hành một mẫu trắng. Chênh lệch thể tích giữa hai lần chuẩn độ không được quá 3,0 ml.

Chất tan trong hexan

Cho 10 g nguyên liệu cần kiểm tra vào một bình nón thủy tinh borosilicat cổ mài. Thêm 100 ml *hexan (TT)* và đun sôi dưới sinh hàn hồi lưu trong 4 h, khuấy liên tục. Làm nguội trong nước đá và lọc nhanh (thời gian lọc không được quá 5 min; có thể tăng tốc độ lọc nếu cần bằng cách lọc giảm áp) qua 1 phễu lọc thủy tinh xốp, số độ xốp 16 (Phụ lục 3.4), duy trì dung dịch ở khoảng 0 °C. Bay hơi trên cách thủy 20 ml dịch lọc trong một cốc thủy tinh borosilicat đã được cân bì. Sấy khô cắn ở 100 °C đến 105 °C trong 1 h. Khối lượng cắn thu được phải nằm trong khoảng 10 % của cắn thu được từ nguyên liệu làm mẫu điển hình và không quá 5 %.

Nhôm

Không quá 1 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử trong plasma của argon (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Dùng dung dịch S3.

Dãy dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch nhôm mẫu 200 phần triệu Al (TT)* bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.

Đo cường độ phát xạ của nhôm ở bước sóng 396,15 nm, hiệu chỉnh đường nền ở bước sóng 396,25 nm.

Sử dụng dung dịch acid hydrocloric 0,1 M không có nhôm.

Titan

Không quá 1 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử trong plasma của argon (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Dung dịch S3.

Dãy dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch titan mẫu 100 phần triệu Ti (TT)* bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.

Đo cường độ phát xạ của nhôm ở bước sóng 336,12 nm, hiệu chỉnh đường nền ở bước sóng 336,16 nm.

Sử dụng dung dịch acid hydrocloric 0,1 M không có titan.

Kẽm

Không quá 1 phần triệu.

Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).

Dung dịch thử: Dung dịch S3.

Dãy dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch kẽm mẫu 10 phần triệu Zn (TT)* bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.

Đo độ hấp thụ tại bước sóng 213,9 nm, sử dụng đèn cathod rỗng kẽm làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - acetylen.

Sử dụng dung dịch acid hydrocloric 0,1 M không có kẽm.

Kim loại nặng

Không được quá 2,5 phần triệu (Phụ lục 9.4.8).

Bay hơi 50 ml dung dịch S3 đến còn khoảng 5 ml trên cách thủy, pha loãng thành 20 ml bằng *nước*. Lấy 12 ml dung dịch thu được tiến hành thử theo phương pháp 1. Dùng 2,5 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Tro sulfat

Không quá 1,0 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 2).

Dùng 5,0 g nguyên liệu cần kiểm tra.

Giới hạn này không áp dụng cho nguyên liệu cần kiểm tra có dùng titan dioxyd để làm chất chắn sáng.

Các phép thử bổ sung

Tùy theo yêu cầu đối với nguyên liệu cần kiểm tra, sẽ phải thực hiện toàn bộ hoặc một số phép thử sau đây:

Chất chống oxy hóa phenolic

Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).

Hỗn hợp dung môi: Acetonitril - tetrahydrofuran.

Dung dịch thử (1): Bay hơi 50 ml dung dịch S2 đến khô trong chân không ở 45 °C. Hòa tan cắn trong 5,0 ml hỗn hợp dung môi. Chuẩn bị một dung dịch mẫu trắng từ dung dịch S2 mẫu trắng.

Dung dịch thử (2): Bay hơi 50 ml dung dịch S2 đến khô trong chân không ở 45 °C. Hòa tan cắn trong 5,0 ml *methylen clorid (TT)*. Chuẩn bị dung dịch mẫu trắng từ dung dịch dung dịch S2 mẫu trắng.

Dung dịch thử (3): Bay hơi 50 ml dung dịch S2 đến khô trong chân không ở 45 °C. Hòa tan cắn trong 5,0 ml hỗn hợp đồng thể tích của *acetonitril (TT)* và dung dịch *tert-butylhydroperoxyd (TT)* 1 % trong *tetrahydrofuran (TT)*. Đậy nắp bình và để yên 1 h. Chuẩn bị dung dịch mẫu trắng từ dung dịch dung dịch S2 mẫu trắng.

Trong các dung dịch đối chiếu dưới đây chỉ cần chuẩn bị các dung dịch đối chiếu cần thiết cho việc phân tích chất chống oxy hoá phenolic có trong nguyên liệu cần kiểm tra.

Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25,0 mg butylhydroxytoluen chuẩn (phụ gia chất dẻo 07) và 60,0 mg phụ gia chất dẻo 08 chuẩn trong 10,0 ml hỗn hợp dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 60,0 mg phụ gia chất dẻo 09 chuẩn và 60,0 mg phụ gia chất dẻo 10 chuẩn trong 10,0 ml hỗn hợp dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 60,0 mg phụ gia chất dẻo 11 chuẩn và 60,0 mg phụ gia chất dẻo 12 chuẩn trong 10,0 ml *methylen clorid (TT)*. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 25,0 mg phụ gia chất dẻo 07 chuẩn trong 10,0 ml hỗn hợp dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (5): Hòa tan 60,0 mg phụ gia chất dẻo 08 chuẩn trong 10,0 ml hỗn hợp dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (6): Hòa tan 60,0 mg phụ gia chất dẻo 13 chuẩn trong 10,0 ml hỗn hợp dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (7): Hòa tan 60,0 mg phụ gia chất dẻo 09 chuẩn trong 10,0 ml hỗn hợp dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (8): Hòa tan 60,0 mg phụ gia chất dẻo 10 chuẩn trong 10,0 ml hỗn hợp dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (9): Hòa tan 60,0 ml phụ gia chất dẻo 11 chuẩn trong 10,0 ml *methylen clorid (TT)*. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (10): Hòa tan 60,0 ml phụ gia chất dẻo 12 chuẩn trong 10,0 ml *methylen clorid (TT)*. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (11): Hòa tan 20,0 mg phụ gia chất dẻo chuẩn 18 trong 10,0 ml hỗn hợp đồng thể tích của *acetonitril (TT)* và dung dịch *tert-butylhydroperoxyd (TT)* 1 % trong *tetrahydrofuran (TT)*. Đậy nắp bình và để yên 1 h. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml bằng hỗn hợp dung môi.

A. Nếu nguyên liệu cần kiểm tra có chứa phụ gia chất dẻo 07 hoặc/và phụ gia chất dẻo 08, tiến hành như sau:

Pha động: Nước - acetonitril (30 : 70).

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

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

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiêm các dung dịch sau: dung dịch thử (1), dung dịch mẫu trắng của dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1), mỗi dung dịch đối chiếu (4) hoặc (5), hoặc dung dịch đối chiếu (4) và (5). Tiến hành sắc ký trong 30 min.

Tính phù hợp của hệ thống:

Độ phân giải giữa pic của phụ gia chất dẻo 07 và phụ gia chất dẻo 08 trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) không được nhỏ hơn 8,0.

Sắc ký đồ của dung dịch thử (1) chỉ cho các pic của các chất chống oxy hóa trong thành phần đã đăng ký và những pic nhỏ tương ứng với các pic trên sắc ký đồ của dung dịch mẫu trắng.

Giới hạn:

Diện tích các pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (1) phải nhỏ hơn các diện tích pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) và/hoặc (5).

B. Nếu nguyên liệu cần kiểm tra có chứa một hoặc nhiều hơn các phụ gia chất dẻo sau đây:

Phụ gia chất dẻo 09,

Phụ gia chất dẻo 10,

Phụ gia chất dẻo 11,

Phụ gia chất dẻo 12,
Phụ gia chất dẻo 13
thì tiến hành sắc ký với điều kiện đã nêu ở trên (phần A), nhưng có thay đổi như sau:
Pha động: Nước - tetrahydrofuran - acetonitril (10 : 30 : 60).
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (1), dung dịch mẫu trắng của dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (2) và các dung dịch đối chiếu tương ứng với các chất chống oxy hóa đã đăng ký có trong nguyên liệu cần kiểm tra thuộc danh mục trên.
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống:
Độ phân giải giữa pic của phụ gia chất dẻo 09 và phụ gia chất dẻo 10 trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) không được nhỏ hơn 2,0.
Sắc ký đồ của dung dịch thử (1) chỉ cho các pic của các chất chống oxy hóa trong thành phần đã đăng ký và các pic nhỏ tương ứng với các pic trên sắc ký đồ của dung dịch mẫu trắng.
Giới hạn:
Diện tích các pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (1) phải nhỏ hơn diện tích các pic tương ứng trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu của các chất chống oxy hóa đã nêu ở trên có trong thành phần nguyên liệu.
C. Nếu chất kiểm tra có chứa phụ gia chất dẻo 11 và/hoặc 12 thì tiến hành sắc ký với điều kiện đã nêu ở phần A, nhưng có thay đổi như sau:
Pha động: Nước - 2-propanol - methanol (5 : 45 : 50).
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (2), dung dịch mẫu trắng của dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (3) và dung dịch đối chiếu (9) hoặc (10), hoặc dung dịch đối chiếu (9) và (10).
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống:
Độ phân giải giữa pic của phụ gia chất dẻo 11 và phụ gia chất dẻo 12 trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3) không được nhỏ hơn 2,0.
Sắc ký đồ của dung dịch thử (2) chỉ cho các pic của các chất chống oxy hóa trong thành phần đã đăng ký và các pic nhỏ tương ứng với các pic trong sắc ký đồ của dung dịch mẫu trắng.
Giới hạn:
Diện tích các pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (2) phải nhỏ hơn diện tích các pic tương ứng trên các sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (9) và/hoặc (10).
D. Nếu nguyên liệu cần kiểm tra có chứa phụ gia chất dẻo 18, tiến hành sắc ký với điều kiện đã nêu ở phần A, nhưng có thay đổi như sau:
Pha động: Tetrahydrofuran - acetonitril (20 : 80).
Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.
Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (3), dung dịch mẫu trắng của dung dịch thử (3) và dung dịch đối chiếu (11).
Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống:
Độ phân giải giữa 2 pic chính (thời gian lưu khoảng 3,5 và 5,8) trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (11) không được nhỏ hơn 6,0.
Sắc ký đồ của dung dịch thử (3) chỉ cho các pic của các chất chống oxy hóa trong thành phần đã đăng ký và các pic nhỏ tương ứng với các pic trong sắc ký đồ của dung dịch mẫu trắng.
Giới hạn:
Diện tích các pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (3) phải nhỏ hơn diện tích các pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (11).

Chất chống oxy hóa non-phenolic
Phương pháp sắc ký lớp mỏng (Phụ lục 5.4).
Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.
Dung môi khai triển:
Dung môi 1: *Hexan (TT).*
Dung môi 2: *Methylen clorid (TT).*
Dung dịch thử (4): Bay hơi 100 ml dung dịch S2 đến khô trong chân không ở 45 °C. Hòa tan cắn trong 2 ml *methylen clorid đã được acid hóa (TT).*
Dung dịch đối chiếu (12): Hòa tan 60 mg phụ gia chất dẻo 14 chuẩn trong 10 ml methylen clorid. Pha loãng 2 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng *methylen clorid đã được acid hóa (TT).*
Dung dịch đối chiếu (13): Hòa tan 60 mg phụ gia chất dẻo 15 chuẩn trong 10 ml *methylen clorid (TT).* Pha loãng 2 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng *methylen clorid đã được acid hóa (TT).*
Dung dịch đối chiếu (14): Hòa tan 60 mg phụ gia chất dẻo 16 chuẩn trong 10 ml *methylen clorid (TT).* Pha loãng 2 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng *methylen clorid đã được acid hóa (TT).*
Dung dịch đối chiếu (15): Hòa tan 60 mg phụ gia chất dẻo 17 chuẩn trong 10 ml *methylen clorid (TT).* Pha loãng 2 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng *methylen clorid đã được acid hóa (TT).*
Dung dịch đối chiếu (16): Hòa tan 60 mg phụ gia chất dẻo 16 chuẩn và 60 mg phụ gia chất dẻo 17 chuẩn trong 10 ml *methylen clorid (TT).* Pha loãng 2 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng *methylen clorid đã được acid hóa (TT).*
Cách tiến hành: Chấm riêng biệt trên bản mỏng 20 µl mỗi dung dịch thử (4), dung dịch đối chiếu (16) và mỗi dung dịch đối chiếu tương ứng với tất cả các chất chống oxy hóa phenolic và non-phenolic được công bố có trong thành phần nguyên liệu cần kiểm tra.
Triển khai sắc ký với dung môi 1 đến khoảng 18 cm. Để khô bản mỏng. Tiếp tục triển khai sắc ký với dung môi 2 đến khoảng 17 cm. Để khô bản mỏng và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Phun *dung dịch iod 5 % trong ethanol (TT),* sau 10 min đến 15 min quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Không được có bất cứ vết nào trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (4) đậm hơn vết tương ứng trên sắc ký đồ thu được từ các dung dịch đối chiếu. Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (16) cho 2 vết riêng biệt.

Phụ gia chất dẻo 22
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3).
Pha động: Ethanol - hexan (11 : 89).

Dung dịch thử: Bay hơi 25 ml dung dịch S2 đến khô trong chân không ở 45 °C. Hòa tan cắn trong 10 ml *toluen (TT)* và 10 ml dung dịch *tetrabutylamoni hydroxyd (TT)* 1 % trong hỗn hợp gồm 35 thể tích *toluen (TT)* và 65 thể tích *ethanol (TT)*. Đun sôi dưới sinh hàn hồi lưu trong 3 h. Để nguội và lọc nếu cần.

Dung dịch đối chiếu: Hòa tan 30 mg phụ gia chất dẻo chuẩn 22 trong 50 ml *toluen (TT)*. Thêm 1 ml dung dịch thu được vào 25 ml dung dịch S2 mẫu trắng và bay hơi đến khô trong chân không ở 45 °C. Hòa tan cắn trong 10 ml *toluen (TT)* và 10 ml dung dịch *tetrabutylamoni hydroxyd (TT)* 1 % trong hỗn hợp gồm 35 thể tích *toluen (TT)* và 65 thể tích *ethanol (TT)*. Đun sôi dưới sinh hàn hồi lưu trong 3 h. Để nguội và lọc nếu cần.

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm), nhồi *aminopropylsilyl silica gel dùng cho sắc ký* (5 µm).

Detector quang phổ tử ngoại đặt ở bước sóng 227 nm.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thời gian sắc ký: 10 min.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch đối chiếu, ghi sắc ký đồ. Độ phân giải giữa các pic tương ứng với thành phần "diol" và dung môi của dung dịch đối chiếu phải không nhỏ hơn 7.

Tiến hành sắc ký lần lượt với dung dịch thử và dung dịch đối chiếu, trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử, diện tích pic tương ứng với thành phần "diol" trong phụ gia chất dẻo 22 phải nhỏ hơn diện tích pic tương ứng trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu.

Các amid và stearat

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển:

Dung môi 1: *Ethanol - trimethylpentan* (25: 75).

Dung môi 2: *Hexan (TT)*.

Dung môi 3: *Methanol - methylen clorid* (5: 95).

Dung dịch thử: Dùng dung dịch thử (4) mô tả trong phần thử Chất chống oxy hóa non-phenolic.

Dung dịch đối chiếu (17): Hòa tan 20 mg acid stearic (phụ gia chất dẻo 19 chuẩn) trong 10 ml *methylen clorid (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (18): Hòa tan 40 mg oleamid (phụ gia chất dẻo 20 chuẩn) trong 20 ml *methylen clorid (TT)*.

Dung dịch đối chiếu (19): Hòa tan 40 mg erucamid (phụ gia chất dẻo 21 chuẩn) trong 20 ml *methylen clorid (TT)*.

Cách tiến hành: Dùng hai bản mỏng.

Chấm lên mỗi bản mỏng 10 µl dung dịch thử (4).

Chấm tiếp lên bản mỏng thứ nhất 10 µl dung dịch đối chiếu (17).

Tiếp tục chấm riêng biệt lên bản mỏng thứ hai 10 µl dung dịch đối chiếu (18) và (19).

Bản mỏng thứ nhất: Triển khai sắc ký với hệ dung môi (1) đến khoảng 10 cm. Để khô bản mỏng trong không khí. Phun dung dịch *2,6 dichlorophenol-indophenol (TT)* 0,2 % trong *ethanol (TT)* và sấy vài phút ở 120 °C để hiện vết. Bất cứ vết nào tương ứng với phụ gia chất dẻo 19 trên sắc ký đồ của dung dịch thử (4) đều phải có cùng vị trí (R_f khoảng 0,5) nhưng không được đậm hơn vết trên sắc ký đồ của dung dịch chuẩn (17).

Bản mỏng thứ hai: Triển khai sắc ký với hệ dung môi (2) đến khoảng 13 cm. Để khô bản mỏng ngoài không khí. Tiếp tục triển khai sắc ký ở bản mỏng này lần 2 với dung môi 3, đến khi dung môi đi được khoảng 10 cm. Để khô bản mỏng. Phun *dung dịch acid phosphomolybdic 5 % trong ethanol (TT)*. Sấy ở 120 °C cho tới khi hiện vết. Bất kỳ vết nào tương ứng với phụ gia chất dẻo 20 hoặc phụ gia chất dẻo 21 trên sắc ký đồ dung dịch thử (4) phải có cùng vị trí (R_f khoảng 0,2) nhưng không được đậm hơn màu của vết tương ứng trên sắc ký đồ dung dịch đối chiếu (18) và (19).

17.9.7 POLYPROPYLEN DÙNG LÀM DỤNG CỤ ĐỰNG VÀ NÚT CHO THUỐC TIÊM TRUYỀN VÀ THUỐC NHỎ MẮT

Polypropylen bao gồm đồng polymer (homopolymer) của propylen hoặc một copolymer của propylen với không quá 25 % ethylen hoặc một hỗn hợp (alloy) của polypropylen với không quá 25 % polyethylen. Nguyên liệu có thể chứa các chất phụ gia.

Sản xuất

Một số lượng nhất định chất phụ gia được thêm vào polymer nhằm tối ưu hóa đặc tính hóa học, lý học và cơ học cho phù hợp với mục đích sử dụng. Tất cả các chất phụ gia này được lựa chọn từ danh mục đã được cho phép, mà ở đó có chỉ rõ hàm lượng tối đa được phép đối với mỗi sản phẩm.

Polypropylen có thể chứa tối đa 3 chất chống oxy hóa, một hoặc nhiều chất bôi trơn hoặc tác nhân hóa dẻo cũng như titan dioxyd được dùng làm chất chắn sáng khi nguyên liệu phải dùng để tránh ánh sáng.

- butylhydroxytoluen (phụ gia chất dẻo 07): Không được quá 0,125 %;
- pentaerythrityl tetrakis [3-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)propionat] (phụ gia chất dẻo 09): Không được quá 0,3 %;
- 1,3,5-tris(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxybenzyl)-s-triazin-2,4,6*(1H,3H,5H)*-trion (phụ gia chất dẻo 13): Không được quá 0,3 %;
- octadecyl 3-(3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxyphenyl)propionat (phụ gia chất dẻo 11): Không được quá 0,3 %;
- ethylen bis[3,3-bis[3-(1,1-dimethylethyl)-4-hydroxy phenyl]butanoat] (phụ gia chất dẻo 08): Không được quá 0,3 %;
- dioctadecyl disulfid (phụ gia chất dẻo 15): Không được quá 0,3 %;
- 2,2',2'',6,6',6''-hexa-*tert*-butyl-4,4',4''-[(2,4,6-trimethyl-1,3,5-benzentriyl)trismethylen]triphenol (phụ gia chất dẻo 10): Không quá 0,3 %;
- 2,2'-bis(octadecyloxy)-5,5'-spirobi[1,3,2-dioxaphosphinan] (phụ gia chất dẻo 14): Không quá 0,3 %;

– didodecyl 3,3'-thiodipropionat (phụ gia chất dẻo 16): Không quá 0,3 %;
– dioctadecyl 3,3'-thiodipropionat (phụ gia chất dẻo 17): Không quá 0,3 %;
– tris (2,4-di-*tert*-butylphenyl) phosphit (phụ gia chất dẻo 12): Không quá 0,3 %;

Tổng lượng các chất chống oxy hóa thêm vào đã nêu trên không được vượt quá 0,3 %.

– hydrotalcit: Không quá 0,5 %;
– alkanamid: Không quá 0,5 %;
– alkenamid: Không quá 0,5 %;
– natri silico-aluminat: Không quá 0,5 %;
– silica: Không quá 0,5 %;
– natri benzoat: Không quá 0,5 %;
– các ester hoặc muối của acid béo: Không quá 0,5 %;
– trinatri phosphat: Không quá 0,5 %;
– dầu parafin: Không quá 0,5 %;
– kẽm oxyd: Không quá 0,5 %;
– talc: Không quá 0,5 %;
– magnesi oxyd: Không quá 0,2 %;
– calci stearat hoặc kẽm stearat hay hỗn hợp của cả 2 chất: Không quá 0,5 %;
– titan dioxyd: Không quá 4 %, chỉ yêu cầu đối với nguyên liệu làm đồ đựng thuốc nhỏ mắt.

Nhà cung cấp nguyên liệu phải có khả năng để chứng minh rằng thành phần định tính, định lượng của mẫu điển hình là đạt yêu cầu đối với từng lô sản xuất.

Tính chất

Nguyên liệu ở dạng bột, giọt, hạt nhỏ hoặc sau khi chuyển đổi là những phiến trong mờ có độ dày khác nhau hoặc là những đồ đựng. Thực tế không tan trong nước, tan trong hydrocarbon thơm nóng, thực tế không tan trong ethanol, trong hexan và trong methanol. Nguyên liệu trở nên mềm ở nhiệt độ từ khoảng 120 °C.

Định tính

Nếu cần, có thể cắt nguyên liệu cần kiểm tra thành những mảnh nhỏ có kích thước mỗi cạnh không lớn hơn 1 cm.

A. Thêm 10 ml *toluen (TT)* vào 0,25 g nguyên liệu cần kiểm tra và đun sôi hồi lưu khoảng 15 min. Nhỏ một vài giọt dung dịch đang còn nóng lên trên một đĩa natri clorid và làm bốc hơi dung môi trong tủ sấy ở 80 °C. Đo phổ hấp thụ hồng ngoại (Phụ lục 4.2). Phổ hấp thụ hồng ngoại của nguyên liệu cần kiểm tra phải có các cực đại ở 1375 cm^{-1}, 1170 cm^{-1}, 995 cm^{-1} và 970 cm^{-1}. Phổ thu được phải phù hợp với phổ của nguyên liệu đã được chọn làm mẫu điển hình. Nếu nguyên liệu cần kiểm tra ở dạng phiến thì có thể đo phổ hấp thụ hồng ngoại trực tiếp trên một mảnh cắt có kích thước phù hợp.

B. Nguyên liệu cần kiểm tra đáp ứng yêu cầu của Các phép thử bổ sung tương ứng với phụ gia chất dẻo dưới đây.

C. Trộn khoảng 20 mg nguyên liệu cần kiểm tra với 1 g *kali hydrosulfat (TT)* trong chén nung platin và đun nóng cho nóng chảy hoàn toàn. Để nguội và thêm 20 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)*. Đun nóng nhẹ, lọc dung dịch thu được. Thêm vào dịch lọc 1 ml *acid phosphoric (TT)* và 1 ml *dung dịch hydrogen peroxyd đậm đặc*. Nếu nguyên liệu có thành phần chất chắn sáng bằng titan dioxyd, màu vàng cam sẽ xuất hiện.

Chuẩn bị các dung dịch S1, S2, S3

Nếu cần, có thể cắt nguyên liệu cần kiểm tra thành những mảnh nhỏ có kích thước mỗi cạnh không lớn hơn 1 cm.

Dung dịch S1: Sử dụng dung dịch S1 trong vòng 4 h sau khi pha.

Cho 25 g nguyên liệu cần kiểm tra vào một bình thủy tinh borosilicat cổ mài. Thêm 500 ml *nước để pha thuốc tiêm* và đun sôi hồi lưu trong 5 h. Để nguội và gạn. Để lại một phần dung dịch dùng cho phép thử độ trong và màu sắc của dung dịch, lọc phần còn lại qua phễu lọc thủy tinh xốp, độ xốp số 16 (Phụ lục 3.4).

Dung dịch S2: Cho 2,0 g nguyên liệu cần kiểm tra vào một bình nón bằng thủy tinh borosilicat cổ mài. Thêm 80 ml *toluen (TT)*, đun sôi hồi lưu và khuấy liên tục trong 1,5 h. Để nguội đến 60 °C, thêm và tiếp tục khuấy với 120 ml *methanol (TT)*. Lọc dung dịch qua phễu lọc thủy tinh xốp số 16 (Phụ lục 3.4). Rửa bình nón và phễu lọc với 25 ml hỗn hợp gồm 40 ml *toluen (TT)* và 60 ml *methanol (TT)*, gộp dịch rửa vào dịch lọc và pha loãng thành 250,0 ml bằng cùng hỗn hợp dung môi. Chuẩn bị một mẫu trắng trong cùng điều kiện.

Dung dịch S3: Cho 100 g nguyên liệu cần kiểm tra vào một bình nón bằng thủy tinh borosilicat cổ mài. Thêm 250 g *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*, đun sôi hồi lưu và khuấy liên tục trong 1 h. Để nguội và gạn lấy dung dịch.

Độ trong và màu sắc của dung dịch

Dung dịch S1 không được đục hơn hỗn dịch đối chiếu II (Phụ lục 9.2) và không màu (Phụ lục 9.3, phương pháp 2).

Giới hạn acid - kiềm

Lấy 100 ml dung dịch S1 thêm 0,15 ml *dung dịch xanh bromothylmol (TT_1)*. Dung dịch thu được phải chuyển sang màu xanh dương khi thêm không quá 1,5 ml *dung dịch natri hydroxyd 0,01 N (CĐ)*.

Lấy 100 ml dung dịch S1, thêm 0,2 ml *dung dịch methyl đỏ cam (TT)*. Dung dịch thu được phải chuyển từ màu vàng sang đỏ cam khi thêm không quá 1,0 ml *dung dịch acid hydrocloric 0,01 N (CĐ)*.

Độ hấp thụ ánh sáng

Độ hấp thụ ánh sáng của dung dịch S1 trong khoảng bước sóng từ 220 nm đến 340 nm không được lớn hơn 0,2 (Phụ lục 4.1).

Các chất khử

Thêm 1 ml *dung dịch acid sulfuric loãng (TT)* và 20 ml *dung dịch kali permanganat 0,01 N (CĐ)* vào 20 ml dung dịch S1. Đun sôi hồi lưu trong 3 min và làm nguội ngay lập tức. Thêm 1 g *kali iodid (TT)* và chuẩn độ ngay với *dung dịch natri thiosulfat 0,01 N (CĐ)*, dùng 0,25 ml *dung dịch hồ tinh bột (TT)* làm chỉ thị. Tiến hành chuẩn độ một mẫu trắng. Chênh lệch thể tích giữa hai lần chuẩn độ mẫu thử và mẫu trắng không được quá 0,5 ml.

Chất tan trong hexan
Cho 10 g nguyên liệu cần kiểm tra vào một bình nón bằng thủy tinh borosilicat cổ mài, dung tích 250 ml. Thêm 100 ml *hexan (TT)*, đun sôi hồi lưu trong 4 h, khuấy liên tục. Làm nguội trong nước đá và lọc nhanh qua phễu lọc thủy tinh xốp, độ xốp số 16 (Phụ lục 3.4), giữ nhiệt độ dung dịch ở 0 °C (thời gian lọc phải dưới 5 min; nếu cần có thể tăng tốc độ lọc bằng cách lọc giảm áp). Cho 20 ml dịch lọc vào một chén thủy tinh đã cân bì, bốc hơi trên cách thủy đến cạn. Sấy cắn trong tủ sấy ở 100 °C đến 105 °C trong 1 h. Khối lượng của cắn thu được phải ở trong khoảng 10 % của cắn thu được khi tiến hành với mẫu điển hình và không được quá 5 %.

Nhôm
Không được quá 1,0 phần triệu.
Xác định bằng phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử trong plasma argon (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Dung dịch S3.
Dãy dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch nhôm mẫu 200 phần triệu Al (TT)* bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Đo cường độ phát xạ của nhôm tại bước sóng 396,15 nm, hiệu chỉnh đường nền tại bước sóng 396,25 nm.
Sử dụng dung dịch acid hydrocloric 0,1 M không chứa nhôm.

Crom
Không được quá 0,05 phần triệu.
Xác định bằng phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử trong plasma argon (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Dung dịch S3.
Dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch crom mẫu 100 phần triệu Cr (TT)* bằng hỗn hợp dung môi gồm 2 thể tích *acid hydrocloric (TT)* và 8 thể tích *nước*.
Đo cường độ phát xạ của Crom tại bước sóng 205,55 nm, hiệu chỉnh đường nền tại bước sóng 205,50 nm.
Sử dụng acid hydrocloric không chứa crom.

Titan
Không được quá 1,0 phần triệu.
Xác định bằng phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử trong plasma của argon (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Dung dịch S3.
Dãy dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch titan mẫu 100 phần triệu Ti (TT)* bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Đo cường độ phát xạ của titan tại bước sóng 336,12 nm, hiệu chỉnh đường nền tại bước sóng 336,16 nm.
Sử dụng dung dịch acid hydrocloric 0,1 M không chứa titan.

Vanadi
Không được quá 0,1 phần triệu.
Xác định bằng phương pháp quang phổ phát xạ nguyên tử trong plasma của argon (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Dung dịch S3.
Dãy dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch vanadi mẫu 1 g/l V (TT)* bằng hỗn hợp dung môi gồm 2 thể tích *acid hydrocloric (TT)* và 8 thể tích *nước*.
Đo cường độ phát xạ của vanandi tại bước sóng 292,40 nm, hiệu chỉnh đường nền tại bước sóng 292,35 nm.
Sử dụng acid hydrocloric không chứa vanadi.

Kẽm
Không được quá 1,0 phần triệu.
Xác định bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (Phụ lục 4.4, phương pháp 1).
Dung dịch thử: Dung dịch S3.
Dãy dung dịch chuẩn: Pha loãng *dung dịch kẽm mẫu 10 phần triệu Zn (TT)* bằng *dung dịch acid hydrocloric 0,1 M (TT)*.
Đo độ hấp thụ tại bước sóng 213,9 nm, sử dụng đèn cathod rỗng kẽm làm nguồn bức xạ và ngọn lửa không khí - acetylen.
Sử dụng dung dịch acid hydrocloric 0,1 M không chứa kẽm.

Kim loại nặng
Không được quá 2,5 phần triệu (Phụ lục 9.4.8, phương pháp 1).
Lấy 50 ml dung dịch S3, cô trên cách thủy còn khoảng 5 ml rồi pha loãng thành 20,0 ml với *nước*. Lấy 12 ml dung dịch thu được để thử.
Dùng 2,5 ml *dung dịch chì mẫu 10 phần triệu Pb (TT)* để chuẩn bị mẫu đối chiếu.

Tro sulfat
Không được quá 1,0 % (Phụ lục 9.9, phương pháp 1).
Dùng 5,0 g nguyên liệu cần kiểm tra.
Giới hạn này không được áp dụng cho nguyên liệu có dùng titan dioxyd làm chất chắn sáng.

Các phép thử bổ sung
Tùy theo yêu cầu đối với nguyên liệu cần kiểm tra, sẽ phải thực hiện toàn bộ hoặc một số phép thử sau đây:

Chất chống oxy hoá phenolic
Phương pháp sắc ký lỏng (Phụ lục 5.3)
Hỗn hợp dung môi: Acetonitril - tetrahydrofuran (50 : 50)
Dung dịch thử (1): Bay hơi 50 ml dung dịch S2 trong chân không ở 45 °C tới khô. Hòa tan cắn trong 5,0 ml hỗn hợp dung môi. Song song chuẩn bị mẫu trắng từ dung dịch S2 mẫu trắng.
Dung dịch thử (2): Bay hơi 50 ml dung dịch S2 trong chân không ở 45 °C tới khô. Hòa tan cắn trong 5,0 ml *methylen clorid (TT)*. Song song chuẩn bị mẫu trắng từ dung dịch S2 mẫu trắng.
Trong các dung dịch đối chiếu dưới đây chỉ cần chuẩn bị các dung dịch đối chiếu cần thiết cho việc phân tích chất chống oxy hoá phenolic có trong nguyên liệu cần kiểm tra.
Dung dịch đối chiếu (1): Hòa tan 25,0 mg butylhydroxytoluen chuẩn (phụ gia chất dẻo 07) và 60,0 mg phụ gia chất dẻo 08 chuẩn trong 10,0 ml hỗn hợp dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.
Dung dịch đối chiếu (2): Hòa tan 60,0 mg phụ gia chất dẻo 09 chuẩn và 60,0 mg phụ gia chất dẻo 10 chuẩn trong

10,0 ml hỗn hợp dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (3): Hòa tan 60,0 mg phụ gia chất dẻo 11 chuẩn và 60,0 mg phụ gia chất dẻo 12 chuẩn trong 10,0 ml *methylen clorid (TT)*. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (4): Hòa tan 25,0 mg butylhydroxytoluen chuẩn (phụ gia chất dẻo 07) trong 10,0 ml hỗn hợp dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (5): Hòa tan 60,0 mg phụ gia chất dẻo 08 chuẩn trong 10,0 ml hỗn hợp dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (6): Hòa tan 60,0 mg phụ gia chất dẻo 13 chuẩn trong 10,0 ml hỗn hợp dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (7): Hòa tan 60,0 mg phụ gia chất dẻo 09 chuẩn trong 10,0 ml hỗn hợp dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (8): Hòa tan 60,0 mg phụ gia chất dẻo 10 chuẩn trong 10,0 ml hỗn hợp dung môi. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với cùng hỗn hợp dung môi.

Dung dịch đối chiếu (9): Hòa tan 60,0 mg phụ gia chất dẻo 11 chuẩn trong 10,0 ml *methylen clorid (TT)*. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (10): Hòa tan 60,0 mg phụ gia chất dẻo 12 chuẩn trong 10,0 ml *methylen clorid (TT)*. Pha loãng 2,0 ml dung dịch thu được thành 50,0 ml với cùng dung môi.

A. Nếu nguyên liệu cần kiểm tra có chứa phụ gia chất dẻo 07 hoặc/và phụ gia chất dẻo 08, tiến hành như sau:

Pha động: Nước - acetonitril (30 : 70).

Điều kiện sắc ký:

Cột kích thước (25 cm × 4,6 mm) được nhồi pha tĩnh C (5 µm).

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

Tốc độ dòng: 2 ml/min.

Thể tích tiêm: 20 µl.

Cách tiến hành:

Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (1), dung dịch mẫu trắng của dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (1), mỗi dung dịch đối chiếu (4) hoặc (5), hoặc dung dịch đối chiếu (4) và (5). Tiến hành sắc ký trong 30 min.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống:

Độ phân giải giữa pic của phụ gia chất dẻo 07 và phụ gia chất dẻo 08 trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (1) không được nhỏ hơn 8,0.

Sắc ký đồ của dung dịch thử (1) chỉ cho các pic của các chất chống oxy hóa trong thành phần đã đăng ký và và những pic nhỏ tương ứng với các pic trên sắc ký đồ của dung dịch mẫu trắng.

Giới hạn:

Diện tích các pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (1) phải nhỏ hơn các diện tích pic tương ứng trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (4) và/hoặc (5).

B. Nếu nguyên liệu cần kiểm tra có chứa một hoặc nhiều hơn các phụ gia chất dẻo sau đây:

Phụ gia chất dẻo 09,

Phụ gia chất dẻo 10,

Phụ gia chất dẻo 11,

Phụ gia chất dẻo 12,

Phụ gia chất dẻo 13.

thì tiến hành sắc ký với điều kiện đã nêu ở trên (phần A.), nhưng có thay đổi như sau:

Pha động: Nước - tetrahydrofuran - acetonitril (10 : 30 : 60).

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (1), dung dịch mẫu trắng của dung dịch thử (1), dung dịch đối chiếu (2) và các dung dịch đối chiếu tương ứng với các chất chống oxy hóa đã đăng ký có trong nguyên liệu cần kiểm tra thuộc danh mục trên.

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống:

Độ phân giải giữa pic của phụ gia chất dẻo 09 và phụ gia chất dẻo 10 trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (2) không được nhỏ hơn 2,0.

Sắc ký đồ của dung dịch thử (1) chỉ cho các pic của các chất chống oxy hóa trong thành phần đã đăng ký và các pic nhỏ tương ứng với các pic trên sắc ký đồ của dung dịch mẫu trắng.

Giới hạn:

Diện tích các pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (1) phải nhỏ hơn diện tích các pic tương ứng trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu của các chất chống oxy hóa đã nêu ở trên có trong thành phần nguyên liệu.

C. Nếu nguyên liệu cần kiểm tra có chứa phụ gia chất dẻo 11 và/hoặc 12 thì tiến hành sắc ký với điều kiện đã nêu ở phần A, nhưng có thay đổi như sau:

Pha động: Nước - 2-propanol - methanol (5 : 45 : 50).

Tốc độ dòng: 1,5 ml/min.

Cách tiến hành: Tiến hành sắc ký với dung dịch thử (2), dung dịch mẫu trắng của dung dịch thử (2), dung dịch đối chiếu (3) và dung dịch đối chiếu (9) hoặc (10), hoặc dung dịch đối chiếu (9) và (10).

Kiểm tra tính phù hợp của hệ thống:

Độ phân giải giữa pic của phụ gia chất dẻo 11 và phụ gia chất dẻo 12 trên sắc ký đồ thu được của dung dịch đối chiếu (3) không được nhỏ hơn 2,0.

Sắc ký đồ của dung dịch thử (2) chỉ cho các pic của các chất chống oxy hóa trong thành phần đã đăng ký và các pic nhỏ tương ứng với các pic trong sắc ký đồ của dung dịch mẫu trắng.

Giới hạn:

Diện tích các pic trên sắc ký đồ thu được từ dung dịch thử (2) phải nhỏ hơn diện tích các pic tương ứng trên các sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (9) và/hoặc (10).

Chất chống oxy hoá non-phenolic

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển:

Dung môi 1: *Hexan (TT).*

Dung môi 2: *Methylen clorid (TT).*

Dung dịch thử: Bay hơi 100 ml dung dịch S2 trong chân không ở 45 °C tới khô. Hòa tan cẩn trong 2 ml *methylen clorid đã được acid hoá (TT).*

Dung dịch đối chiếu (11): Hòa tan 60 mg phụ gia chất dẻo 14 chuẩn trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng *methylen clorid đã được acid hoá (TT).*

Dung dịch đối chiếu (12): Hòa tan 60 mg phụ gia chất dẻo 15 chuẩn trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng *methylen clorid đã được acid hoá (TT).*

Dung dịch đối chiếu (13): Hòa tan 60 mg phụ gia chất dẻo 16 chuẩn trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng *methylen clorid đã được acid hoá (TT).*

Dung dịch đối chiếu (14): Hòa tan 60 mg phụ gia chất dẻo 17 chuẩn trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng *methylen clorid đã được acid hoá (TT).*

Dung dịch đối chiếu (15): Hòa tan 60 mg phụ gia chất dẻo 16 chuẩn và 60 mg phụ gia chất dẻo 17 chuẩn trong *methylen clorid (TT) và* pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi. Pha loãng 2 ml dung dịch thu được thành 10 ml bằng *methylen clorid đã được acid hoá (TT).*

Cách tiến hành: Chấm riêng biệt lên bản mỏng 20 µl dung dịch thử, 20 µl dung dịch đối chiếu (15) và 20 µl dung dịch đối chiếu tương ứng với chất chống oxy hoá phenolic hoặc non-phenolic có trong thành phần chất kiểm tra.

Triển khai sắc ký với hệ dung môi 1 đến khoảng 18 cm. Để khô bản mỏng. Triển khai sắc ký lần hai với hệ dung môi 2 đến khoảng 17 cm. Để khô bản mỏng và quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Phun *dung dịch iod 1% trong ethanol (TT),* sau 10 - 15 min, quan sát dưới ánh sáng tử ngoại ở bước sóng 254 nm. Bất kỳ vết nào thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử không được có màu đậm hơn màu của các vết tương tự về vị trí thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu. Phép thử chỉ có giá trị khi sắc ký đồ thu được từ dung dịch đối chiếu (15) cho 2 vết tách nhau rõ rệt.

Các amid và stearat

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

Bản mỏng: Silica gel GF_{254}.

Dung môi khai triển:

Dung môi 1: *Ethanol - trimethylpentan* (25 : 75).

Dung môi 2: *Hexan (TT).*

Dung dịch thử: Dùng dung dịch thử của phép thử Chất chống oxy hoá non-phenolic.

Dung dịch đối chiếu (16): Hòa tan 20 mg acid stearic chuẩn (phụ gia chất dẻo 19) trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 10 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (17): Hòa tan 40 mg phụ gia chất dẻo 20 chuẩn trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Dung dịch đối chiếu (18): Hòa tan 40 mg phụ gia chất dẻo 21 chuẩn trong *methylen clorid (TT)* và pha loãng thành 20 ml với cùng dung môi.

Cách tiến hành: Dùng 2 bản mỏng.

Chấm lên mỗi bản mỏng 10 µl dung dịch thử.

Chấm tiếp lên bản mỏng thứ nhất 10 µl dung dịch đối chiếu (16).

Tiếp tục chấm riêng biệt lên bản mỏng thứ hai 10 µl dung dịch đối chiếu (17) và (18).

Bản mỏng thứ nhất: Triển khai sắc ký với hệ dung môi 1 đến khoảng 10 cm. Để khô bản mỏng trong không khí. Phun dung dịch *natri dicloropheno1indophenol (TT)* 0,2 % trong *ethanol (TT)* và sấy bản mỏng ở 120 °C trong vài phút tới khi các vết hiện rõ. Bất kỳ vết nào thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử tương ứng với vết của phụ gia chất dẻo 19 (có giá trị R_f khoảng 0,5) phải không được đậm hơn vết tương tự về vị trí thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (16).

Bản mỏng thứ 2: Triển khai sắc ký với hệ dung môi 2 đến khoảng 13 cm. Để khô bản mỏng trong không khí. Khai triển lần 2 với hệ dung môi là hỗn hợp *methanol - methylen clorid* (5 : 95) đến khoảng 10 cm, để khô bản mỏng. Phun *dung dịch acid phosphomolybdic 4 % trong ethanol (TT)* và sấy bản mỏng ở 120 °C tới khi các vết hiện rõ. Bất kỳ vết nào thu được trên sắc ký đồ của dung dịch thử tương ứng với vết của phụ gia chất dẻo 20 hoặc 21 (có giá trị R_f khoảng 0,2) phải không được đậm hơn vết có cùng giá trị R_f thu được trên sắc ký đồ của dung dịch đối chiếu (17) và (18).

PHỤ LỤC 18

BẢNG NGUYÊN TỬ LƯỢNG CÁC NGUYÊN TỐ

Theo tài liệu của Liên đoàn quốc tế về hóa học thuần túy và ứng dụng xuất bản năm 2001 (Pure Appl. Chem. 2003, 75, 1107).

Tên nguyên tố	Ký hiệu	Nguyên tử số	Nguyên tử lượng
Argon	Ar	18	39,948
Arsen	As	33	74,9216
Bạc (Argentum)	Ag	47	107,8682
Bari	Ba	56	137,327
Beryli	Be	4	9,0122
Bismuth	Bi	83	208,9804
Bor	B	5	10,811
Brom	Br	35	79,904
Cadmi	Cd	48	112,411
Calci	Ca	20	40,078
Carbon	C	6	12,0107
Ceri	Ce	58	140,116
Cesi (Caesium)	Cs	55	132,9054
Chì (Plumbum)	Pb	82	207,2
Clor	Cl	17	35,453
Cobalt	Co	27	58,9332
Crom	Cr	24	51,9961
Đồng (Cuprum)	Cu	29	63,546
Dysprosi	Dy	66	162,5
Erbi	Er	68	167,259
Europi	Eu	63	151,964
Fluor	F	9	18,9984
Gadolini	Gd	64	157,25
Gali	Ga	31	69,723
Germani	Ge	32	72,64
Hafni	Hf	72	178,49
Heli	He	2	4,0026
Holmi	Ho	67	163,9303
Hydrogen	H	1	1,0079
Indi	In	49	114,818
Iod	I	53	126,9045
Iridi	Ir	77	192,217
Kali	K	19	39,0983
Kẽm (Zincum)	Zn	30	65,409
Krypton	Kr	36	83,798
Lanthan	La	57	138,9055
Lithi	Li	3	6,941
Luteti	Lu	71	174,967
Lưu huỳnh (Sulfur)	S	16	32,065

Tên nguyên tố	Ký hiệu	Nguyên tử số	Nguyên tử lượng
Mangan	Mn	25	54,9381
Magnesi	Mg	12	24,305
Molybden	Mo	42	95,94
Natri	Na	11	22,9898
Neodymi	Nd	60	144,24
Neon	Ne	10	20,1797
Nhôm (Aluminium)	Al	13	26,9815
Nickel (Niccolum)	Ni	28	58,6934
Niobi	Nb	41	92,9064
Nitrogen	N	7	14,0067
Osmi	Os	76	190,23
Oxygen	O	8	15,9994
Paladi	Pd	46	106,42
Phosphor	P	15	30,9738
Platin	Pt	78	195,078
Praseodymi	Pr	59	140,9077
Rheni	Re	75	186,207
Rhodi	Rh	45	102,9055
Rubidi	Rb	37	85,4678
Rutheni	Ru	44	101,07
Samari	Sm	62	150,36
Sắt (Iron)	Fe	26	55,845
Scandi	Sc	21	44,9559
Selen	Se	34	78,96
Silic (Silicium)	Si	14	28,0855
Stibi (Antimony)	Sb	51	121,760
Stronti	Sr	38	87,62
Tantal	Ta	73	180,9479
Techneti	Tc	43	[98]
Telur	Te	52	127,6
Terbi	Tb	65	158,9253
Thali	Tl	81	204,3833
Thiếc (Stannium)	Sn	50	118,7
Thori	Th	90	232,0381
Thuli	Tm	69	168,9342
Thủy ngân (Hydragyrum)	Hg	80	200,59
Titan	Ti	22	47,867
Uran	U	92	238,0289
Vanadi	V	23	50,9415
Vàng (Aurum)	Au	79	196,9665
Wolfram (Tungsten)	W	74	183,84
Xenon	Xe	54	131,293
Yterbi	Yb	70	173,04
Ytri	Y	39	88,9059
Zirconi	Zr	40	91,224

PHỤ LỤC 19

BẢNG LIÊN HỆ GIỮA PHẦN TRĂM ETHANOL THEO THỂ TÍCH, PHẦN TRĂM ETHANOL THEO KHỐI LƯỢNG, KHỐI LƯỢNG RIÊNG CỦA HỖN HỢP ETHANOL VÀ NƯỚC

% tt/tt	% kl/kl	ρ_{20} (kg/m^3)	% tt/tt	% kl/kl	ρ_{20} (kg/m^3)
0,0	0,0	998,20	3,4	2,70	993,24
0,1	0,08	998,05	3,5	2,78	993,11
0,2	0,16	997,90	3,6	2,86	992,97
0,3	0,24	997,75	3,7	2,94	992,83
0,4	0,32	997,59	3,8	3,02	992,69
0,5	0,40	997,44	3,9	3,10	992,55
0,6	0,47	997,29			
0,7	0,55	997,14	4,0	3,18	992,41
0,8	0,63	996,99	4,1	3,26	992,28
0,9	0,71	996,85	4,2	3,34	992,14
			4,3	3,42	992,00
1,0	0,79	996,70	4,4	3,50	991,87
1,1	0,87	996,55	4,5	3,58	991,73
1,2	0,95	996,40	4,6	3,66	991,59
1,3	1,03	996,25	4,7	3,74	991,46
1,4	1,11	996,11	4,8	3,82	991,32
1,5	1,19	995,96	4,9	3,90	991,19
1,6	1,27	995,81			
1,7	1,35	995,67	5,0	3,98	991,06
1,8	1,43	995,52	5,1	4,06	990,92
1,9	1,51	995,38	5,2	4,14	990,79
			5,3	4,22	990,65
2,0	1,59	995,23	5,4	4,30	990,52
2,1	1,67	995,09	5,5	4,38	990,39
2,2	1,75	994,94	5,6	4,46	990,26
2,3	1,82	994,80	5,7	4,54	990,12
2,4	1,90	994,66	5,8	4,62	989,99
2,5	1,98	994,51	5,9	4,70	989,86
2,6	2,06	994,37			
2,7	2,14	994,23	6,0	4,78	989,73
2,8	2,22	994,09	6,1	4,86	989,60
2,9	2,30	993,95	6,2	4,95	989,47
			6,3	5,03	989,34
3,0	2,38	993,81	6,4	5,11	989,21
3,1	2,46	993,66	6,5	5,19	989,08
3,2	2,54	993,52	6,6	5,27	988,95
3,3	2,62	993,38	6,7	5,35	988,82

% tt/tt	% kl/kl	ρ_{20} (kg/m^3)
6,8	5,43	988,69
6,9	5,51	988,56
7,0	5,59	988,43
7,1	5,67	988,30
7,2	5,75	988,18
7,3	5,83	988,05
7,4	5,91	987,92
7,5	5,99	987,79
7,6	6,07	987,67
7,7	6,15	987,54
7,8	6,23	987,42
7,9	6,32	987,29
8,0	6,40	987,16
8,1	6,48	987,04
8,2	6,56	986,91
8,3	6,64	986,79
8,4	6,72	986,66
8,5	6,80	986,54
8,6	6,88	986,42
8,7	6,96	986,29
8,8	7,04	986,17
8,9	7,12	986,05
9,0	7,20	985,92
9,1	7,29	985,80
9,2	7,37	985,68
9,3	7,45	985,56
9,4	7,53	985,44
9,5	7,61	985,31
9,6	7,69	985,19
9,7	7,77	985,07
9,8	7,85	984,95
9,9	7,93	984,83
10,0	8,01	984,71
10,1	8,10	984,59
10,2	8,18	984,47
10,3	8,26	984,35
10,4	8,34	984,23
10,5	8,42	984,11
10,6	8,50	983,99
10,7	8,58	983,88
10,8	8,66	983,76
10,9	8,75	983,64
11,0	8,83	983,52
11,1	8,91	983,40
11,2	8,99	983,29
11,3	9,07	983,17
11,4	9,15	983,05
11,5	9,23	982,94
11,6	9,32	982,82
11,7	9,40	982,70
11,8	9,48	982,59
11,9	9,56	982,47
12,0	9,64	982,35
12,1	9,72	982,24
12,2	9,80	982,12
12,3	9,89	982,01
12,4	9,97	981,89
12,5	10,05	981,78
12,6	10,13	981,67
12,7	10,21	981,55
12,8	10,29	981,44
12,9	10,37	981,32
13,0	10,46	981,21
13,1	10,54	981,10
13,2	10,62	980,98
13,3	10,70	980,87
13,4	10,78	980,76
13,5	10,87	980,64
13,6	10,95	980,53
13,7	11,03	980,42
13,8	11,11	980,31
13,9	11,19	980,19
14,0	11,27	980,08

% tt/tt	% kl/kl	ρ_{20} (kg/m^3)	% tt/tt	% kl/kl	ρ_{20} (kg/m^3)
14,1	11,36	979,97	17,8	14,40	975,92
14,2	11,44	979,86	17,9	14,48	975,81
14,3	11,52	979,75			
14,4	11,60	979,64	18,0	14,56	975,71
14,5	11,68	979,52	18,1	14,64	975,60
14,6	11,77	979,41	18,2	14,73	975,49
14,7	11,85	979,30	18,3	14,81	975,38
14,8	11,93	979,19	18,4	14,89	975,28
14,9	12,01	979,08	18,5	14,97	975,17
			18,6	15,06	975,06
15,0	12,09	978,97	18,7	15,14	974,95
15,1	12,17	978,86	18,8	15,22	974,85
15,2	12,26	978,75	18,9	15,30	974,74
15,3	12,34	978,64			
15,4	12,42	978,53	19,0	15,39	974,63
15,5	12,50	978,42	19,1	15,47	974,52
15,6	12,59	978,31	19,2	15,55	974,42
15,7	12,67	978,20	19,3	15,63	974,31
15,8	12,75	978,09	19,4	15,72	974,20
15,9	12,83	977,98	19,5	15,80	974,09
			19,6	15,88	973,99
16,0	12,91	977,87	19,7	15,97	973,88
16,1	13,00	977,76	19,8	16,05	973,77
16,2	13,08	977,65	19,9	16,13	973,66
16,3	13,16	977,55			
16,4	13,24	977,44	20,0	16,21	973,56
16,5	13,32	977,33	20,1	16,30	973,45
16,6	13,41	977,22	20,2	16,38	973,34
16,7	13,49	977,11	20,3	16,46	973,24
16,8	13,57	977,00	20,4	16,55	973,13
16,9	13,65	976,89	20,5	16,63	973,02
			20,6	16,71	972,91
17,0	13,74	976,79	20,7	16,79	972,80
17,1	13,82	976,68	20,8	16,88	972,70
17,2	13,90	976,57	20,9	16,96	972,59
17,3	13,98	976,46			
17,4	14,07	976,35	21,0	17,04	972,48
17,5	14,15	976,25	21,1	17,13	972,37
17,6	14,23	976,14	21,2	17,21	972,27
17,7	14,31	976,03	21,3	17,29	972,16

% tt/tt	% kl/kl	ρ_{20} (kg/m³)
21,4	17,38	972,05
21,5	17,46	971,94
21,6	17,54	971,83
21,7	17,62	971,73
21,8	17,71	971,62
21,9	17,79	971,51
22,0	17,87	971,40
22,1	17,96	971,29
22,2	18,04	971,18
22,3	18,12	971,08
22,4	18,21	970,97
22,5	18,29	970,86
22,6	18,37	970,75
22,7	18,46	970,64
22,8	18,54	970,53
22,9	18,62	970,42
23,0	18,71	970,31
23,1	18,79	970,20
23,2	18,87	970,09
23,3	18,96	969,98
23,4	19,04	969,87
23,5	19,13	969,76
23,6	19,21	969,65
23,7	19,29	969,54
23,8	19,38	969,43
23,9	19,46	969,32
24,0	19,54	969,21
24,1	19,63	969,10
24,2	19,71	968,99
24,3	19,79	968,88
24,4	19,88	968,77
24,5	19,96	968,66
24,6	20,05	968,55
24,7	20,13	968,43
24,8	20,21	968,32
24,9	20,30	968,21

% tt/tt	% kl/kl	ρ_{20} (kg/m³)
25,0	20,38	968,10
25,1	20,47	967,99
25,2	20,55	967,87
25,3	20,63	967,76
25,4	20,72	967,65
25,5	20,80	967,53
25,6	20,88	967,42
25,7	20,97	967,31
25,8	21,05	967,19
25,9	21,14	967,08
26,0	21,22	966,97
26,1	21,31	966,85
26,2	21,39	966,74
26,3	21,47	966,62
26,4	21,56	966,51
26,5	21,64	966,39
26,6	21,73	966,28
26,7	21,81	966,16
26,8	21,90	966,05
26,9	21,98	965,93
27,0	22,06	965,81
27,1	22,15	965,70
27,2	22,23	965,58
27,3	22,32	965,46
27,4	22,40	965,35
27,5	22,49	965,23
27,6	22,57	965,11
27,7	22,65	964,99
27,8	22,74	964,88
27,9	22,82	964,76
28,0	22,91	964,64
28,1	22,99	964,52
28,2	23,08	964,40
28,3	23,16	964,28
28,4	23,25	964,16
28,5	23,33	964,04
28,6	23,42	963,92

% tt/tt	% kl/kl	ρ_{20} (kg/m^3)	% tt/tt	% kl/kl	ρ_{20} (kg/m^3)
28,7	23,50	963,80	32,3	26,57	959,27
28,8	23,59	963,68	32,4	26,66	959,14
28,9	23,67	963,56	32,5	26,75	959,01
			32,6	26,83	958,87
29,0	23,76	963,44	32,7	26,92	958,74
29,1	23,84	963,32	32,8	27,00	958,61
29,2	23,93	963,20	32,9	27,09	958,47
29,3	24,01	963,07			
29,4	24,10	962,95	33,0	27,18	958,34
29,5	24,18	962,83	33,1	27,26	958,20
29,6	24,27	962,71	33,2	27,35	958,07
29,7	24,35	962,58	33,3	27,44	957,94
29,8	24,44	962,46	33,4	27,52	957,80
29,9	24,52	962,33	33,5	27,61	957,66
			33,6	27,69	957,53
30,0	24,61	962,21	33,7	27,78	957,39
30,1	24,69	962,09	33,8	27,87	957,26
30,2	24,78	961,96	33,9	27,95	957,12
30,3	24,86	961,84			
30,4	24,95	961,71	34,0	28,04	956,98
30,5	25,03	961,59	34,1	28,13	956,84
30,6	25,12	961,46	34,2	28,21	956,70
30,7	25,20	961,33	34,3	28,30	956,57
30,8	25,29	961,21	34,4	28,39	956,43
30,9	25,38	961,08	34,5	28,47	956,29
			34,6	28,56	956,15
31,0	25,46	960,95	34,7	28,65	956,01
31,1	25,55	960,82	34,8	28,73	955,87
31,2	25,63	960,70	34,9	28,82	955,73
31,3	25,72	960,57			
31,4	25,80	960,44	35,0	28,91	955,59
31,5	25,89	960,31	35,1	28,99	955,45
31,6	25,97	960,18	35,2	29,08	955,30
31,7	26,06	960,05	35,3	29,17	955,16
31,8	26,15	959,92	35,4	29,26	955,02
31,9	26,23	959,79	35,5	29,34	954,88
			35,6	29,43	954,73
32,0	26,32	959,66	35,7	29,52	954,59
32,1	26,40	959,53	35,8	29,60	954,44
32,2	26,49	959,40	35,9	29,69	954,30

% tt/tt	% kl/kl	ρ_{20} (kg/m³)
36,0	29,78	954,15
36,1	29,87	954,01
36,2	29,95	953,86
36,3	30,04	953,72
36,4	30,13	953,57
36,5	30,21	953,42
36,6	30,30	953,28
36,7	30,39	953,13
36,8	30,48	952,98
36,9	30,56	952,83
37,0	30,65	952,69
37,1	30,74	952,54
37,2	30,83	952,39
37,3	30,92	952,24
37,4	31,00	952,09
37,5	31,09	951,94
37,6	31,18	951,79
37,7	31,27	951,63
37,8	31,35	951,48
37,9	31,44	951,33
38,0	31,53	951,18
38,1	31,62	951,02
38,2	31,71	950,87
38,3	31,79	950,72
38,4	31,88	950,56
38,5	31,97	950,41
38,6	32,06	950,25
38,7	32,15	950,10
38,8	32,24	949,94
38,9	32,32	949,79
39,0	32,41	949,63
39,1	32,50	949,47
39,2	32,59	949,32
39,3	32,68	949,16
39,4	32,77	949,00
39,5	32,86	948,84
39,6	32,94	948,68
39,7	33,03	948,52
39,8	33,12	948,37
39,9	33,21	948,21
40,0	33,30	948,05
40,1	33,39	947,88
40,2	33,48	947,72
40,3	33,57	947,56
40,4	33,66	947,40
40,5	33,74	947,24
40,6	33,83	947,08
40,7	33,92	946,91
40,8	34,01	946,75
40,9	34,10	946,58
41,0	34,19	946,42
41,1	34,28	946,26
41,2	34,37	946,09
41,3	34,46	945,93
41,4	34,55	945,76
41,5	34,64	945,59
41,6	34,73	945,43
41,7	34,82	945,26
41,8	34,91	945,09
41,9	35,00	944,93
42,0	35,09	944,76
42,1	35,18	944,59
42,3	35,36	944,25
42,4	35,45	944,08
42,5	35,54	943,91
42,6	35,63	943,74
42,7	35,72	943,57
42,8	35,81	943,40
42,9	35,90	943,23
43,0	35,99	943,06
43,1	36,08	942,88
43,2	36,17	942,71
43,3	36,26	942,54

% tt/tt	% kl/kl	ρ_{20} (kg/m^3)
43,4	36,35	942,37
43,5	36,44	942,19
43,6	36,53	942,02
43,7	36,62	941,84
43,8	36,71	941,67
43,9	36,80	941,49
44,0	36,89	941,32
44,1	36,98	941,14
44,2	37,07	940,97
44,3	37,16	940,79
44,4	37,25	940,61
44,5	37,35	940,43
44,6	37,44	940,26
44,7	37,53	940,08
44,8	37,62	939,90
44,9	37,71	939,72
45,0	37,80	939,54
45,1	37,89	939,36
45,2	37,98	939,18
45,3	38,08	939,00
45,4	38,17	938,82
45,5	38,26	938,64
45,6	38,35	938,46
45,7	38,44	938,28
45,8	38,53	938,10
45,9	38,62	937,91
46,0	38,72	937,73
46,1	38,81	937,55
46,2	38,90	937,36
46,3	38,99	937,18
46,4	39,08	937,00
46,5	39,18	936,81
46,6	39,27	936,63
46,7	39,36	936,44
46,8	39,45	936,26
46,9	39,54	936,07

% tt/tt	% kl/kl	ρ_{20} (kg/m^3)
47,0	39,64	935,88
47,1	39,73	935,70
47,2	39,82	935,51
47,3	39,91	935,32
47,4	40,00	935,14
47,5	40,10	934,95
47,6	40,19	934,76
47,7	40,28	934,57
47,8	40,37	934,38
47,9	40,47	934,19
48,0	40,56	934,00
48,1	40,65	933,81
48,2	40,75	933,62
48,3	40,84	933,43
48,4	40,93	933,24
48,5	41,02	933,05
48,6	41,12	932,86
48,7	41,21	932,67
48,8	41,30	932,47
48,9	41,40	932,28
49,0	41,49	932,09
49,1	41,58	931,90
49,2	41,68	931,70
49,3	41,77	931,51
49,4	41,86	931,31
49,5	41,96	931,12
49,6	42,05	930,92
49,7	42,14	930,73
49,8	42,24	930,53
49,9	42,33	930,34
50,0	42,43	930,14
50,1	42,52	929,95
50,2	42,61	929,75
50,3	42,71	929,55
50,4	42,80	929,35
50,5	42,90	929,16
50,6	42,99	928,96

% tt/tt	% kl/kl	ρ_{20} (kg/m^3)
50,7	43,08	928,76
50,8	43,18	928,56
50,9	43,27	928,36
51,0	43,37	928,16
51,1	43,46	927,96
51,2	43,56	927,77
51,3	43,65	927,57
51,4	43,74	927,36
51,5	43,84	927,16
51,6	43,93	926,96
51,7	44,03	926,76
51,8	44,12	926,56
51,9	44,22	926,36
52,0	44,31	926,16
52,1	44,41	925,95
52,2	44,50	925,75
52,3	44,60	925,55
52,4	44,69	925,35
52,5	44,79	925,14
52,6	44,88	924,94
52,7	44,98	924,73
52,8	45,07	924,53
52,9	45,17	924,32
53,0	45,26	924,12
53,1	45,36	923,91
53,2	45,46	923,71
53,3	45,55	923,50
53,4	45,65	923,30
53,5	45,74	923,09
53,6	45,84	922,88
53,7	45,93	922,68
53,8	46,03	922,47
53,9	46,13	922,26
54,0	46,22	922,06
54,1	46,32	921,85
54,2	46,41	921,64
54,3	46,51	921,43
54,4	46,61	921,22
54,5	46,70	921,01
54,6	46,80	920,80
54,7	46,90	920,59
54,8	46,99	920,38
54,9	47,09	920,17
55,0	47,18	919,96
55,1	47,28	919,75
55,2	47,38	919,54
55,3	47,47	919,33
55,4	47,57	919,12
55,5	47,67	918,91
55,6	47,77	918,69
55,7	47,86	918,48
55,8	47,96	918,27
55,9	48,06	918,06
56,0	48,15	917,84
56,1	48,25	917,63
56,2	48,35	917,42
56,3	48,45	917,20
56,4	48,54	916,99
56,5	48,64	916,77
56,6	48,74	916,56
56,7	48,84	916,35
56,8	48,93	916,13
56,9	49,03	915,91
57,0	49,13	915,70
57,1	49,23	915,48
57,2	49,32	915,27
57,3	49,42	915,05
57,4	49,52	914,83
57,5	49,62	914,62
57,6	49,72	914,40
57,7	49,81	914,18
57,8	49,91	913,97
57,9	50,01	913,75

% tt/tt	% kl/kl	ρ_{20} (kg/m^3)	% tt/tt	% kl/kl	ρ_{20} (kg/m^3)
58,0	50,11	913,53	61,7	53,79	905,29
58,1	50,21	913,31	61,8	53,89	905,06
58,2	50,31	913,09	61,9	53,99	904,83
58,3	50,40	912,87			
58,4	50,50	912,65	62,0	54,09	904,60
58,5	50,60	912,43	62,1	54,19	904,37
58,6	50,70	912,22	62,2	54,30	904,15
58,7	50,80	912,00	62,3	54,40	903,92
58,8	50,90	911,78	62,4	54,50	903,69
58,9	51,00	911,55	62,5	54,60	903,46
			62,6	54,70	903,23
59,0	51,10	911,33	62,7	54,80	903,00
59,1	51,19	911,11	62,8	54,90	902,77
59,2	51,29	910,89	62,9	55,00	902,54
59,3	51,39	910,67			
59,4	51,49	910,45	63,0	55,11	902,31
59,5	51,59	910,23	63,1	55,21	902,08
59,6	51,69	910,01	63,2	55,31	901,85
59,7	51,79	909,78	63,3	55,41	901,62
59,8	51,89	909,56	63,4	55,51	901,39
59,9	51,99	909,34	63,5	55,61	901,15
			63,6	55,72	900,92
60,0	52,09	909,11	63,7	55,82	900,69
60,1	52,19	908,89	63,8	55,92	900,46
60,2	52,29	908,67	63,9	56,02	900,23
60,3	52,39	908,44			
60,4	52,49	908,22	64,0	56,12	899,99
60,5	52,59	908,00	64,1	56,23	899,76
60,6	52,69	907,77	64,2	56,33	899,53
60,7	52,79	907,55	64,3	56,43	899,29
60,8	52,89	907,32	64,4	56,53	899,06
60,9	52,99	907,10	64,5	56,64	898,83
			64,6	56,74	898,59
61,0	53,09	906,87	64,7	56,84	898,36
61,1	53,19	906,64	64,8	56,94	898,12
61,2	53,29	906,42	64,9	57,05	897,89
61,3	53,39	906,19			
61,4	53,49	905,97	65,0	57,15	897,65
61,5	53,59	905,74	65,1	57,25	897,42
61,6	53,69	905,51	65,2	57,36	897,18

% tt/tt	% kl/kl	ρ_{20} (kg/m^3)
65,3	57,46	896,94
65,4	57,56	896,71
65,5	57,67	896,47
65,6	57,77	896,23
65,7	57,87	896,00
65,8	57,98	895,76
65,9	58,08	895,52
66,0	58,18	895,28
66,1	58,29	895,05
66,2	58,39	894,81
66,3	58,49	894,57
66,4	58,60	894,33
66,5	58,70	894,09
66,6	58,81	893,85
66,7	58,91	893,61
66,8	59,01	893,37
66,9	59,12	893,13
67,0	59,22	892,89
67,1	59,33	892,65
67,2	59,43	892,41
67,3	59,54	892,17
67,4	59,64	891,93
67,5	59,74	891,69
67,6	59,85	891,45
67,7	59,95	891,20
67,8	60,06	890,96
67,9	60,16	890,72
68,0	60,27	890,48
68,1	60,37	890,23
68,2	60,48	889,99
68,3	60,58	889,75
68,4	60,69	889,50
68,5	60,80	889,26
68,6	60,90	889,01
68,7	61,01	888,77
68,8	61,11	888,52
68,9	61,22	888,28

% tt/tt	% kl/kl	ρ_{20} (kg/m^3)
69,0	61,32	888,03
69,1	61,43	887,79
69,2	61,54	887,54
69,3	61,64	887,29
69,4	61,75	887,05
69,5	61,85	886,80
69,6	61,96	886,55
69,7	62,07	886,31
69,8	62,17	886,06
69,9	62,28	885,81
70,0	62,39	885,56
70,1	62,49	885,31
70,2	62,60	885,06
70,3	62,71	884,82
70,4	62,81	884,57
70,5	62,92	884,32
70,6	63,03	884,07
70,7	63,13	883,82
70,8	63,24	883,57
70,9	63,35	883,32
71,0	63,46	883,06
71,1	63,56	882,81
71,2	63,67	882,56
71,3	63,78	882,31
71,4	63,89	882,06
71,5	63,99	881,81
71,6	64,10	881,55
71,7	64,21	881,30
71,8	64,32	881,05
71,9	64,43	880,79
72,0	64,53	880,54
72,1	64,64	880,29
72,2	64,75	880,03
72,3	64,86	879,78
72,4	64,97	879,52
72,5	65,08	879,27
72,6	65,19	879,01

% tt/tt	% kl/kl	ρ_{20} (kg/m^3)	% tt/tt	% kl/kl	ρ_{20} (kg/m^3)
72,7	65,29	878,75	76,3	69,27	869,35
72,8	65,40	878,50	76,4	69,38	869,09
72,9	65,51	878,24	76,5	69,49	868,82
			76,6	69,61	868,55
73,0	65,62	877,99	76,7	69,72	868,28
73,1	65,73	877,73	76,8	69,83	868,02
73,2	65,84	877,47	76,9	69,94	867,75
73,3	65,95	877,21			
73,4	66,06	876,96	77,0	70,06	867,48
73,5	66,17	876,70	77,1	70,17	867,21
73,6	66,28	876,44	77,2	70,28	866,94
73,7	66,39	876,18	77,3	70,39	866,67
73,8	66,50	875,92	77,4	70,51	866,40
73,9	66,61	875,66	77,5	70,62	866,13
			77,6	70,73	865,86
74,0	66,72	875,40	77,7	70,85	865,59
74,1	66,83	875,14	77,8	70,96	865,32
74,2	66,94	874,88	77,9	71,07	865,05
74,3	67,05	874,62			
74,4	67,16	874,36	78,0	71,19	864,78
74,5	67,27	874,10	78,1	71,30	864,50
74,6	67,38	873,84	78,2	71,41	864,23
74,7	67,49	873,58	78,3	71,53	863,96
74,8	67,60	873,32	78,4	71,64	863,69
74,9	67,71	873,06	78,5	71,76	863,41
			78,6	71,87	863,14
75,0	67,82	872,79	78,7	71,98	862,86
75,1	67,93	872,53	78,8	72,10	862,59
75,2	68,04	872,27	78,9	72,21	862,31
75,3	68,15	872,00			
75,4	68,26	871,74	79,0	72,33	862,04
75,5	68,38	871,48	79,1	72,44	861,76
75,6	68,49	871,21	79,2	72,56	861,49
75,7	68,60	870,95	79,3	72,67	861,21
75,8	68,71	870,68	79,4	72,79	860,94
75,9	68,82	870,42	79,5	72,90	860,66
			79,6	73,02	860,38
76,0	68,93	870,15	79,7	73,13	860,10
76,1	69,04	869,89	79,8	73,25	859,83
76,2	69,16	869,62	79,9	73,36	859,55

% tt/tt	% kl/kl	ρ_{20} (kg/m^3)	% tt/tt	% kl/kl	ρ_{20} (kg/m^3)
80,0	73,48	859,27	83,7	77,84	848,70
80,1	73,60	858,99	83,8	77,96	848,41
80,2	73,71	858,71	83,9	78,08	848,11
80,3	73,83	858,43			
80,4	73,94	858,15	84,0	78,20	847,82
80,5	74,06	857,87	84,1	78,32	847,53
80,6	74,18	857,59	84,2	78,44	847,23
80,7	74,29	857,31	84,3	78,56	846,93
80,8	74,41	857,03	84,4	78,68	846,64
80,9	74,53	856,75	84,5	78,80	846,34
			84,6	78,92	846,05
81,0	74,64	856,46	84,7	79,04	845,75
81,1	74,76	856,18	84,8	79,16	845,45
81,2	74,88	855,90	84,9	79,28	845,15
81,3	74,99	855,62			
81,4	75,11	855,33	85,0	79,40	844,85
81,5	75,23	855,05	85,1	79,53	844,55
81,6	75,34	854,76	85,2	79,65	844,25
81,7	75,46	854,48	85,3	79,77	843,95
81,8	75,58	854,19	85,4	79,89	843,65
81,9	75,70	853,91	85,5	80,01	843,35
			85,6	80,14	843,05
82,0	75,82	853,62	85,7	80,26	842,75
82,1	75,93	853,34	85,8	80,38	842,44
82,2	76,05	853,05	85,9	80,50	842,14
82,3	76,17	852,76			
82,4	76,29	852,48	86,0	80,63	841,84
82,5	76,41	852,19	86,1	80,75	841,53
82,6	76,52	851,90	86,2	80,87	841,23
82,7	76,64	851,61	86,3	81,00	840,92
82,8	76,76	851,32	86,4	81,12	840,62
82,9	76,88	851,03	86,5	81,24	840,31
			86,6	81,37	840,00
83,0	77,00	850,74	86,7	81,49	839,70
83,1	77,12	850,45	86,8	81,61	839,39
83,2	77,24	850,16	86,9	81,74	839,08
83,3	77,36	849,87			
83,4	77,48	849,58	87,0	81,86	838,77
83,5	77,60	849,29	87,1	81,99	838,46
83,6	77,72	848,99	87,2	82,11	838,15

% tt/tt	% kl/kl	ρ_{20} (kg/m^3)	% tt/tt	% kl/kl	ρ_{20} (kg/m^3)
87,3	82,24	837,84	91,0	86,97	825,83
87,4	82,36	837,52	91,1	87,10	825,49
87,5	82,49	837,21	91,2	87,23	825,15
87,6	82,61	836,90	91,3	87,36	824,81
87,7	82,74	836,59	91,4	87,49	824,47
87,8	82,86	836,27	91,5	87,63	824,13
87,9	82,99	835,96	91,6	87,76	823,78
			91,7	87,89	823,44
88,0	83,11	835,64	91,8	88,02	823,09
88,1	83,24	835,32	91,9	88,16	822,74
88,2	83,37	835,01			
88,3	83,49	834,69	92,0	88,29	822,39
88,4	83,62	834,37	92,1	88,42	822,04
88,5	83,74	834,05	92,2	88,56	821,69
88,6	83,87	833,73	92,3	88,69	821,34
88,7	84,00	833,41	92,4	88,83	820,99
88,8	84,13	833,09	92,5	88,96	820,63
88,9	84,25	832,77	92,6	89,10	820,28
			92,7	89,23	819,92
89,0	84,38	832,45	92,8	89,37	819,57
89,1	84,51	832,12	92,9	89,50	819,21
89,2	84,64	831,80			
89,3	84,76	831,48	93,0	89,64	818,85
89,4	84,89	831,15	93,1	89,77	818,49
89,5	85,02	830,82	93,2	89,91	818,12
89,6	85,15	830,50	93,3	90,05	817,76
89,7	85,28	830,17	93,4	90,18	817,40
89,8	85,41	829,84	93,5	90,32	817,03
89,9	85,54	829,51	93,6	90,46	816,66
			93,7	90,59	816,30
90,0	85,66	829,18	93,8	90,73	815,93
90,1	85,79	828,85	93,9	90,87	815,55
90,2	85,92	828,52			
90,3	86,05	828,19	94,0	91,01	815,18
90,4	86,18	827,85	94,1	91,15	814,81
90,5	86,31	827,52	94,2	91,29	814,43
90,6	86,44	827,18	94,3	91,43	814,06
90,7	86,57	826,85	94,4	91,56	813,68
90,8	86,71	826,51	94,5	91,70	813,30
90,9	86,84	826,17	94,6	91,84	812,92

% tt/tt	% kl/kl	ρ_{20} (kg/m³)
94,7	91,98	812,54
94,8	92,13	812,15
94,9	92,27	811,77
95,0	92,41	811,38
95,1	92,55	810,99
95,2	92,69	810,60
95,3	92,83	810,21
95,4	92,98	809,82
95,5	93,12	809,42
95,6	93,26	809,02
95,7	93,41	808,63
95,8	93,55	808,23
95,9	93,69	807,82
96,0	93,84	807,42
96,1	93,98	807,01
96,2	94,13	806,61
96,3	94,27	806,20
96,4	94,42	805,78
96,5	94,57	805,37
96,6	94,71	804,96
96,7	94,86	804,54
96,8	95,01	804,12
96,9	95,16	803,70
97,0	95,31	803,27
97,1	95,45	802,85
97,2	95,60	802,42
97,3	95,75	801,99
97,4	95,90	801,55
97,5	96,05	801,12
97,6	96,21	800,68
97,7	96,36	800,24
97,8	96,51	799,80
97,9	96,66	799,35
98,0	96,81	798,90
98,1	96,97	798,45
98,2	97,12	798,00
98,3	97,28	797,54
98,4	97,43	797,08
98,5	97,59	796,62
98,6	97,74	796,15
98,7	97,90	795,68
98,8	98,06	795,21
98,9	98,22	794,73
99,0	98,38	794,25
99,1	98,53	793,77
99,2	98,69	793,28
99,3	98,86	792,79
99,4	99,02	792,30
99,5	99,18	791,80
99,6	99,34	791,29
99,7	99,50	790,79
99,8	99,67	790,28
99,9	99,83	789,76
100,0	100,0	789,24

MỤC LỤC TRA CỨU

Theo tên Việt Nam

A

Abacavir sulfat, 3, P-5
Acebutolol hydroclorid, 4, P-5
Acenocoumarol, 7, P-6
Acetazolamid, 9, P-6
Acetylcystein, 11, P-7
Aciclovir, 14
Acid acetylsalicylic, 17
Acid aminocaproic, 22
Acid ascorbic, 23
Acid L-ascorbic, 23
Acid benzoic, 26, P-8
Acid boric, 27
Acid citric ngậm một phân tử nước, 29
Acid folic, 30
Acid hydrocloric, 32
Acid hydrocloric loãng, 33
Acid mefenamic, 33, P-8
Acid methacrylic và ethyl acrylat đồng trùng hợp (1 : 1), 36
Acid methacrylic và methyl methacrylat đồng trùng hợp (1 : 1), 38
Acid methacrylic và methyl methacrylat đồng trùng hợp (1 : 2), 39
Acid nalidixic, 40, P-9
Acid nicotinic, 42
Acid salicylic, 43, P-9
Acid tranexamic, 44, P-10
Actisô (lá), 1063
Adrenalin, 47, P-10
Adrenalin acid tartrat, 49
Adrenalin tartrat, 49
Albendazol, 51
Alcol khan, 399
Alcol tuyệt đối, 399
Alimemazin tartrat, 53, P-11
All-*rac*-alpha tocopherol, 948
All-*rac*-alpha tocopheryl acetat, 949
Alopurinol, 55
Alverin citrat, 58, P-11
Ambroxol hydroclorid, 60
Amikacin, 64
Aminophylin, 66
Amiodaron hydroclorid, 69, P-12
Amitriptylin hydroclorid, 72
Amlodipin besilat, 74
Amodiaquin hydroclorid, 76
Amoni clorid, 78
Amoxicilin natri, 79, P-12
Amoxicilin trihydrat, 83, P-13
Amphotericin B, 89
Ampicilin, 92
Ampicilin natri, 93, P-13
Ampicilin trihydrat, 98, P-14
An tức hương, 1099
Aralen, 296
Arginin, 100, P-14
Arginin aspartat, 102
Arginin hydroclorid, 103
Argyrol, 133
Artemether, 105, P-15
Artemisinin, 110, P-15
Artesunat, 111, P-16
Aspartam, 114
Aspirin, 17
Atenolol, 116, P-16
Atorvastatin calci trihydrat, 119
Atropin sulfat, 122
Attapulgit, 125
Azithromycin, 126

B

B.A.L, 355
Ba kích (rễ), 1064
Bá bệnh, 1067
Bá tử nhân, 1065
Bạc hà, 1066
Bạc nitrat, 132
Bạc vitelinat, 133
Bách bệnh (rễ), 1067
Bách bộ (rễ), 1068
Bách hợp (thân hành), 1069
Bạch biển đậu, 1161
Bạch cập (thân rễ), 1070
Bạch chỉ (rễ), 1070
Bạch cương tàm, 1326
Bạch đậu khấu (quả), 1072
Bạch đồng nữ (cành mang lá), 1072
Bạch giới tử, 1074
Bạch hoa xà thiệt thảo, 1074
Bạch linh, 1292
Bạch mai, 1255
Bạch mao căn, 1118
Bạch tật lê (quả), 1075
Bạch thược (rễ), 1076
Bạch truật (thân rễ), 1077
Bacitracin, 129
Bài hương thảo, 1223
Bán biên liên, 1078
Bán biên tô, 1223
Bán chi liên, 1079
Bán hạ (thân rễ), 1080
Bán hạ bắc, 1080
Bán hạ nam, 1126
Bảng liên hệ giữa phần trăm ethanol theo thể tích, phần trăm ethanol theo khối lượng, khối lượng riêng của hỗn hợp ethanol và nước, PL-467

Bảng nguyên tử lượng các nguyên tố, PL-465
Bari sulfat pha hỗn dịch, 134
Bari sulfat, 133
Băng thạch, 1329
Benzalkonium clorid, 135
Benzathin benzylpenicilin, 136
Benzylpenicilin kali, 139
Benzylpenicilin natri, 140
Bèo cái, 1150
Bèo tấm, 1082
Bèo tấm tía, 1082
Berberin clorid, 142
Betamethason, 144, P-17
Betamethason dipropionat, 147
Betamethason natri phosphat, 149
Betamethason valerat, 152
Bìm bìm biếc (hạt), 1082
Binh lang, 1097
Bình vôi, 1083
Biotin, 153
Bisacodyl, 154
Bisoprolol fumarat, 157
Bồ bồ, 1084
Bồ công anh, 1085
Bồ kết (gai), 1086
Bồ kết (quả), 1087
Bồ cốt chi (quả), 1088
Bố chính sâm, 1310
Bối mẫu (thân hành), 1089
Bông hút nước tiệt khuẩn, 160
Bông hút nước, 158
Bông sứ, 1146
Bồng bồng, 1224
Bột bình vị, 1407
Bột bỏ, 160
Bột pha hỗn dịch acetylcystein, 13
Bột pha hỗn dịch amoxicilin, 84
Bột pha hỗn dịch amoxicilin và acid clavulanic, 87
Bột pha hỗn dịch azithromycin, 129
Bột pha hỗn dịch cefaclor, 195
Bột pha hỗn dịch cefadroxil, 199
Bột pha hỗn dịch cefdinir, 211
Bột pha hỗn dịch cefixim, 216
Bột pha hỗn dịch cefpodoxim, 227
Bột pha hỗn dịch cefuroxim, 239
Bột pha hỗn dịch cephalexin, 251
Bột pha hỗn dịch roxithromycin, 846
Bột pha tiêm amoxicilin, 81
Bột pha tiêm amoxicilin và acid clavulanic, 82
Bột pha tiêm ampicilin, 95
Bột pha tiêm ampicilin và sulbactam, 97
Bột pha tiêm artesunat, 113
Bột pha tiêm benzylpenicilin, 142
Bột pha tiêm benzathin benzylpenicilin, 137
Bột pha tiêm cefazolin, 208
Bột pha tiêm cefoperazon, 221
Bột pha tiêm cefoperazon và sulbactam, 222
Bột pha tiêm cefotaxim, 224
Bột pha tiêm ceftazidim, 234
Bột pha tiêm ceftriaxon, 237
Bột pha tiêm cefuroxim, 242
Bột pha tiêm cloramphenicol, 292
Bột pha tiêm imipenem và cilastatin, 502
Bột pha tiêm streptomycin, 878
Bột pha tiêm vancomycin, 970
Bột pha tiêm vinblastin sulfat, 975
Bột pha tiêm vincristin sulfat, 978
Bột talc, 160
Bơm tiêm vô khuẩn bằng chất dẻo sử dụng một lần, PL-430
Bromhexin hydroclorid, 162
Bupivacain hydroclorid, 164, P-17

C

Cà độc dược (hoa), 1090
Cà độc dược (lá), 1091
Cà gai leo, 1092
Cà ngoi, 1266
Cá ngựa, 1093
Các chất chỉ thị, PL-89
Các chất đối chiếu (ĐC), PL-113
Các chuyên luận cao dược liệu, dầu, tinh dầu, 1385
Các chuyên luận dược liệu, 1061
Các chuyên luận huyết thanh, sinh phẩm và vắc xin, 987
Các chuyên luận nguyên liệu hóa dược và thành phẩm hóa dược, 1
Các chuyên luận thuốc cổ truyền, 1405
Các cơ quan và đơn vị tham gia xây dựng Dược điển Việt Nam V, xxi
Các cộng tác viên, xix
Các dung dịch chuẩn độ (CD), PL-95
Các dung dịch đệm, PL-101
Các dung dịch mẫu, PL-109
Các ethanol loãng, 400
Các kỹ thuật ELISA (phương pháp miễn dịch gắn men, phương pháp ELISA), PL-401
Các kỹ thuật sắc ký, PL-138
Các macrogol, 595
Các phản ứng định tính, PL-186
Các phép thử của tinh dầu, PL-275
Các phụ gia cho chất dẻo, PL- 438
Các phụ lục, PL-1
Các phương pháp tiệt khuẩn, PL-414
Các thuốc thử chung, PL-38
Cafein, 166
Cải củ (hạt), 1094
Calci carbonat, 168
Calci clorid dihydrat, 170
Calci gluconat, 171

Calci gluconat để pha thuốc tiêm, 173
Calci glycerophosphat, 175
Calci hydroxyd, 176
Calci lactat pentahydrat, 177
Calci lactat trihydrat, 178
Calci pantothenat, 179
Calci phosphat, 180
Calci sulfat khô, 160
Calciferol, 378
Calcitriol, 181
Cam cúc, 1130
Cam thảo (rễ và thân rễ), 1095
Cam thảo đất, 1096
Cam thảo nam, 1096
Camphor racemic, 182
Camphor thiên nhiên, 183
Can khương, 1179
Cánh kiến trắng, 1099
Cao Ban long, 1234
Cao bồ phổi, 1407
Cao đặc actisô, 1387
Cao đặc diệp hạ châu đắng, 1387
Cao đặc đinh lăng, 1388
Cao đặc ích mẫu, 1390
Cao gạc Hươu, 1234
Cao hy thiêm, 1410
Cao ích mẫu, 1410
Cao khô chè dây, 1390
Cao khô huyết giác, 1392
Cao khô lá bạch quả, 1393
Cao lỏng hoắc hương chính khí, 1409
Cao lỏng tứ nghịch, 1411
Cao tang cúc âm, 1412
Cao thuốc, PL-9
Captopril, 185, P-18
Carbamazepin, 188, P-18
Carbidopa, 190
Carbomer, 191
Carmelose calci, 192
Carmelose natri, 193
Cát căn, 1310
Cát cánh (rễ), 1100
Cát sâm (rễ), 1102
Cau (hạt), 1097
Cau (vỏ quả), 1099
Cắn khô của các chất chiết được trong dược liệu, PL-280
Cân và xác định khối lượng, PL-115
Cần tây (quả), 1102
Cần tây (toàn cây), 1103
Câu đằng, 1104
Câu kỷ tử, 1105
Cẩu tích (thân rễ), 1106
Cây loét mồm, 1131
Cefaclor, 194
Cefadroxil monohydrat, 198
Cefalotin natri, 202
Cefamandol nafat, 203
Cefazolin natri, 205
Cefdinir, 209
Cefepim hydroclorid monohydrat, 213
Cefixim, 215
Cefoperazon natri, 220
Cefotaxim natri, 223, P-19
Cefpodoxim proxetil, 225
Cefradin, 229, P-19
Ceftazidim pentahydrat, 232
Ceftriaxon natri, 236, P-20
Cefuroxim axetil, 238, P-20
Cefuroxim natri, 241, P-21
Celecoxib, 243
Celulose acetat, 244
Celulose vi tinh thể, 245
Cephalexin, 250, P-21
Cetirizin dihydroclorid, 254, P-22
Cetostearyl alcol, 256
Cetyl alcol, 257
Chè dây (lá), 1107
Chè đắng (lá), 1108
Chè đồng, 1356
Chè thuốc, PL-33
Chè vằng (lá), 1109
Chi tử, 1132
Chỉ thị sinh học dùng cho tiệt khuẩn, PL-416
Chỉ thực, 1110
Chỉ xác, 1111
Chiêu liêu (vỏ thân), 1112
Chiêu liêu, 1212
Chiêu liêu nghệ, 1112
Chó đẻ răng cưa, 1142
Chó đẻ răng cưa thân xanh, 1143
Chóc chuột, 1126
Chymotrypsin, 258
Cilastatin natri, 260
Cimetidin, 262, P-22
Cinarizin, 265
Cineol, 267
Ciprofloxacin hydroclorid, 268
Clarithromycin, 271, P-23
Clavulanat kali, 274
Clindamycin hydroclorid, 276, P-23
Clofazimin, 278, P-24
Clopidogel bisulfat, 280
Clopidogrel hydrosulfat, 280
Cloral hydrat, 282
Cloramphenicol, 283
Cloramphenicol natri succinat, 291
Cloramphenicol palmitat, 290
Cloroform, 295, P-25
Cloroquin diphosphat, 296
Cloroquin phosphat, 296, P-25

Clorpheniramin maleat, 298
Clorpromazin hydroclorid, 300, P-26
Clotrimazol, 304
Cloxacilin natri, 306
Cỏ kín lang, 1263
Cỏ bấc đèn, 1159
Cỏ cứt lợn, 1113
Cỏ đùi trống, 1121
Cỏ đĩ, 1206
Cỏ hôi, 1113
Cỏ lá tre, 1151
Cỏ mần trầu, 1115
Cỏ mực, 1117
Cỏ ngọt (lá), 1116
Cỏ nhọ nồi, 1117
Cỏ the, 1120
Cỏ tranh (thân rễ), 1118
Cỏ xước (rễ), 1119
Cóc măn, 1120
Cocain hydroclorid, 309, P-26
Codein, 310, P-27
Codein monohydrat, 310
Codein phosphat, 311
Colchicin, 313
Colecalciferol, 316
Cortison acetat, 317
Cốc tinh thảo, 1121
Cối xay, 1122
Côn bố, 1122
Cồn thuốc, PL-10
Cốt khí (rễ), 1123
Cốt toái bổ (thân rễ), 1124
Cỡ bột và rây, PL-119
Cơm cháy (hoa), 1125
Cơm cháy (lá), 1125
Củ cây cơm nếp, 1192
Củ chóc (thân rễ), 1126
Củ gấu, 1204
Củ gấu biển, 1204
Củ gấu vườn, 1204
Củ mài (củ), 1127
Củ súng, 1128
Cúc gai (quả), 1129
Cúc hoa vàng (cụm hoa), 1130
Culi, 1106
Cương tàm, 1326
Cyanocobalamin, 320
Cyproheptadin hydroclorid, 322, P-27

D

Dã cam thảo, 1096
Dạ cẩm, 1131
Dạ giao đằng, 1180
Danh mục các chuyên luận, xxiii
Danh mục chuyên luận mới so với DĐVN IV, xxxvii
Dapson, 324, P-28
Danh mục các chuyên luận của DĐVN IV không đưa vào DĐVN V, xli
Dành dành (quả), 1132
Dâm dương hoắc, 1134
Dâu (cành), 1135
Dâu (lá), 1136
Dâu (quả), 1137
Dâu (vỏ rễ), 1137
Dầu béo, PL-275
Dầu gấc, 1395
Dầu mù u, 1397
Dầu parafin, 325
Dây đau xương (thân), 1138
Dây ruột gà, 1064
Dây thìa canh, 1139
Dây vàng, 1109
Dexamethason, 326, P-28
Dexamethason acetat, 329
Dexamethason natri phosphat, 331
Dexclorpheniramin maleat, 334
Dexpanthenol, 337
Dextromethorphan hydrobromid, 338
Dextrose, 459
Dextrose ngậm một phân tử nước, 460
Diazepam, 340
Dịch phân tán 30 % của acid methacrylic và ethyl acrylat đồng trùng hợp (1 : 1), 37
Dịch truyền Ringer - Lactat, 359
Diclofenac diethylamin, 343, P-29
Diclofenac natri, 344, P-29
Dicloxacilin natri, 347
Diethyl phtalat, 349
Diêm mai, 1255
Diên hồ sách (rễ củ), 1140
Diếp cá, 1141
Diệp hạ châu, 1142
Diệp hạ châu đắng, 1143
Diltiazem hydroclorid, 350
Dimenhydrinat, 352, P-30
Dimercaprol, 355
Diphenhydramin hydroclorid, 356, P-30
Domperidon maleat, 360
Doxycyclin hyclat, 363
Doxycyclin hydroclorid, 363
Dụng cụ đo thể tích, PL-117
Dụng cụ tiêm truyền đã tiệt khuẩn (bộ dây truyền dịch), PL-427
Dung dịch acid boric 3 %, 28
Dung dịch clorhexidin gluconat, 293, P-24
Dung dịch đậm đặc pha tiêm kali clorid, 530
Dung dịch formaldehyd, 425

Dung dịch glyceryl trinitrat, 468
Dung dịch iod 1 %, 514
Dung dịch lugol, 514
Dung dịch methadon hydroclorid đậm đặc, 625
Dung dịch povidon iod, 784
Dung dịch rửa vết thương, PL-33
Dung dịch thuốc, PL-11
Dung dịch thuốc diphenhydramin, 357
Dung dịch uống lamivudin, 548
Dung dịch uống zidovudin, 984
Dư lượng hóa chất bảo vệ thực vật, PL-280
Dừa cạn (lá), 1144
Dừa cạn (rễ), 1145

Đ

Đại (hoa), 1146
Đại hoàng (thân rễ), 1147
Đại hoàng tinh, 1192
Đại hồi (quả), 1149
Đại phù bình, 1150
Đại phúc bì, 1099
Đại phúc mao, 1099
Đại táo (quả), 1151
Đại thạch cao, 1329
Đạm trúc diệp, 1151
Đan sâm (rễ và thân rễ), 1152
Đảng sâm (rễ), 1154
Đảng sâm bắc, 1154
Đảng sâm Việt Nam (rễ), 1156
Đảng sâm Việt Nam chế, 1157
Đăng tâm thảo, 1159
Đào (hạt), 1157
Đào nhân, 1157
Đậu đen (hạt), 1160
Dậu miêu, 1088
Đậu ván trắng (hạt), 1161
Đậu xanh (hạt), 1161
Địa cốt bì, 1162
Địa du (rễ), 1163
Địa hoàng (rễ), 1164
Địa liền (thân rễ), 1165
Địa long, 1166
Đinh hương (nụ hoa), 1167
Đinh lăng (rễ), 1168
Định lượng acid 2-ethylhexanoic, PL-237
Định lượng acid omega-3 trong dầu cá, PL-241
Định lượng aldehyd trong tinh dầu, PL-272
Định lượng các kháng sinh họ penicilin bằng phương pháp đo iod, PL-209
Định lượng các steroid bằng tetrazolium, PL-210
Định lượng cineol trong tinh dầu, PL-273
Định lượng *N,N*-dimethylanilin, PL-236
Định lượng hoạt tính vitamin B_{12} bằng phương pháp vi sinh vật, PL-355
Định lượng nitrogen trong hợp chất hữu cơ, PL-210
Định lượng nước, PL-205
Định lượng taninoid trong dược liệu, PL-273
Định lượng tinh dầu trong dược liệu, PL-274
Định lượng vitamin A, PL-211
Định lượng vitamin D, PL-244
Định tính các penicilin, PL-190
Định tính dược liệu và các chế phẩm bằng kính hiển vi, PL-283
Đỏ ngọn, 1263
Đồ đựng bằng chất dẻo dùng cho chế phẩm nhỏ mắt, PL-426
Đồ đựng bằng chất dẻo dùng cho chế phẩm thuốc tiêm, PL-422
Đồ dựng bằng chất dẻo dùng cho những chế phẩm không phải thuốc tiêm, PL-421
Đồ đựng bằng kim loại cho thuốc mỡ tra mắt, PL-420
Đồ dựng bằng thủy tinh dùng cho chế phẩm dược, PL-418
Đồ đựng cấp 1 dùng cho các chế phẩm dược, PL-418
Đồ đựng máu và các chế phẩm máu, PL-434
Đồ đựng và nút bằng chất dẻo, PL-421
Đỗ trọng (vỏ thân), 1169
Độc hoạt (rễ), 1171
Độc hoạt ký sinh thang, 1413
Đơn buốt, 1172
Đơn kim, 1172
Đơn lá đỏ (lá), 1173
Đơn mặt trời, 1173
Đơn tía, 1173
Đồng sulfat, 366
Đồng sulfat khan, 366
Đồng tiền lông, 1222
Đốt trong oxygen, PL-238
Đùm đũm, 1245
Đương quy (rễ), 1173
Đương quy di thực (rễ), 1175
Đường trắng, 367

E

É tía, 1202
É trắng,1204
Efavirenz, 369
Emetin hydroclorid, 372
Enalapril maleat, 373
Ephedrin hydroclorid, 375, P-31
Epinephrin, 47
Ergocalciferol, 378
Erythromycin, 380, P-31
Erythromycin ethyl succinat, 383, P-32
Erythromycin stearat, 385, P-32
Erythrosin, 388
Esomeprazol magnesi trihydrat, 390

Ethambutol hydroclorid, 396, P-33
Ethanol, 399
Ethanol 96 %, 400
Ether mê, 401
Ether thường, 402
Ethinylestradiol, 403
Ethylcelulose, 405
Eucalyptol, 267
Eugenol, 406

F

Famotidin, 408
Felodipin, 410
Fenofibrat, 412
Fexofenadin hydroclorid, 414, P-33
Flucloxacilin natri, 417, P-34
Fluconazol, 419
Fluocinolon acetonid, 421
Fluocinolon acetonid dihydrat, 422, P-34
Formalin, 425
Furosemid, 425

G

Gabapentin, 428
Gạc hươu, 1234
Gai (rễ), 1176
Gai chông, 1075
Gai sầu, 1075
Gấc (áo hạt), 1176
Gấc (hạt), 1177
Gelatin, 432
Gentamicin sulfat, 435
Giảo cổ lam, 1178
Giảng xay, 1122
Giần sàng, 1375
Giới hạn cho phép về thể tích của các thuốc dạng lỏng, PL-248
Giun đất, 1166
Glibenclamid, 438
Gliclazid, 443, P-35
Glimepirid, 445, P-35
Glipizid, 449, P-36
Globulin miễn dịch người, 989
Glucosamin hydroclorid, 454
Glucosamin sulfat kali clorid, 455
Glucosamin sulfat natri clorid, 456
Glucose khan, 459
Glucose ngậm một phân tử nước, 460
Glutathion, 462
Glycerin, 464, P-36, P-37
Glycerol, 464
Glycerol monostearat 40 - 55, 466
Gỗ vang, 1354
Griseofulvin, 470, P-37
Guaifenesin, 473
Gừng (thân rễ), 1179

H

Hà thủ ô đỏ (rễ), 1180
Hà thủ ô trắng (rễ), 1181
Hạ khô thảo (cụm quả), 1182
Hải mã, 1093
Hải sài, 1237
Haloperidol, 474, P-38
Halothan, 476, P-38
Hành lào, 1312
Hạnh đắng,
Hạnh nhân đắng, 1214
Hạt cải trắng, 1074
Hắc sửu, 1082
Hậu phác (vỏ), 1183
Heptaminol hydroclorid, 477
Histidin, 479
Histidin hydroclorid monohydrat, 480
Hoa ngũ sắc, 1113
Hoa sứ trắng, 1146
Hoa tiêu, 1382
Hóa chất và thuốc thử, PL-38
Hoài sơn, 1127
Hoàn an thai, 1413
Hoàn bát trân, 1414
Hoàn bát vị, 1415
Hoàn bổ trung ích khí, 1416
Hoàn lục vị, 1417
Hoàn minh mục địa hoàng, 1418
Hoàn ngân kiều giải độc, 1419
Hoàn nhị trần, 1420
Hoàn ninh khôn, 1421
Hoàn phì nhi, 1422
Hoàn quy tỳ, 1423
Hoàn sâm nhung bổ thận, 1424
Hoàn thập toàn đại bổ, 1425
Hoàn thiên vương bổ tâm, 1426
Hoàn tiêu dao, 1427
Hoàng bá (vỏ thân), 1184
Hoàng cầm (rễ), 1185
Hoàng cầm râu, 1079
Hoàng đằng (thân và rễ), 1186
Hoàng kỳ (rễ), 1188
Hoàng liên (thân rễ), 1190
Hoàng nàn (vỏ thân, vỏ cành), 1191
Hoàng tinh (thân rễ), 1192
Hoàng tinh dạng gừng, 1192
Hoàng tinh đầu gà, 1192

Hoạt thạch, 1193
Hoắc hương, 1194
Hòe (nụ hoa), 1195
Hồ tiêu (quả), 1196
Hội đồng Dược điển Việt Nam V, xvii
Hỗn dịch thuốc, PL-12
Hồng hoa (hoa), 1197
Húng chanh (lá), 1199
Hương gia bì (vỏ rễ), 1202
Hương nhu tía, 1202
Hương nhu trắng, 1204
Hương phụ (thân rễ), 1204
Hướng dẫn thiết lập dấu vân tay hóa học của dược liệu bằng phương pháp sắc ký lỏng hoặc sắc ký khí, PL-290
Hướng dẫn xử trí các vấn đề thường gặp trong thử nghiệm ELISA, PL-406
Huyền hồ sách, 1140
Huyền sâm (rễ), 1199
Huyết đằng, 1211
Huyết giác (lõi gỗ), 1201
Huyết thanh kháng bạch hầu, 991
Huyết thanh kháng dại, 991
Huyết thanh kháng nọc rắn, 992
Huyết thanh kháng uốn ván, 993
Huyết thanh miễn dịch dùng cho người, 989
Huyết thanh miễn dịch viêm gan B, 993
Hy thiêm, 1206
Hydroclorothiazid, 481, P-39
Hydrocortison acetat, 484, P-39
Hydroxocobalamin acetat, 488
Hydroxocobalamin clorid, 489
Hydroxocobalamin sulfat, 490
Hydroxyethylcelulose, 492
Hydroxyethylmethylcelulose, 494
Hydroxypropylcelulose, 495
Hyoscin butylbromid, 496, P-40

I

Ibuprofen, 498, P-40
Ích mẫu, 1207
Ích trí (quả), 1209
Imipenem, 501
Imipramin hydroclorid, 503
Indapamid, 505
Indinavir sulfat, 508, P-41
Indomethacin, 511, P-41
Interferon alpha 2, 994
Iod, 514
Irbesartan, 515, P-42
Isoleucin, 517
Isoniazid, 518, P-42
Isosorbid dinitrat hỗn hợp, 520, P-43
Isosorbid mononitrat hỗn hợp, 522
Itraconazol, 525

K

Kali bromid, 528
Kali clorid, 529
Kali iodid, 531
Kali permanganat, 532
Kanamycin monosulfat, 532
Kanamycin sulfat, 532
Kaolin nặng, 534
Kaolin nhẹ, 535
Kaolin nhẹ thiên nhiên, 536
Kế đầu ngựa (quả), 1210
Kem aciclovir, 16
Kem cloramphenicol và dexamethason natri phosphat, 287
Kem clotrimazol, 305
Kem fluocinolon, 423
Kem ketoconazol, 538
Kem promethazin hydroclorid, 800
Kem triamcinolon acetonid, 956
Kem ketoconazol và neomycin, 540
Kẽm oxyd, 543
Kẽm sulfat, 545
Ketoconazol, 537
Ketoprofen, 541, P-43
Kê huyết đằng (thân), 1211
Kê nội kim, 1212
Kha tử (quả), 1212
Khiếm thực (hạt), 1213
Khiếm thực nam, 1128
Khiên ngưu tử, 1082
Khoản đông hoa, 1213
Khổ hạnh nhân, 1214
Khổ qua, 1257
Khổ sâm (lá và cành), 1215
Khôi (lá), 1217
Khúc khắc, 1344
Khương hoàng, 1264
Khương hoạt (thân rễ và rễ), 1218
Kiểm tra độc tính đặc hiệu (an toàn đặc hiệu) trong vắc xin BCG đông khô, PL-371
Kiểm tra *Mycoplasma* trong vắc xin/sinh phẩm (phương pháp nuôi cấy hoặc dùng chỉ thị tế bào), PL-411
Kiểm tra vô trùng vắc xin/sinh phẩm, PL-368
Kim anh (quả), 1219
Kim cúc, 1130
Kim ngân (cuộng), 1220
Kim ngân (hoa), 1221
Kim tiền thảo, 1222
Kinh giới, 1223
Ký hiệu các chữ viết tắt, xlvii

L

La bặc tử, 1094
Lá ben, 1224
Lá lốt, 1225
Lá móng (lá), 1226
Lạc tiên, 1226
Lactose, 545
Lai phục tử, 1094
Lamivudin, 547, P-44
Lanolin khan, 552
Lansoprazol, 557
Lấy mẫu dược liệu, PL-271
Lẹo trắng,1250
Levamisol hydroclorid, 559
Levodopa, 561, P-44
Levofloxacin, 564
Levomepromazin maleat, 566
Levonorgestrel, 568
Levothyroxin natri, 571
Lịch sử Dược điển nước Cộng hòa xã hội chủ nghĩa Việt Nam, xiii
Lidocain hydroclorid, 573, P-45
Liên diệp, 1316
Liên kiều (quả), 1228
Liên nhục, 1315
Liên tâm, 1314
Lincomycin hydroclorid, 575, P-45
Linh chi, 1229
Long đởm (rễ và thân rễ), 1230
Long não racemic, 182
Long não thiên nhiên, 183
Long nha thảo, 1231
Long nhãn, 1232
Loperamid hydroclorid, 578
Lopinavir, 581
Loratadin, 583, P-46
Losartan kali, 586, P-46
Lovastatin, 589
Lô hội (nhựa), 1233
Lỗ khí và chỉ số lỗ khí, PL-291
Lộc giác, 1234
Lộc giác giao, 1234
Lộc giác sương, 1235
Lộc nhung, 1236
Lời nói đầu, xi
L-Tetrahydropalmatin, 842
Lức (lá), 1236
Lức (rễ), 1237
Lumefantrin, 592
Luminal, 749
Lương khương, 1165
Lysin acetat, 594

M

Ma bản thảo, 1122
Ma hoàng, 1237
Mã đề (hạt), 1239
Mã đề (lá), 1239
Mã tiền (hạt), 1240
Mạch môn (rễ), 1241
Mạch nha, 1242
Magnesi carbonat nặng, 597
Magnesi carbonat nhẹ, 598
Magnesi clorid, 598
Magnesi clorid hexahydrat, 598
Magnesi hydroxyd, 599
Magnesi lactat dihydrat, 601
Magnesi oxyd nặng, 603
Magnesi oxyd nhẹ, 604
Magnesi stearat, 604
Magnesi sulfat, 606
Magnesi trisilicat, 606
Mai ba ba, 1249
Mai mực, 1243
Mai rùa và yếm rùa, 1297
Mạn kinh tử, 1244
Mangiferin, 608
Màng mề gà, 1212
Manitol, 608
Mâm xôi (quả), 1245
Mắt trâu, 1222
Mần trắng, 1250
Mãng cụt (vỏ quả), 1245
Mất khối lượng do làm khô của các chất chiết được trong dược liệu, PL-280
Mật nhân, 1067
Mật ong, 1246
Mẫu đơn bì (vỏ rễ), 1248
Mẫu lệ, 1248
Mè đen, 1374
Mebendazol, 610
Mefloquin hydroclorid, 612
Meloxicam, 615, P-47
Menthol racemic, 617
Menthol tá tuyền, 619
Meprobamat, 620
Mercurocrom, 621
Metformin hydroclorid, 622, P-47
Methadon hydroclorid, 624, P-48
DL-Methionin, 626
Methyl parahydroxybenzoat, 627
Methyl salicylat, 629
Methylcelulose, 629
Methyldopa, 631, P-49
Methylparaben, 627
Methylprednisolon, 633, P-48
Methylprednisolon acetat, 636, P-49

Metoclopramid, 639
Metoclopramid hydroclorid, 640
Metronidazol, 643, P-50
Miconazol, 647
Miên tỳ giải, 1366
Miết giáp, 1249
Mò đỏ, 1376
Mò hoa trắng, 1250
Mò mâm xôi, 1250
Mò quạ (lá), 1250
Morphin hydroclorid, 649, P-50
Mộc hoa trắng, 1251
Mộc hương (rễ), 1252
Mộc miết tử, 1177
Mộc qua (quả), 1253
Mộc tặc, 1254
Môi trường dùng để phát hiện vi khuẩn hiếu khí, kỵ khí và nấm, PL-370
Một dược (gôm nhựa), 1255
Một số phương pháp miễn dịch sử dụng trong kiểm định vắc xin, PL-399
Mơ muối, 1255
Mục lục tra cứu theo tên Latin, ML-19
Mục lục tra cứu theo tên Việt Nam, ML-1
Muồng trâu (lá), 1256
Mực hoa trắng, 1251
Mướp đắng (quả), 1257

N

Naloxon hydroclorid, 651
Naloxon hydroclorid dihydrat, 651
Nam tỳ bà, 1224
Nang acetylcystein, 13
Nang acid tranexamic, 45
Nang alverin, 59
Nang ambroxol hydroclorid, 62
Nang amoxicilin, 85
Nang amoxicilin và cloxacilin, 88
Nang ampicilin, 99
Nang arginin, 104
Nang artemether, 106
Nang azithromycin, 128
Nang cefaclor, 197
Nang cefadroxil, 200
Nang cefdinir, 212
Nang cefixim, 217
Nang cefpodoxim, 227
Nang cefradin, 231
Nang cephalexin, 252
Nang clarithromycin, 272
Nang clindamycin, 277
Nang clofazimin, 279
Nang cloramphenicol, 284
Nang cloxacilin, 308
Nang doxycyclin, 365
Nang efavirenz, 371
Nang erythromycin stearat, 387
Nang fenofibrat, 413
Nang flucloxacilin, 418
Nang fluconazol, 420
Nang gabapentin, 429
Nang indinavir, 510
Nang indomethacin, 512
Nang itraconazol, 527
Nang ketoprofen, 542
Nang lincomycin, 576
Nang loperamid, 579
Nang mềm calcitriol, 182
Nang mềm progesteron, 797
Nang mềm vitamin A, 830
Nang mềm vitamin A và D, 830
Nang mềm vitamin E, 950
Nang ofloxacin, 698
Nang oseltamivir, 708
Nang oxytetracyclin, 719
Nang paracetamol, 728
Nang piracetam, 770
Nang piroxicam, 773
Nang rifampicin, 836
Nang rifampicin và isoniazid, 838
Nang sulpirid, 896
Nang tan trong ruột esomeprazol, 392
Nang tan trong ruột lansoprazol, 558
Nang tan trong ruột omeprazol, 702
Nang tetracyclin hydroclorid, 916
Náng hoa trắng (lá), 1258
Naphazolin nitrat, 653
Natri benzoat, 654
Natri bicarbonat, 662
Natri bromid, 655
Natri calci edetat, 656
Natri camphosulfonat, 657
Natri citrat, 658
Natri clorid, 659
Natri hydrocarbonat, 662
Natri hyposulfit, 667
Natri salicylat, 663
Natri sulfacetamid, 664
Natri sulfat, 665
Natri sulfat khan, 666
Natri sulfat ngậm mười phân tử nước, 665
Natri thiosulfat, 667
Nấm lim, 1229
Nấm trường thọ, 1229
Nần nghệ (thân rễ), 1259
Neomycin sulfat, 668
Nevirapin khan, 670
Nga truật (thân rễ), 1261
Ngải cứu, 1262

Ngải tím, 1261
Ngành ngạnh (lá), 1263
Nghệ (thân rễ), 1264
Nghệ đen, 1261
Ngọc mễ tu, 1301
Ngọc trúc (thân rễ), 1265
Ngoi (lá), 1266
Ngô công, 1267
Ngô thù du (quả), 1268
Ngũ bội tử, 1269
Ngũ gia bì chân chim (vỏ thân, vỏ cành), 1270
Ngũ gia bì gai (vỏ rễ, vỏ thân), 1271
Ngũ gia bì hương (vỏ rễ, vỏ thân), 1272
Ngũ vị tử, 1273
Nguyên hồ, 1140
Nguyên liệu để sản xuất đồ dựng máu và các chế phẩm máu, PL-441
Nguyên liệu làm đồ đựng, PL-438
Ngư tinh thảo, 1141
Ngưu bàng (quả), 1274
Ngưu bàng tử, 1274
Ngưu tất (rễ), 1275
Nha đảm tử, 1276
Nha loát thảo, 1079
Nhàu (quả), 1277
Nhàu (rễ), 1278
Nhân sâm (thân rễ và rễ), 1279
Nhân sâm Phú Yên, 1310
Nhân trần, 1280
Nhân trần tia, 1282
Nhiệt kế, PL-117
Nhót Nhật Bản, 1365
Nhót tây, 1365
Nhôm hydroxyd khô, 672
Nhôm phosphat khô, 672
Nhũ hương (gôm nhựa), 1282
Nhũ tương thuốc, PL-12
Nhục đậu khấu (hạt), 1283
Nhục thung dung (thân), 1284
Nhung hươu, 1236
Những quy định chung về kiểm tra chất lượng dược liệu, PL-271
Niclosamid khan, 673, P-51
Niclosamid monohydrat, 675
Nicotinamid, 677, P-51
Nifedipin, 678, P-52
Nifuroxazid, 681
Nikethamid, 682, P-52
Nipagin M, 627
Nipasol M, 804
Nitrazepam, 683
Nitrofurantoin, 684
Nivaquin phosphat, 296
Norfloxacin, 686
Núc nác (vỏ thân), 1285
Nút cao su dùng cho chai đựng thuốc tiêm và thuốc tiêm truyền, PL-429
Nước cất, 688
Nước để pha thuốc tiêm, 688
Nước oxy già đậm đặc, 692
Nước oxy già loãng 3 %, 693
Nước oxy già loãng 10 %, 693
Nước tinh khiết, 690
Nước vô khuẩn để tiêm, 691
Nystatin, 694

O

Omeprazol, 701
Oresol, 704
Oseltamivir phosphat, 706
Ouabain, 709
Oxacilin natri monohydrat, 710
Oxygen, 712
Oxymetazolin hydroclorid, 714
Oxytetracyclin dihydrat, 716
Oxytetracyclin hydroclorid, 717

Ô

Ofloxacin, 697
Ô dược (rễ), 1287
Ô đầu (rễ củ), 1286
Ô tặc cốt, 1243
Ổi (lá), 1288
Ống nghiệm dùng trong các phép thử so sánh, PL-193

P

Pantoprazol natri, 721
Pantoprazol natri sesquihydrat, 721
Papaverin hydroclorid, 724, P-53
Paracetamol, 726, P-53
Pefloxacin mesilat, 737
Penicilamin, 740
Pepsin, 742
Perindopril Erbumin, 744
Perindopril *tert*-butylamin, 744
Pethidin hydroclorid, 747, P-54
Phá cố chỉ, 1088
Phản ứng màu của các penicilin và cephalosporin, PL-192
Phát hiện *Mycoplasma* bằng phương pháp nuôi cấy, PL-394
Phân tích nhiệt, PL-174
Phân tích thống kê kết quả định lượng sinh học, PL-328
Phấn phòng kỷ, 1289
Phenobarbital, 748, P-54
Phenol, 750
Phenoxymethylpenicilin, 751

Phenoxymethylpenicilin kali, 753
Phenylpropanolamin hydroclorid, 755
Phenytoin, 756, P-55
Phép thử các chất hạ áp, PL-298
Phép thử chất gây sốt, PL-298
Phép thử độ đồng đều đơn vị liều, PL-265
Phép thử độ đồng đều hàm lượng, PL-249
Phép thử độ đồng đều khối lượng, PL-249
Phép thử độ giải phóng dược chất của thuốc dán thấm qua da, PL-268
Phép thử độ hòa tan của dạng thuốc rắn phân liều, PL-250
Phép thử độ rã của thuốc đạn và thuốc trứng, PL-259
Phép thử độ rã của viên bao tan trong ruột, PL-263
Phép thử độ rã của viên nén và nang, PL-260
Phép thử histamin, PL-293
Phép thử nội độc tố vi khuẩn, PL-293
Phép thử xác định chiết kiệt alcaloid, PL-272
Phễu lọc thủy tinh xốp, PL-118
Phòng đảng sâm, 1156
Phòng kỷ (rễ), 1289
Phòng kỷ bắc, 1289
Phòng phong (rễ), 1289
Phổ hồng ngoại, P-1
Phổ huỳnh quang tia X, PL-130
Phổ khối, PL-125
Phổ khối - plasma cảm ứng (ICP-MS), PL-128
Phổ Raman, PL-131
Phthalylsulfathiazol, 758
Phù bình, 1082
Phụ tử, 1291
Phục linh, 1292
Phương pháp chế biến đông dược, PL-285
Phương pháp chuẩn độ bằng nitrit, PL-208
Phương pháp chuẩn độ complexon, PL-208
Phương pháp chuẩn độ đo ampe, PL-205
Phương pháp chuẩn độ đo điện thế, PL-205
Phương pháp chuẩn độ trong môi trường khan, PL-209
Phương pháp điện di, PL-154
Phương pháp điện di mao quản, PL-157
Phương pháp lấy mẫu và lưu mẫu, PL-373
Phương pháp phân tích acid amin, PL-214
Phương pháp quang phổ hấp thụ tử ngoại và khả kiến, PL-120
Phương pháp quang phổ hồng ngoại, PL-122
Phương pháp quang phổ huỳnh quang, PL-123
Phương pháp quang phổ nguyên tử phát xạ và hấp thụ, PL-124
Phương pháp sắc ký giấy, PL-144
Phương pháp sắc ký khí, PL-145
Phương pháp sắc ký lỏng, PL-147
Phương pháp sắc ký lớp mỏng, PL-149
Phương pháp sắc ký rây phân tử, PL-151
Phytomenadion, 760
Pilocarpin nitrat, 762, P-55
Piperacilin natri, 764
Piperazin adipat, 765
Piperazin citrat, 766
Piperazin hydrat, 767
Piperazin phosphat, 768
Piracetam, 769
Piroxicam, 771
Poly (ethylen-vinyl acetat) dùng sản xuất đồ đựng và dây truyền dịch dinh dưỡng, PL-453
Polyethylen, PL-446
Polyethylen terephthalat để sản xuất đồ đựng chế phẩm không phải là thuốc tiêm, PL-451
Polymyxin B sulfat, 775
Polyolefin, PL-456
Polyoxyethylen, 777
Polypropylen dùng làm đồ đựng và nút cho thuốc tiêm truyền và thuốc nhỏ mắt, PL-460
Polysorbat 20, 777
Polysorbat 60, 778
Polysorbat 80, 779
Povidon, 780
Povidon iod, 784
Praziquantel, 785
Prednisolon, 787, P-56
Prednison, 789
Primaquin diphosphat, 791
Procain hydroclorid, 793
Procainamid hydroclorid, 795, P-56
Progesteron, 796, P-57
Promethazin hydroclorid, 798, P-57
Propranolol hydroclorid, 802, P-58
Propyl parahydroxybenzoat, 804
Propylen glycol, 806, P-58
Propylparaben, 804
Propylthiouracil, 806, P-59
Pyrantel embonat, 808
Pyrantel pamoat, 808
Pyrazinamid, 810, P-59
Pyridoxin hydroclorid, 812, P-60
Pyrimethamin, 814, P-60

Q

Qua lâu (hạt), 1293
Qua lâu (quả), 1294
Qua lâu tử, 1293
Quan âm biển, 1244
Quế (cành), 1295
Quế (vỏ thân, vỏ cành), 1296
Quế chi, 1295
Qui định chung, xliii
Qui định đối với tạp chất là dung môi tồn dư, PL-230
Qui giáp và qui bản, 1297
Quinapril hydroclorid, 815
Quinidin bisulfat, 817
Quinin dihydroclorid, 819
Quinin hydroclorid, 820

Quinin sulfat, 822
Quy trình thử nghiệm công hiệu *(in vivo)* của vắc xin viêm gan B tái tổ hợp, PL-398
Quỷ châm thảo, 1172

R

Ramipril, 824, P-61
Ranitidin hydroclorid, 826, P-61
Rau đắng đất, 1298
Rau má, 1299
Rau sam, 1300
Rau mèo, 1301
Rau ngổ, 1301
Ré quạt (thân rễ), 1302
Retinol (vitamin A) tổng hợp đậm đặc dạng bột, 829
Retinol (vitamin A) tổng hợp đậm đặc dạng dầu, 829
Rễ kế, 1363
Riboflavin, 831
Riboflavin natri phosphat, 833
Riềng (thân rễ), 1303
Riềng lá nhọn, 1209
Rifampicin, 834, P-62
Ritonavir, 841
Rong mơ, 1304
Rotundin, 842
Roxithromycin, 845
Rutin, 848
Rutosid, 848
Rửa dụng cụ thuỷ tinh, PL-119
Rượu thuốc, PL-31

S

Sa nhân (quả), 1305
Sa sâm (rễ), 1306
Sa sâm bắc, 1306
Sài đất, 1306
Sài hồ (rễ), 1307
Sài hồ nam, 1236
Salbutamol, 851, P-62
Salbutamol sulfat, 853, P-63
Sáp ong trắng, 1309
Sáp ong vàng, 1309
Sắt (II) sulfat, 860
Sắn dây (rễ củ), 1310
Sắt (II) sulfat khô, 861
Sắt fumarat, 856
Sắt oxyd, 858
Sâm bố chính (rễ), 1310
Sâm cau, 1312
Sâm cau (thân rễ), 1311
Sâm đại hành (thân hành), 1312
Sâm gỗ, 1102
Sâm K5, 1313
Sâm nam, 1102
Sâm Ngọc Linh, 1313
Sâm Việt Nam (thân rễ và rễ), 1313
Sầu dâu cứt chuột, 1276
Sen (cây mầm), 1314
Sen (hạt), 1315
Sen (lá), 1316
Silicon, PL-432
Simvastatin, 863, P-63
Sinh địa, 1164
Sirô alimemazin, 53
Sirô promethazin hydroclorid, 801
Sirô thuốc, PL-11
Sói rừng, 1317
Sorbitol, 865
Sơn liên ngẫu, 1102
Sơn thù (quả), 1318
Sơn thù du, 1318
Sơn tra (quả), 1319
Spartein sulfat, 868
Spectinomycin hydroclorid, 869
Spiramycin, 870
Stavudin, 872
Stearyl alcol, 875
Streptomycin sulfat, 876
Strychnin sulfat, 879
Sucralfat, 880
Sulbactam natri, 881
Sulfadiazin, 883, P-64
Sulfadimidin, 885
Sulfadoxin, 886
Sulfaguanidin, 888
Sulfamethoxazol, 889, P-64
Sulfamethoxypyridazin, 891
Sulfasalazin, 892, P-65
Sulfathiazol, 894
Sulpirid, 895, P-65
Sultamicilin, 897
Sultamicilin tosilat dihydrat, 899
Sử quân tử, 1320

T

Tai Hồng, 1337
Tam nại, 1261
Tam thất (rễ củ), 1321
Tamoxifen citrat, 901, P-66
Tang bạch bì, 1137
Tang chi, 1135
Tang diệp, 1136
Tang ký sinh, 1322
Tang thầm, 1137
Tartrazin, 902
Táo (hạt), 1323

Táo nhân, 1323
Tạo giác, 1087
Tạo giác thích, 1086
Tắc kè, 1324
Tầm vôi, 1326
Tâm sen, 1314
Tầm gửi, 1325
Tầm gửi trên cây dâu, 1322
Tần giao (rễ), 1326
Tất bát (quả), 1327
Telmisartan, 904
Tenoxicam, 906
Terbutalin sulfat, 909
Terfenadin, 910, P-66
Terpin hydrat, 912
Tetracain hydroclorid, 913
Tetracyclin hydroclorid, 915
Tế tân (rễ và thân rễ), 1328
Thạch cao, 1329
Thạch hộc (thân), 1330
Thạch xương bồ lá to, 1382
Than hoạt tính, 919
Thanh bì, 1333
Thanh cao, 1332
Thanh cao hoa vàng (lá), 1332
Thanh hao hoa vàng, 1332
Thảo quả (quả), 1335
Thảo quyết minh (hạt), 1335
Thăng ma (thân rễ), 1336
Theophylin, 920, P-67
Theophylin ethylendiamin, 66
Thị đế, 1337
Thiamin hydroclorid, 922
Thiamin nitrat, 925
Thiamphenicol, 928
Thiên đông, 1339
Thiên ma (thân rễ), 1338
Thiên môn đông (rễ), 1339
Thiên niên kiện (thân rễ), 1340
Thiên trúc hoàng, 1340
Thiền liền, 1165
Thiopental natri và natricarbonat, 929
Thiopental natri, 929, P-67
Thích tật lê, 1075
Thỏ ty tử, 1341
Thông thảo (lõi thân), 1345
Thổ cam thảo, 1096
Thổ hào sâm, 1310
Thổ hoàng liên (thân rễ), 1342
Thổ phục linh (thân rễ), 1344
Thuật ngữ dạng thuốc theo mô hình giải phóng (phóng thích) dược chất, PL-37
Thục địa, 1345
Thuốc bọt y tế, PL-30
Thuốc bột, PL-13
Thuốc bột aspartam, 116
Thuốc bột natri hydrocarbonat, 662
Thuốc bột sorbitol, 867
Thuốc bột uống bù dịch, 704
Thuốc cốm, PL-14
Thuốc dán thấm qua da và cao dán, PL-15
Thuốc đặt, PL-16
Thuốc đỏ, 621
Thuốc giọt nikethamid, 683
Thuốc hít, PL-23
Thuốc hoàn, PL-17
Thuốc khí dung, PL-23
Thuốc mềm dùng trên da và niêm mạc, PL-18
Thuốc mỡ acid boric 10 %, 28
Thuốc mỡ benzosali, 26
Thuốc mỡ hydrocortison acetat, 486
Thuốc mỡ kẽm oxyd, 544
Thuốc mỡ nystatin, 695
Thuốc mỡ tra mắt tetracyclin hydroclorid, 917
Thuốc nang, PL-19
Thuốc nhỏ mắt betamethason, 150
Thuốc nhỏ mắt ciprofloxacin, 269
Thuốc nhỏ mắt, PL-20
Thuốc nhỏ mắt cloramphenicol, 285
Thuốc nhỏ mắt cloramphenicol và dexamethason natri phosphat, 289
Thuốc nhỏ mắt gentamicin, 436
Thuốc nhỏ mắt hydrocortison và neomycin, 487
Thuốc nhỏ mắt kẽm sulfat, 545
Thuốc nhỏ mắt natri clorid 0,9 %, 660
Thuốc nhỏ mắt neomycin, 669
Thuốc nhỏ mắt ofloxacin, 699
Thuốc nhỏ mắt tobramycin, 946
Thuốc nhỏ mũi oxymetazolin, 715
Thuốc nhỏ mũi và thuốc xịt mũi dạng lỏng, PL-21
Thuốc nhỏ mũi xylometazolin, 982
Thuốc nhỏ tai cloramphenicol, 286
Thuốc nhỏ tai và thuốc xịt vào tai, PL-22
Thuốc thang, PL-32
Thuốc tiêm acid ascorbic, 24
Thuốc tiêm adrenalin, 50
Thuốc tiêm amikacin, 65
Thuốc tiêm aminophylin, 67
Thuốc tiêm atropin sulfat, 123
Thuốc tiêm cafein và natri benzoat, 168
Thuốc tiêm calci clorid 10 %, 171
Thuốc tiêm calci gluconat, 174
Thuốc tiêm clorpromazin hydroclorid, 302
Thuốc tiêm cyanocobalamin, 321
Thuốc tiêm dexamethason, 333
Thuốc tiêm diazepam, 341
Thuốc tiêm diclofenac natri, 345
Thuốc tiêm dimercaprol, 356
Thuốc tiêm epinephrin, 50
Thuốc tiêm ephedrin hydroclorid, 377

Thuốc tiêm gentamicin, 437
Thuốc tiêm glucose, 461
Thuốc tiêm hydrocortison acetat, 487
Thuốc tiêm hydroxocobalamin, 491
Thuốc tiêm kanamycin, 534
Thuốc tiêm lidocain, 574
Thuốc tiêm lincomycin, 577
Thuốc tiêm methylprednisolon acetat, 638
Thuốc tiêm metoclopramid, 641
Thuốc tiêm morphin hydroclorid, 650
Thuốc tiêm natri clorid, 661
Thuốc tiêm natri hydrocarbonat, 663
Thuốc tiêm piracetam, 771
Thuốc tiêm procain hydroclorid, 794
Thuốc tiêm progesteron, 798
Thuốc tiêm pyridoxin hydroclorid, 813
Thuốc tiêm quinin dihydroclorid, 820
Thuốc tiêm spartein sulfat, 868
Thuốc tiêm thiamin hydroclorid, 924
Thuốc tiêm, thuốc tiêm truyền, PL-26
Thuốc tiêm tobramycin, 947
Thuốc tiêm truyền glucose, 462
Thuốc tiêm truyền metronidazol, 644
Thuốc tiêm truyền natri clorid đẳng trương, 661
Thuốc tiêm truyền paracetamol, 729
Thuốc tiêm vitamin B_1, 924
Thuốc tiêm vitamin B_6, 813
Thuốc tiêm vitamin C, 24
Thuốc viên nén, PL-28
Thuyền thoái, 1346
Thủy xương bồ, 1382
Thử độc tính bất thường, PL-299
Thử giới hạn nhiễm khuẩn, PL-300
Thử nghiệm nhận dạng huyết thanh miễn dịch, PL-371
Thử nghiệm nhận dạng thành phần bạch hầu - uốn ván - ho gà trong vắc xin DTwP hấp phụ, PL-378
Thử vô khuẩn, PL-311
Thừng mực lá to, 1251
Thương lục (rễ củ), 1347
Thương nhĩ tử, 1210
Thương truật (thân rễ), 1348
Tía tô (lá), 1349
Tía tô (quả), 1350
Tía tô (thân), 1351
Ticarcilin natri, 930, P-68
Tiên hạc thảo, 1231
Tiêu mao, 1311
Tiểu hồ (rễ), 1351
Tiêu đài, 1327
Tiêu lá tim, 1327
Tiêu lốt, 1327
Tiêu thất, 1327
Tiểu hồi (quả), 1352
Tiểu kinh giới, 1223
Timolol maleat, 932, P-68
Tinh bột biến tính natri glycolat typ A, 935
Tinh bột biến tính natri glycolat typ B, 936
Tinh bột biến tính natri glycolat typ C, 937
Tinh bột gạo, 938
Tinh bột khoai tây, 939
Tinh bột lúa mì, 939
Tinh bột ngô, 940
Tinh bột sắn, 941
Tinh bột thủy phân, 941
Tinh dầu bạc hà, 1398
Tinh dầu bạch đàn, 1399
Tinh dầu gừng, 1399
Tinh dầu hồi, 1400
Tinh dầu húng chanh, 1400
Tinh dầu hương nhu trắng, 1400
Tinh dầu long não, 1401
Tinh dầu nghệ, 1402
Tinh dầu quế, 1402
Tinh dầu Tần dày lá, 1400
Tinh dầu tràm, 1403
Tinh tuyết thảo, 1299
Tinidazol, 942
Titan dioxyd, 944
Toan táo nhân, 1323
Toàn yết, 1353
Tobramycin, 945
Tóc tiên lco, 1339
Tỏi (căn hành), 1354
Tỏi lào, 1312
Tolbutamid, 951, P-69
Tô diệp, 1349
Tô mộc, 1354
Tô ngạnh, 1351
Tô tử, 1350
Trạch tả (thân rễ), 1355
Tràm (cành và lá), 1356
Tramadol hydroclorid, 953, P-69
Trắc bá, 1357
Trắc bách diệp, 1357
Trần bì, 1358
Tri mẫu (thân rễ), 1360
Triamcinolon acetonid, 954, P-70
Tricloromethan, 295
Triglycerid mạch trung bình, 957
Trihexyphenidyl hydroclorid, 959
Trimetazidin hydroclorid, 961
Trimethoprim, 964, P-70
Trinh nữ hoàng cung (lá), 1360
Trư linh, 1362
Trư nha tạo, 1087
Trữ ma căn, 1176
Tử bình, 1082
Tử uyển (rễ và thân rễ), 1364
Tuberculin PPD, 996
Tục đoạn (rễ), 1363

Tỳ bà diệp, 1365
Tỳ giải (thân rễ), 1366

U

Uất kim, 1264
Uy linh tiên (rễ và thân rễ), 1367

V

Valproat natri, 967
Vancomycin hydroclorid, 969
Vàng dăng (thân), 1368
Vanilin, 971
Vaselin, 972
Vắc xin bạch hầu hấp phụ, 998
Vắc xin bạch hầu, uốn ván hấp phụ dùng cho người lớn và vị thành niên, 1002
Vắc xin bạch hầu, uốn ván, ho gà, viêm gan B và HIB (DT_wP - HEB - HIB), 1007
Vắc xin bạch hầu, uốn ván và ho gà hấp phụ (DTwP), 1000
Vắc xin bại liệt bất hoạt (IPV), 1014
Vắc xin bại liệt uống, 1015
Vắc xin BCG, 1016
Vắc xin cúm bất hoạt, 1017
Vắc xin dại tế bào dùng cho người, 1020
(Các) Vắc xin dùng cho người, 997
Vắc xin *Haemophilus influenzae* typ b cộng hợp, 1022
Vắc xin não mô cầu Polysaccharid cộng hợp, 1024
Vắc xin phế cầu, 1025
Vắc xin phế cầu cộng hợp hấp phụ, 1027
Vắc xin phối hợp bạch hầu, uốn ván, ho gà vô bào (DTaP) hấp phụ, 1004
Vắc xin phối hợp viêm gan A bất hoạt, hấp thụ và vắc xin viêm gan B tái tổ hợp, hấp thụ, 1056
Vắc xin phòng Papillomavirus ở người (tái tổ hợp), 1029
Vắc xin quai bị, 1034
Vắc xin rota sống giảm độc lực (uống), 1036
Vắc xin rubella, 1038
Vắc xin sởi, 1041
Vắc xin sởi, quai bị và rubella (vắc xin MMR), 1041
Vắc xin tả uống bất hoạt, 1043
Vắc xin thủy đậu, 1049
Vắc xin thương hàn uống, 1045
Vắc xin thương hàn Vi polysaccharid, 1047
Vắc xin uốn ván hấp phụ, 1013
Vắc xin viêm gan A bất hoạt, hấp thụ, 1050
Vắc xin viêm gan A bất hoạt, virosom, 1052
Vắc xin viêm gan A sống giảm độc lực, 1053
Vắc xin viêm gan B tái tổ hợp, 1054
Vắc xin viêm não Nhật Bản, 1058
Vẩy rồng, 1222
Vẩy Tê tê, 1379
Vẩy Trút, 1379
Verapamil hydroclorid, 973, P-71
Viên bao tan trong ruột aspirin, 19
Viên đặt nystatin, 696
Viên đặt paracetamol, 730
Viên nén acebutolol, 6
Viên nén acenocoumarol, 8
Viên nén acetazolamid, 10
Viên nén aciclovir, 16
Viên nén acid acetylsalicylic, 19
Viên nén acid ascorbic, 25
Viên nén acid folic, 31
Viên nén acid mefenamic, 34
Viên nén acid nalidixic, 41
Viên nén acid tranexamic, 46
Viên nén albendazol, 52
Viên nén alimemazin, 54
Viên nén alopurinol, 57
Viên nén ambroxol hydroclorid, 63
Viên nén aminophylin, 68
Viên nén amiodaron, 70
Viên nén amitriptylin, 73
Viên nén amlodipin, 75
Viên nén amodiaquin hydroclorid, 77
Viên nén amoxicilin, 86
Viên nén amoxicilin và acid clavulanic, 87
Viên nén artemether, 107
Viên nén artemether và lumefantrin, 108
Viên nén aspirin, 19
Viên nén aspirin và cafein, 21
Viên nén atenolol, 118
Viên nén atorvastatin, 121
Viên nén atropin sulfat, 124
Viên nén bao tan trong ruột acid acetylsalicylic, 19
Viên nén bao tan trong ruột bisacodyl, 156
Viên nén bao tan trong ruột diclofenac, 346
Viên nén bao tan trong ruột esomeprazol, 394
Viên nén bao tan trong ruột pantoprazol, 722
Viên nén berberin clorid, 144
Viên nén betamethason, 146
Viên nén biotin, 154
Viên nén bromhexin hydroclorid, 163
Viên nén calci và vitamin D_3, 169
Viên nén captopril, 187
Viên nén carbamazepin, 189
Viên nén cefadroxil, 201
Viên nén cefixim, 219
Viên nén cefpodoxim, 228
Viên nén cefuroxim, 240
Viên nén cephalexin, 253
Viên nén cetirizin, 255
Viên nén chymotrypsin, 259
Viên nén cimetidin, 264
Viên nén cinarizin, 266
Viên nén ciprofloxacin, 270
Viên nén clarithromycin, 273

Viên nén clopidogrel, 282
Viên nén cloramphenicol, 287
Viên nén cloroquin phosphat, 297
Viên nén clorpheniramin, 299
Viên nén clorpromazin hydroclorid, 303
Viên nén codein phosphat, 313
Viên nén colchicin, 315
Viên nén colecalciferol, 317
Viên nén cortison, 319
Viên nén cotrimoxazol, 966
Viên nén cyproheptadin hydroclorid, 323
Viên nén dapson, 324
Viên nén dexamethason, 328
Viên nén dexclorpheniramin, 336
Viên nén dexpanthenol, 338
Viên nén dextromethorphan hydrobromid, 340
Viên nén diazepam, 342
Viên nén diltiazem, 351
Viên nén dimenhydrinat, 354
Viên nén diphenhydramin, 358
Viên nén domperidon, 362
Viên nén đặt âm đạo clotrimazol, 306
Viên nén enalapril, 374
Viên nén ephedrin hydroclorid, 377
Viên nén ergocalciferol, 380
Viên nén erythromycin, 382
Viên nén erythromycin stearat, 387
Viên nén ethambutol, 397
Viên nén ethambutol và isoniazid, 398
Viên nén ethinylestradiol, 404
Viên nén famotidin, 409
Viên nén fexofenadin, 415
Viên nén furosemid, 427
Viên nén gabapentin, 430
Viên nén Gardenal, 749
Viên nén glibenclamid, 440
Viên nén glibenclamid và metformin, 441
Viên nén gliclazid, 444
Viên nén glimepirid, 446
Viên nén glimepirid và metformin, 448
Viên nén glipizid, 451
Viên nén glipizid và metformin, 452
Viên nén glucosamin, 458
Viên nén glyburid và metformin, 441
Viên nén glyceryl trinitrat, 469
Viên nén griseofulvin, 471
Viên nén haloperidol, 475
Viên nén heptaminol, 478
Viên nén hydroclorothiazid, 483
Viên nén hyoscin butylbromid, 497
Viên nén ibuprofen, 500
Viên nén imipramin, 504
Viên nén indapamid, 507
Viên nén indomethacin, 513
Viên nén irbesartan, 516
Viên nén isoniazid, 519
Viên nén isosorbid dinitrat, 522
Viên nén isosorbid mononitrat, 524
Viên nén kali clorid, 530
Viên nén ketoconazol, 539
Viên nén lamivudin, 549
Viên nén lamivudin và zidovudin, 551
Viên nén levodopa, 562
Viên nén levodopa và carbidopa, 563
Viên nén levofloxacin, 565
Viên nén levomepromazin, 567
Viên nén levonorgestrel, 570
Viên nén levothyroxin, 572
Viên nén loperamid, 580
Viên nén loratadin, 585
Viên nén losartan kali, 588
Viên nén lovastatin, 591
Viên nén magnesi - B6, 602
Viên nén magnesi - nhôm hydroxyd, 600
Viên nén mebendazol, 611
Viên nén mefloquin, 614
Viên nén meloxicam, 616
Viên nén metformin, 623
Viên nén methionin, 627
Viên nén methyldopa, 633
Viên nén methylprednisolon, 635
Viên nén metoclopramid, 642
Viên nén metronidazol, 644
Viên nén metronidazol và nystatin, 645
Viên nén metronidazol và spiramycin, 646
Viên nén natri thiosulfat, 667
Viên nén nevirapin, 671
Viên nén niclosamid, 676
Viên nén nicotinamid, 677
Viên nén nifedipin, 679
Viên nén nitrofurantoin, 685
Viên nén norfloxacin, 687
Viên nén nystatin, 696
Viên nén ofloxacin, 700
Viên nén papaverin hydroclorid, 725
Viên nén paracetamol, 731
Viên nén paracetamol và cafein, 733
Viên nén paracetamol và clorpheniramin, 734
Viên nén paracetamol và codein, 735
Viên nén paracetamol và ibuprofen, 736
Viên nén pefloxacin mesylat, 739
Viên nén penicilin V, 752
Viên nén penicilin V kali, 754
Viên nén perindopril *tert*-butylamin, 746
Viên nén phenobarbital, 749
Viên nén phenytoin, 757
Viên nén phthalylsulfathiazol, 759
Viên nén phytomenadion, 761
Viên nén piperazin phosphat, 769
Viên nén piroxicam, 774

Viên nén praziquantel, 786
Viên nén prednisolon, 788
Viên nén primaquin diphosphat, 792
Viên nén promethazin hydroclorid, 801
Viên nén propranolol, 803
Viên nén propylthiouracil, 807
Viên nén pyrantel pamoat, 809
Viên nén pyrazinamid, 811
Viên nén pyridoxin hydroclorid, 814
Viên nén quinin sulfat, 823
Viên nén ramipril, 825
Viên nén ranitidin, 828
Viên nén riboflavin, 833
Viên nén rifampicin, 837
Viên nén rifampicin, isoniazid và pyrazinamid, 839
Viên nén rotundin, 844
Viên nén roxithromycin, 847
Viên nén Rutin C, 850
Viên nén rutin, 849
Viên nén rutin và acid ascorbic, 850
Viên nén salbutamol, 855
Viên nén sắt (II) sulfat, 862
Viên nén sắt fumarat và acid folic, 857
Viên nén simvastatin, 864
Viên nén spiramycin, 872
Viên nén stavudin, 874
Viên nén sủi calci gluconat, 172
Viên nén sulfadoxin và pyrimethamin, 887
Viên nén sulfaguanidin, 889
Viên nén sulfamethoxazol, 890
Viên nén telmisartan, 905
Viên nén tenoxicam, 908
Viên nén terfenadin, 911
Viên nén tetracyclin hydroclorid, 918
Viên nén theophylin, 922
Viên nén thiamin, 926
Viên nén timolol, 934
Viên nén tinidazol, 943
Viên nén tolbutamid, 952
Viên nén trihexyphenidyl, 960
Viên nén trimeprazin, 54
Viên nén trimetazidin, 963
Viên nén valproat natri, 968
Viên nén vinpocetin, 980
Viên nén vitamin B_1, 926
Viên nén vitamin B_1, B_6 và B_{12}, 927
Viên nén vitamin B_2, 833
Viên nén vitamin B_6, 814
Viên nén vitamin C, 25
Viên nén zidovudin, 985
Viên ngậm amphotericin, 91
Viên sủi paracetamol, 732
Viễn chí (rễ), 1369
Vinblastin sulfat, 974, P-71
Vincristin sulfat, 977, P-72
Vinpocetin, 979
Vitamin B_6, 812
Vitamin C, 23
Vitamin D_2, 378
Vitamin D_3, 316
Vitamin K_1, 760
Vitamin P, 848
Vỏ hà, 1248
Vỏ hàu, 1248
Vỏ nang cứng gelatin, 433
Vỏ rễ dâu, 1137
Vọng cách (lá), 1370
Vối (lá), 1371
Vối (nụ hoa), 1372
Vông nem (lá), 1373
Vừng đen (hạt), 1374

X

Xa tiền tử, 1239
Xà sàng (quả), 1375
Xạ can, 1302
Xác định acid acetic trong peptid tổng hợp, PL-237
Xác định acid aristolochic I trong dược liệu, PL-290
Xác định an toàn chung của vắc xin và sinh phẩm, PL-372
Xác định BSA tồn dư trong vắc xin, PL-400
Xác định các chất bảo quản kháng khuẩn, PL-238
Xác định các chất chiết được trong dược liệu, PL-278
Xác định các chất oxy hóa, PL-184
Xác định carbon hữu cơ toàn phần trong nước dùng cho ngành dược, PL-184
Xác định chất gây sốt trong vắc xin và sinh phẩm, PL-372
Xác định chất không bị xà phòng hóa, PL-183
Xác định chỉ số acetyl, PL-180
Xác định chỉ số acid, PL-180
Xác định chỉ số ester, PL-180
Xác định chỉ số hydroxyl, PL-180
Xác định chỉ số iod, PL-181
Xác định chỉ số khúc xạ, PL-163
Xác định chỉ số peroxyd, PL-182
Xác định chỉ số pH, PL-163
Xác định chỉ số trương nở, PL-285
Xác định chỉ số xà phòng hóa, PL-182
Xác định công hiệu của vắc xin bại liệt uống, PL-381
Xác định công hiệu thành phần bạch hầu trong vắc xin hấp phụ chứa giải độc tố bạch hầu, PL-383
Xác định công hiệu thành phần ho gà toàn tế bào trong vắc xin phối hợp, hấp phụ, PL-385
Xác định công hiệu thành phần uốn ván trong vắc xin hấp phụ chứa giải độc tố uốn ván, PL-382
Xác định đậm độ vi khuẩn ho gà, PL-367
Xác định điện dẫn suất, PL-172
Xác định độ ẩm tồn dư trong vắc xin, sinh phẩm đông khô, PL-394
Xác định độ chân không của vắc xin BCG, PL-365

Xác định độ nhớt của chất lỏng, PL-164
Xác định độ phân tán của vắc xin BCG, PL-366
Xác định độ sống của vắc xin BCG, PL-364
Xác định độ thấm thấu, PL-171
Xác định độ tinh khiết kháng nguyên HBsAg, PL-396
Xác định độ trong của dung dịch, PL-193
Xác định độc tố thần kinh tồn dư trong vắc xin bại liệt uống, PL-380
Xác định dung môi tồn dư, PL-225
Xác định ethylen oxyd và dioxan tồn dư, PL-235
Xác định giới hạn Amoni, PL-195
Xác định giới hạn Arsen, PL-195
Xác định giới hạn các tạp chất, PL-195
Xác định giới hạn Calci, PL-196
Xác định giới hạn carbon monoxyd trong khí y tế, PL-202
Xác định giới hạn Chì trong đường, PL-196
Xác định giới hạn Clorid, PL-196
Xác định giới hạn Fluorid, PL-196
Xác định giới hạn Kali, PL-197
Xác định giới hạn kim loại nặng trong dược liệu và trong dầu béo, PL-200
Xác định giới hạn kim loại nặng, PL-197
Xác định giới hạn Magnesi, PL-202
Xác định giới hạn Magnesi và kim loại kiềm thổ, PL-202
Xác định giới hạn Nhôm, PL-200
Xác định giới hạn Nickel trong polyol, PL-200
Xác định giới hạn Phosphat, PL-201
Xác định giới hạn Sắt, PL-202
Xác định giới hạn Sulfat, PL-202
Xác định giới hạn tiểu phân, PL-263
Xác định góc quay cực và góc quay cực riêng, PL-166
Xác định hàm lượng aflatoxin B_1 trong dược liệu, PL-288
Xác định hàm lượng cesi trong vắc xin và sinh phẩm, PL-397
Xác định hàm lượng ethanol, PL-222
Xác định hàm lượng formaldehyd tồn dư trong vắc xin và sinh phẩm, PL-387
Xác định hàm lượng lipid trong vắc xin và sinh phẩm, PL-396
Xác định hàm lượng methanol và propan-2-ol, PL-225
Xác định hàm lượng natri clorid với sự có mặt của protein bằng phương pháp định lượng gián tiếp (phương pháp Charpentier-Volhard), PL-388
Xác định hàm lượng nhôm (Al^{+++}) trong vắc xin và sinh phẩm, PL-388
Xác định hàm lượng nitơ protein của vắc xin và sinh phẩm bằng thuốc thử Nessler, PL-391
Xác định hàm lượng nitơ toàn phần của vắc xin và sinh phẩm bằng thuốc thử Nessler, PL-377
Xác định hàm lượng nước bằng phương pháp cất với dung môi, PL-279
Xác định hàm lượng phenol trong vắc xin và sinh phẩm, PL-389
Xác định hàm lượng polysaccharid trong vắc xin và sinh phẩm, PL-396
Xác định hàm lượng protein toàn phần trong vắc xin và sinh phẩm, PL-392
Xác định hàm lượng saccharid tổng số bằng phương pháp orcinol, PL-397
Xác định hàm lượng thimerosal trong vắc xin và sinh phẩm, PL-389
Xác định hàm lượng Tween 20 trong vắc xin và sinh phẩm, PL-367
Xác định hàm lượng Vi polysaccharid của vắc xin thương hàn Vi polysaccharid, PL-395
Xác định hiệu giá huyết thanh kháng dại, PL377
Xác định hiệu giá huyết thanh kháng độc tố bạch hầu, PL-375
Xác định hiệu giá huyết thanh kháng độc tố uốn ván, PL-376
Xác định hiệu lực vắc xin dại theo phương pháp NIH, PL-390
Xác định hiệu quả kháng khuẩn của chất bảo quản, PL-316
Xác định hoạt lực thuốc kháng sinh bằng phương pháp thử vi sinh vật, PL-318
Xác định khối lượng riêng của chất rắn, PL-173
Xác định khối lượng riêng thô và khối lượng riêng gõ của bột, PL-177
Xác định khối lượng riêng và tỷ trọng, PL-166
Xác định lưu huỳnh dioxyd, PL-183
Xác định mất khối lượng do làm khô, PL-203
Xác định màu sắc của dung dịch, PL-193
Xác định nhiệt độ đông đặc, PL-167
Xác định nhiệt độ nóng chảy, khoảng nóng chảy và điểm nhỏ giọt, PL-168
Xác định nhiệt độ sôi và khoảng chưng cất, PL-170
Xác định pH của vắc xin và sinh phẩm, PL-392
Xác định tạp chất lẫn trong dược liệu, PL-279
Xác định tính an toàn vắc xin DTwP hấp phụ, PL-366
Xác định tro không tan trong acid, PL-203
Xác định tro sulfat, PL-204
Xác định tro tan trong nước, PL-204
Xác định tro toàn phần, PL-204
Xác định tỷ lệ vụn nát của dược liệu, PL-279
Xác ve sầu, 1346
Xích đồng nam (rễ), 1376
Xích thược (rễ), 1377
Xoan rừng, 1276
Xương bồ, 1382
Xuyên bối mẫu, 1089
Xuyên khung (thân rễ), 1378
Xuyên sơn giáp, 1379
Xuyên tâm liên, 1380
Xuyên tiêu (quả), 1382
Xylometazolin hydroclorid, 980, P-72

Y

Ý dĩ (hạt), 1384
Yêu cầu chung đối với các chế phẩm probiotic, PL-34

Z

Zidovudin, 983, P-73

MỤC LỤC TRA CỨU

Theo tên Latin

A

Abacaviri sulfas, 3
Acebutolol hydrochloridum, 4
Acenocoumarolum, 7
Acetazolamidum, 9
Acetylcysteinum, 11
Aciclovirum, 14
Acid mefenamicum, 33
Acidi methacrylici et ethylis acrylatis polymerisati 1 : 1 dispersio 30 per centum, 37
Acidi methacrylici et ethylis acrylatis polymerisatum (1 : 1), 36
Acidi methacrylici et methylis methacrylatis polymerisatum (1 : 1), 38
Acidi methacrylici et methylis methacrylatis polymerisatum (1 : 2), 39
Acidum acetylsalicylicum, 17
Acidum aminocaproicum, 22
Acidum ascorbicum, 23
Acidum benzoicum, 26
Acidum boricum, 27
Acidum citricum monohydricum, 29
Acidum folicum, 30
Acidum hydrochloricum dilutum, 33
Acidum hydrochloricum, 32
Acidum nalidixicum, 40
Acidum nicotinicum, 42
Acidum salicylicum, 43
Acidum tranexamicum, 44
Adrenalinum acidum tartras, 49
Adrenalinum, 47
Aerosolum, PL-23
Aether anaesthesicus, 401
Aether medicinalis, 402
Aetheroleum Anisi stellati, 1400
Aetheroleum Cajuputi, 1403
Aetheroleum Cinnamomi camphorae, 1401
Aetheroleum Cinnamomi, 1402
Aetheroleum Curcumae, 1402
Aetheroleum Eucalypti, 1399
Aetheroleum Menthae arvensis, 1398
Aetheroleum Ocimi gratissimi, 1400
Aetheroleum Plectranthi amboinici, 1400
Aetheroleum Zingiberis, 1399
Albendazolum, 51
Alcohol cetylicus et stearylicus, 256
Alcohol cetylicus, 257
Alcohol stearylicus, 875
Alcoholaturae, PL-31
Alimemazini tartras, 53
Allopurinolum, 55
Aloe, 1233
Alpha tocopherolum, 948
Alpha tocopheryli acetas, 949
Aluminii hydroxydum siccum, 672
Aluminii phosphas siccum, 672
Alverin citratum, 58
Ambroxoli hydrochloridum, 60
Amikacinum, 64
Aminophyllinum, 66
Amiodaroni hydrochloridum, 69
Amitriptylini hydrochloridum, 72
Amlodipini besilas, 74
Amodiaquini hydrochloridum, 76
Amonii chloridum, 78
Amphotericincum B, 89
Amoxicillini et Acidi clavulanici pulvis ad injectionem, 82
Amoxicillini pro injectione, 81
Amoxicillinum natricum, 79
Amoxicillinum trihydricum, 83
Ampicillini et Sulbactami pulvis ad injectionem, 97
Ampicillini pro injectione, 95
Ampicillinum natricum, 93
Ampicillinum trihydratum, 98
Ampicillinum, 92
Amylum Manihoti, 941
Amylum mays, 940
Amylum oryzae, 938
Amylum pregelificatum, 941
Amylum Solani, 939
Amylum Tritici, 939
Aqua destillata, 688
Aqua pro injectione, 688
Aqua purificata, 690
Aqua sterilis pro injectione, 691
Argenti nitras, 132
Argentum vitellinicum, 133
Arginini aspartas, 102
Arginini hydrochloridum, 103
Argininum, 100
Arillus Longan, 1232
Arillus Momordicae cochinchinensis, 1176
Artemetherum, 105
Artemisinium, 110
Artesunati pulvis ad injectionem, 113
Artesunatum, 111
Aspartamum, 114
Atenololum, 116
Atorvastatimum calcium trihydricum, 119
Atropini sufas, 122
Attapulgitum, 125
Auricularia Chloramphenicoli, 286
Azithromycinum, 126

B

Bacitracinum, 129
Barii sulfas pro suspensio, 134
Barii sulfas, 133
Benzalkonii chloridum, 135

Benzathini benzylpenicillini ad injectionem, 137
Benzathinum benzylpenicillinum, 136
Benzoinum, 1099
Benzylpenicilinum kalicum, 139
Benzylpenicilinum natricum, 140
Benzylpenicillini pro injectione, 142
Berberini chloridum, 142
Betamethasoni dipropionas, 147
Betamethasoni natrii phosphas, 149
Betamethasoni valeras, 152
Betamethasonium, 144
Biotinum, 153
Bisacodylum, 154
Bisoprololi fumaras, 157
Bombyx Botryticatus, 1326
Bromhexini hydrochloridum, 162
Bulbus Allii sativi, 1354
Bulbus Eleutherinis subaphyllae, 1312
Bulbus Fritillariae, 1089
Bulbus Lilii, 1069
Bupivacaini hydrochloridum, 164
tert-Butylamini Perindoprilum, 744

C

Cacumen Platycladi, 1357
Caffeinum, 166
Calci sulfat ustus, 160
Calcii carbonas, 168
Calcii chloridum dihydricum, 170
Calcii gluconas pro injectione, 173
Calcii gluconas, 171
Calcii glycerophosphas, 175
Calcii hydroxydum, 176
Calcii lactas pentahydricus, 177
Calcii lactas trihydricus, 178
Calcii pantothenas, 179
Calcii phosphas, 180
Calcitriolum, 181
Calyx Kaki, 1337
Camphora racemica, 182
Camphora, 183
Capsulae Acetylcysteini, 13
Capsulae Acidi tranexamici, 45
Capsulae Alverini, 59
Capsulae Ambroxoli hydrochloridi, 62
Capsulae Amoxicillini et Cloxacillini, 88
Capsulae Amoxicillini, 85
Capsulae Ampicillini, 99
Capsulae Arginini, 104
Capsulae Artemetheri, 106
Capsulae Azithromycini, 128
Capsulae Cefactori, 197
Capsulae Cefadroxili, 200
Capsulae Cefdiniri, 212
Capsulae Cefiximi, 217
Capsulae Cefpodoximi, 227
Capsulae Cefradini, 231
Capsulae Cephalexini, 252
Capsulae Chloramphenicoli, 284
Capsulae Clarithromycini, 272
Capsulae Clindamycini, 277
Capsulae Clofazimini, 279
Capsulae Cloxacillini, 308
Capsulae Doxycyclini, 365
Capsulae Efavirenzi, 371
Capsulae Erythromycini stearatis, 387
Capsulae Esomeprazoli, 392
Capsulae Fenofibratis, 413
Capsulae Flucloxacillini, 418
Capsulae Fluconazoli, 420
Capsulae Gabapentini, 429
Capsulae Indinaviri, 510
Capsulae Indomethacini, 512
Capsulae Itraconazoli, 527
Capsulae Ketoprofeni, 542
Capsulae Lansoprazoli, 558
Capsulae Lincomycini, 576
Capsulae Loperamidi, 579
Capsulae Ofloxacini, 698
Capsulae Omeprazoli, 702
Capsulae Oxytetracyclini, 719
Capsulae Paracetamoli, 728
Capsulae Piracetami, 770
Capsulae Piroxicami, 773
Capsulae Rifampicini et Isoniazidi, 838
Capsulae Rifampicini, 836
Capsulae Sulpiridi, 896
Capsulae Tetracyclini hydrocloridi, 916
Capsulae, PL-19
Capsulea Oseltamiviri, 708
Captoprilum, 185
Carapax et Plastrum Testudinis, 1297
Carapax Trionycis, 1249
Carbamazepinum, 188
Carbidopum, 190
Carbo activatus, 919
Carbomera, 191
Carboxymethylamylum natricum A, 935
Carboxymethylamylum natricum B, 936
Carboxymethylamylum natricum C, 937
Carmellosum natricum, 193
Carmelosum calcicum, 192
Caulis Coscinii fenestrati, 1368
Caulis cum folium Lonicerae, 1220
Caulis et folium Gymnemae sylvestris, 1139
Caulis et Radix Fibraureae, 1186
Caulis Perillae frutescensis, 1351
Caulis Spatholobi suberecti, 1211
Caulis Tinosporae sinensis, 1138

Cefaclorum, 194
Cefadroxilum monohydricum, 198
Cefalotinum natricum, 202
Cefamandoli nafas, 203
Cefazolini pulvis ad injectionem, 208
Cefazolinum natricum, 205
Cefdinirum, 209
Cefepimi hydrochloridum monohydricum, 213
Cefiximum, 215
Cefoperazoni et Sulbactami pulvis ad injectionem, 222
Cefoperazoni pulvis ad injectionem, 221
Cefoperazonum natricum, 220
Cefotaximi pulvis ad injectionem, 224
Cefotaximum natricum, 223
Cefpodoximum proxetili, 225
Cefradinum, 229
Ceftazidimi pulvis ad injectionem, 234
Ceftazidimum pentahydricum, 232
Ceftriaxoni pulvis ad injectionem, 237
Ceftriaxonum natricum, 236
Cefuroximi pulvis ad injectionem, 242
Cefuroximum axetili, 238
Cefuroximum natricum, 241
Celecoxibum, 243
Cellulosi acetas, 244
Cellulosum microcrystallinum, 245
Cephalexinum, 250
Cera alba, 1309
Cera flava, 1309
Cetirizini hydrocloridum, 254
Chlofaziminum, 278
Chloramphenicoli natrii succinas, 291
Chloramphenicoli palmitas, 290
Chloramphenicoli pro injectione, 292
Chloramphenicolum, 283
Chlorhexidini digluconatis solutio, 293
Chloroformium, 295
Chlorpheniramini maleas, 298
Chlorpromazini hydrochloridum, 300
Cholecalciferolum, 316
Chymotrypsinum, 258
Cilastatinum natricum, 260
Cimetidinum, 262
Cineolum, 267
Cinnarizinum, 265
Ciprofloxacini hydrochloridum, 268
Clarithromycinum, 271
Clindamycini hydrochloridum, 276
Clopidogreli hydrogenosulfas, 280
Clorali hydras, 282
Cloroquini phosphas, 296
Clotrimazolum, 304
Cloxacilinum natricum, 306
Cocaini hydrochloridum, 309
Codeini phosphas, 311
Codeinum monohydricum, 310
Colchicinum, 313
Colla Cornus Cervi, 1234
Collyria, PL-20
Collyrium Betamethasoni, 150
Collyrium Chloramphenicoli et Dexamethasoni natrii phosphas, 289
Collyrium Chloramphenicoli, 285
Collyrium Ciprofloxacini, 269
Collyrium Gentamicini, 436
Collyrium Hydrocortisoni et Neomycini, 487
Collyrium Natrii chloridi, 660
Collyrium Neomycini, 669
Collyrium Ofloxacini, 699
Collyrium Tobramycin, 946
Collyrium Zinci sulfatis, 545
Concha Ostreae, 1248
Concretio Silicae Bambusae, 1340
Cornu Cervi, 1234
Cornu Cervi degelatinatum, 1235
Cornu Cervi Pantotrichum, 1236
Cortex Acanthopanacis gracilistyli, 1272
Cortex Acanthopanacis trifoliati, 1271
Cortex Cinnamomi, 1296
Cortex Eucommiae, 1169
Cortex Holarrhenae, 1251
Cortex Magnoliae officinalis, 1183
Cortex Mori albae radicis, 1137
Cortex Oroxyli, 1285
Cortex Periplocae, 1202
Cortex Phellodendri, 1184
Cortex Radicis Lycii, 1162
Cortex Radicis Paeoniae suffruticosae, 1248
Cortex Schefflerae heptaphyllae, 1270
Cortex Strychni wallichianae, 1191
Cortex Terminaliaen nigrovenulosae, 1112
Cortisoni acetas, 317
Cremoris Acicloviri, 16
Cremoris Chloramphenicoli et Dexamethasoni natrii phosphas, 287
Cremoris Clotrimazoli, 305
Cremoris Fluocinoloni, 423
Cremoris Ketoconazoli et Neomycini, 540
Cremoris Ketoconazoli, 538
Cremoris Promethazini hydrochloridi, 800
Cremoris Triamcinoloni acetonidi, 956
Cupri sulfas anhydricus, 366
Cupri sulfas, 366
Cyanocobalaminum, 320
Cyproheptadini hydrochloridum, 322

D

Dapsonum, 324
Dexamethasoni acetas, 329

Dexamethasoni natrii phosphas, 331
Dexamethasonum, 326
Dexchlorpheniramini maleas, 334
Dexpanthenolum, 337
Dextromethorphani hydrobromidum, 338
Diazepamum, 340
Diclofenacum diethylaminum, 343
Diclofenacum natricum, 344
Dicloxacillinum natricum, 347
Diethylis phthalas, 349
Diltiazemi hydrochloridum, 350
Dilutum ethanolum, 400
Dimenhydrinatum, 352
Dimercaprolum, 355
Diphenhydraminum hydrochloridum, 356
Domperidoni maleas, 360
Doxycyclini hydrochloridum, 363

E

Efavirenzum, 369
Effervescentis tabellae Paracetamoli, 732
Embryo Nelumbinis nuciferae, 1314
Emetini hydrochloridum, 372
Emulsiones, PL-12
Enalaprili maleas, 373
Endothelium Corneum Gigeriae Galli, 1212
Ephedrini hydrochloridum, 375
Ergocalciferolum, 378
Erythromycini ethyl succinas, 383
Erythromycini stearas, 385
Erythromycinum, 380
Erythrosinum, 388
Esomeprazolum magnesicum trihydricum, 390
Ethambutoli hydrochloridum, 396
Ethanolum 96 %, 400
Ethanolum, 399
Ethinylestradiolum, 403
Ethylcellulosum, 405
Eugenolum, 406
Extracta, PL-9
Extractum Ampelopsis siccus, 1390
Extractum Cynarae spissum, 1387
Extractum Dracaenae siccus, 1392
Extractum Folii Ginkgo siccus, 1393
Extractum Leonuri japonici spissum, 1390
Extractum Phyllanthi amari spissum, 1387
Extractum Polysciacis fruticosae spissum, 1388

F

Famotidinum, 408
Felodipinum, 410
Fenofibratum, 412
Ferrici oxydum, 858
Ferrosi fumaras, 856
Ferrosi sulfas siccum, 861
Ferrosi sulfas, 860
Fexofenadini hydrochloridum, 414
Flos Carthami tinctorii, 1197
Flos Chrysanthemi indici, 1130
Flos Cleistocalysis operculati, 1372
Flos Daturae metelis, 1090
Flos Eriocauli, 1121
Flos Lonicerae, 1221
Flos Plumeriae rubrae, 1146
Flos Sambuci javanicae, 1125
Flos Styphnolobii japonici imaturi, 1195
Flos Syzygii aromatici, 1167
Flos Tussilaginis farfarae, 1213
Flucloxacillinum natricum, 417
Fluconazolum, 419
Fluocinolonum acetonidum dihydricum, 422
Fluocinolonum acetonidum, 421
Folium Ampelopsis, 1107
Folium Ardisiae, 1217
Folium Artemisiae annuae, 1332
Folium Calotropis, 1224
Folium Catharanthi rosei, 1144
Folium Cleistocalysis operculati, 1371
Folium Clerodendri chinense, 1072
Folium Cratoxyli pruniflori, 1263
Folium Crini asiatici, 1258
Folium Crini latifolii, 1360
Folium Cynarae scolymi, 1063
Folium Daturae metelis, 1091
Folium Eriobotryae, 1365
Folium Erythrinae variegatae, 1373
Folium et Ramulus Crotonis tonkinensis, 1215
Folium Excoecariae, 1173
Folium Ilexi kaushii, 1108
Folium Jasmini subtriplinervis, 1109
Folium Lawsoniae, 1226
Folium Maclurae cochinchinensis, 1250
Folium Mori albae, 1136
Folium Nelumbinis nuciferae, 1316
Folium Perillae frutescensis, 1349
Folium Plantaginis, 1239
Folium Plectranthi amboinici, 1199
Folium Pluchene pteropodae, 1236
Folium Premnae corymbosae, 1370
Folium Psidii guajavae, 1288
Folium Sambuci javanicae, 1125
Folium Senna alatae, 1256
Folium Solani erianthi, 1266
Folium Steviae rebaudianae, 1116
Formaldehydi solutio, 425
Fructus Alpiniae oxyphyllae, 1209
Fructus Amomi aromatici, 1335

Fructus Amomi, 1072
Fructus Amomi, 1305
Fructus Apii graveolens, 1102
Fructus Arctii lappae, 1274
Fructus Armeniacae praeparatus, 1255
Fructus Aurantii immaturus, 1110
Fructus Aurantii, 1111
Fructus Bruceae javanicae, 1276
Fructus Chaenomelis, 1253
Fructus Cnidii, 1375
Fructus Corni officinalis, 1318
Fructus Evodiae rutaecarpae, 1268
Fructus Foeniculi, 1352
Fructus Forsythiae suspensae, 1228
Fructus Gardeniae, 1132
Fructus Gleditsiae australis, 1087
Fructus Hordei germinatus, 1242
Fructus Illicii veri, 1149
Fructus Lycii, 1105
Fructus Mali, 1319
Fructus Momordicae charantiae, 1257
Fructus Mori albae, 1137
Fructus Morindae citrifoliae, 1277
Fructus Perillae frutescensis, 1350
Fructus Piperis longi, 1327
Fructus Piperis nigri, 1196
Fructus Psoraleae corylifoliae, 1088
Fructus Rosae laevigatae, 1219
Fructus Rubi, 1245
Fructus Schisandrae chinensis, 1273
Fructus Silybi, 1129
Fructus Terminaliae chebulae, 1212
Fructus Tribuli terrestris, 1075
Fructus Trichosanthis, 1294
Fructus Viticis trifoliae, 1244
Fructus Xanthii strumarii, 1210
Fructus Zanthoxyli, 1382
Fructus Ziziphi jujubae, 1151
Furosemidum, 425

G

Gabapentinum, 428
Galla chinensis, 1269
Ganoderma, 1229
Gekko, 1324
Gelatinum, 432
Gentamicini sulfas, 435
Glibenclamidum, 438
Gliclazidum, 443
Glimepiridum, 445
Glipizidum, 449
Glucosamini hydrochloridum, 454
Glucosamini sulfas kalii chloridum, 455
Glucosamini sulfas natrii chloridum, 456
Glucosum anhydricum, 459
Glucosum monohydricum, 460
Glutathionum, 462
Glycerinum, 464
Glyceroli monostearas 40 - 55, 466
Granulae, PL-14
Griseofulvinum, 470
Guaifenesinum, 473
Gummi resina Olibanum, 1282
Gypsum fibrosum, 1329

H

Haloperidolum, 474
Halothanum, 476
Heptaminoli hydrochloridum, 477
Herba Abutili indici, 1122
Herba Adenosmatis bracteosi, 1282
Herba Adenosmatis caerulei, 1280
Herba Adenosmatis indiani, 1084
Herba Ageratí conyzoides, 1113
Herba Agrimoniae, 1231
Herba Andrographii, 1380
Herba Apii graveolens, 1103
Herba Artemisiae apiaceae, 1332
Herba Artemisiae vulgaris, 1262
Herba Bidensis pilosae, 1172
Herba Centellae asiaticae, 1299
Herba Centipedae minimae, 1120
Herba Cistanches, 1284
Herba Clerodendri philippini, 1250
Herba Dendrobii, 1330
Herba Desmodii styracifolii, 1222
Herba Ecliptae, 1117
Herba Eleusinis indicae, 1115
Herba Elsholtziae ciliatae, 1223
Herba Ephedrae, 1237
Herba Epimedii, 1134
Herba Equiseti debilis, 1254
Herba et Radix Scopariae, 1096
Herba Glini oppositifolii , 1298
Herba Gynostemmae, 1178
Herba Hedyotidis capitellatae, 1131
Herba Hedyotis diffusae, 1074
Herba Houttuyniae cordatae, 1141
Herba Lactucae indicae, 1085
Herba Leonuri japonici, 1207
Herba Lobeliae chinensis, 1078
Herba Lophatheri, 1151
Herba Loranthi Gracifilolii, 1322
Herba Loranthi, 1325
Herba Menthae, 1066
Herba Ocimi gratissimi, 1204
Herba Ocimi tenuiflori, 1202
Herba Orthosiphonis spicatis, 1301

Herba Passiflorae foetidae, 1226
Herba Phyllanthi amari, 1143
Herba Phyllanthi urinariae, 1142
Herba Piperis lolot, 1225
Herba Pistiae, 1150
Herba Pogostemonis, 1194
Herba Portulacae, 1300
Herba Sarcandrae glabrae, 1317
Herba Scutellariae barbatae, 1079
Herba Siegesbeckiae, 1206
Herba Solani procumbensis, 1092
Herba Spirodelae polyrrhizae, 1082
Herba Wedeliae, 1306
Hippocampus, 1093
Histidini hydrochloridum monohydricum, 480
Histidinum, 479
Hydrochlorothiazidum, 481
Hydrocortisoni acetas, 484
Hydroxocobalamini acetas, 488
Hydroxocobalamini chloridum, 489
Hydroxocobalamini sulfas, 490
Hydroxyethylcellulosum, 492
Hydroxyethylmethylcellulosum, 494
Hyoscini butylbromidum, 496
Hyroxypropylcellulosum, 495

I

Ibuprofenum, 498
Imipemeni et Cilastatini pulvis ad injectionem, 502
Imipenemum, 501
Imipramini hydrochloridum, 503
Immunoglobulinum humanum hepatitidis B, 993
Immunoglobulinum humanum normale, 989
Immunosera ad usum humanum, 989
Immunoserum contra venena, 992
Immunoserum diphthericum, 991
Immunoserum tetanicum ad usum humanum, 993
Indapamidum, 505
Indinaviri sulfas, 508
Indomethacinum, 511
Infusio Glucosi, 462
Infusio Metronidazoli, 644
Infusio Natrii chloridi isotonica, 661
Infusio Ringer-Lactate, 359
Inhalationis, PL-23
Injectio Acidi ascorbici, 24
Injectio Adrenalini, 50
Injectio Amikacini, 65
Injectio Aminophyllini, 67
Injectio Atropini sulfatis, 123
Injectio Calcii chloridi 10 %, 171
Injectio Calcii gluconatis, 174
Injectio Chlorpromazini hydrochloridi, 302
Injectio Coffeini et Natrii benzoas, 168
Injectio Cyanocobalamini, 321
Injectio Dexamethasoni, 333
Injectio Diazepami, 341
Injectio Diclofenaci natrii, 345
Injectio Dimercaproli, 356
Injectio Ephedrini hydrocloridi, 377
Injectio Gentamicini, 437
Injectio Glucosi, 461
Injectio Hydrocortisoni acetas, 487
Injectio Hydroxocobalamini, 491
Injectio Kalii chloridi concentrata, 530
Injectio Kanamycini, 534
Injectio Lidocaini, 574
Injectio Lincomycini, 577
Injectio Methylprednisoloni acetas, 638
Injectio Metoclopramidi, 641
Injectio Morphini hydrochloridi, 650
Injectio Natrii bicarbonas, 663
Injectio Natrii chloridi, 661
Injectio Paracetamoli, 729
Injectio Piracetami, 771
Injectio Procaini hydrochloridi, 794
Injectio Progesteroni, 798
Injectio Pyridoxini hydrochloridi, 813
Injectio Quinini dihydrochloridi, 820
Injectio Sparteini sulfatis, 868
Injectio Thiamini hydrochloridi, 924
Injectio Tobramycini, 947
Injectiones, infusiones, PL-26
Interferoni alfa 2, 994
Iodum, 514
Irbesartanum, 515
Isoleucinum, 517
Isoniazidum, 518
Isosorbidi dinitras dilutus, 520
Isosorbidi mononitras dilutus, 522
Itraconazolum, 525

K

Kalii bromidum, 528
Kalii chloridum, 529
Kalii clavulanas, 274
Kalii iodidum, 531
Kalii permanganas, 532
Kanamycini sulfas, 532
Kaolinum leve naturale, 536
Kaolinum leve, 535
Kaolinum ponderosum, 534
Ketoconazolum, 537
Ketoprofenum, 541

L

Lactosum, 545
Laminariae Thallus, 1122
Lamivudini solutionum peroralum, 548
Lamivudinum, 547
Lanolinum anhydricum, 552
Lansoprazolum, 557
Lanugo gossypii absorbens sterilis, 160
Lanugo gossypii absorbens, 158
Levamisoli hydrochloridum, 559
Levodopum, 561
Levofloxacinum, 564
Levomepromazini maleas, 566
Levonorgestrelum, 568
Levothyroxinum natricum, 571
Lidocaini hydrochloridum, 573
Lignum Dracaenae, 1201
Lignum Sappan, 1354
Lincomycini hydrochloridum, 575
Loperamidi hydrochloridum, 578
Lopinavirum, 581
Loratadinum, 583
Losartanum Kalium, 586
Lovastatinum, 589
Lumefantrinum, 592
Lysini acetas, 594

M

Macrogola, 595
Magnesii chloridum, 598
Magnesii hydroxydum, 599
Magnesii lactas dihydricus, 601
Magnesii oxydum levis, 604
Magnesii oxydum ponderosus, 603
Magnesii subcarbonas levis, 598
Magnesii subcarbonas ponderosus, 597
Magnesii sulfas, 606
Magnesii trisilicas, 606
Magnessii stearas, 604
Mangiferinum, 608
Mannitolum, 608
Mebendazolum, 610
Medulla Junci effusi, 1159
Medulla Tetrapanacis papyriferi, 1345
Mefloquini hydrochloridum, 612
Mel, 1246
Meloxicamum, 615
Mentholum racemicum, 617
Mentholum, 619
Meprobamatum, 620
Mercuresceinum natricum, 621
Metformini hydrochloridum, 622
Methadoni hydrochloridum, 624
DL-Methioninum, 626
Methylcellulosum, 629
Methyldopum, 631
Methylis parahydroxybenzoas, 627
Methylis salicylas, 629
Methylprednisoloni acetas, 636
Methylprednisolonum, 633
Metoclopramidi hydrochloridum, 640
Metoclopramidum, 639
Metronidazolum, 643
Miconazolum, 647
Molles capsulae calcitrioli, 182
Molles capsulae Progesteroni, 797
Molles capsulae Vitamini A et D, 830
Molles capsulae Vitamini A, 830
Molles capsulae Vitamini E, 950
Morphini hydrochloridum, 649
Musci medicati, PL-30
Myrrha, 1255

N

Naloxoni hydrochloridum, 651
Naphazolini nitras, 653
Nasalia Oxymetazolini, 715
Nasalia Xylometazolini, 982
Natrii benzoas, 654
Natrii bromidum, 655
Natrii calcii edetas, 656
Natrii camphosulfonas, 657
Natrii chloridum, 659
Natrii citras, 658
Natrii hydrocarbonas, 662
Natrii salicylas, 663
Natrii sulfas anhydricum, 666
Natrii sulfas, 665
Natrii thiosulfas, 667
Neomycini sulfas, 668
Nevirapinum anhydricum, 670
Niclosamidi monohydratum, 675
Niclosamidum anhydricum, 673
Nicotinamidum, 677
Nifedipinum, 678
Nifuroxazidum, 681
Nikethamidum, 682
Nitrazepamum, 683
Nitrofurantoinum, 684
Norfloxacinum, 686
Nystatinum, 694

O

Ofloxacinum, 697
Oleum Calophylli inophylli, 1397

Oleum Momordicae, 1395
Omeprazolum, 701
Os Sepiae, 1243
Oseltamiviri phosphas, 706
Ouabainum, 709
Oxacillinum natricum monohydricum, 710
Oxygenium, 712
Oxymetazolini hydrochloridum, 714
Oxytetracyclinum dihydratum, 716
Oxytetracyclinum hydrochloridum, 717

P

Pantoprazolum natricum sesquihydricum, 721
Papaverini hydrochloridum, 724
Paracetamolum, 726
Paraffinum liquidum, 325
Pefloxacini mesilas, 737
Penicillaminum, 740
Pepsinum, 742
Pericarpium Arecae catechi, 1099
Pericarpium Citri reticulatae perenne, 1358
Pericarpium Citri reticulatae viride, 1333
Pericarpium Garciniae mangostanae, 1245
Periostracum Cicadae, 1346
Pethidini hydrochloridum, 747
Phenobarbitalum, 748
Phenolum, 750
Phenoxymethylpenicillinum kalicum, 753
Phenoxymethylpenicillinum, 751
Phenylpropanolamini hydrochloridum, 755
Phenytoinum, 756
Pheretima, 1166
Phthalylsulfathiazolum, 758
Phytomenadionum, 760
Pilocarpini nitras, 762
Pilula, PL-17
Piperacillinum natricum, 764
Piperazini adipas, 765
Piperazini citras, 766
Piperazini hydras, 767
Piperazini phosphas, 768
Piracetamum, 769
Piroxicamum, 771
Polymyxini B sulfas, 775
Polyporus, 1362
Polysorbatum 20, 777
Polysorbatum 60, 778
Polysorbatum 80, 779
Poria, 1292
Povidonum iodinatum, 784
Povidonum, 780
Praeparationes molles ad usum dermicum, PL-18
Praziquantelum, 785
Prednisolonum, 787
Prednisonum, 789
Primaquini diphosphas, 791
Procainamidi hydrochloridum, 795
Procaini hydrochloridum, 793
Progesteronum, 796
Promethazini hydrochloridum, 798
Propranololi hydrochloridum, 802
Propylenglycolum, 806
Propylis parahydroxybenzoas, 804
Propylthiouracillum, 806
Pulveres Acetylcysteini, 13
Pulveres Amoxicillini ad suspensionum peroralum, 84
Pulveres Amoxicillini et Acidi clavulanici ad suspensionum peroralum, 87
Pulveres Azithromycini ad suspensionum peroralum, 129
Pulveres Cefaclori ad suspensionum peroralum, 195
Pulveres Cefadroxili ad suspensionum peroralum, 199
Pulveres Cefdiniri ad suspensionum peroralum, 211
Pulveres Cefixim ad suspensionum peoralum, 216
Pulveres Cefpodoximi ad suspensionum peroralum, 227
Pulveres Cefuroximi ad suspensionum peoralum, 239
Pulveres Cephalexini ad suspensionum peroralum, 251
Pulveres Natrii hydrocarbonas, 662
Pulveres Roxithromycini ad suspensionum peroralum, 846
Pulveres Sorbitoli, 867
Pulveres, PL-13
Pulveres Aspartami, 116
Pyranteli pamoatum, 808
Pyrazinamidum, 810
Pyridoxini hydrochloridum, 812
Pyrimethaminum, 814

Q

Quinaprili hydrochloridum, 815
Quinini dihydrochloridum, 819
Quinini hydrochloridum, 820
Quinini sulfas, 822
Quininidini bisulfas, 817

R

Radix Abelmoschi sagittifolii, 1310
Radix Achyranthis asperae, 1119
Radix Achyranthis bidentatae, 1275
Radix Aconiti lateralis, 1291
Radix Aconiti, 1286
Radix Angelicae acutilobae, 1175
Radix Angelicae dahuricae, 1070
Radix Angelicae pubescentis, 1171
Radix Angelicae sinensis, 1173
Radix Asparagi cochinchinensis, 1339
Radix Astragali membranacei, 1188
Radix Bochmeriae niveae, 1176

Radix Bupleuri chinensis, 1307
Radix Catharanthi rosei, 1145
Radix Clerodendri japonici, 1376
Radix Codonopsis javanicae praeparata, 1157
Radix Codonopsis javanicae, 1156
Radix Codonopsis, 1154
Radix Dipsaci, 1363
Radix et Rhizoma Asari, 1328
Radix et Rhizoma Asteris tatarici, 1364
Radix et rhizoma Clematidis, 1367
Radix et Rhizoma Gentianae, 1230
Radix et Rhizoma Glycyrrhizae, 1095
Radix et Rhizoma Salviae miltiorrhizae, 1152
Radix Eurycomae longifoliae , 1067
Radix Fallopiae multiflorae, 1180
Radix Gentianae, 1326
Radix Glehniae, 1306
Radix Linderae, 1287
Radix Millettiae speciosae, 1102
Radix Morindae citrifoliae, 1278
Radix Morindae officinalis, 1064
Radix Nymphaeae stellatae, 1128
Radix Ophiopogonis japonici, 1241
Radix Paeoniae lactiflorae, 1076
Radix Paeoniae, 1377
Radix Panasis notoginseng, 1321
Radix Peucedani, 1351
Radix Phytolaccae, 1347
Radix Platycodi grandiflori, 1100
Radix Plucheae pteropodae, 1237
Radix Polygalae, 1369
Radix Polygoni cuspidati, 1123
Radix Polysciacis, 1168
Radix Puerariae thomsonii, 1310
Radix Rehmanniae glutinosae praeparata, 1345
Radix Rehmanniae glutinosae, 1164
Radix Sanguisorbae, 1163
Radix Saposhnikoviae divaricatae, 1289
Radix Saussureae lappae, 1252
Radix Scrophulariae, 1199
Radix Scutellariae, 1185
Radix Stemonae tuberosae, 1068
Radix Stephaniae tetrandrae, 1289
Radix Streptocauli, 1181
Ramiprilum, 824
Ramulus Cinnamomi, 1295
Ramulus cum folio Melaleucae, 1356
Ramulus cum Unco Uncariae, 1104
Ramulus Mori albae, 1135
Ranitidini hydrochloridum, 826
Rhizoma Acori, 1382
Rhizoma Alismatis, 1355
Rhizoma Alpiniae officinari, 1303
Rhizoma Ar[illegible]marrhenae, 1360
Rhizoma Atractylodis macrocephalae, 1077
Rhizoma Atractylodis, 1348
Rhizoma Belamcandae chinensis, 1302
Rhizoma Bletillae striatae, 1070
Rhizoma Cibotii, 1106
Rhizoma Cimicifugae, 1336
Rhizoma Coptidis, 1190
Rhizoma Curculiginis, 1311
Rhizoma Curcumae longae, 1264
Rhizoma Curcumae zedoariae, 1261
Rhizoma Cyperi, 1204
Rhizoma Dioscoreae collettii, 1259
Rhizoma Dioscoreae, 1366
Rhizoma Drynariae, 1124
Rhizoma et Radix Ginseng, 1279
Rhizoma et Radix Notopterygii, 1218
Rhizoma et Radix Panacis vietnamensis, 1313
Rhizoma Gastrodiae elatae, 1338
Rhizoma Homalomenae occultae, 1340
Rhizoma Imperatae cylindricae, 1118
Rhizoma Kaempferiae galangae, 1165
Rhizoma Ligustici wallichii, 1378
Rhizoma Pinelliae, 1080
Rhizoma Polygonati odorati, 1265
Rhizoma Polygonati, 1192
Rhizoma Rhei, 1147
Rhizoma Smilacis glabrae, 1344
Rhizoma Thalictri foliolosi, 1342
Rhizoma Typhonii trilobati, 1126
Rhizoma Zingiberis, 1179
Riboflavini natrii phosphas, 833
Riboflavinum, 831
Rifampicinum, 834
Ritonavirum, 841
Rotundinum, 842
Roxithromycinum, 845
Rutinum, 848

S

Saccharum, 367
Salbutamoli sulfas, 853
Salbutamolum, 851
Sales perorales ad rehydratationem, 704
Sargassum, 1304
Scolopendra, 1267
Scorpio, 1353
Semen Lablab, 1161
Semen Arecae catechi, 1097
Semen Armeniacae amarum, 1214
Semen Coicis, 1384
Semen Cuscutae, 1341
Semen Euryales, 1213
Semen Momordicae cochinchinensis, 1177
Semen Myristicae, 1265

Semen Nelumbinis nuciferae, 1315
Semen Pharbitidis, 1082
Semen Plantaginis, 1239
Semen Platycladi orientalis, 1065
Semen Pruni, 1157
Semen Quisqualis, 1320
Semen Raphani sativi, 1094
Semen Sennae torae, 1335
Semen Sesami Nigrum, 1374
Semen Sinapis albae, 1074
Semen Strychni, 1240
Semen Trichosanthis, 1293
Semen Vignae cylindricae, 1160
Semen Vignae radiatae, 1161
Semen Ziziphi mauritianae, 1323
Serum antirabicum, 991
Simvastatinum, 863
Sirupi Alimemazini, 53
Sirupi Promethazini hydrochloridi, 801
Sirupi, PL-11
Solutio Acidi borici 3 %, 28
Solutio Diphenhydramini, 357
Solutio glycerylis trinitras, 468
Solutio Hydrogenii peroxydi concentrata, 692
Solutio Hydrogenii peroxydi diluta 10 %, 693
Solutio Hydrogenii peroxydi diluta 3 %, 693
Solutio Iodo Iodidata 1 %, 514
Solutio Methadoni hydrochloridi concentrata peroralum, 625
Solutio Nikethamidi, 683
Solutio Povidoni Iodini, 784
Solutiones, PL-11
Sorbitolum, 865
Sparteini sulfas, 868
Spectinomycini hydrocloridum, 869
Spica Prunellae, 1182
Spina Gleditsiae australis, 1086
Spiramicinum, 870
Squama Manis, 1379
Stavudinum, 872
Streptomycini pro injectione, 878
Streptomycini sulfas, 876
Strychnini sulfas, 879
Styli et stigmata Maydis, 1301
Sucralfatum, 880
Sulbactamum Natricum, 881
Sulfacetamidum natricum, 664
Sulfadiazinum, 883
Sulfadimidinum, 885
Sulfadoxinum, 886
Sulfaguanidinum, 888
Sulfamethoxazolum, 889
Sulfametoxypyridazinum, 891
Sulfasalazinum, 892
Sulfathiazolum, 894
Sulpiridum, 895
Sultamicillini tosilas dihydricus, 899
Sultamicillinum, 897
Suppositoria Nystatini, 696
Suppositoria Paracetamoli, 730
Suppositoria, PL-16
Suspensiones, PL-12

T

Tabellae Acebutololi, 6
Tabellae Acenocoumaroli, 8
Tabellae Acetazolamidi, 10
Tabellae Acicloviri, 16
Tabellae Acidi acetylsalicylici solvae in intestino, 19
Tabellae Acidi acetylsalicylici, 19
Tabellae Acidi ascorbici, 25
Tabellae Acidi folici, 31
Tabellae Acidi mefenamici, 34
Tabellae Acidi nalidixici, 41
Tabellae Acidi tranexamici, 46
Tabellae Albendazoli, 52
Tabellae Allopurinoli, 57
Tabellae Aluminii hydroxydi - Magnesii hydroxydi, 600
Tabellae Ambroxoli hydrochloridi, 63
Tabellae Aminophyllini, 68
Tabellae Amiodaroni, 70
Tabellae Amitriptylini, 73
Tabellae Amlodipini, 75
Tabellae Amodiaquini hydrochloridi, 77
Tabellae Amoxicillini et Acidi clavulanici, 87
Tabellae Amoxicillini, 86
Tabellae Amphotericini, 91
Tabellae Artemetheri et Lumefantrini, 108
Tabellae Artemetheri, 107
Tabellae Aspirini et Caffeini, 21
Tabellae Atenololi, 118
Tabellae Atorvastatini, 121
Tabellae Atropini sulfatis, 124
Tabellae Berberini chloridi, 144
Tabellae Betamethasoni, 146
Tabellae Biotini, 154
Tabellae Bisacodyli, 156
Tabellae Bromhexini hydrochloridi, 163
Tabellae Calcii carbonatis et Vitamini D_3, 169
Tabellae Captoprili, 187
Tabellae Carbamazepini, 189
Tabellae Cefadroxili, 201
Tabellae Cefiximi, 219
Tabellae Cefpodoximi, 228
Tabellae Cefuroximi, 240
Tabellae Cephalexini, 253
Tabellae Cetirizini, 255
Tabellae Chloramphenicoli, 287
Tabellae Chloroquini phosphatis, 297
Tabellae Chlorpheniramini, 299

Tabellae Chlorpromazini hydrochloridi, 303
Tabellae Chymotrypsini, 259
Tabellae Cimetidini, 264
Tabellae Cinnarizini, 266
Tabellae Ciprofloxacini, 270
Tabellae Clarithromycini, 273
Tabellae Clopidogreli, 282
Tabellae Codeini phosphatis, 313
Tabellae Colchicin, 315
Tabellae Colecalciferoli, 317
Tabellae Cortisoni, 319
Tabellae Cotrimoxazoli, 966
Tabellae Cyproheptadini hydrocloridi, 323
Tabellae Dapsoni, 324
Tabellae Dexamethasoni, 328
Tabellae Dexchlorpheniramini, 336
Tabellae Dexpanthenoli, 338
Tabellae Dextromethorphani hydrobromidi, 340
Tabellae Diazepami, 342
Tabellae Diclofenaci, 346
Tabellae Diltiazemi, 351
Tabellae Dimenhydrinati, 354
Tabellae Diphenhydramini, 358
Tabellae Domperidoni, 362
Tabellae effervescenti Calcii gluconatis, 172
Tabellae Enalaprili, 374
Tabellae Ephedrini hydrochloridi, 377
Tabellae Ergocalciferoli, 380
Tabellae Erythromycini stearatis, 387
Tabellae Erythromycini, 382
Tabellae Esomeprazoli, 394
Tabellae Ethambutoli et Isoniazidi, 398
Tabellae Ethambutoli, 397
Tabellae Ethinylestradioli, 404
Tabellae Famotidini, 409
Tabellae Ferrosi fumaratis et Acidi folici, 857
Tabellae Ferrosi sulfatis, 862
Tabellae Fexofenadini, 415
Tabellae Furosemidi, 427
Tabellae Gabapentini, 430
Tabellae Glibenclamidi et Metformini, 441
Tabellae Glibenclamidi, 440
Tabellae Glicerylis trinitratis, 469
Tabellae Gliclazidi, 444
Tabellae Glimepiridi et Metformini, 448
Tabellae Glimepiridi, 446
Tabellae Glipizidi et Metformini, 452
Tabellae Glipizidi, 451
Tabellae Glucosamini, 458
Tabellae Griseofulvini, 471
Tabellae Haloperidoli, 475
Tabellae Heptaminoli, 478
Tabellae Hydrochlorothiazidi, 483
Tabellae Hyoscini butylbromidi, 487
Tabellae Ibuprofeni, 500
Tabellae Imipramini, 504
Tabellae Indapamidi, 507
Tabellae Indomethacini, 513
Tabellae Irbesartani, 516
Tabellae Isoniazidi, 519
Tabellae Isosorbidi dinitras, 522
Tabellae Isosorbidi mononitras, 524
Tabellae Kalii chloridi, 530
Tabellae Kalii Losartanas, 588
Tabellae Ketoconazoli, 539
Tabellae Lamivudini et Zidovudinum, 551
Tabellae Lamivudini, 549
Tabellae Levodopi et Carbidopi, 563
Tabellae Levodopi, 562
Tabellae Levofloxacini, 565
Tabellae Levomepromazini, 567
Tabellae Levonorgestreli, 570
Tabellae Levothyroxini, 572
Tabellae Loperamidi, 580
Tabellae Loratadini, 585
Tabellae Lovastatini, 591
Tabellae Magnesii - Pyridoxini hydrochloridi, 602
Tabellae Mebendazoli, 611
Tabellae Mefloquini, 614
Tabellae Meloxicami, 616
Tabellae Metformini, 623
Tabellae Methionini, 627
Tabellae Methyldopi, 633
Tabellae Methylprednisoloni, 635
Tabellae Metoclopramidi, 642
Tabellae Metronidazoli et Nystatini, 645
Tabellae Metronidazoli et Spiramycini, 646
Tabellae Metronidazoli, 644
Tabellae Natrii thiosulfas, 667
Tabellae natrii valproatis, 968
Tabellae Nevirapini, 671
Tabellae Niclosamidi, 676
Tabellae Nicotinamidi, 677
Tabellae Nifedipini, 679
Tabellae Nitrofurantoini, 685
Tabellae Norfloxacini, 687
Tabellae Nystatini, 696
Tabellae Ofloxacini, 700
Tabellae Pantoprazoli, 722
Tabellae Papaverini hydrochloridi, 725
Tabellae Paracetamoli et Chlorpheniramini, 734
Tabellae Paracetamoli et Codeini, 735
Tabellae Paracetamoli et Coffeini, 733
Tabellae Paracetamoli et Ibuprofeni, 736
Tabellae Paracetamoli, 731
Tabellae Pefloxacini mesylati, 739
Tabellae Phenobarbitali, 749
Tabellae Phenoxymethylpenicillini Kalii, 754
Tabellae Phenoxymethylpenicillini, 752
Tabellae Phenytoini, 757

Tabellae Phthalylsulfathiazoli, 759
Tabellae Phytomenadioni, 761
Tabellae Piperazini phosphatis, 769
Tabellae Piroxicami, 774
Tabellae Praziquanteli, 786
Tabellae Prednisoloni, 788
Tabellae Primaquini diphosphas, 792
Tabellae Promethazini hydrochloridi, 801
Tabellae Propranololi, 803
Tabellae Propylthiouracili, 807
Tabellae Pyranteli pamoati, 809
Tabellae Pyrazinamidi, 811
Tabellae Pyridoxini hydrochloridi, 814
Tabellae Quinini sulfatis, 823
Tabellae Ramiprili, 825
Tabellae Ranitidini, 828
Tabellae Riboflavini, 833
Tabellae Rifampicini, 837
Tabellae Rifampicini, Isoniazidi et Pyrazinamidi, 839
Tabellae Rotundini, 844
Tabellae Roxithromycini, 847
Tabellae Rutini et Acidi ascorbici, 850
Tabellae Rutini, 849
Tabellae Salbutamoli, 855
Tabellae Simvastatini, 864
Tabellae Spiramycini, 872
Tabellae Stavudini, 874
Tabellae Sulfadoxini et Pyrimethamini, 887
Tabellae Sulfaguanidini, 889
Tabellae Sulfamethoxazoli, 890
Tabellae Telmisartani, 905
Tabellae Tenoxicami, 908
Tabellae Terfenadini, 911
Tabellae tert-Butylamini perindoprilum, 746
Tabellae Tetracyclini hydrocloridi, 918
Tabellae Theophyllini, 922
Tabellae Thiamini, 926
Tabellae Timololi, 934
Tabellae Tinidazoli, 943
Tabellae Tolbutamidi, 952
Tabellae Trihexyphenidyli, 960
Tabellae Trimetazidini, 963
Tabellae vaginalis Clotrimazoli, 306
Tabellae Vinpocetini, 980
Tabellae Vitamini B_1, B_6 et B_{12}, 927
Tabellae Zidovudini, 985
Tabellae, PL-28
Tabellea Alimemazini, 54
Talcum, 1193
Talcum, 160
Tamoxifeni Citras, 901
Tartrazinum, 902
Telmisartanum, 904
Tenoxicamum, 906
Terbutalini sulfas, 909
Terfenadinum, 910
Terpinum hydratum, 912
Tetracaini hydrochloridum, 913
Tetracyclini hydrochloridum, 915
Theophyllinum, 920
Thiamini hydrochloridum, 922
Thiamini mononitras, 925
Thiamphenicolum, 928
Thiopentalum natricum, 929
Ticarcillinum natricum, 930
Timololi maleas, 932
Tincturae, PL-10
Tinidazolum, 942
Titanii dioxidum, 944
Tobramycinum, 945
Tolbutamidum, 951
Tramadoli hydrochloridum, 953
Triamcinoloni acetonidum, 954
Triglycerida saturata media, 957
Trihexiphenydyli hydrochloridum, 959
Trimetazidini hydrochloridum, 961
Trimethoprimum, 964
Tuber Corydalis, 1140
Tuber Dioscoreae persimilis, 1127
Tuber Stephaniae, 1083
Tuberculini derivatum proteinosum purificatum, 996

U

Unguentum Acidi borici 10 %, 28
Unguentum Benzosalicylici, 26
Unguentum Hydrocortisoni acetas, 486
Unguentum Nystatini, 695
Unguentum Tetracyclini hydrochloridi, 917
Unguentum Zinci oxydi, 544

V

Vaccina ad usum humanum, 997
Vaccinum BCG cryodessicatum, 1016
Vaccinum cholerae perorale inactivatum, 1043
Vaccinum diphtheria, tetani et pertussis adsorbatum, 1000
Vaccinum diphtheriae adsorbatum, 998
Vaccinum diphtheriae et tetani ad usum adulti et adulescentis adsorbatum, 1002
Vaccinum diphtheriae, tetani et pertussis sine cellulis ex elementis praeparatum adsorbatum, 1004
Vaccinum diphtheriae, tetani, pertussis, hepatitidis B et haemophili stirpis b conjugatum adsorbatum, 1007
Vaccinum Encephalitidis japonicae, 1058
Vaccinum febris typhoidi perorale vivum, 1045
Vaccinum haemophili stirpis b conjugatum, 1022
Vaccinum hepatitidis A inactivatum adsorbatum, 1050

Vaccinum hepatitidis A inactivatum et hepatitidis B (ADNr) adsorbatum, 1056
Vaccinum hepatitidis A inactivatum virosomale, 1052
Vaccinum hepatitidis A vivum, 1053
Vaccinum hepatitidis B recombinatum, 1054
Vaccinum influenzae inactivatum, 1017
Vaccinum meningococcale polysaccharidum, 1024
Vaccinum morbillorum vivum, 1041
Vaccinum morbillorum, parotitidis et rubellae vivum, 1041
Vaccinum papillomaviri humani (ADNr), 1029
Vaccinum parotitidis vivum, 1034
Vaccinum pneumococcale polysaccharidicum coniugatum adsorbatum, 1027
Vaccinum pneumococcale polysaccharidicum, 1025
Vaccinum poliomyelitidis inactivatum, 1014
Vaccinum poliomyelitidis perorale, 1015
Vaccinum rabiei ex cellulis ad usum humanum, 1020
Vaccinum rotaviri vivum perorale, 1036
Vaccinum rubellae vivum, 1038
Vaccinum tetani adsorbatum, 1013
Vaccinum varicella vivum, 1049
Vaccinum Vi polysacaridi typhoidi, 1047
Valproas natrii, 967
Vancomycini hydrochloridum, 969
Vancomycini pulvis ad injectionem, 970
Vanilinum, 971
Vaselinum album, 972
Verapamili hydrochloridum, 973
Vinblastini sulfas, 974
Vinblastini sulfatis pro Injectione, 975
Vincristini sulfas, 977
Vincristini sulfatis pro Injectione, 978
Vinpocetinum, 979
Vitamini synthetici densati A pulvis, 829
Vitaminum A syntheticum densatum oleosum, 829

X

Xylometliazolini hydrochloridum, 980

Z

Zidovudini solutionum peroralum, 984
Zidovudinum, 983
Zinci oxydum, 543
Zinci sulfas, 545

NHÀ XUẤT BẢN Y HỌC

Địa chỉ: Số 352 - Đội Cấn - Ba Đình - Hà Nội

Email: xuatbanyhoc@fpt.com.vn; xbyh@xuatbanyhoc.vn

Số điện thoại: 024.37625934 - Fax: 024.37625923

DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM

Lần xuất bản thứ năm

Tập 2

Chịu trách nhiệm xuất bản

TỔNG GIÁM ĐỐC

Chu Hùng Cường

Chịu trách nhiệm nội dung

PHÓ TỔNG BIÊN TẬP

BSCKI. Nguyễn Tiến Dũng

HỘI ĐỒNG DƯỢC ĐIỂN VIỆT NAM

Biên tập:	**BS. Đặng Thị Cẩm Thúy**
Sửa bản in:	**Đặng Thị Cẩm Thúy**
Trình bày bìa:	**Nguyệt Thu**
Kt vi tính:	Mai Kim Anh

Đối tác liên kết xuất bản

TRUNG TÂM DƯỢC ĐIỂN - DƯỢC THƯ VIỆT NAM

In 1.000 cuốn, khổ A4 tại Công ty TNHH một thành viên Nhà xuất bản Y học.

Địa chỉ: Số 352 Đội Cấn - Ba Đình - Hà Nội.

Số xác nhận đăng ký xuất bản: 4514 - 2017/CXBIPH/6 - 176/YH.

Quyết định xuất bản số: 490/QĐ - XBYH ngày 13 tháng 12 năm 2017.

In xong và nộp lưu chiểu năm 2017.

Mã số sách chuẩn quốc tế - ISBN Tập 2: 978-604-66-3046-3

Mã số sách chuẩn quốc tế - ISBN Tập 1: 978-604-66-3045-6.